

Primer di Allergologia e Immunologia Clinica



Sergio Bonini

Floriano Bonifazi

**Edizione italiana
2009**

*dal Primer on Allergic and Immunologic Diseases
The Journal of Allergy and Clinical Immunology*



Primer di

Allergologia e Immunologia Clinica

Sergio Bonini Floriano Bonifazi

**Edizione italiana
2009**

***dal Primer on Allergic and Immunologic Diseases
The Journal of Allergy and Clinical Immunology***

Comitato Editoriale

Editore:	Sergio Bonini
Co-editore:	Floriano Bonifazi
Editori di Sezione:	Gianfranco Abbate, Armando Gabrielli, Giacomo Lucivero, Cesare Masala, Guido Rasi, Costantino Troise, Gabriele Valentini
Revisori:	Giorgio Walter Canonica, Leonardo M. Fabbri, Fernando Martinez, Sergio Romagnani, Donata Vercelli
Comitato di Redazione:	Leonardo Antonicelli, M. Beatrice Bilò, Megon D. M. Bresciani, Claudia Gramiccioni, Carlo Lombardi, Paola Parronchi
Comitato Scientifico e Collaboratori:	
<i>Il Comitato Direttivo dell'AAITO</i>	Saverio Amoroso*, Andrea Antico*, Leonardo Antonicelli*, Renato Ariano, Riccardo Asero, Maria Beatrice Bilò, Vincenzo Feliziani, Patrizia Bonadonna*, Floriano Bonifazi, Carlo Lombardi*, Rocco Longo, Antonino Musarra*, Anna Perino, Costantino Troise, Francesco Pezzuto, Gian Enrico Senna, Oliviero Quercia * CD 2004-2007
<i>Programma ECM</i>	Vito Brusasco, Lorenzo Corbetta, Pierluigi Paggiaro
<i>Docenti/Esperti</i>	Domenico Adorno, Antonella Afeltra, Giorgio Arnaldi, Renato Ariano, Riccardo Asero, Corrado Astarita, Gianni Balzano, Stefano Bonini, Marina Braga, Fulvio Braido, Guglielmo Bruno, Maria Filomena Caiaffa, Stefano Cascinu, Giovanni Cavagni, Nunzio Crimi, Pierpaolo Dall'Aglia, Gennaro D'Amato, Raffaele D'Amelio, Umberto De Fanis, Raffaele De Palma, Mario Di Gioacchino, Valerio Di Rienzo, Giovanna Danieli, Marzia Duse, Emanuele Errigo, Amelia Filippelli, Claudio Fiocchi, Luigi Fontana, Maurizio Galimberti, Federica Gani, Roberto Giacomelli, Michele Lucchetti, Luigi Macchia, Guido Marcer, Giuseppe Matarese, Antonio Miadonna, Maria Montroni, Costanzo Moretti, Gianna Moscato, Roberto Paganelli, Giovanni Passalacqua, Angelo Passaleva, Desiderio Passali, Giampietro Patriarca, Anna Perino, Mauro Picardo, Ciro Romano, Edoardo Rosato, Renato Rossi, Guido Sacerdoti, Felice Salsano, Domenico Schiavino, Gian Enrico Senna, Massimo Triggiani, Guido Valesini, Stefano Vella, Maria Teresa Ventura, Alberto Vierucci
<i>Studenti/Specializzandi/ Dottorandi</i>	Christos Aivaliotis, Matteo Bonini, Anna Capasso, Antonio Cirillo, Paola D'Ambrosio, Michele De Rosa, Loredana D'Amore, Annalisa Di Cristo, Alessandra Frattino, Federica Frontini, Maria Antonietta Mazza, Lorenza Melosini, Corrado Micucci, Giuseppe Pepe, Giuseppe Petrone, Ester Petta, Chiara Ritonnaro, Maria Robustelli, Gabriele Rumi, Vito Sabato, Pasquale Sangiovanni, Roberto Santalucia, Beniamino Schiamone, Giusi Scordo, Gianfranco Scotto di Frega
Segreteria di Redazione:	Elisabetta Rea, Elsa Pesaresi

Indice

Prefazione alla versione italiana

S. Bonini, F. Bonifazi

Prefazione alla V Edizione del Primer on Allergic and Immunologic Diseases

W.T. Shearer, J.T. Li, Guest Editors

Il Sistema Immunitario

Capitolo 1	Generalità sulla risposta immune	11
Capitolo 2	Citochine e chemochine	35
Capitolo 3	I Linfociti	53
Capitolo 4	IgE, mastociti, basofili ed eosinofili	65
Capitolo 5	Genetica dell'ipersensibilità	77

Le Malattie Allergiche

Capitolo 6	Asma	87
Capitolo 7	Rinite e Sinusite	113
Capitolo 8	Asma ed allergia professionali	129
Capitolo 9	Allergia alimentare	143
Capitolo 10	Allergia a farmaci	153
Capitolo 11	Malattie allergiche e immunologiche della pelle	169

Malattie Immunologiche

Capitolo 12	Immunodeficienze primitive	185
Capitolo 13	Infezioni da HIV-1	201
Capitolo 14	Malattie reumatiche infiammatorie	217
Capitolo 15	Le Vasculiti	231
Capitolo 16	Le affezioni immunologiche del polmone	245
Capitolo 17	Malattie endocrine immunologiche	259
Capitolo 18	Patologie renali immuno-mediate	279
Capitolo 19	Disordini immunologici gastroenterologici ed epatobiliari	291
Capitolo 20	Disturbi neuromuscolari su base immunologica	309
Capitolo 21	Disturbi immunoematologici	321
Capitolo 22	Le risposte immunitarie ai tumori	333

Diagnostica e Modulazione della Risposta Immune

Capitolo 23	Valutazione clinica e di laboratorio dell'ipersensibilità IgE mediata	347
Capitolo 24	Valutazione clinica e laboratoristica dell'immunità	367
Capitolo 25	Immunoterapia delle malattie allergiche	381
Capitolo 26	Immunomodulazione e immunoterapia: farmaci, citochine, recettori citochinici e anticorpi	393
Capitolo 27	Immunologia dei trapianti d'organo e midollo osseo	411
Capitolo 28	Terapia con cellule embrionali e staminali, embrionali e adulte	427
Capitolo 29	Immunizzazione	439

Il futuro dell'Allergologia e Immunologia Clinica

Capitolo 30	Definire lo spettro dell'immunologia clinica	455
Capitolo 31	Valutazione delle competenze cliniche dell'allergologo-immunologo	465

Prefazione alla versione italiana

La decisione di pubblicare una versione italiana della quinta edizione del Primer on Allergic and Immunologic Diseases edito dall'American Academy of Allergology, Asthma and Immunology (AAAAI) deriva da alcune considerazioni:

- *durante i nostri Corsi di Allergologia e Immunologia Clinica presso la Seconda Università degli Studi di Napoli e l'Università di Ancona ci è stato più volte richiesto dagli studenti un libro di testo in italiano più essenziale di quelli – validissimi – attualmente disponibili;*
- *è nostra opinione che sia un inutile dispendio economico e di energie avviare iniziative editoriali in presenza di prodotti analoghi già disponibili e di elevata qualità, come nel caso del Primer dell'AAAAI (che ha il solo “difetto” di essere in inglese e non facilmente reperibile in libreria);*
- *i tempi necessari per realizzare un libro di testo sono oggi poco compatibili con la scarsa disponibilità di autori qualificati a partecipare a iniziative didattiche di portata solo nazionale, ma, soprattutto in una disciplina come l'Allergologia e Immunologia Clinica, il continuo sviluppo delle conoscenze rende rapidamente superato qualsiasi prodotto cartaceo.*

L'interesse e la disponibilità dell'AAAAI a diffondere il Primer anche in altre lingue e ad un target più ampio dei soli soci dell'AAAAI ci hanno pertanto offerto l'opportunità ed il privilegio di assumere l'incarico di Editori Locali della versione italiana del Primer, privilegio del quale siamo particolarmente grati a Denis Ownby, a Donald Leung - Editors di Journal of Allergy and Clinical Immunology, organo ufficiale dell'AAAAI che aveva pubblicato la quinta edizione del Primer – e alla Casa Editrice Elsevier.

La quinta edizione del Primer è stata pubblicata nel Febbraio 2003. L'AAAAI è pervenuta alla decisione di non procedere ad ulteriori edizioni ma di provvedere agli indispensabili aggiornamenti attraverso le rassegne di educazione medica continua pubblicate su Journal of Allergy and Clinical Immunology e una serie di tre Mini Primer a cadenza biennale pubblicati dal 2006 come supplemento alla rivista.

Si poneva quindi il problema di come giungere ad una versione italiana che includesse in un unico volume – come indispensabile ai fini didattici – edizione originale e aggiornamenti, rispettando peraltro la condizione posta dall'AAAAI di una traduzione fedele e “validata” dei testi originali.

A tale problema si è ritenuto di poter ovviare con la seguente soluzione che prevede un prodotto editoriale misto – cartaceo ed elettronico – basato sulle seguenti componenti:

- *una traduzione letterale del Primer, la cui fedeltà al testo originale è stata validata grazie alla disponibilità di qualificati revisori con perfetta padronanza sia della lingua italiana sia di quella inglese.*
- *alcune note editoriali e di aggiornamento per ciascun capitolo necessarie ad adattare il testo alla realtà italiana ed europea e ad aggiornarlo anche con i riferimenti bibliografici dei principali articoli pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology dal 2004 al 2008, quali Rassegne di Educazione Medica Continua, Rassegne di Aggiornamento su Meccanismi e Aspetti Clinici, Linee Guida per la Pratica Clinica, consultabili e periodicamente aggiornati nel sito dell'Associazione Allergologi e Immunologi Territoriali e Ospedalieri (AAITO).*

Al fine di pervenire rapidamente alla versione del Primer – ma anche di verificare al tempo stesso la cor-

rispondenza alle aspettative degli studenti, degli specializzandi e dei docenti di Allergologia e Immunologia Clinica – ciascun capitolo è stato affidato per la traduzione ad uno studente, successivamente verificata da uno o due docenti-tutor ai quali sono stati affidati anche gli aggiornamenti del capitolo.

Un particolare ringraziamento va all'AAITO e al suo Consiglio Direttivo che ha offerto il patrocinio della versione italiana del Primer, assicurandone la diffusione ai suoi soci e mettendo a disposizione il suo sito web per gli aggiornamenti.

Un ringraziamento, infine, alle industrie farmaceutiche per il supporto economico che hanno fornito alla realizzazione dell'opera sotto forma di contributo educativo non finalizzato a fini promozionali, nel rispetto dell'assoluta indipendenza della pubblicazione e delle rigide norme imposte per l'edizione italiana dall'AAAI e dalla Casa Editrice Elsevier proprietaria del copyright.

Nell'iniziare la versione italiana del Primer la prima domanda che ci siamo posti è stata quella di come andasse tradotto il termine "Primer". La traduzione del Cassell's Italian Dictionary mentre da un lato gratificava il nostro desiderio di realizzare qualcosa di innovativo con il termine di "Primo Libro", dall'altro ne mortificava i contenuti con il sinonimo di "Sillabario".

Forse migliore e più attinente al nostro obiettivo è la definizione del New Webster's Dictionary and Thesaurus: "Un piccolo libro elementare da utilizzare per l'insegnamento".

La decisione tuttavia di lasciare anche per la versione italiana il termine "Primer" è derivata dalle definizioni di "Primer" riportate nello Stedman's Medical Dictionary: una molecola (che può essere un piccolo polimero) che inizia la sintesi di una struttura più grande; un fenomeno che causa una variazione fisiologica a lungo-termine.

Ove questo volumetto servisse infatti, con le nozioni basilari in esso contenute, a stimolare un interesse per l'Allergologia e Immunologia Clinica che crescendo e rafforzandosi attraverso la necessaria continua opera di approfondimento e aggiornamento, la scelta del termine Primer risulterà appropriata.

Febbraio 2009

Sergio Bonini^a, Floriano Bonifazi^b

^aII Università di Napoli; ^bAzienda Ospedaliero-Universitaria "Umberto I", Ancona

Prefazione alla versione originale

Risulta estremamente difficile tentare di migliorare il Primer, forse la migliore sinossi di argomenti di rilevanza per Allergologi e Immunologi Clinici. Ci siamo assunti tale responsabilità consci dell'onore di essere stati scelti per questo compito, ma molto preoccupati di non riuscire a rendere la V Edizione la migliore della serie. Fortunatamente gli autori che hanno collaborato al Primer ci hanno consentito di portare l'opera a livelli insperati. La loro opera risulterà sicuramente gradita a tutti i medici che hanno a che fare con problematiche di allergologia e immunologia clinica, una sottospecialità che copre aree quali allergia, asma, immunodeficienze primitive, infezioni da HIV/AIDS, malattie reumatologiche, vasculite, malattie immunologiche del polmone, del sistema endocrino e delle neoplasie. Tutte queste aree vengono trattate in maniera eccellente da autori scelti per la loro competenza, esperienza, e coinvolgimento nei vari argomenti.

Quale premessa ai capitoli sulle malattie allergiche e immunologiche, abbiamo selezionato qualificati ricercatori clinici per prendere in rassegna i principi fondamentali della risposta immune. Con l'esplosione della biologia cellulare e della genetica questi capitoli di scienza di base dell'immunità preparano alla migliore comprensione delle acquisizioni genetiche relative alle patologie che l'immunologo clinico diagnostica e cura. Per i medici che si sono confrontati per molti anni con i differenti fenotipi di malattie allergiche e immunologiche, la scoperta dei relativi genotipi è fonte di soddisfazione e speranza per un futuro pieno di nuovi strumenti diagnostici e nuove strategie di modulazione delle risposte immuni. Gli autori dei vari capitoli sono stati selezionati per presentare le più recenti acquisizioni sia di diagnostica genetica e molecolare sia di terapia cellulare, molecolare e genetica nel settore delle malattie immunologiche. Nel leggere questi capitoli si prova infatti l'entusiasmo per essere alle porte di una nuova era terapeutica.

Nei capitoli finali ci si sofferma infine sul futuro dell'allergologia e immunologia clinica e dell'altrettanto importante compito di definire le competenze cliniche necessarie in futuro per gli specialisti di questa disciplina.

Se si deve scegliere un messaggio fra quelli che il Primer dovrebbe trasmettere, il più importante riguarda proprio il ruolo dell'Allergologia e Immunologia Clinica nella migliore conoscenza di molte malattie di comune osservazione per tutti i medici e nell'aprire orizzonti di speranza per nuove terapie farmacologiche e immunologiche per i loro pazienti.

Come illustrato nella copertina di questo Primer, l'albero dell'Immunologia Clinica prende nutrimento dal terreno della scienza di base (geni, DNA, RNA, cellule T e B, macrofagi, neutrofili, eosinofili, mastociti, basofili, anticorpi, complemento, citochine) e cresce in proporzione alla pioggia di patologia e al sole della ricerca. Le foglie (aree di sottospecialità dell'immunologia Clinica) cambiano continuamente man mano che l'albero cresce

Ci auguriamo che il Primer, offrendo quanto c'è di più attuale nella medicina di oggi, possa rappresentare la premessa per un futuro ricco di soddisfazioni.

Febbraio 2003

William T Shearer MD, PhD^a e James T. Li MD, PhD^b

^a Baylor College of Medicine, Houston, Texas; ^b Mayo Clinic, Rochester, Minnesota

1. Generalità sulla risposta immune

La difesa dell'ospite nei confronti dei patogeni richiede delle risposte sostanzialmente diverse a seconda del tipo di patogeno e del tessuto sottoposto all'attacco dei patogeni. La capacità di distinguere le componenti del proprio organismo (self) dai costituenti esterni (non-self) è di fondamentale importanza affinché il sistema immune risponda all'attacco dei patogeni. Pertanto, si sono sviluppati meccanismi sia innati che adattivi (ovvero specifici) responsabili della risposta verso i patogeni. Entrambi questi meccanismi si fondano sulla discriminazione tra 'self' e 'non-self'.

Questo capitolo descrive i meccanismi chiave usati dal sistema immunitario per rispondere ai patogeni e le condizioni nelle quali le risposte immuni, non adeguatamente regolate, sono causa di danno tissutale.

Il sistema immune dei mammiferi protegge l'organismo da un'elevata quantità di agenti infettivi variamente aggressivi nei confronti dell'ospite, evitando contemporaneamente che la risposta difensiva provochi danni ai tessuti. Nell'ambiente che ci circonda sono presenti moltissimi patogeni che possono aggredire l'ospite attraverso la messa in opera di molti meccanismi patologici. Non sorprende, quindi, che il sistema immune utilizzi un complesso assortimento di meccanismi protettivi per controllare ed eliminare tali organismi. Tutti questi meccanismi si fondano sul riconoscimento di caratteristiche strutturali proprie dei patogeni che li contraddistinguono dalle cellule dell'ospite. La discriminazione pertanto tra ospite-patogeno è essenziale perchè l'ospite riesca ad eliminare il patogeno senza contemporaneamente provocare danni ai propri tessuti.

I meccanismi che permettono il riconoscimento delle strutture microbiche possono essere distinti in due categorie: (1) risposte costitutive, codificate da geni nella 'germ-line' dell'ospite, che riconoscono costituenti molecolari condivisi da molti patogeni ma che non sono presenti nei mammiferi; (2) risposte codificate da elementi genici che si riorganizzano somaticamente dando origine all'assemblaggio di molecole leganti l'antigene con elevata specificità per strutture microbiche individuali. Il primo tipo di risposte costituisce la cosiddetta risposta *innata*. Dal momento che le molecole usate dal sistema innato per il riconoscimento sono espresse su un gran numero di cellule, questo sistema è pronto ad agire rapidamente dopo l'incontro con un patogeno e quindi costituisce la risposta iniziale dell'ospite. Il secondo tipo di risposte costituisce la risposta immune *adattativa* o *specific*. In questo caso, il sistema è costituito da un piccolo numero di cellule specifiche per singoli costituenti

Abbreviazioni utilizzate:

AID:	Activation-induced cytidine deaminase
APC:	Cellula presentante l'antigene
Bf:	Fattore B del complemento
CFU:	Unità formanti colonie
DP:	Cellule doppio-positive
ER:	Reticolo endoplasmatico
FcεRI:	Recettore ad alta affinità per le IgE
FDC:	Cellula dendritica follicolare
HLA:	Human leukocyte-associated
IFN:	Interferone
IL:	Interleuchina
ITAM:	Immunoreceptor tyrosine-based activation motif
Jak:	Janus kinase
MAC:	Membrane attack complex
MAP:	Mitogen-Associated Protein
MBL:	Mannan binding lectin
MIC:	MHC class I-related Chain
NK:	Natural Killer
P450 C21:	Cytochrome P450 21-Hydroxylase
PAMP:	Pathogen-associated molecular pattern
RAG:	Recombinase-activating gene
SCID:	Immunodeficienza combinata
SP:	Linfocita singolo-positivo (CD4 o CD8)
STAT:	Signal transducers and activators of transcription
TAP:	Transporter associated with presentation
Tc1:	Linfocita T citotossico di tipo 1
Tc2:	Linfocita T citotossico di tipo 2
TCR:	T-cell receptor
TdT:	Terminal deoxynucleotidyl transferase
TIR:	Toll/IL-1 receptor
TLR:	Toll-like receptor
TNF:	Tumor necrosis factor
TSST-1:	Toxic shock syndrome toxin-1

dei patogeni, per cui le cellule responsive devono proliferare dopo l'incontro con il patogeno in modo tale da raggiungere un numero sufficiente perchè si attui una risposta efficace contro i microbi. Pertanto, nella difesa dell'ospite, la risposta adattativa si manifesta temporalmente dopo quella innata.

Una caratteristica tipica della risposta adattativa è che essa produce cellule a lunga sopravvivenza (cellule

Traduzione italiana del testo di:

David D. Chaplin,

J Allergy Clin Immunol 2003; 111:S442-59

‘memoria’) che persistono in un apparente stato di non responsività, ma che riacquistano rapidamente le loro funzioni effettrici nel momento in cui reincontrano l’antigene. Questa caratteristica è alla base della funzione di ‘memoria’, tipica della risposta adattativa, che permette al sistema immunitario di reagire in modo più efficace contro patogeni qualora penetrino una seconda volta nell’organismo, anche a distanza di molti anni dal primo ingresso responsabile della sensibilizzazione.

LA DISCRIMINAZIONE TRA ‘SELF’ E ‘NON-SELF’

Poiché nel sistema immune sono presenti meccanismi effettori capaci di distruggere una vasta gamma di cellule microbiche e particelle, l’elemento critico per una efficace risposta immune è quello di evitare che tali meccanismi distruttivi attivino, danneggiandolo, il tessuto dell’ospite. Il meccanismo attraverso il quale il sistema immune evita di distruggere i propri tessuti è denominato tolleranza verso il ‘self’ ovvero ‘self-tolerance’. Quando la tolleranza verso il self fallisce, si manifestano le malattie autoimmuni. È evidente il perché tale processo sia molto studiato; è stato così chiarito che i meccanismi che impediscono la reattività verso il ‘self’ risiedono sia nella risposta immune innata che in quella adattativa. Un aspetto importante dei meccanismi difensivi dipendenti dai linfociti T è il riconoscimento delle cellule dell’ospite infettate da virus, batteri intracellulari o altri parassiti intracellulari. Le cellule T hanno quindi sviluppato un raffinato meccanismo che riconosce gli antigeni estranei, insieme agli antigeni self, come unico complesso molecolare (vedi sotto, dopo il paragrafo “Riconoscimento dell’antigene da parte dei linfociti T”). Il fatto che linfociti T possano riconoscere sia le strutture proprie dell’ospite che gli antigeni estranei, rende particolarmente importante che venga mantenuta la tolleranza verso il ‘self’. I meccanismi responsabili della mancata aggressione verso i tessuti dell’ospite saranno discussi nel corso della trattazione dei meccanismi effettori della risposta immune.

LE CARATTERISTICHE GENERALI DELL’IMMUNITÀ INNATA E ADATTATIVA

In senso lato, fanno parte del sistema immunitario innato tutti quei meccanismi di difesa codificati dai geni ‘germ-line’ dell’ospite: a) meccanismi di barriera, come le barriere epiteliali con gli stretti contatti cellula-cellula (‘tight junctions’, interazioni cellulari mediate dalle caderine, ed altri), la secrezione di muco che ricopre l’epitelio nel tratto respiratorio, gastrointestinale e genitourinario, e le cilia vibratili che rimuovono continuamente il muco, permettendo che esso venga rinnovato dopo essere stato contaminato da particelle inalate o ingerite. b) proteine solubili e piccole molecole bioattive che sono presenti nei fluidi biologici sia costitutivamente (come le proteine del Complemento e le defensine)^{1,2}, o rilasciate dalle cellule una volta attivate (come le citochine che regolano la funzione di altre cellule, le chemo-

chine che attraggono leucociti infiammatori, i mediatori lipidici dell’infiammazione, le amine bioattive e gli enzimi che pure contribuiscono all’infiammazione tissutale). c) infine recettori di superficie delle cellule che si legano a strutture molecolari (‘molecular patterns’) espresse sulle superfici dei microbi invasori.

A differenza dei meccanismi innati, il sistema immunitario adattativo manifesta una squisita specificità per gli antigeni bersaglio. Le risposte adattative sono basate primariamente sui recettori antigene-specifici espressi sulle superfici dei linfociti T e B. Diversamente dalle molecole della risposta immune innata codificate da geni ‘germ-line’, i recettori antigene-specifici della risposta adattativa sono codificati da geni assemblati dal riarrangiamento somatico degli elementi genici ‘germ-line’ in modo che si producano i geni che codificano per il recettore del linfocita T (TCR) o per le immunoglobuline (Ig), recettore per l’antigene dei linfociti B. L’assemblaggio dei recettori per l’antigene da una collezione di poche centinaia di elementi genici codificati dalla linea ‘germ-line’ permette la formazione di milioni di differenti recettori, ognuno con specificità unica per un singolo e diverso antigene. I meccanismi con cui si verifica l’assemblaggio di questi recettori per l’antigene nei linfociti T e B e che, quindi, assicurano la selezione di un repertorio correttamente funzionante di cellule dotate di recettori a partire dall’enorme repertorio casualmente generato, saranno discussi in maggior dettaglio nel Capitolo 3.

Il sistema immune *innato* e *adattativo* sono spesso descritti come settori della risposta immune operanti in modo separato se non contrastante anche se, generalmente, essi agiscono in modo combinato, con la risposta innata che rappresenta la prima linea di difesa dell’ospite e la risposta adattativa che diviene preminente, dopo alcuni giorni, quando le cellule T e B antigene-specifiche vanno incontro alla espansione clonale. Per di più le cellule antigene-specifiche amplificano la loro risposta reclutando meccanismi effettori innati in modo da controllare compiutamente i patogeni invasori.

Pertanto, anche se le risposte immuni, innata ed adattativa, sono fondamentalmente differenti nei loro meccanismi di azione, la sinergia tra di loro è essenziale affinché si attui una risposta immune integra e pienamente efficace.

ELEMENTI CELLULARI DELLA RISPOSTA IMMUNE

Una risposta immune efficace richiede che molte sottopopolazioni di leucociti cooperino tra loro. Le differenti sottopopolazioni leucocitarie possono essere distinte sia morfologicamente mediante le colorazioni istologiche convenzionali che sulla base del fenotipo attraverso il legame di anticorpi monoclonali ad antigeni di superficie.

Questi antigeni di differenziazione sono identificati da numeri all’interno dei cosiddetti cluster-di differenziazione (CD). Sono stati identificati attualmente oltre 260 differenti antigeni CD. Gli aggiornamenti sono pubblicati dall’International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens (Laboratorio Internazionale

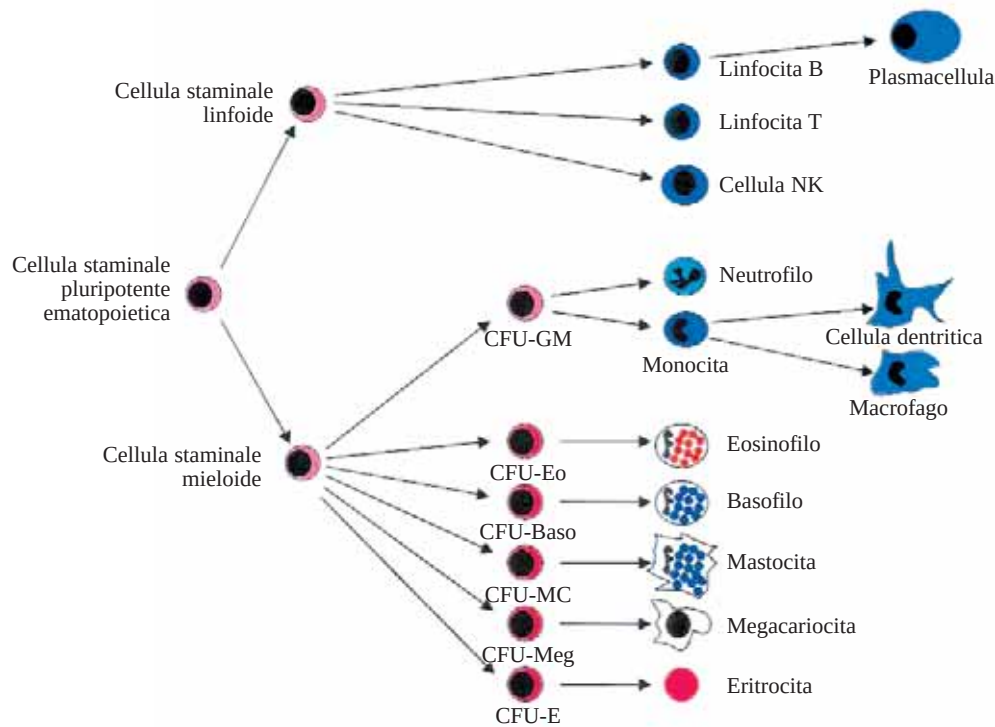


FIG 1. Linee cellulari derivate dalle cellule staminali ematopoietiche. Le cellule staminali ematopoietiche pluripotenti si differenziano nel midollo osseo in cellule staminali di tipo mieloide e linfoide. Le cellule staminali linfoidi danno vita alle linee cellulari B, T e NK. Le cellule staminali mieloidi danno vita a cellule che formano colonie specifiche per le varie linee (CFU) che si differenziano per la produzione di granulociti neutrofili, monociti, granulociti eosinofili, granulociti basofili, mastociti, megacariociti ed eritrociti. I monociti si differenziano ulteriormente in macrofagi nei compartimenti tissutali periferici.

sugli Antigeni di Differenziazione dei Leucociti Umani). I leucociti circolanti maturi si differenziano dalle cellule staminali ematopoietiche (Fig. 1). Le cellule staminali ematopoietiche pluripotenti si differenziano dapprima in cellule staminali linfoidi e mieloidi. Le cellule staminali linfoidi differenziano ulteriormente nelle tre popolazioni principali di linfociti maturi: linfociti T, linfociti B e cellule natural killer (NK). Queste sottopopolazioni possono essere individuate mediante il fenotipo di superficie. Le *cellule T* sono identificate per l'espressione sulla loro superficie del TCR, un eterodimero transmembranario che si lega agli antigeni processati presentati dalle APC (cellule presentanti l'antigene). Come sarà illustrato di seguito, esistono varie sottopopolazioni funzionali dei linfociti T. Le *cellule B* sono fenotipicamente identificate dall'espressione del recettore per l'antigene, ovvero da una Ig ancorata alla membrana. È stato descritto un numero limitato di sottopopolazioni anche delle cellule B. Le *cellule NK*, infine, sono definite morfologicamente come grandi linfociti granulari. Esse sono caratterizzate dalla mancanza sia di TCR che di Ig di superficie e riconoscono le cellule infettate da virus o le cellule tumorali attraverso l'uso di una complessa collezione di recettori di superficie, sia di tipo attivatorio che inibitorio.³ Le cellule staminali mieloidi danno invece luogo alle varie serie di granulociti, ai megacariociti, alle piastrine ed agli eritrociti. Le cellule della serie granulocitaria che svolgono un ruolo nella difesa immunitaria sono costituite da: granu-

lociti neutrofili, monociti, eosinofili, basofili e mastociti. In alcuni mammiferi, anche le piastrine sono in grado di rilasciare mediatori immunologicamente attivi che espandono il loro ruolo oltre che nell'emostasi. La funzione immunologica dei classici granulociti è dovuta alle molecole immunologicamente attive che producono ed al loro accumulo in specifiche condizioni patologiche. Per esempio, i *neutrofili* producono grandi quantità di derivati dell'ossigeno che svolgono attività citotossica nei confronti dei batteri ed enzimi che svolgono un ruolo nei processi di rimodellamento e riparazione dei tessuti dopo una lesione.⁴ Essi si accumulano in grande quantità nelle sedi di infezione batterica, a livello delle lesioni tissutali e posseggono peculiari capacità fagocitiche che permettono loro di sequestrare, al loro interno, dove possono poi essere distrutti e degradati, sia i microbi che gli antigeni particolati. Pertanto, è chiaro che essi giocano un ruolo centrale nei processi di eliminazione dei patogeni e nei meccanismi di riparazione dei tessuti danneggiati. Più recentemente, comunque, è stato scoperto che i neutrofili sono in grado di produrre significative quantità di alcune citochine, come il tumor necrosis factor (TNF) e l'interleuchina (IL)-12, nonché alcune chemochine. Ciò permette di assegnare anche ai neutrofili un ruolo immunoregolatore. Come i neutrofili, anche i *monociti* ed i *macrofagi* svolgono attività fagocitaria nei confronti dei microbi e delle particelle che sono destinate alla eliminazione in seguito

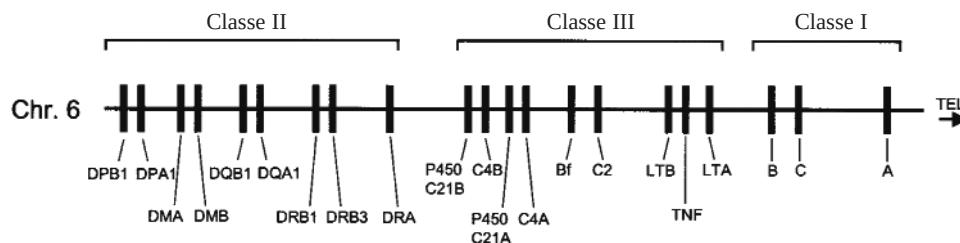


FIG 2. Mappa molecolare del Compleso Maggiore di Istocompatibilità nell'uomo. L'MHC dell'uomo, o HLA, è codificato nel braccio corto del cromosoma 6. I geni codificanti per le catene pesanti di classe I formano un *cluster* nella estremità telomerica (TEL) del complesso. I geni che codificano per le catene α e β di classe II sono invece raggruppati all'estremità centrometrica del complesso. Tra i geni di classe I e II vi sono geni aggiuntivi, definiti di classe III. Questi includono i geni codificanti per l'enzima 21-idrossilasi del citocromo P450 (P450 C21A e B), componenti C2, C4, fattore B (Bf) del complemento, il TNF e le due catene della linfo tossina (LTA, LTB). Esistono due isoforme della componente C4 del complemento definite C4A e C4B. Il C4A interagisce più efficacemente con le macromolecole contenenti gruppi amminici liberi (antigeni proteici), mentre il C4B interagisce più efficientemente con macromolecole contenenti gruppi liberi idrossilici (glicoproteine e carboidrati).

al legame con le Ig, il complemento o entrambi. Essi si mobilitano immediatamente, dopo il reclutamento dei neutrofili, e persistono a lungo nei siti di infiammazione cronica e di infezione. Oltre a partecipare alla risposta infiammatoria acuta, essi svolgono un ruolo determinante nei processi granulomatosi in vari distretti dell'organismo. Utilizzano la produzione di ossido nitrico come meccanismo fondamentale per l'uccisione dei patogeni di origine microbica e producono grandi quantità di citochine, come l'IL-12 e l'interferone (IFN)- γ , conferendo loro un ruolo regolatorio nella risposta immune adattativa⁵.

Gli *eosinofili* sono facilmente riconoscibili per la presenza all'interno del citoplasma di granuli contenenti molecole tossiche ed enzimi che sono particolarmente attivi contro gli elminti ed altri parassiti. L'aumentata produzione di eosinofili dal midollo osseo e la loro sopravvivenza nei tessuti periferici, è regolata dalla citochina IL-5, rendendo così queste cellule fondamentali nella maggior parte delle risposte allergiche.⁶

I *basofili* e i *mastociti* sono cellule morfologicamente simili ma linee cellulari distinte. In virtù dell'espressione sulla superficie cellulare dei recettori ad alta affinità per le IgE (FcRI), essi sono il punto chiave per l'avvio delle reazioni di ipersensibilità immediata e delle risposte dell'ospite contro gli elminti. Ciò avviene attraverso il rilascio dai loro granuli di istamina e di altri mediatori preformati e mediante la neoproduzione di grandi quantità di mediatori lipidici che stimolano l'infiammazione tissutale, l'edema e la contrazione della muscolatura liscia. Studi recenti hanno dimostrato che in aggiunta al loro ruolo nelle reazioni di ipersensibilità immediata, i mastociti giocano un ruolo fondamentale anche nella risposta dell'ospite nelle infezioni batteriche.⁷

Le cellule *fagocitiche* della linea *monocitaria/macrofagica* giocano, inoltre, un ruolo chiave nella risposta immuno-adattativa catturando antigeni microbici, processandoli mediante proteolisi, trasformandoli in piccoli frammenti peptidici e presentandoli in una forma che possa così attivare la risposta delle cellule T. Altri tipi cellulari appartenenti a questa linea sono le *cellule di Langerhans* della cute, le *cellule di Kupfer* del fegato, la *microglia* del

sistema nervoso centrale e la vasta classe di *cellule dendritiche* presenti nella maggior parte dei tessuti e concentrate in particolar modo nei tessuti linfoidi secondari. Tutte queste cellule esprimono le molecole MHC di classe I e II usate per il riconoscimento degli antigeni processati da parte del TCR presente sulle cellule T (vedi successivamente). Le cellule dendritiche sono le APC più potenti, ma anche i macrofagi, le cellule di Langerhans e di Kupffer svolgono attivamente la funzione di APC. Di fatto, tutte le cellule che esprimono MCH hanno la potenzialità di esprimere la funzione APC, se opportunamente stimulate.

IL RICONOSCIMENTO DEGLI ANTIGENI TRAMITE I LINFOCITI T / MOLECOLE DEL SISTEMA MAGGIORE DI ISTOCOMPATIBILITÀ (MHC)

Una delle funzioni più importanti del sistema immunitario è quella di identificare le cellule dell'ospite infettate da microbi che utilizzano, poi, le cellule stesse per moltiplicarsi all'interno dell'ospite. Il semplice riconoscimento e neutralizzazione dei microbi nella loro forma extracellulare non è sufficientemente efficace per bloccare le infezioni. È quindi necessario che la cellula infettata che produce progenie di microbi debba essere identificata e distrutta. Infatti, se il sistema immunitario fosse in grado di riconoscere con le stesse modalità, sia microbi, nella loro forma extracellulare, che cellule infettate dai microbi, un patogeno che fosse in grado di produrre grandi quantità di organismi o antigeni extracellulari potrebbe facilmente sopraffare la capacità di riconoscimento del sistema immunitario, permettendo alle cellule infettate di evitare il riconoscimento. Una importante funzione svolta dal braccio T-dipendente della risposta immune è quella di riconoscere e distruggere le cellule infette. Le cellule T possono anche riconoscere frammenti peptidici degli antigeni che sono stati ingeriti dalle APC per fagocitosi o per pinocitosi. La modalità che il sistema immunitario ha escogitato affinché le cellule T riconoscano le cellule infette richiede che la cellula T

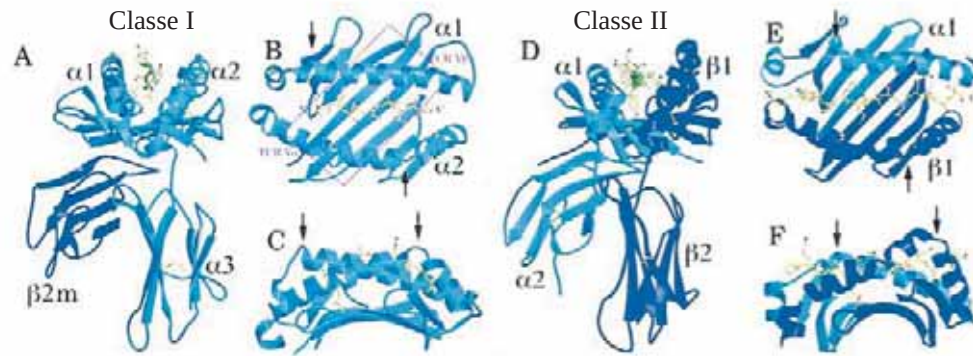


FIG 3. Struttura delle molecole HLA. Modelli molecolari derivati dalle strutture cristalline degli antigeni di istocompatibilità (HLA) di classe I (A-C) e di classe II (D-F). **A**, Sono raffigurati i domini delle catene α_1 , α_2 e α_3 delle molecole di classe I (blu chiaro) in associazione non covalente con β_2 microglobulina. Le spirali rappresentano le α -eliche, mentre le frecce larghe rappresentano i filamenti- β . I filamenti- β , antiparalleli, interagiscono tra loro per formare il pavimento della tasca β -sheet. Le α -eliche dei domini α_1 e α_2 formano i lati e la base della tasca che accoglie i peptidi antigenici (in giallo). Le porzioni transmembranaria e intracitoplasmatica della catena pesante non sono mostrate. **B**, Visione dall'alto dei domini α_1 e α_2 che mostra il peptide antigenico in un complesso molecolare necessario per il riconoscimento da parte del TCR di un linfocita T CD8⁺ (il sito di riconoscimento è delineato dal rettangolo rosa). **C**, Visione laterale dei domini α_1 e α_2 che evidenzia i punti di contatto del TCR su entrambe le α -eliche e i peptici antigenici. **D**, Visione laterale della molecola HLA di classe II che mostra la catena α (blu chiaro) e la catena β (blu scuro). Nella proteina di classe II, la tasca peptidica è formata dalle eliche di entrambi i domini α_1 e β_1 e con un pavimento (β -sheet) formato sempre da entrambi i domini α_1 e β_1 . **E**, Visione dall'alto di entrambi i domini α_1 e β_1 e del frammento peptidico antigenico processato, come si potrebbero vedere dal TCR di un linfocita T CD4⁺. **F**, Visione laterale che evidenzia i domini α_1 e β_1 e il peptide antigenico.

identifici sia un componente del 'self' che una struttura estranea microbica. L'elegante soluzione per riconoscere sia una struttura del 'self' che un determinante microbico è rappresentata dalla famiglia delle molecole MHC. Le molecole MHC (chiamate anche antigeni umani associati ai leucociti [HLA]) sono glicoproteine di superficie che legano frammenti peptidici delle proteine che sono state sintetizzate all'interno della cellula (molecole MHC di classe I) o che sono state ingerite dalla cellula e proteoliticamente processate (molecole MHC di classe II).

Le Molecole MHC di Classe I

Esistono tre famiglie di molecole HLA di classe I, denominate HLA-A, -B e -C, ognuna codificata da geni distinti. Le molecole HLA di classe I sono eterodimeri di superficie, formati da una catena α polimorfica ancorata alla membrana del peso molecolare di 44 Kd (denominata anche catena pesante di classe I) associata alla proteina non polimorfica β_2 -microglobulina di 12-Kd.⁸ La catena α determina se la molecola di classe I è una molecola HLA-A, -B o -C. I geni che codificano per la catena α HLA-A, -B, e -C sono posti sul cromosoma 6 (Fig. 2) mentre il gene che codifica per la β_2 -microglobulina è posto sul cromosoma 15. Il gene della catena α codifica per tre domini extracellulari (denominati 1, 2, e 3), per un dominio (o 'domain') transmembranario e per una breve coda intracellulare che ancora la proteina alla membrana cellulare (Fig. 3). Il dominio α_3 è costituito da cinque β -filamenti antiparalleli che formano una struttura simil-immunoglobulinica. I domini α_1 e α_2 codificano ognuno per una α -elica e varie β -eliche. I domini α_1 e α_2 si associano tra loro con la loro β -elica, formando una sorta di piattaforma su cui poggiano le due α -eliche. Le

eliche formano così una tasca (o nicchia) nella quale possono allocarsi i peptidi antigenici. Questo complesso molecolare MHC di classe I e peptide antigenico, produce una struttura che è il bersaglio molecolare del TCR. Il TCR prende contatto sia con il peptide antigenico che con le α -eliche che lo affiancano. Il TCR non ha un'affinità misurabile se il peptide antigenico è isolato e possiede una bassissima affinità per le molecole MHC che contengano peptidi diversi. Queste osservazioni formano la base molecolare per il fenomeno della cosiddetta "restrizione per l'MHC" descritta negli studi di Zinkernagel e Doherty, nei quali essi scoprirono che le cellule T potevano riconoscere l'antigene per il quale sono specifici solo se questo era presentato in associazione con una specifica molecola MHC.⁹ La conseguenza biologica chiave del fatto che i linfociti T riconoscano i peptici antigenici solo quando essi sono legati alla tasca di una molecola HLA, è che le cellule T ignorano gli antigeni liberi extracellulari e si focalizzano piuttosto sulle cellule che contengono l'antigene. Nel caso che delle cellule siano infettate da un patogeno, questo meccanismo permette alle cellule T di focalizzare la loro risposta sulle cellule infette. Il dominio 3 della catena pesante di MHC di classe I interagisce con la molecola CD8 espressa dai linfociti T CD8 ad attività citolitica.¹⁰ In questo modo il riconoscimento degli antigeni peptidici presentati in associazione con le molecole HLA di classe I è ristretto alle cellule citolitiche T CD8⁺. Una caratteristica peculiare delle molecole HLA è il loro polimorfismo strutturale. Nel Luglio 2002 il Comitato per la Nomenclatura dell'OMS ha riconosciuto l'esistenza di 250 diversi alleli nel locus HLA-A, 448 nel locus dell'HLA-B e 118 alleli nel locus HLA-C. Questo polimorfismo risiede per lo più negli amminoacidi localizzati nel pavimento e sui lati della tasca peptidi-

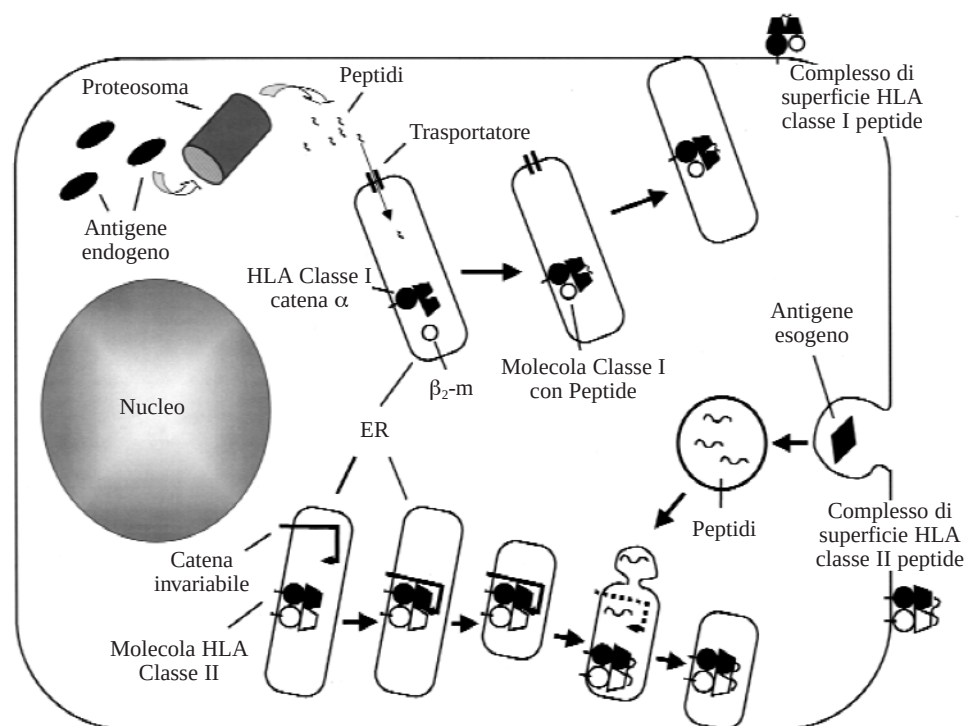


FIG 4. Via cellulare di processazione e presentazione dell'antigene. Le proteine di origine endogena sono digerite dal proteosoma e ridotte in piccoli frammenti peptidici che entrano nel reticolo endoplasmico (ER) grazie all'azione della proteina trasportatrice TAP. Qui i peptidi sono allocati sulla catena pesante della molecola di istocompatibilità di classe I che si associa con una subunità β_2 -m prima che sia trasportata sulla superficie cellulare dove il complesso può essere riconosciuto dai linfociti T CD8+. Gli antigeni esogeni sono introdotti all'interno della cellula con un meccanismo di fagocitosi o endocitosi, vengono digeriti per azione degli enzimi lisosomiali e trasportati nell'endosoma di classe II+ per essere allocati nella tasca della proteina di istocompatibilità di classe II. Le proteine di classe II appena sintetizzate si associano con una proteina a catena invariante che protegge la tasca peptidica fino a quando esse non vengono trasportate nell'endosoma di classe II+. In questo compartimento la catena invariante è degradata proteoliticamente e rimpiazzata dal peptide antigenico ad opera della proteina HLA-DM. Il complesso proteina di classe II-peptide così assemblato è poi trasportato fin sulla membrana plasmatica dove può essere riconosciuto dalle cellule T CD4+ (modificata con l'autorizzazione di Huston).

ca, ed il risultato è una diversa specificità di legame dei peptidi ai differenti alleli di classe I. Il fatto che esistano tre distinte famiglie di geni per HLA di classe I e che ciascuno di essi sia altamente polimorfo, significa che tutti gli individui eterozigoti per questi loci hanno sei distinte tasche peptidiche. Poiché ogni proteina di classe I può legare molti differenti peptidi, avere sei molecole leganti i peptidi significa avere la capacità di legare una collezione molto varia di peptidi antigenici. Per di più, a livello di popolazione, la varietà dei motivi che legano i peptidi è enorme. Mutazioni negli antigeni microbici possono permettere al microbo di evitare il legame (e, quindi, il riconoscimento) da parte di alcuni alleli HLA di classe I, ma nessuna mutazione potrà mai essere in grado di conferire al microbo la capacità di evitare del tutto il riconoscimento nella popolazione in generale. Generalmente, i peptidi antigenici che vengono trovati legati alla tasca peptidica delle molecole HLA di classe I derivano da proteine sintetizzate all'interno della cellula che espone le molecole di classe I. Di conseguenza, essi sono antigeni "endogeni". La "macchina" molecolare che genera questi frammenti peptidici a partire da proteine intracellulari e che li avvia alla tasca delle molecole di classe I è sempre meglio compreso (Fig. 4), ed è stato chiarito che frammenti peptidici vengono generati a par-

tire da proteine cellulari grazie all'azione del proteosoma, una sorta di fabbrica proteolitica formata da multiple subunità.¹¹ I peptidi generati dal proteosoma sono poi trasportati nel reticolo endoplasmico (ER) per azione di uno specifico trasportatore transmembranario formato da multiple subunità. Questo trasportatore contiene due subunità che legano l'ATP per questo denominate 'transporter associated with antigen presentation' di tipo 1 (TAP-1) o 2 (TAP-2) codificate dai geni localizzati nel complesso genico dell'MHC (Fig. 2). Una volta entrati nell'ER, i peptidi sono inseriti nella tasca peptidica delle molecole MHC di classe I ad opera di una proteina dell'ER, o tapasina.¹² L'interazione con la β_2 -microglobulina stabilizza il complesso che è quindi trasportato dal complesso di Golgi alle vescicole esocitiche che, a loro volta, rilasciano i complessi intatti sulla superficie cellulare. Questo processo è molto efficiente affinché i peptidi virali prodotti all'interno di una cellula infettata da virus vengano espressi sulla superficie cellulare in associazione con le molecole HLA di classe I in una forma che possa essere riconosciuta dalle cellule T CD8+ citotossiche. Questo meccanismo può anche essere messo in opera per la presentazione di frammenti di proteine tumore-specifiche che potrebbero essere utili bersagli per l'immunoterapia antitumorale.

Molecole MHC di classe II

Analogamente alle molecole di classe I, anche le molecole HLA di classe II sono costituite da due catene polipeptidiche, in questo caso transmembranarie, definite α e β .

Le tre proteine maggiori di classe II sono denominate HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP. Le molecole codificate in questa regione genica sono state inizialmente identificate sierologicamente e poi attraverso l'uso di test di immunità cellulare. Conseguentemente, la loro nomenclatura non sempre riflette quella dei geni che codificano per tali molecole. Questo è vero in particolare per HLA-DR, in cui i geni posti nella sottoregione HLA-DR codificano per una catena α (designata DRA) molto poco polimorfica (un allele comune e due molto rari) e per due catene polimorfiche β (designate DRB1 e DRB3) (Fig. 2). L'appaiamento della catena comune α con la catena DRB1 produce la proteina HLA-DRB1. Sono stati individuati più di 260 alleli HLA-DRB1. L'unione della catena comune α con la catena DRB3 produce molecole denominate da HLA-DRB2 a HLA-DRB9. Ci sono, in totale, 75 diversi alleli da HLA-DRB2 a HLA-DRB9. La sottoregione HLA-DQ codifica per una catena α polimorfica (22 alleli) e per una catena β polimorfica (53 alleli). La sottoregione HLA-DP codifica per una catena α polimorfica (20 alleli) e una catena polimorfica β (100 alleli). Poiché sia le catene α che le β di HLA-DQ e HLA-DP sono polimorfiche, ogni individuo può esprimere quattro differenti proteine HLA-DQ e quattro differenti proteine HLA-DP. Inoltre, poiché la catena α poco polimorfica dell'HLA-DR può appaiarsi con una catena HLA-DRB1 e una HLA-DRB3 sia del cromosoma materno che paterno, ogni individuo può esprimere fino a quattro distinte proteine HLA-DR. Ognuna di queste ha il potenziale per legare un largo repertorio di peptici antigenici rendendo difficile, per un patogeno, poter mutare la propria struttura in una forma non riconosciuta nel contesto di una proteina HLA di classe II. Ciascuna catena delle proteine di classe II contiene un corto ancoraggio citoplasmatico, un dominio transmembranario e due domini extracellulari denominati $\alpha 1$ e $\alpha 2$, per la catena α , $\beta 1$ e $\beta 2$ per la catena β . Quando le catene α e β si appaiano, i domini $\alpha 1$ e $\beta 1$ si combinano per formare la tasca nella quale alloggiavano i peptidi molto simile nella sua struttura a quella che si forma per l'associazione dei domini $\alpha 1$ e $\alpha 2$ delle proteine di classe I. I domini $\alpha 2$ e $\beta 2$ delle proteine entrano nella costituzione della tasca peptidica, ed il dominio $\beta 2$ interagisce anche con la molecola CD4, fornendo un meccanismo di riconoscimento ristretto degli antigeni presentati in associazione con le proteine di classe II alle cellule T CD4⁺. Le proteine di classe II sono espresse costitutivamente dalle cellule B, dalle cellule dendritiche, dai monociti/macrofagi ovvero da tutte le cellule che sono in grado di presentare gli antigeni ai linfociti T CD4⁺.¹³ L'espressione delle proteine MHC di classe II può essere indotta anche su altri tipi cellulari, tra i quali le cellule epiteliali ed endoteliali, dopo la stimolazione con IFN- γ , permettendo quindi a tali cellule di presentare antigeni ai linfociti T CD4⁺ a livello dei siti di flogosi.¹⁴

Gli antigeni presentati dalle proteine di classe II sono collocati nella tasca peptidica degli antigeni di istocompatibilità di classe II alla fine del ciclo "esogeno" che inizia con l'endocitosi o la fagocitosi di proteine extracellulari (Fig. 4). Gli antigeni esogeni sono proteine antigeniche dei patogeni extracellulari, come la maggior parte dei batteri, dei parassiti e delle particelle di virus rilasciate dalle cellule infettate e fagocitate. Gli antigeni fagocitati sono processati da enzimi proteolitici in modo da formare frammenti peptidici lineari all'interno di compartimenti intracellulari che si formano dalla fusione dei lisosomi con i vacuoli fagocitici o endosomi.¹⁵ I frammenti peptidici si accumulano, quindi, nel compartimento cellulare in cui incontrano le proteine di classe II appena sintetizzate. Le proteine di classe II arrivano in questo compartimento con la tasca peptidica ben protetta dall'associazione con la catena invariante di classe II.¹⁶ Nel compartimento nel quale si verifica l'associazione tra le molecole di classe II ed il peptide antigenico, la catena invariante viene rimossa per progressiva proteolisi della catena invariante e per opera della molecola HLA-DM. In seguito, il peptide antigenico rimpiazza i frammenti di catena invariante nelle proteine di classe II mature.¹⁷ Le proteine di classe II, così caricate con il peptide antigenico, sono quindi trasportate sulla superficie della cellula per fusione dell'endosoma con la membrana plasmatica.

Associazione tra alleli di HLA e suscettibilità alla malattia

Studi epidemiologici hanno dimostrato che più di 100 malattie si riscontrano con maggiore frequenza in individui dotati di particolari alleli HLA di classe I o II rispetto alla popolazione generale.¹⁸ L'importanza di questi effetti è sicuramente notevole, ma non assoluta. Per esempio, si passa dall'osservazione che tra il 90% e 95% dei pazienti caucasici con spondilite anchilosante sono HLA-B27¹⁹ all'osservazione che tra il 30% e il 50% dei pazienti caucasici affetti da diabete mellito di tipo I sono eterozigoti per HLA-DQ2/DQ8.²⁰

È interessante notare che HLA-DQ6 sembra fornire protezione dallo sviluppo di diabete di tipo I. La maggior parte delle malattie che mostrano un'associazione con la suscettibilità a particolari geni HLA hanno a che fare con l'autoimmunità. I meccanismi coi quali i genotipi HLA controllano la suscettibilità a queste malattie non è ancora precisamente definita, ma è probabile che la partecipazione delle molecole HLA nello stabilirsi della tolleranza o, nel permettere il riconoscimento degli antigeni ambientali sia la causa fondamentale di questo fenomeno.²¹ Gli alleli protettivi dell'HLA potrebbero mediare l'eliminazione nel timo di linfociti T potenzialmente patogeni, laddove gli alleli HLA suscettibili potrebbero essere i responsabili del fallimento dell'eliminazione dei linfociti T patogeni. I genotipi HLA possono anche essere causa fondamentale della responsività o della non-responsività a certi vaccini. Per esempio, i soggetti HLA-DR3⁺ presentano una aumentata incidenza di non responsività alla vaccinazione per il virus dell'epatite B.²²

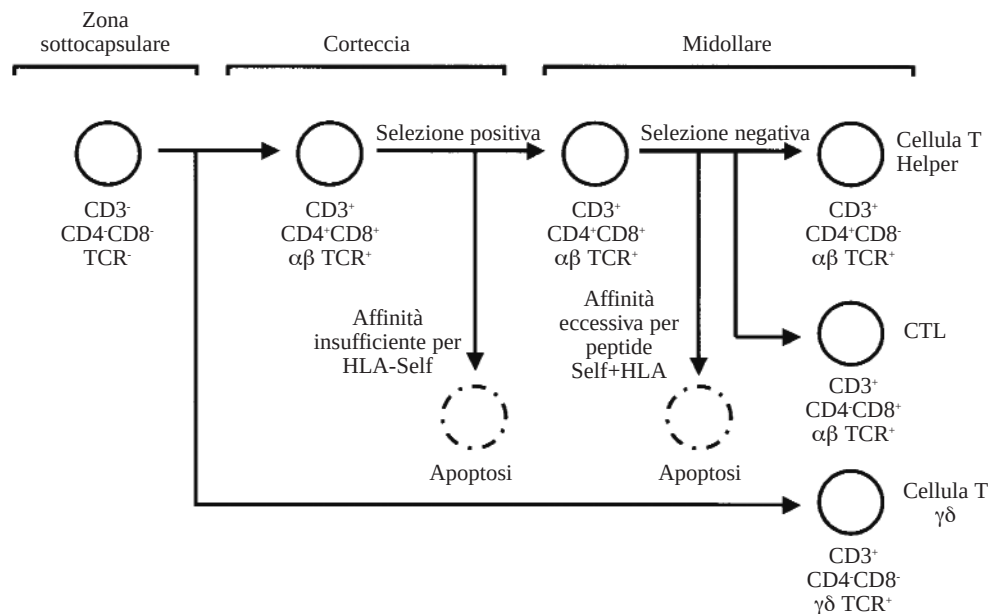


FIG. 5. Differenziazione e maturazione delle cellule T nel timo. Le cellule staminali ematopoietiche commissionate a differenziarsi in linfociti T fuoriescono dal midollo osseo e colonizzano la zona timica subcapsulare. Qui esse iniziano il riarrangiamento dei geni del TCR. Una volta che si sia prodotta una catena TCR β , le cellule migrano nella corteccia timica laddove avviene il riarrangiamento della catena α del TCR. A questo punto la cellula T esprime entrambe le proteine di superficie CD4 e CD8. Queste cellule doppio-positive (DP) subiscono una prima selezione positiva da parte delle cellule corticali epiteliali in base alla loro capacità di riconoscere proteine HLA proprie. Le cellule selezionate migrano quindi nella midollare timica dove subiscono una seconda selezione, stavolta negativa, ad opera delle cellule midollari epiteliali che rimuovono le cellule con eccessiva affinità per gli antigeni del 'self' presentati in associazione con le molecole HLA. Le cellule emergono dalla selezione positiva come cellule 'singolo-positivo' (SP) in quanto esprimono CD4 o CD8 e sono poi esportate in periferia. Le cellule che falliscono la selezione positiva o negativa sono rimosse per apoptosi. Una piccola frazione di cellule differenzia, riarrangiando, le catene ϵ e δ del TCR, invece che le catene α e β (modificato, con l'autorizzazione di Huston - vedi voce bibliografica 75).

LA PRESENTAZIONE DEGLI ANTIGENI HLA-INDIPENDENTE

La presentazione degli antigeni da parte delle molecole HLA di classe I e II ai linfociti T CD8⁺ e CD4⁺ è limitata agli antigeni proteici. Inizialmente si pensava che le risposte agli antigeni polisaccaridici e lipidici fossero ristrette a risposte indipendenti dai linfociti T con la conseguente attivazione diretta dei linfociti B da parte di antigeni con struttura ripetitiva; tuttavia, è stato recentemente riconosciuto che una classe di linfociti T è in grado di riconoscere antigeni presentati da molecole che non sono i classici antigeni HLA di classe I e II. Una di queste sottopopolazioni di linfociti T usa un recettore antigenico costituito da catene α e β ed è capace di riconoscere antigeni lipidici presentati in associazione con molecole CD1.²³ Le molecole CD1 sono strutturalmente correlate con le molecole HLA di classe I in quanto sono proteine transmembranarie con tre domini extracellulari e associate con la β_2 microglobulina. Si conoscono cinque diverse isoforme di CD1 nell'uomo definiti CD1a-CD1e, codificati da geni tra loro correlati non associati all'MHC. La cristallografia a raggi-X mostra che i domini $\alpha 1$ e $\alpha 2$ delle molecole CD1 si associano tra loro in modo simile alle molecole di MHC di classe I per formare una tasca di legame che può adattarsi ai componenti glicolipidici dei patogeni. I complessi

CD1-lipidi possono anche fungere da bersaglio per il riconoscimento da parte di linfociti T che usano il recettore T (vedi sotto). La presentazione dei lipidi microbici in associazione con le molecole CD1 sembra essere alla base del riconoscimento MHC-indipendente dei micobatteri da parte delle sottopopolazioni linfocitarie T, $\alpha\beta$ e $\gamma\delta$.

I linfociti T $\gamma\delta$ dell'uomo riconoscono gli antigeni anche in una maniera HLA-indipendente tramite l'interazione con proteine codificate dalle recentemente definite *MHC class I related chains* (MIC), in modo da espandere ulteriormente il repertorio di molecole che possono contribuire all'attivazione delle cellule T responsive.²⁴

I LINFOCITI T

La popolazione dei linfociti T è definita dalla espressione del recettore di superficie TCR $\alpha\beta$. Questo recettore si è evoluto per il riconoscimento degli antigeni peptidici presentati in associazione con le proteine MHC di classe I o II. I linfociti T si differenziano in varie sottopopolazioni, di cui una (linfociti T CD8⁺) ha la precipua funzione di uccidere cellule infettate da microbi intracellulari²⁵, mentre la seconda (linfociti T CD4⁺) è destinata alla regolazione delle risposte immuni sia cellulari che umorali.²⁶ I dettagli circa i meccanismi grazie ai quali linfociti T si

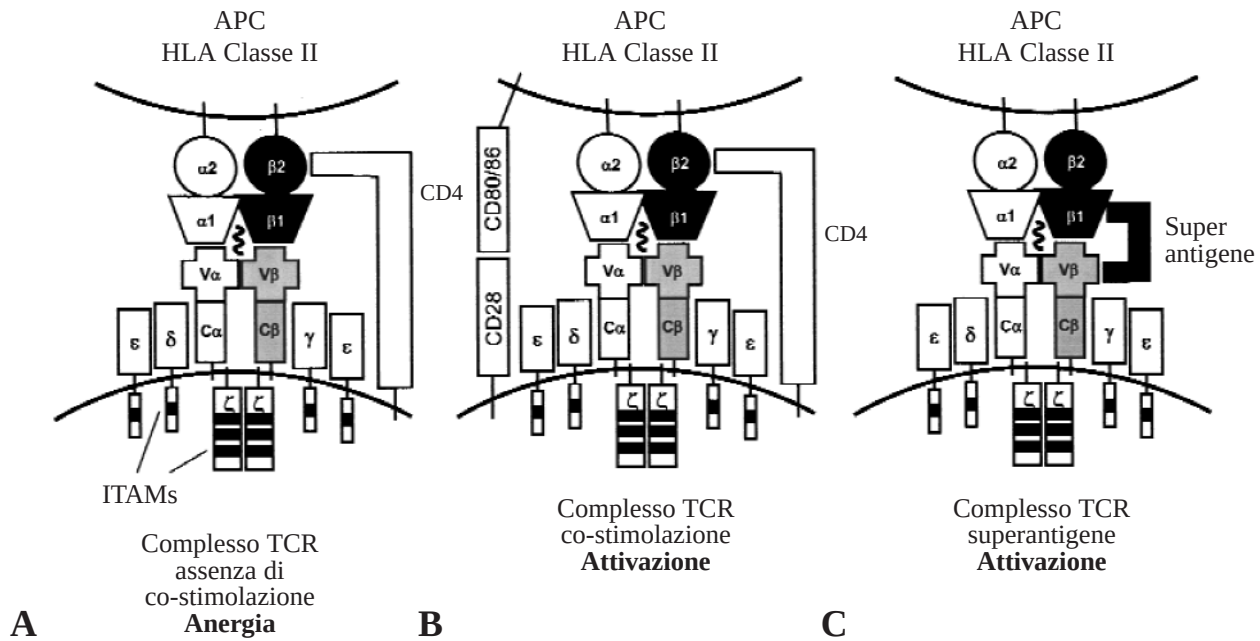


FIG. 6. Il T-cell receptor e l'attivazione della cellula T. A, il TCR completo include sia le catene riarrangiate, α e β , che le catene $CD3\gamma$, $CD3\delta$ e $CD3\zeta$. Le catene $CD3$ contengono molecole ITAM, nei loro domini citoplasmatici, che possono essere fosforilati in modo da attivare la cascata di segnalazione intracellulare che conduce alla attivazione della cellula T. L'ingaggio del TCR da parte del complesso MHC-peptide in assenza di molecole costimolatorie conduce ad anergia. B, l'ingaggio del TCR da parte del complesso MHC-peptide in presenza delle molecole costimolatorie $CD28$ (presente sulla cellula T) e $CD80$ o $CD86$. ($B7.1$ o $B7.2$) (presenti sulla APC) determina l'attivazione della cellula T. C, l'attivazione policlonale delle cellule T può essere originata da superantigeni che interagiscono al di fuori della tasca peptidica con la catena β_1 delle molecole MHC di classe II e con tutte le catene $V\beta$ di una particolare sottoclasse.

sviluppano, acquisiscono la loro specificità antigenica e sono poi regolati in seguito al riconoscimento antigenico nei tessuti periferici sono discussi nel capitolo 3. In questo capitolo viene fornita un'introduzione all'argomento.

Ontogenesi dei linfociti T

Ogni singola cellula T è dotata di recettori antigenici con una singola specificità. Se pensiamo ad un repertorio di linfociti T che siano in grado di proteggere l'individuo da tutti i possibili patogeni esistenti bisogna immaginare anche un enorme numero di cellule che codificano per una altrettanto vasta gamma di TCR. Questi recettori sono somaticamente assemblati da geni di variabilità, diversità e associazione ('joining') in modo da creare catene mature $V\alpha J\alpha$ e $V\beta D\beta J\beta$ mature (vedi capitolo 3). L'assemblaggio di questi elementi genici ha inizio dal gene "lymphoid-specific recombinase activating gene 1" (RAG1) e dalle proteine RAG2 che clivano il DNA in prossimità dei segmenti V, D e J. I segmenti genici vengono in seguito riuniti da una serie di enzimi riparatori del DNA fra cui la protein-chinasi DNA-dipendente, la Ku, la DNA ligasi IV e Artemis.²⁷ L'azione di questi enzimi ad attività ricombinasica conduce ad un apparentemente casuale assemblaggio di V, D e J, per cui si producono spesso geni non funzionali. La selezione delle cellule dotate di geni TCR funzionali

avviene nel timo (Fig. 5), un complesso organo linfoide localizzato nel mediastino anteriore alla base del collo.²⁸ Il timo contiene tre compartimenti. Nel primo compartimento, la zona subcapsulare, i protimociti ossei provenienti dal midollo iniziano a differenziarsi, proliferare e riarrangiare le catene β del TCR. Le cellule si spostano poi nella corteccia timica, dove gli elementi genici della catena α si riarrangiano, per formare un TCR $\alpha\beta$ funzionale e potenzialmente maturo. Nella corteccia le cellule saggiavano se i loro recettori hanno sufficiente affinità per le molecole MHC del self in modo da permettere loro, infine, di riconoscere i complessi antigene-MHC. Ciò è determinato dalle interazioni tra i linfociti in via di maturazione e l'epitelio corticale specializzato. Se il linfocita fallisce questa selezione positiva, allora va incontro ad apoptosi ed è eliminato dai macrofagi della corteccia timica. Infine, nella midollare timica le cellule sono analizzate per la loro potenziale auto-reattività. Le cellule autoreattive sono rimosse per apoptosi e le cellule sopravvissute alla selezione negativa approdano alla circolazione generale. Meno del 5% dei linfociti T sopravvive alla selezione positiva e negativa.

Approssimativamente il 90-95% dei linfociti T circolanti è dotato di TCR $\alpha\beta$. L'altro 5-10% utilizza un TCR alternativo, sempre eterodimerico, composto dalle catene δ (γ e δ). Anche le catene γ e δ si assemblano tramite riarrangiamento di elementi V, D (solo per la catena δ) e

TABELLA I. Struttura, funzione e distribuzione degli isotipi degli anticorpi.

Subunità	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgE
Forma*	5	1	1	1	1	1	1,2	1,2	1
Peso molecolare, kDa	950	175	150	150	150	150	160,4	160,4	190
Concentrazione sierica, mg/mL	2	0,03	10	4	1	0,5	2	0,5	0,003
Attivazione del complemento C/A§	+/-	-/+	++/+	++	++/+	-/+	-/+	-/+	-/-
Capacità legante del macrofago (FcR)	+	-	++	++	++	-	++	++	-
Sensibilizzazione mastocitaria	-	-	-	-	+	-	-	-	+++
Attraversamento placenta	-	-	++	+	++	+/-	-	-	-
Trasporto mucosale#	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-

* 5= pentamero, 2= dimero, 1= monomero

§ C= via classica, A= via alternativa

Solo dimero.

J ad opera di RAG1 e RAG2. Una porzione delle cellule T è generata nel timo, ma la maggior parte sembra essere generata in un compartimento extratimico, che da origine alle cellule che popolano in gran parte il tratto GI.³⁰

Il complesso recettoriale dei linfociti T

Le catene α e β antigene-specifiche del TCR si associano con le catene accessorie invariabili che fungono da trasduzione del segnale quando il TCR si lega al complesso antigene-MHC.³¹ Queste catene accessorie danno origine al complesso molecolare CD3 che consiste nelle catene transmembranarie CD3 γ , CD3 δ e CD3 ϵ più un omodimero prevalentemente intracitoplasmatico formato da due catene CD ζ . La stechiometria del complesso CD3 non è ancora completamente conosciuta ma sembra che ciascun paio di TCR $\alpha\beta$ si associ ad un eterodimero CD3 $\gamma\epsilon$, ad un eterodimero CD3 $\delta\epsilon$ ed ad un omodimero CD3 ζ (Fig. 6).

L'interazione del complesso TCR/CD3 con un peptide antigenico presentato in associazione con una molecola HLA fornisce solo un segnale parziale per l'attivazione cellulare. L'attivazione completa della cellula richiede infatti anche la partecipazione di una molecola costimolatoria, come ad esempio CD28, sulla cellula T e CD80 o CD86 (anche conosciute con la sigla B7.1 o B7.2, rispettivamente) sulla cellula presentante l'antigene (Fig. 6).³² Infatti, l'interazione del complesso MHC-peptide con il TCR in assenza di costimolazione conduce all'anergia, ovvero, ad una prolungata non responsività della cellula T.³³ Le porzioni intracitoplasmatiche di ciascuna delle catene CD3 contengono dei motivi in sequenza designati ITAMs (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*). Quando molecole chiave di tirosina presenti in queste sequenze ITAM sono fosforilate dalle chinasi recettore-associate Lck e Fyn, si origina una cascata attivatoria che coinvolge le proteine ZAP-70, LAT e SLP-76. L'attivazione di queste proteine porta a stimolazione della fosfolipasi C, all'attivazione della proteina G Ras e Rac ed anche all'attivazione sia della protein-chinasi C, che della protein-chinasi mitogeno-associata (MAP). Insieme, questo complesso di eventi attivanti conduce all'attivazione di geni che controllano la proliferazione e la differenziazione linfocitaria. Le vie

che regolano negativamente questo processo sono solo parzialmente conosciute; tuttavia è chiaro che la molecola di membrana CD45 è una molecola chiave tirosinofosfatasi con funzione de-attivante. Mutazioni che interessano la funzione di molte delle molecole coinvolte nei processi dei segnali di trasduzione intracellulare del segnale delle cellule linfoidi sono alla base di alcune sindromi di immunodeficienza primaria di tipo congenito (capitolo 12).

Le sottopopolazioni linfocitarie T

Durante il loro procedere attraverso il timo, le cellule T $\alpha\beta$ si differenziano in sottopopolazioni distinte, ciascuna delle quali dotata di repertori e funzioni effettrici ben definiti. Le sottopopolazioni più importanti sono classificate in base alla loro selettiva espressione di CD4 o CD8 di superficie. Nel timo, la maggior parte delle cellule T segue un programma di sviluppo durante il quale, nella corteccia, dapprima non esprime né CD4 né CD8 (cellule doppio negative) poi esprime sia CD4 che CD8 (cellule doppio positive [DP]).³⁵ Le cellule DP sono sottoposte ad una selezione positiva nella corteccia timica; quelle che sono selezionate su molecole di MHC di classe I diventano CD4- CD8+ e quelle che sono selezionate su molecole MHC di classe II diventano CD4+ CD8-, quindi si spostano nella midollare timica per la selezione negativa e infine raggiungono la periferia. Nel sangue e negli organi linfoidi secondari dal 60 al 70% delle cellule T sono CD4+CD8- (CD4+) e dal 30 al 40% sono CD4-CD8+ (CD8+).

Le cellule CD4+ sono generalmente designate come "cellule helper" ed agiscono nell'attivare sia la risposta immune umorale (*B-cell help*) che la risposta cellulare (risposte di ipersensibilità ritardata ed altre).

Le cellule CD8+ presentano una maggiore attività citotossica contro le cellule infettate da microbi intracellulari e contro le cellule tumorali, ma esistono in questa popolazione anche cellule che regolano negativamente (*down-regolazione*) le risposte immuni (cellule soppressorie).

Una classe importante di cellule regolatorie è caratterizzata da CD4+ CD25+ e secerne le citochine immunoregatorie TGF- β (transforming growth factor β) ed IL-

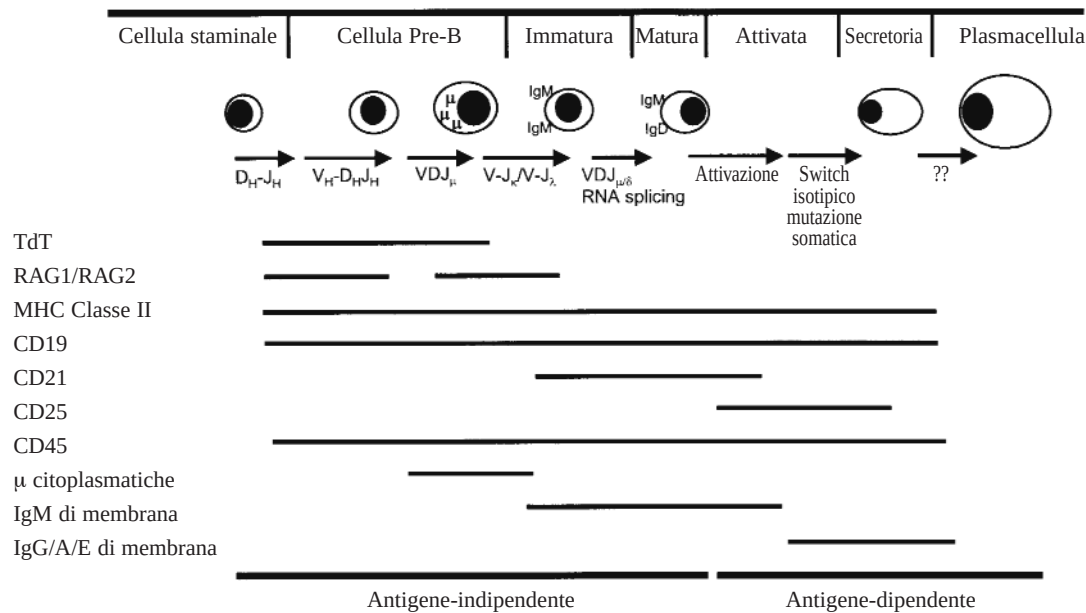


FIG. 7. Differenziazione e sviluppo delle cellule B. Le cellule B differenziano nel midollo osseo, a partire dalle cellule staminali, per diventare cellule mature che esprimono IgM e IgD di membrana. Questo si verifica in assenza dell'antigene. Nei tessuti linfoidi periferici, le cellule B possono quindi maturare ulteriormente sotto l'influenza dell'antigene e con l'aiuto delle cellule T, per andare incontro allo switch isotipico ed alla maturazione della loro affinità mediante mutazione somatica. I fattori che controllano la differenziazione finale da cellule B, secernenti anticorpi, a plasmacellule non sono ancora stati ben caratterizzati. Sono state dimostrate delle correlazioni tra lo stadio di differenziazione cellulare e l'espressione di molecole importanti nella cellula (TdT, RAG1/RAG2, catene μ citoplasmatiche) e sulla superficie cellulare (MHC classe II, CD19, CD21, CD25, CD45 e Ig di superficie). Modificata con il permesso di Huston (vedi voce bibliografica 75)

10.³⁶ Circa il 5-10% delle cellule T presenti nel sangue periferico, nei linfonodi e nella milza sono CD4-CD8. Alcune di queste cellule usano recettori TCR $\alpha\beta$ ed altre recettori TCR $\gamma\delta$. Le cellule doppio negative non riconoscono gli antigeni nel contesto dell'MHC di classe I o di classe II. Alcune di queste cellule riconoscono gli antigeni in associazione con la molecola MHC I-correlata CD1 che è adattata alla presentazione di componenti glicolipidici dei micobatteri e di altri microbi.²³ Una sottopopolazione di cellule doppio negative $\gamma\delta$ riconosce MIC (MHC class I related protein).²⁴ Sia le cellule CD4+ che CD8+ si differenziano in sottopopolazioni funzionalmente distinte dal dopo l'esposizione all'antigene. La differenziazione delle cellule T CD4+ da cellule 'vergini' (o naïve) ad effettori è molto ben conosciuta.³⁷ Le cellule CD4+ naïve a riposo (o cellule T helper, [Th]) liberano piccole quantità di citochine. Immediatamente dopo la stimolazione da parte dell'antigene e dell'APC, le cellule Th cominciano a produrre IL-2 e sono designate come cellule Th0. Via via che le cellule Th continuano a rispondere al segnale attivante, esse differenziano verso i fenotipi funzionali Th1 e Th2, sulla base del tipo di citochine presenti nel sito di attivazione.³⁸ L'IL-12 prodotta dai macrofagi o dalle cellule NK induce la differenziazione verso i Th1 mentre la IL-4 prodotta dalle cellule T NK1.1+ o dai mastociti induce la differenziazione verso il fenotipo Th2. Le cellule Th1 sono caratterizzate dalla produzione di IL-2, IFN- γ e linfofossina, mentre le cellule Th2 produ-

cono IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 e GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor) (vedi tabella IV, capitolo 3). Nella maggior parte delle risposte immuni, le cellule Th mostrano una combinazione delle caratteristiche di Th1 e Th2; tuttavia dopo una immunizzazione prolungata, la risposta può diventare prevalentemente Th1 o Th2. Generalmente, le cellule Th1 sono responsabili delle risposte cellulo-mediate e le cellule Th2 sono responsabili delle risposte umorali, di quelle verso gli elminti e delle risposte allergiche. Anche le cellule T CD8+ possono dare origine a risposte caratterizzate da produzione di citochine di tipo 1 o di tipo 2, nel qual caso le cellule sono designate come cellule citotossiche di tipo 1 (Tc 1) e di tipo 2 (Tc 2).³⁹ La comprensione dei fattori che determinano se una risposta Th predominante si indirizzi verso il fenotipo Th1 o Th2 è cruciale per l'allergologo/immunologo clinico. I recenti progressi ottenuti nell'immunizzazione utilizzando differenti tipi di adiuvanti (ad es. CpG DNA) dimostrano che è fattibile riprogrammare nei soggetti atopici le risposte di tipo allergico dominate dalle cellule Th2 indirizzandole verso una risposta protettiva di tipo Th1.⁴⁰

I Superantigeni

Gli antigeni convenzionali si legano ad una porzione di molecole MHC e ad una piccolissima frazione dell'impressionante dispiegamento di recettori delle cellule T. Di conseguenza un peptide antigenico convenzionale atti-

va solo una piccolissima parte del 'pool' totale di cellule T. I superantigeni, viceversa, sono prodotti microbici che si legano ad un vasto numero di TCR e di molecole MHC, cosicchè un singolo superantigene può attivare fino al 20% e più dei linfociti T totali di 1 uomo. Il superantigene opera legandosi senza necessità di processazione proteolitica alla molecola MHC al di fuori della tasca legante l'antigene e a proteine del TRC esternamente al sito legante l'antigene MHC (Fig. 6). Per esempio la tossina 1 (TSTT-1) della sindrome da shock settico prodotta dallo *Staphylococcus aureus* può attivare tutte le cellule T dotate del TCR che possiedono catene $V\beta_2$ e $V\beta_{5.1}$. L'attivazione di un così ampio numero di cellule T indotto dai superantigeni è responsabile della massiva liberazione di citochine ed altri mediatori che determinano condizioni cliniche quali la sindrome da shock tossico.⁴¹

I LINFOCITI B

Ontogenesi B e recettore per l'antigene dei linfociti B

I linfociti B costituiscono circa il 15% dei leucociti del sangue periferico e sono caratterizzati dalla produzione di Ig. Ad eccezione di quanto detto sopra, le molecole Ig sono composte da due catene pesanti identiche di 50 kDa e da due catene leggere identiche di 25 kDa di tipo κ o λ (vedi Fig. 2, Capitolo 3). Le porzioni amino-terminali delle catene pesanti e leggere variano, nelle loro sequenze aminoacidiche, da una molecola anticorpale all'altra. Queste porzioni variabili sono designate V_H e V_K o V_λ , rispettivamente. La giustapposizione di un segmento V_H e di un segmento V_K o V_λ crea la porzione legante l'antigene della molecola Ig intera. Le regioni variabili, sia delle catene pesanti che delle catene leggere, contengono tre sub-regioni altamente variabili nell'ambito delle differenti molecole anticorpali. Queste sequenze ipervariabili costituiscono il dominio legante l'antigene della molecola. In tal modo, ogni Ig ha due identici siti di legame. Le porzioni carbossi-terminali delle catene leggere e pesanti sono costanti in ciascuna sottoclasse di anticorpi. Le regioni costanti della catena pesante si appaiano a formare il dominio Fc della molecola, che è responsabile della maggior parte delle funzioni effettrici della molecola Ig, incluso il legame con i recettori per Fc e l'attivazione del complemento.

I geni che codificano per la catena leggera κ sono situati sul cromosoma 2 e i geni che codificano la catena leggera λ sono posti sul cromosoma 22. Il locus genico per la catena pesante è posto sul cromosoma 14. I loci che codificano, per le catene leggere e pesanti, sono composti ciascuno da una serie di elementi genici V (variabili) seguiti da diversi segmenti D (diversità), questi ultimi solo per le catene pesanti, alcuni segmenti J (joining) e da esoni C (regione costante). I geni delle regioni costanti delle catene leggere sia di tipo κ che λ sono codificati come singoli esoni. Il gene delle catene pesanti, al contrario, contiene esoni che codificano nove differenti regioni costanti che servono a generare le differenti classi e sottoclassi di Ig (Tabella 1).

Le cellule B si differenziano dalle cellule progenitrici

staminali ematopoietiche a livello del midollo osseo. È qui che i loro recettori per l'antigene (Ig di superficie) sono assemblati da "building blocks" genetici in un processo mediato da RAG1/RAG2 in modo analogo a quello usato per la produzione di TCR funzionali. La porzione amino-terminale di ciascuna catena pesante è creata dalla combinazione somatica di geni che codificano per una regione variabile (V_H), una regione della diversità (D_H) e per una regione joining (J_H). L'unione di geni che codificano per la parte variabile e costante delle catene leggere genera la porzione amino-terminale delle catene leggere. Le giunzioni V_H-J_H e V_L-J_L delle catene leggere che si originano da questa ricombinazione danno origine alla terza porzione ipervariabile che contribuisce alla formazione del sito che lega l'antigene. La diversità nella sequenza aminoacidica della terza regione ipervariabile è il risultato di un legame combinatorio V-D-J ed anche di sequenze non codificanti aggiunte nei siti di giunzione dall'azione dell'enzima disossinucleotidil transferasi terminale (TdT) che è espresso nelle cellule B in via di sviluppo per tutto il tempo in cui si verifica il riarrangiamento genico.

Come si sviluppa il repertorio delle cellule B

La differenziazione delle cellule staminali verso la linea B dipende dalle cellule stromali midollari che producono IL-7. Lo sviluppo delle cellule B segue un programma di espressione differenziale degli antigeni di superficie e di riarrangiamento genico sequenziale delle catene leggere e pesanti (Fig. 7). Inizialmente, il complesso enzimatico ricombinasi catalizza la fusione di una delle regioni geniche D_H a una regione genica J_H con delezione delle sequenze di DNA interposte. Questa ricombinazione D_HJ_H avviene su entrambi i cromosomi. In un secondo momento, la ricombinasi unisce uno dei geni della regione V_H con il gene riarrangiato D_HJ_H . In questa fase viene espressa TdT, che permette l'aggiunta casuale di nucleotidi nei siti di unione D_H-J_H e $V_H-D_HJ_H$, aumentando il potenziale di diversità delle sequenze aminoacidiche codificate dal gene riarrangiato $V_HD_HJ_H$. L'elemento riarrangiato $V_HD_HJ_H$ forma la maggior parte dell'esone in posizione 5' di questo gene riarrangiato genico della catena pesante ed è seguito da esoni che codificano per la regione costante della catena μ che si abbina ad una catena leggera per produrre IgM e ancora più a valle da esoni che codificano per la regione costante della catena δ utilizzata per formare le IgD. Le catene μ e δ sono prodotte come risultato di uno splicing alternativo dell'RNA dell'esone $V_HD_HJ_H$ sia sugli esoni che codificano per μ che di quelli di δ . Se il riarrangiamento degli elementi V_H , D_H e J_H produce un trascritto per la catena pesante che è compreso nella cornice di lettura e codifica per una catena pesante proteica di tipo funzionale, una volta che la catena pesante è prodotta, si abbina nella cellula con due proteine, λ_5 e V_{preB} , che agiscono come una sorta di surrogato della catena leggera in modo da formare il recettore della cellula pre-B. L'espressione di questo recettore pre-B sulla superficie cellulare previene il riarrangiamento di V_H a D_HJ_H sull'altro cromosoma, facendo sì che la cellula B in via di sviluppo sia caratterizzata da

una specificità antigenica. Questo processo è chiamato esclusione allelica. Se il primo riarrangiamento $V_H D_H J_H$ è al di fuori della cornice di lettura e non produce una proteina funzionale della catena pesante, allora un gene V_H si riarrangia sull'altro cromosoma in un secondo tentativo di riarrangiamento del gene della catena pesante. Se anche questo tentativo di riarrangiamento non ha successo, la cellula va incontro ad apoptosi ed è eliminata. Una volta che la catena pesante funzionale sia stata prodotta, la cellula down-regola il proprio gene TdT e inizia il riarrangiamento della catena leggera. Per primo, si riarrangia un elemento V_K ponendosi in contiguità con un elemento J_K . Se in questo modo si forma una catena leggera funzionante, allora la catena leggera κ si abbina con la catena pesante per formare una proteina Ig intera funzionante e ogni altro tentativo di riarrangiamento della catena leggera termina. Se invece il primo riarrangiamento κ fallisce, allora il riarrangiamento si verifica sull'altro cromosoma. Se anche questo fallisce, allora si verifica il riarrangiamento delle catene λ . I geni RAG1 e RAG2 sono espressi esclusivamente durante il riarrangiamento delle catene pesanti e leggere, eccetto che in alcune cellule B che esprimono recettori autoreattivi che sembrano capaci di esprimere nuovamente i loro geni RAG e vanno incontro ad una sorta di "revisione del recettore" mediante un riarrangiamento secondario dei geni delle catene leggere.⁴³ Tutti questi processi sfociano in un assemblaggio delle componenti che legano l'antigene proprie del recettore della cellula B. Come il TCR, il recettore completo della cellula contiene delle proteine addizionali di transmembranarie di tipo invariante denominate $Ig\alpha$ e $Ig\beta$ che attivano i segnali intracellulari dopo il legame del recettore all'antigene.⁴⁴ Anche le cellule B possiedono un complesso co-recettoriale che è costituito da CD19, CD81 e di CD21 (recettore per il complemento 2) e che è attivato dal legame con la proteina attivata del complemento C3d.⁴⁵ Sia $Ig\alpha$ che $Ig\beta$ posseggono domini ITAM nella loro regione citoplasmatica ed usano vie di trasduzione del segnale simili a quelle delle cellule T. La via di 'signalling' propria delle cellule B comprende la famiglia src delle chinasi -Blk, Fyn e Lyn- che fosforilano le sequenze ITAM poste sulle catene $Ig\alpha$ e $Ig\beta$. Il segnale di attivazione passa, poi, attraverso la tirosin chinasi Syk e la proteina *linker* BLNK alle componenti del signalling poste a valle quali la fosfolipasi C e i fattori di scambio del nucleotide guanina. Infine, come per le cellule T, l'attivazione della protein chinasi C, la mobilitazione del calcio e l'attivazione Ras/Rac-dipendente delle MAP-chinasi conducono all'attivazione di nuove trascrizioni geniche che inducono la proliferazione e la maturazione cellulare.

Lo switch isotipico e la maturazione per affinità

Le cellule B vergini (B naïve) esprimono IgM ed IgD sulla superficie cellulare. Questi due isotipi immunoglobulinici sono dovuti allo splicing alternativo dello stesso esone $V_H D_H J_H$ con gli esoni delle catene pesanti μ e δ . Per ciascun gene delle catene pesanti, lo splicing alternativo permette sia l'espressione degli anticorpi legati alla membrana (splicing di un esone di transmembrana) che

di quelli secreti e dal momento che la cellula B matura sotto l'influenza dei linfociti T helper, le citochine di derivazione T-cellulare sono responsabili dello switch isotipico. Lo switch isotipico è un processo per cui il riarrangiamento del DNA è mediato in parte dall'enzima AID (attività citidinica deaminasica indotta dell'attivazione), enzima che ha una sequenza omologa alle deaminasi per la processazione dell'RNA. Lo switch sposta l'esone riarrangiato $V_H D_H J_H$ in una posizione immediatamente a monte degli esoni della catena pesante alternativa.⁴⁶ Questo fa sì che un esone funzionalmente riarrangiato $V_H D_H J_H$ possa essere utilizzato per la produzione anticorpi di isotipo differente ma dotati della medesima specificità antigenica. L'IL-10 prodotta dai linfociti T è responsabile dello switch a IgG1 e IgG3. La IL-4 e l'IL-13 causano lo switch verso le IgE mentre il Transforming Growth Factor- β causa lo switch per la produzione di IgA. L'IFN- γ o altri prodotti ancora sconosciuti delle cellule Th1 sembrano essere responsabili dell'induzione dello switch verso le IgG2.

Nello stesso tempo in cui le cellule B vanno incontro allo switch isotipico, un processo attivo è responsabile di mutazioni, apparentemente casuali, nella porzione legante l'antigene, sia delle catene leggere che di quelle pesanti. Anche questo processo sembra richiedere AID.⁴⁶ Se queste mutazioni hanno come risultato una perdita di affinità per l'antigene, la cellula perde importanti segnali di crescita mediati dal recettore e muore. Se, viceversa, le mutazioni hanno come risultato un'aumentata affinità per l'antigene, allora la cellula che produce quel particolare anticorpo prolifera in risposta all'antigene e cresce fino a dominare sulle restanti cellule responsive. La mutazione somatica e l'espansione clonale delle cellule mutate si verificano nei centri germinativi dei tessuti linfoidi secondari.⁴⁷

La risposta B-cellulare T dipendente

Gli antigeni che attivano le cellule T, attivano anche le cellule B, dando origine a risposte anticorpali in cui le cellule T forniscono un "help" per la maturazione delle cellule B. Questa maturazione include sia l'induzione dello switch isotipico, in cui le citochine prodotte dalle cellule T indirizzano l'isotipo delle Ig prodotte, che l'attivazione delle mutazioni somatiche. Le interazioni cellulari che sono alla base dell'azione 'help' delle cellule T sono dipendenti dallo specifico antigene e traggono vantaggio dalla capacità delle cellule B di agire come cellule APC. Le cellule B, che catturano l'antigene per il quale sono commissionate attraverso le loro Ig di membrana, internalizzano l'antigene e lo processano al loro interno per poi presentarlo sulla superficie cellulare in associazione a molecole HLA di classe II. La 'cattura' dell'antigene (*uptake*) aumenta l'espressione delle molecole di istocompatibilità di classe II ed anche di CD80 e di CD86. Le cellule T attivate dalla combinazione, sulla cellula B, di molecole co-stimolatorie e complesso antigene molecole di classe II, inviano segnali attivatori alla cellula B mediante l'interazione tra ligando di CD40 (CD40L) posto sulla cellula T e la molecola CD40 posta sulla superficie della cellula B. Il 'signaling' attraverso

l'interazione CD40/CD40L è essenziale per l'induzione dello *switch* isotipico. Pazienti con mutazioni del gene che codifica per CD40L che è posto sul cromosoma X presentano una sindrome da iper-IgM autosomica recessiva.^{48,49} Lo *switch* isotipico e le mutazioni somatiche sono fortemente associate allo sviluppo di cellule B della memoria. Le risposte di memoria, definite come rapida induzione di elevati livelli di anticorpi ad alta affinità dopo una stimolazione secondaria con l'antigene, sono caratterizzate dalla produzione di anticorpi IgG, IgA e IgE e da mutazioni somatiche nei domini leganti l'antigene delle catene leggere e pesanti di questi anticorpi.⁵⁰ Lo sviluppo di cellule B della memoria è un evento critico per il successo delle procedure vaccinali nei confronti dei patogeni e, d'altro canto, è anche responsabile del perpetuarsi delle risposte patologiche che sono caratteristiche delle malattie autoimmuni ed allergiche. Capire come aumentare (o ridurre) le risposte di memoria avrebbe delle ricadute terapeutiche di estrema importanza per l'immunologo clinico.

Le risposte B-cellulari T-indipendenti

Le cellule B possono anche essere attivate con successo senza l'aiuto delle cellule T. L'attivazione delle cellule B T-indipendente avviene in assenza delle proteine costimolatorie delle cellule T. In assenza di costimolatori, gli antigeni monomerici sono incapaci di attivare le cellule B. Gli antigeni polimerici con strutture ripetitive sono, viceversa, in grado di attivare ugualmente le cellule B, probabilmente in quanto essi possono legare a ponte e raggruppare le molecole immunoglobuliniche sulla superficie delle cellule B. Gli antigeni T-indipendenti includono i lipopolisaccaridi batterici, alcuni polisaccaridi polimerici ed alcune proteine polimeriche. Le mutazioni somatiche non si verificano nella maggior parte delle risposte anticorpali T-indipendenti e di conseguenza la memoria immunologica nei confronti degli antigeni T-indipendenti è generalmente debole. Questa è la ragione per cui è difficile creare dei vaccini realmente protettivi per i componenti polisaccaridici dei microbi. Un legame covalente della componente polisaccaridica ad una proteina 'carrier' al fine di reclutare l'aiuto della cellula T nella risposta può migliorare la risposta memoria.

IL RUOLO DEI TESSUTI LINFODI

Le interazioni cellulari sono essenziali per una risposta immunologica normale, regolata ed efficiente. In particolare, l'azione 'help' delle cellule T è necessaria per la produzione di anticorpi ad alta affinità della memoria diretti contro la maggior parte delle proteine antigeniche. La sfida più importante per il sistema immune, in un soggetto 'naïve', è mettere insieme le poche cellule B specifiche per un antigene con le poche cellule T specifiche per lo stesso antigene e cellule APC cariche di antigeni. Il ruolo principale dei tessuti linfoidi secondari è appunto quello di facilitare queste interazioni. Generalmente gli organi linfoidi secondari contengono zone ricche di cellule B (follicoli) ed altre zone ricche di cellule T.⁵¹ Le

zone in cui sono presenti le cellule B contengono ammassi di cellule dendritiche follicolari (FDC) che legano i complessi antigene-anticorpo e forniscono i siti adatti per una efficiente maturazione B-cellulare, per la mutazione somatica e per la selezione di cellule B ad alta affinità. Le zone T-dipendenti invece contengono un gran numero di cellule dendritiche che sono potenti cellule APC per l'attivazione T. I tessuti contengono anche strutture vascolari specializzate per il reclutamento di cellule al loro interno. Le venule ad alto endotelio nei linfonodi, la placche del Peyer ed i tessuti linfatici, associati alle mucose, sono siti vascolari che consentono un efficiente stravasamento delle cellule T e le cellule B naïve dal circolo e verso gli organi linfoidi. I vasi sanguigni del seno marginale probabilmente svolgono una funzione simile a livello splenico. I vasi linfatici afferenti consentono un efficiente ingresso di cellule presentanti cariche di antigene (come le cellule di Langerhans dell'epidermide) dai tessuti periferici ai linfonodi ed i vasi efferenti linfatici permettono una altrettanto efficiente fuoriuscita di cellule venute a contatto con l'antigene verso il torrente circolatorio. Il rilascio programmato e distinto di chemochine a livello dei tessuti linfoidi orchestra l'ingresso sia delle cellule B e T responsive all'antigene ma anche la migrazione delle cellule B attivate e delle cellule T selezionate verso le FDC, dove si possono quindi formare i centri germinativi.⁵²

Potenti adiuvanti possono indurre un certo grado di maturazione per affinità anche nelle condizioni di assenza congenita di linfonodi o di placche del Peyer: tuttavia questi organi linfoidi secondari sono generalmente essenziali per l'induzione di una risposta immune efficiente e protettiva.

IL "SIGNALING" DELLE CITOCINE

Le citochine agiscono sulle cellule attraverso recettori transmembranari posti sulla superficie cellulare. Il legame di una citochina al proprio recettore da inizio alla risposta cellulare in quanto si attiva una via intracellulare di trasduzione del segnale che porta in ultima analisi alla induzione della trascrizione di nuovi geni ed alla sintesi di nuove proteine. La maggior parte dei recettori delle citochine inducono 'signaling' utilizzando una delle molecole della famiglia delle Janus chinasi (Jak) che agiscono sulle proteine facenti parte della famiglia STAT (signal transducers and activators of transcription). Specifiche proteine Jak si associano con i domini intracitoplasmatici dei recettori delle citochine. Quando le citochine, attraverso il legame con il proprio recettore, danno un segnale attivatorio, Jak dà luogo alla fosforilazione delle rispettive proteine STAT che dimerizza e trasloca nel nucleo, dando inizio alla trascrizione genica. Il ruolo essenziale delle proteine Jak e STAT nella immunoregolazione è ben dimostrato negli individui con deficit ereditario di queste molecole (vedi Capitolo 12). Jak 3 interagisce con la proteina γ_c , subunità in comune con vari recettori di citochine tra i quali i recettori per IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 ed IL-15. La carenza di Jak3, che è codificata in modo autosomico, è causa di una grave forma di

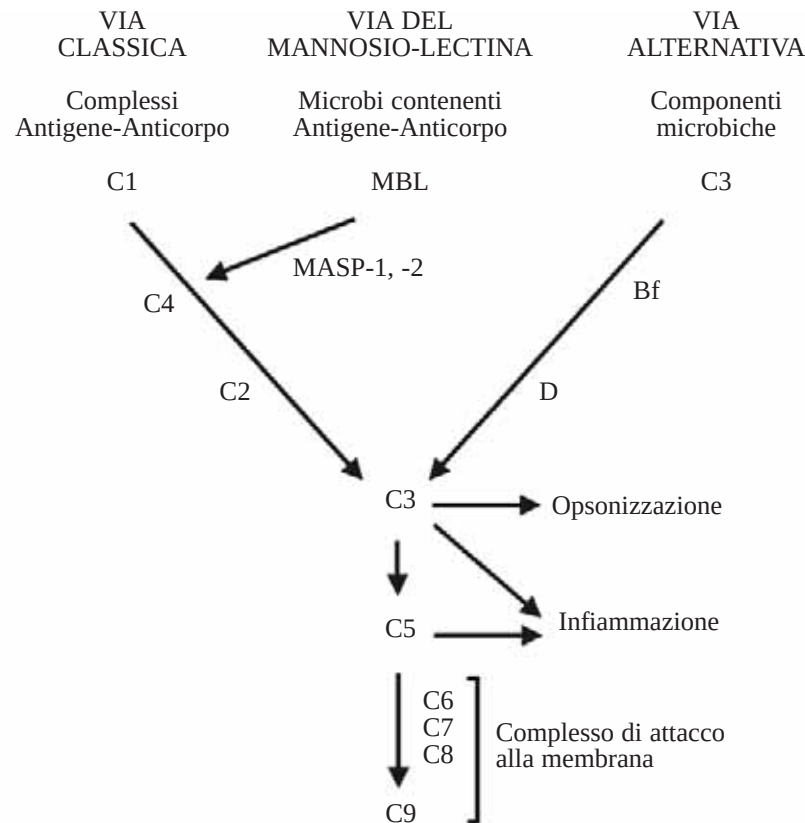


FIG. 8. Vie di attivazione del complemento. Tre distinte vie portano all'attivazione del complemento. La 'via classica' è attivata dal complesso IgM, IgG1 o IgG3 con l'antigene. Questo complesso attiva la proteolisi di C1, che cliva le sub-unità C4 e C2 in modo che si formi la C3 convertasi. La via del Mannosio-Lectina è attivata dall'interazione di microbi che contengono mannani con MBL che attivano MASP-1 e MASP-2 in modo da clivare C4 e C2 nuovamente perché si formi la C3 convertasi. La 'via alternativa' è attivata dall'interazione tra antigeni microbici e proteine regolatorie inibitorie del complemento. Questo complesso permette l'autoattivazione della via in cui C3 interagisce con il fattore B e con il fattore D perché si generi la C3 convertasi.

Le convertasi clivano C3 per generare l'anafilotossina C3a e depositare C3b sulla particella microbica attivante o sugli immunocomplessi. Ne consegue l'opsonizzazione delle particelle microbiche in modo che vengano fagocitate con l'attivazione del complesso di attacco alla membrana. Anche C5 è clivata in modo proteolitico così da formare i fram

nario il cui dominio extracellulare conteneva unità ripetitive ricche di leucina e il suo dominio intracitoplasmatico aveva omologie con il dominio del recettore per IL-1 dei mammiferi (designato come TIR, Toll/IL-1 receptor domain). Questo suggerì che vi potevano essere omologhi di Toll anche nei mammiferi. Infatti sono stati finora identificati 10 diversi recettori Toll nell'uomo. I TLR sembrano legati al riconoscimento di strutture molecolari proprie dei patogeni (pattern associated molecular patterns, PAMPs).⁵⁸ Questi includono il lipopolisaccaride dei batteri Gram negativi, i peptidoglicani, l'acido lipoteicoico, i lipoarabinomannani e il DNA non metilato contenente motivi CpG tipici del DNA dei batteri. I TLR sono particolarmente abbondanti nei macrofagi e nelle cellule dendritiche ma sono anche espressi su neutrofili, eosinofili, cellule epiteliali e cheratinociti. L'attivazione della maggior parte dei recettori Toll dà origine a mediatori che indirizzano le cellule T verso risposte di tipo Th1. Il TLR9, attivato dall'interazione con CpG DNA, fornisce la base molecolare per far deviare la risposta atopica dovuta alle cellule Th2 verso una risposta non atopica protettiva dominata dalle cellule Th1.⁵⁹

I fagociti

Le più importanti cellule fagocitiche sono rappresentate dai neutrofili, macrofagi e monociti. Queste cellule ingeriscono i patogeni ed usano vacuoli intracellulari per immagazzinare molecole effettrici tossiche come ossido nitrico, superossido ed enzimi di degradazione, nel tentativo di distruggere i microrganismi. Le cellule fagocitiche usano una grande varietà di recettori per Fc e recettori per il complemento per aumentare la fagocitosi di particelle "marcate" dall'immunità innata e specifica affinché vengano distrutte. (vedi Capitolo 12 per ulteriori informazioni sulle cellule fagocitiche).

Le cellule Natural Killer

Si pensa che le cellule NK rappresentino una terza linea di cellule linfoidi. Quando sono attivate, queste hanno la morfologia di un grande linfocita granulare (*"large granular lymphocyte"*). Si sviluppano nel midollo osseo sotto l'influenza di IL-2, di IL-15 e delle cellule stromali midollari. Rappresentano solo una piccola percentuale delle cellule del sangue periferico ed una piccola frazione delle cellule linfoidi nella milza e negli altri tessuti linfoidi secondari. Le cellule NK non hanno recettori antigene-specifici. La loro attività citotossica è inibita dal riconoscimento delle molecole MHC del *self* per l'azione di recettori inibitori posti sulla superficie che riconoscono le molecole di classe I. Di conseguenza esse uccidono le cellule proprie dell'organismo che hanno una diminuita espressione di molecole di classe I. Questo è importante nella difesa dell'ospite in quanto molti virus hanno sviluppato meccanismi per diminuire l'espressione delle molecole di classe I nelle cellule infettate come strategia per evitare il riconoscimento da parte delle cellule CD8+ ad attività citotossica. Le cellule NK possiedono anche recettori attivanti. La natura dei ligandi per questi recettori ed i meccanismi mediante i quali esse

contribuiscono ad identificare gli idonei bersagli per la citotossicità NK, sono ancora in fase di studio. Le cellule NK sono in grado di distruggere le cellule bersaglio mediante citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente. Esse hanno prevalentemente attività antitumorale e sono dei potenti killer per le cellule infettate da virus.⁶⁰

Il sistema complementare

Il sistema del complemento è un meccanismo effettore di estrema importanza sia nell'immunità adattativa che innata. Il sistema del complemento è composto da più di 25 proteine plasmatiche e di superficie che includono tre distinte vie di attivazione nonché vie regolatorie negative sia solubili che legate alla membrana.^{1,61} Molte proteine della via di attivazione sono delle proteinasi e l'attivazione avviene sotto forma di attivazione proteolitica a cascata di uno zimogeno (o proenzima) che quindi attiva il successivo zimogeno (Fig. 8) la funzione precipua della via di attivazione del complemento consiste nel marcare in modo permanente il bersaglio in modo da distruggerlo, nel reclutare altre proteine e cellule in modo da facilitare la distruzione del bersaglio e, in caso di virus e batteri, nel partecipare direttamente al processo distruttivo mediante lisi osmotica.

I complessi antigene-anticorpo forniscono il segnale per l'attivazione della via classica del complemento. L'attivazione sequenziale delle componenti complementari C1, C4 e C2 dà origine all'enzima chiave della cascata, l'enzima C3 convertasi. L'azione della convertasi è di clivare ed attivare il C3. Il clivaggio dà origine alla liberazione del piccolo frammento C3a, una potente anafilotossina che determina la degranolazione dei mastociti, causa edema e recluta cellule fagocitiche, e di un più largo frammento C3b che si lega in modo covalente all'antigene attivante, marcandolo per la distruzione. C3b agisce sia come sito d'attacco di MAC (membrane attack complex), un complesso auto-assemblante formato poro composto dalle proteine plasmatiche C5, C6, C7, C8 e C9 e che uccide i bersagli per lisi osmotica sia come opsonina, aumentando la fagocitosi attraverso il legame ai recettori per il complemento posti sulla superficie di neutrofili e macrofagi.⁶¹ La seconda via di attivazione, la via alternativa dell'attivazione complementare, è attivata in assenza di anticorpi ad opera di strutture microbiche che neutralizzano gli inibitori dell'attivazione spontanea del complemento.⁶² Questa via di attivazione può depositare oltre $>10^5$ molecole di C3b su un singolo batterio in meno di 5 minuti. Il C3b depositato in questo modo scatena quindi il MAC ed aumenta anche la fagocitosi ed il killing.

La terza via di attivazione è innescata da componenti della parete cellulare microbica contenenti mannani ed è pertanto chiamata la via della lecitina.⁶³ L'interazione tra microbi contenenti mannani e la lectina plasmatica legante i mannani (MBL) è infatti in grado di attivare le plasmata proteasi zimogeniche serin proteasi 1 e 2 associate a MBL (MASP-1, MASP-2) che formano una proteasi analoga al C1 attivato della via classica che va quindi ad attivare C4, C2 ed il resto della via. Insieme, queste tre vie di attivazione permettono al complemento di par-

tecipare alla distruzione ed alla eliminazione di una grande varietà di patogeni e di macromolecole.

Il meccanismo effetore del complemento è potente e determina una intensa infiammazione locale. Vi sono svariate proteine plasmatiche (fattore H, proteina legante il C4) e proteine di membrana (recettori per il complemento 1-4, fattore accelerante il decadimento, proteina cofattore di membrana) che inibiscono le vie di attivazione del complemento per prevenire involontari danni ai tessuti dell'ospite.⁶¹ L'importanza delle vie di attivazione e di regolazione del complemento è facilmente comprensibile quando si osservano le drammatiche conseguenze del deficit ereditario di singole componenti.¹ Il deficit di componenti di MAC determina un'aumentata suscettibilità alle infezioni da *Neisseria*. Il deficit di C3 determina l'aumentata suscettibilità ai piogeni, spesso fatale durante nell'infanzia. Il deficit di C4 o di C2 causa una malattia da immunocomplessi simil-lupica, indicando che uno dei ruoli della via classica è la partecipazione alla eliminazione (*clearance*) degli immunocomplessi. Il deficit dell'inibitore sierico di C1 (un inibitore dell'attivazione spontanea di C1 e di svariate componenti della via fibrinolitica) conduce a saltuari episodi di angioedema indipendenti dall'attivazione mastocitaria. Il deficit clonale della linea emopoietica della proteina regolatoria "decay accelerating factor" (espressa su eritrociti, leucociti e cellule endoteliali) è, infine, la causa dell'emoglobinuria parossistica notturna.⁶⁴

L'ADESIONE LEUCOCITARIA E L'INFIAMMAZIONE TISSUTALE

Il reclutamento di leucociti sia negli organi linfoidi secondari che nei tessuti periferici, sede di invasione microbica, è essenziale per le difese dell'ospite. Le molecole di adesione e le proteine chemiotattiche contribuiscono in modo importante in questo processo.⁶⁵ Vi sono tre famiglie maggiori di proteine di adesione: selettine, integrine e molecole di adesione cellulare facenti parte della superfamiglia delle Ig. Oltre a mediare il reclutamento nei tessuti, queste molecole contribuiscono anche alle interazioni cellula-cellula tra leucocitarie varie sottopopolazioni leucocitarie e possono contribuire al signaling inter ed intra-cellulare.⁶⁶

Esistono tre glicoproteine della famiglia delle selettine designate L-selettina, E-selettina e P-selettina. Le selettine sono presenti sulla superficie di tutti i leucociti e sulle cellule endoteliali. I leucociti esprimono anche i ligandi per le selettine. Le interazioni tra i ligandi delle selettine sui leucociti e le selettine sulle cellule endoteliali vascolari sono a bassa affinità e conducono ad un rolling delle cellule lungo la parete vasale.⁶⁷ Le cellule in "rolling" possono esser indotte ad arrestarsi e ad aderire fermamente all'epitelio per l'interazione tra le integrine sulla superficie dei leucociti e le molecole di adesione cellulare della superfamiglia Ig.

Le integrine sono eterodimeri formati da una catena α e una catena β . Le integrine chiave per l'adesione leucocitaria sono LFA1 (CD11a/CD18, $\alpha_L\beta_2$), VLA4 (CD49d/CD29, $\alpha_4\beta_1$) e MAC₁ (CD11b/CD18, $\alpha_M\beta_2$) che

si legano alle molecole di adesione appartenenti alla superfamiglia delle Ig ICAM-1, VCAM-1 e ICAM-1/C3b, rispettivamente. Il legame dei leucociti alle cellule endoteliali è aumentato dall'espressione di chemochine da parte delle cellule endoteliali o dal tessuto danneggiato.

L'OMEOSTASI CELLULARE

Dopo che la risposta immune è completata, la maggioranza delle cellule che rispondono all'antigene deve essere rimossa perché l'organismo possa affrontare la successiva stimolazione immunitaria. La rimozione delle cellule effettrici, senza che ciò dia origine a flogosi e danno tissutale, avviene inducendo ad apoptosi le cellule indesiderate. Le molecole della famiglia del TNF forniscono dei potenti segnali di attivazione per la morte cellulare programmata. Il TNF, che attiva la via di segnalazione intracellulare attraverso il recettore TNF di tipo I, induce la morte nelle cellule tumorali e nei siti di infiammazione in atto. Un recettore alternativo inducente l'apoptosi, Fas, è più specificamente coinvolto negli eventi regolatori dell'apoptosi. Fas, ad esempio, trasmette importanti segnali apoptotici durante la selezione delle cellule T a livello del timo.⁶⁸ Esso contribuisce anche alla regolazione delle cellule autoreattive a livello periferico.⁶⁹ Deficit di Fas o del suo ligando, FasL, danno origine a disordini autoimmuni con impronta linfoproliferativa.⁷⁰ È chiaro quindi che la disregolazione di Fas o dei suoi ligandi, può contribuire alle patogenesi delle malattie autoimmuni.

IMMUNOPATOLOGIA E ATOPIA

Una risposta immune opportunamente regolata generalmente protegge l'ospite dai patogeni e da altri stimoli esterni. In alcune situazioni, è impossibile eradicare un patogeno invasivo senza distruggere le cellule infettate. L'uso dell'apoptosi come meccanismo per rimuovere queste cellule riduce il danno alle cellule vicine non infettate. L'infiammazione locale, tuttavia, è spesso una parte importante di una risposta efficace. Con l'infiammazione si presenta, però, anche il pericolo di un significativo danno cellulare e di fibrosi durante la risoluzione dello stato infiammatorio.⁷¹ Questo tipo di danno tissutale è fisiologico e generalmente non è mutilante, benché quando l'infiammazione diventa cronica possa condurre ad importante disfunzione d'organo.

Più enigmatiche sono le condizioni di danno tissutale che sembrano avvenire in assenza di uno stimolo sottostante. Tra queste le più importanti sono le malattie autoimmuni²¹ e le malattie atopiche.⁷² Questi disordini sembrano rappresentare una sorta di errore nel direccionamento della risposta immune, con conseguente danno tissutale anche se non è presente un reale pericolo. Lo spettro crescente delle malattie autoimmuni sembra rappresentare una rottura dei normali processi di tolleranza immunologica verso il self. Questo determina l'induzione sia della risposta immune cellulare che umorale contro componenti tissutali del self. Generalmente le rispo-

ste sia umorali che cellulari hanno l'aspetto di risposte del tipo Th1, il che suggerisce che un'alterata tolleranza da parte delle cellule T sia alla base del disordine.

Le malattie atopiche raramente manifestano caratteri autoimmuni (benché si pensi che alcune forme di orticaria siano di origine autoimmune; vedi Capitoli 11 e 15). Esse piuttosto, sembrano rappresentare una eccessiva risposta di tipo Th2 che dà origine ad ipersensibilità verso un ampio spettro di antigeni ambientali di incontro abituale. Studi epidemiologici hanno dimostrato che vi è una componente ereditaria sia per le malattie autoimmuni che atopiche.^{21,72} Sembra anche esserci una stretta relazione con i fattori ambientali, tra i quali, ad esempio, patogeni dell'ambiente. L'alterata risposta di tipo Th1 e Th2 è la maggiore manifestazione di queste malattie, ma esse non rappresentano soltanto una predisposizione ad una polarizzazione anomala della risposta cellulare T CD4+. Studi epidemiologici hanno dimostrato che l'atopia conferisce una modesta protezione per lo sviluppo di importanti malattie Th1-mediate, quali ad esempio l'artrite reumatoide.⁷³ Tuttavia, altri studi hanno evidenziato che pazienti affetti da malattie Th1-mediate sono più soggetti a sviluppare malattie Th2-mediate, come se avessero una possibile eziologia comune.⁷⁴ La sempre migliore comprensione dei meccanismi che stanno alla base di questi due tipi di infiammazione mediata dalle cellule T sarà sicuramente fondamentale per aprire la strada a nuove importanti opzioni terapeutiche per queste malattie sempre più frequenti.⁷⁵

CONCLUSIONI

Il sistema immune ha a disposizione svariati meccanismi per combattere le infezioni microbiche. Una risposta immune completamente integrata include elementi di molti sistemi effettori, in grado di innescare una risposta 'su misura' per uno specifico patogeno. Un'anomala regolazione dei vari meccanismi effettori può condurre ad un danno tissutale acuto o cronico. La conoscenza delle relazioni tra le differenti vie effettrici dell'immunità permetterà di migliorare le terapie immunomodulatorie, di sviluppare nuovi e più efficaci vaccini e di evitare il danno tissutale indesiderato che si verifica come effetto collaterale indesiderato derivante da una eccessiva o anomala attivazione del sistema.

BIBLIOGRAFIA

1. Frank MM, Fries LF. The role of complement in inflammation and phagocytosis. *Immunol Today* 1991;12:322-6.
2. Yang D, Biragyn A, Kwak LW, Oppenheim JJ. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Immunol* 2002;23:291-6.
3. Moretta L, Biassoni R, Bottino C, Mingari MC, Moretta A. Surface receptors that regulate the NK cell function: beyond the NK cell scope. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002;266:11-22.
4. Chertov O, Yang D, Howard OM, Oppenheim JJ. Leukocyte granule proteins mobilize innate host defenses and adaptive immune responses. *Immunol Rev* 2000;177:68-78.
5. van Rooijen N, Wijburg OL, van den Dobbelaars GP, Sanders A. Macrophages in host defense mechanisms. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996;210:159-65.
6. Lacy P, Moqbel R. Immune effector functions of eosinophils in allergic airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:79-84.
7. Abraham SN, Malaviya R. Mast cells in infection and immunity. *Infect Immun* 1997;65:3501-8.
8. Bjorkman PJ. MHC restriction in three dimensions: a view of T cell receptor/ligand interactions. *Cell* 1997;89:167-70.
9. Zinkernagel RM, Doherty PC. The discovery of MHC restriction. *Immunol Today* 1997;18:14-7.
10. Martinez-Naves E, Barber LD, Madrigal JA, Vullo CM, Clayberger C, Lyu SC, et al. Interactions of HLA-B*4801 with peptide and CD8. *Tissue Antigens* 1997;50:258-64.
11. Niedermann G. Immunological functions of the proteasome. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002;268:91-136.
12. Momburg F, Tan P. Tapasin—the keystone of the loading complex optimising peptide binding by MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum. *Mol Immunol* 2002;39:217-33.
13. König R, Huang LY, Germain RN. MHC class II interaction with CD4 mediated by a region analogous to the MHC class I binding site for CD8. *Nature* 1992;356:796-8.
14. Skoskiewicz MJ, Colvin RB, Schneeberger EE, Russell PS. Widespread and selective induction of major histocompatibility complex-determined antigens in vivo by gamma interferon. *J Exp Med* 1985;162:1645-64.
15. Turley SJ, Inaba K, Garrett WS, Ebersold M, Untermaier J, Steinman RM, et al. Transport of peptide-MHC class II complexes in developing dendritic cells. *Science* 2000;288:522-7.
16. Cerman S, Sant AJ. The function of invariant chain in class II-restricted antigen presentation. *Semin Immunol* 1995;7:373-87.
17. Stebbins CC, Peterson ME, Suh WM, Sant AJ. DM-mediated release of a naturally occurring invariant chain degradation intermediate from MHC class II molecules. *J Immunol* 1996;157:4892-8.
18. Tiwari JL, Terasaki PI. HLA and Disease Associations. New York: Springer-Verlag; 1985.
19. Sieper J, Braun J, Rudwaleit M, Boonen A, Zink A. Ankylosing spondylitis: an overview. *Ann Rheum Dis* 2002;61 Suppl 3:III8-III18.
20. Pociot F, McDermott MF. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes Immun* 2002;3:235-49.
21. Sonderstrup G, McDevitt HO. DR, DQ, and you: MHC alleles and autoimmunity. *J Clin Invest* 2001;107:795-6.
22. Alper CA, Kruskall MS, Marcus-Bagley D, Craven DE, Katz AJ, Brink SJ, et al. Genetic prediction of nonresponse to hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1989;321:708-12.
23. Grant EP, Degano M, Rosat JP, Stenger S, Modlin RL, Wilson IA, et al. Molecular recognition of lipid antigens by T cell receptors. *J Exp Med* 1999;189:195-205.
24. Wu J, Groh V, Spies T. T cell antigen receptor engagement and specificity in the recognition of stress-inducible MHC class I-related chains by human epithelial gamma delta T cells. *J Immunol* 2002;169:1236-40.
25. Mescher MF. Molecular interactions in the activation of effector and precursor cytotoxic T lymphocytes. *Immunol Rev* 1995;146:177-210.
26. Williams ME, Chang TL, Burke SK, Lichtman AH, Abbas AK. Activation of functionally distinct subsets of CD4+ T lymphocytes. *Res Immunol* 1991;142:23-8.
27. Gellert M. V(D)J recombination: rag proteins, repair factors, and regulation. *Annu Rev Biochem* 2002;71:101-32.
28. Miller JF. The discovery of thymus function and of thymus-derived lymphocytes. *Immunol Rev* 2002;185:7-14.
29. van Ewijk W. T-cell differentiation is influenced by thymic microenvironments. *Annu Rev Immunol* 1991;9:591-615.
30. McVay LD, Carding SR. Generation of human gamma delta T-cell repertoires. *Crit Rev Immunol* 1999;19:431-60.
31. Peterson EJ, Clements JL, Fang N, Koretzky GA. Adaptor

- proteins in lymphocyte antigen-receptor signaling. *Curr Opin Immunol* 1998;10:337-44.
32. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 1996;14:233-58.
33. Guerder S, Flavell RA. Costimulation in tolerance and autoimmunity. *Int Rev Immunol* 1995;13:135-46.
34. Trowbridge IS, Thomas ML. CD45: an emerging role as a protein tyrosine phosphatase required for lymphocyte activation and development. *Annu Rev Immunol* 1994;12:85-116.
35. von Boehmer H, Kisielow P, Kishi H, Scott B, Borgulya P, Teh HS. The expression of CD4 and CD8 accessory molecules on mature T cells is not random but correlates with the specificity of the alpha beta receptor for antigen. *Immunol Rev* 1989;109:143-51.
36. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2:389-400.
37. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996;383:787-93.
38. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-73.
39. Thomas MJ, MacAry PA, Noble A, Askenase PW, Kemeny DM. T cytotoxic 1 and T cytotoxic 2 CD8 T cells both inhibit IgE responses. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;124:187-9.
40. Spiegelberg HL, Raz E. DNA-based approaches to the treatment of allergies. *Curr Opin Mol Ther* 2002;4:64-71.
41. Li H, Llera A, Malchiodi EL, et al. The structural basis of T cell activation by superantigens. *Annu Rev Immunol* 1999;17:435-66.
42. Bassing CH, Swat W, Alt FW. The mechanism and regulation of chromosomal V(D)J recombination. *Cell* 2002;109 Suppl:S45-55.
43. Casellas R, Shih TA, Kleinewietfeld M, Rakonjac J, Nemanzee D, Rajewsky K, et al. Contribution of receptor editing to the antibody repertoire. *Science* 2001;291:1541-4.
44. Reth M, Wienands J. The maintenance and the activation signal of the Bcell antigen receptor. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1999;64:323-8.
45. Fearon DT, Carroll MC. Regulation of B lymphocyte responses to foreign and self-antigens by the CD19/CD21 complex. *Annu Rev Immunol* 2000;18:393-422.
46. Honjo T, Kinoshita K, Muramatsu M. Molecular mechanism of class switch recombination: linkage with somatic hypermutation. *Annu Rev Immunol* 2002;20:165-96.
47. Przylepa J, Himes C, Kelsoe G. Lymphocyte development and selection in germinal centers. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998;229:85-104.
48. Ferrari S, Giliani S, Insalaco A, Al-Ghonaum A, Soresina AR, Loubser M, et al. Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12614-9.
49. Aruffo A, Farrington M, Hollenbaugh D, Li X, Milatovich A, Nonoyama S, et al. The CD40 ligand, gp39, is defective in activated T cells from patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Cell* 1993;72:291-300.
50. Baumgarth N. A two-phase model of B-cell activation. *Immunol Rev* 2000;176:171-80.
51. Fu YX, Chaplin DD. Development and maturation of secondary lymphoid tissues. *Annu Rev Immunol* 1999;17:399-433.
52. Cyster JG, Ansel KM, Reif K, Ekland EH, Hyman PL, Tang HL, et al. Follicular stromal cells and lymphocyte homing to follicles. *Immunol Rev* 2000;176:181-93.
53. Macchi P, Villa A, Giliani S, Sacco MG, Frattini A, Porta F, et al. Mutations of Jak-3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature* 1995;377:65-8.
54. Noguchi M, Nakamura Y, Russell SM, Ziegler SF, Tsang M, Cao X, et al. Interleukin-2 receptor gamma chain: a functional component of the interleukin-7 receptor. *Science* 1993;262:1877-80.
55. Durbin JE, Johnson TR, Durbin RK, Mertz SE, Morotti RA, Peebles RS, et al. The role of IFN in respiratory syncytial virus pathogenesis. *J Immunol* 2002;168:2944-52.
56. Kaplan MH, Sun YL, Hoey T, Grusby MJ. Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature* 1996;382:174-7.
57. Kaplan MH, Schindler U, Smiley ST, Grusby MJ. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. *Immunity* 1996;4:313-9.
58. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 1997;91:295-8.
59. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000;408:740-5.
60. Brown MG, Dokun AO, Heusel JW, Smith HR, Beckman DL, Blattenberger EA, et al. Vital involvement of a natural killer cell activation receptor in resistance to viral infection. *Science* 2001;292:934-7.
61. Liszewski MK, Farries TC, Lublin DM, Rooney IA, Atkinson JP. Control of the complement system. *Adv Immunol* 1996;61:201-83.
62. Pangburn MK. Host recognition and target differentiation by factor H, a regulator of the alternative pathway of complement. *Immunopharmacology* 2000;49:149-57.
63. Gal P, Ambrus G. Structure and function of complement activating enzyme complexes: C1 and MBL-MASPs. *Curr Protein Pept Sci* 2001;2:43-59.
64. Bessler M, Schaefer A, Keller P. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: insights from recent advances in molecular biology. *Transfus Med Rev* 2001;15:255-67.
65. Ley K. Integration of inflammatory signals by rolling neutrophils. *Immunol Rev* 2002;186:8-18.
66. Rossetti G, Collinge M, Bender JR, Molteni R, Pardi R. Integrin-dependent regulation of gene expression in leukocytes. *Immunol Rev* 2002;186:189-207.
67. Kubes P, Ward PA. Leukocyte recruitment and the acute inflammatory response. *Brain Pathol* 2000;10:127-35.
68. Kishimoto H, Sprent J. Several different cell surface molecules control negative selection of medullary thymocytes. *J Exp Med* 1999;190:65-73.
69. Trimble LA, Prince KA, Pestano GA, Daley J, Cantor H. Fas-dependent elimination of nonselected CD8 cells and lpr disease. *J Immunol* 2002;168:4960-7.
70. Choi Y, Ramnath VR, Eaton AS, Chen A, Simon-Stoos KL, Kleiner DE, et al. Expression in transgenic mice of dominant interfering Fas mutations: a model for human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Clin Immunol* 1999;93:34-45.
71. Ingbar DH. Mechanisms of repair and remodeling following acute lung injury. *Clin Chest Med* 2000;21:589-616.
72. Ono SJ. Molecular genetics of allergic diseases. *Annu Rev Immunol* 2000;18:347-66.
73. Rudwaleit M, Andermann B, Alten R, Sorensen H, Listing J, Zink A, et al. Atopic disorders in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:968-74.
74. Simpson CR, Anderson WJ, Helms PJ, Taylor MW, Watson L, Prescott GJ, et al. Coincidence of immune-mediated diseases driven by Th1 and Th2 subsets suggests a common aetiology. A population-based study using computerized general practice data. *Clin Exp Allergy* 2002;32:37-42.
75. Huston DP. The biology of the immune system. *JAMA* 1997;278:1804-14.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Gli studi di immunologia di base di questi ultimi 5 anni hanno ulteriormente chiarito le modalità di funzionamento del sistema immune, con particolare riferimento alla dimostrazione di:

- nuovi alleli delle molecole di istocompatibilità e nuove associazioni tra aplotipo HLA e suscettibilità a reazioni avverse a particolari farmaci;
- più ampi sistemi di riconoscimento delle cellule dell'immunità innata;
- nuove sottopopolazioni linfocitarie T oltre ai già noti Th1 e Th2 caratterizzate da diversi meccanismi molecolari di attivazione in relazione al loro fenotipo funzionale;
- meccanismi di riconoscimento antigenico non MHC-ristretto propri delle cellule NKT.

Cenni sulle nuove acquisizioni sugli argomenti sopra elencati saranno singolarmente considerati data la loro eterogeneità.

1. Gli antigeni di istocompatibilità ed associazione HLA-malattie

L'alto polimorfismo delle molecole di istocompatibilità continua ad essere materia di ricerca e nel luglio 2005 il WHO ha riconosciuto:

396 alleli per il locus HLA-A

699 per il locus HLA-B

198 per il locus C

(erano 250, 488 e 188, rispettivamente, nel 2002).

Analogamente, anche molti altre specificità alleliche sono state riconosciute nell'ambito delle molecole di istocompatibilità di classe II:

- circa 500 alleli per la molecola HLA-DR
- 28 alleli per la catena α e 66 alleli per la catena β di HLA-DQ
- 23 alleli per la catena α e 119 alleli per la catena β di HLA-DP

Tuttavia, tra le più interessanti scoperte degli ultimi due anni, in particolare per coloro che si occupano di allergologia e di reazioni avverse a farmaci, sono le recenti descrizioni dell'associazione tra aplotipo HLA B*5701 e comparsa sindrome di Stevens-Johnson nei soggetti trattati con abacavir, HLA B*1502 e sensibilità alla carbamazepina ed HLA B58 e reazione ad allopurinolo. Nel bel lavoro di Chessman e coll. è descritto che le reazioni sistemiche da abacavir sono sostenute dall'espansione di cellule CD8⁺ citotossiche classicamente ristrette per MHC-classe I (ed, in particolare, HLA B*5701).

2. Sistemi di riconoscimento delle cellule dell'immunità innata: i Toll-like receptors (TLRs)

Rispetto a 5 anni fa, non solo sono stati descritti numerosi nuovi ligandi dei TLRs ma anche è stato scoperto che molti tipi cellulari, compresi linfociti T, granulociti, mastociti e cellule staminali mesenchimali esprimono TLR funzionali. Tuttavia, il maggior progresso in questo campo è stato fatto nell'individuazione dei fini meccanismi di segnalazione ('signalling') intracellulare conseguente alla attivazione di questi recettori. In particolare, è stato ben descritto quanto consegue al legame degli oligonucleotidi CpG (CpG-ODNs) al loro recettore specifico, TLR9. Il primo evento è rappresentato dal reclutamento della proteina adattatrice intracellulare MyD88 che va a legarsi al dominio Toll/IL-1R del recettore. A ciò consegue il 'signalling' della chinasi associata all'IL-1R o IRAK-4 e, di seguito, di IRAK-1 e TRAF-6 (TNF-receptor associated factor 6) che porta all'attivazione dei fattori trascrizionali correlati alla risposta infiammatoria NF- κ B che traslocano così nel nucleo. Questo meccanismo di attivazione non è, se non parzialmente, condiviso dagli altri TLRs. Il legame del lipopolisaccaride LPS al TLR4 infatti (in associazione al corecettore MD2) porta alla risposta infiammatoria sia attraverso l'attivazione di MyD88 con conseguente traslocazione nel nucleo degli NF- κ B via l'adattatore TIRAP, sia attraverso un meccanismo MyD88-indipendente che vede l'intervento delle proteine adattatrici TRIF (TIR domain containing adaptor inducine IFN-beta), TRAM (TRIF adaptor molecole) e TBK1 (TRAF family member associated NF- κ B binding kinase 1) con la stimolazione della produzione di IFN-beta oltre alle consuete citochine infiammatorie. Proprio per questo, l'attivazione dei differenti TLRs può direzionare la risposta immunitaria effettrice verso una prevalente risposta Th1 (ad es. TLR9, TLR8, TLR7, TLR3) oppure ad una stimolazione delle cellule Th2 (ad es. TLR2).

3. Sistemi di riconoscimento delle cellule dell'immunità innata: NOD, CARD e Nalp3

Oltre ai citati Toll-like receptors (TLRs) di cui sono ormai noti localizzazione, espressione sui diversi tipi cellulari, ligandi sintetici e naturali, struttura e conformazione, le cellule dell'immunità innata presentano altre strutture di riconoscimento poco varianti che ne permettono l'attivazione in caso di penetrazione nell'organismo di strutture antigeniche estranee quali batteri o virus. Le strutture riconosciute da tali recettori sono globalmente note con il termine di Microbial Associated Molecular Patterns (MAMPs), mentre, la controparte recettoriale è denominata Pattern-Recognition Molecules o PRMs. Oltre ai TLRs, altre famiglie di recettori non clonali, la cui localizzazione è caratteristicamente intracellulare e la cui funzione è l'inizio della risposta infiammatoria, sono state recentemente descritte.

Le molecole conosciute da più tempo sono rappresentate dai recettori NOD (NOD-like receptors), proteine intracellula-

ri omologhe alle proteine R delle piante coinvolte anch'esse nella resistenza ai fitopatogeni. Gli NLRs sono costituiti da un dominio centrale che lega i nucleotidi ed un dominio C-terminale ricco in leucine analogamente a quanto presente anche nei TLRs (dominio leucin-rich repeat, LRR). NOD2 è un 'sensore' per batteri sia Gram negativi che positivi in quanto è capace di legare il muramil dipeptide (MDP) che è costituente di tutti i peptidoglicani. Mutazioni di NOD2 sono state osservate nella malattia di Crohn ed è supposto che l'alterazione recettoriale comporti un abnorme riconoscimento dei batteri intestinali con conseguente esagerata risposta infiammatoria sia locale che sistemica. NOD1, invece, riconosce una specificità più ristretta ovvero esclusivamente i cosiddetti DAP-peptidoglicani (costituiti da acido meso-diamino-pimelico) che sono caratteristici dei Gram-negativi. Sono state descritte mutazioni anche per NOD1 e queste sono state associate alla suscettibilità ad alcune malattie infiammatorie quali dermatite atopica, malattie intestinali e asma.

Inizialmente identificato come un mediatore critico per l'attivazione delle caspasi nei macrofagi infettati da *Salmonella*, IPAF (noto anche con il nome di CARD12 o NLR4) è deputato al riconoscimento della flagellina, proteina batterica che assicura la mobilità dei batteri Gram negativi e positivi. Recenti studi, comunque, hanno anche accertato un ruolo di IPAF nei meccanismi difensivi nei confronti di *Legionella*, *Shigella* e *Pseudomonas*.

In origine, il gene *Nalp3* è stato identificato come responsabile, se mutato, della sindrome autoinfiammatoria familiare e della sindrome di Muckle-Wells, indicando un suo possibile ruolo nel controllo della infiammazione e dei meccanismi di apoptosi. *Nalp3* entra nella formazione dell'inflammasoma responsabile della produzione di IL-1 beta mediata dalla caspasi-1. Almeno tre categorie di sostanze sono in grado di attivare *Nalp3*: a) prodotti virali o batterici (tossine, costituenti della parete batterica); b) prodotti endogeni od esogeni dovuti a segnali di stress o di pericolo (ad es. ATP, irradiazione da UV); c) particelle esogene (asbesto, silice), e ciò spiega anche la distribuzione di tale recettore non solo all'interno di cellule dell'immunità innata ma anche di altri tipi cellulari che comunque possono concorrere all'amplificazione della risposta infiammatoria come cellule epiteliali e cheratinociti. Non va infine dimenticato che sali di alluminio (tra i quali l'idrossido di alluminio - o alum - che viene utilizzato come adiuvante vaccinale) sono stati recentemente descritti come attivatori dell'inflammasoma. Infine, la proteina *Nalp1*, correlata a *Nalp3*, anch'essa in grado di entrare nella formazione dell'inflammasoma, sarebbe attivata dalla tossina letale del bacillo dell'antrace.

Come si può capire, l'immunità innata non può più essere interpretata come una forma rudimentale di difesa nei confronti dei patogeni, ma una ricca compagine di cellule abbondantemente dotate di recettori capaci di riconoscere (sia pure non clonalmente) strutture fini dei patogeni e responsabili dell'inizio alla risposta infiammatoria.

4. Le nuove sottopopolazioni linfocitarie: le cellule Th17

Già da molti anni era stato evidenziato che la risposta immune specifica era da considerarsi eterogenea perché sostenuta da almeno due diverse popolazioni linfocitarie T rappresentate dalle cellule Th1 e Th2, oltre alle cellule Th0 capaci di produrre citochine proprie di entrambi i fenotipi funzionali. Negli ultimi anni era stata anche descritta, almeno nel topo, una nuova sottopopolazione di linfociti T capaci di produrre IL-17 e, quindi, come tali denominati Th17. I dati più consistenti della dimostrazione dell'esistenza dei Th17 derivavano dagli studi delle malattie autoimmuni del topo quali l'encefalopatia allergica sperimentale (EAE) e l'artrite da collagene (CIA), tradizionalmente associate all'espansione di cellule Th1 per il mancato sviluppo della malattia a seguito della neutralizzazione della subunità p40 della IL-12. Tuttavia, recenti studi hanno individuato diverse nuove citochine che fanno parte della famiglia della IL-12. È stato infatti scoperto che l'IL-12 è un eterodimero costituito da due diverse subunità p40 e p35 mentre la IL-23, recentemente individuata, è un omologo della IL-12 in quanto condivide con essa la subunità p40, che va a costituire un nuovo eterodimero insieme alla subunità p19. È stato dimostrato che sia l'EAE che la CIA non possono essere indotte nei topi geneticamente deficienti per IL-23, mentre topi privi di IL-12R ugualmente soccombono alla somministrazione di mielina o collagene dimostrando pertanto che la IL-23 (e non la IL-12) è il mediatore richiesto perché insorgano queste malattie. Una terza citochina che potrebbe svolgere un ruolo nella regolazione dei meccanismi effettori promuovendo l'infiammazione (ma anche favorendo lo sviluppo delle risposte Th2) è la IL-27, anch'essa un eterodimero facente parte della famiglia della IL-12, costituito dalle due subunità p28 (strutturalmente omologo a p35) e subunità EBI3 di peso molecolare 34Kd. La linea cellulare Th17 si differenzia a partire da un precursore Thp dal quale originano anche le cellule Th1 e Th2 quando nel microambiente sono presenti TGF-beta e IL-6, almeno nel topo, mentre i segnali solubili responsabili della scelta differenziativa nell'uomo non sono ancora stati definitivamente accertati. Fino allo scorso anno, si avevano poche descrizioni dell'esistenza di una simile sottopopolazione cellulare anche nell'uomo. Un numero sorprendentemente elevato di cellule che esprimono mRNA per IL-17 è stato in effetti riscontrato nel liquido cerebrospinale di pazienti affetti da sclerosi multipla in fase di attività, così come aumentati livelli di IL-17 e della subunità p19 della IL-23 sono stati evidenziati nel siero e nel liquido sinoviale dei pazienti affetti da artrite reumatoide. Successivamente, cellule capaci di produrre IL-17 sono state anche descritte nella mucosa intestinale di pazienti con malattia di Crohn, nella cute di soggetti con psoriasi (in particolare la forma pustolosa) o con dermatite allergica da contatto o nell'escreato di pazienti affetti da BPCO. Così come le cellule Th2 esprimono preferenzialmente il fattore di trascrizione GATA-3 e le cellule Th1 T-bet, così le cellule Th17 si contraddistinguono per l'espressione del recettore nucleare orfano ROR γ t che ne dirige il programma differenziativo. Le cellule Th17 sono caratteristicamente CD4+, esprimono CCR6 e IL-23R, possono produrre IL-17 isolatamente (Th17 propriamente dette) oppure IL-17 insieme a grandi quantità di IFN-gamma (Th1/Th17), inducono la produzione di tutte le classi di immunoglobuline (ad eccezione delle IgE) nei linfociti B, sono scarsamente sensibili all'azione soppressiva delle cellule regolatorie CD25+ e derivano da un progenitore fenotipicamente individuabile dall'espressione della molecola CD161.

5. Le cellule NK T

Accanto alle classiche cellule natural killer, sono state individuate delle cellule che condividono con le NK alcuni antigeni di membrana ma che esprimono anche la molecola CD3+ e un repertorio limitato di catene del T cell receptor (prevalentemente V α 24 e V β 11) e pertanto denominate cellule NKT. Queste cellule hanno la caratteristica di possedere attività effettrice e sono deputate al riconoscimento di antigeni glicolipidici presentati dalle APC via la molecola CD1. Sono cellule eminentemente dotate di attività citotossica ma possono anche produrre citochine di tipo Th2 quali IL-4 ed IL-13 ed è ancora molto discusso il loro ruolo nella patogenesi dell'asma e delle malattie atopiche.

Riferimenti bibliografici

- **Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity**
Chessman D, Kostenko L, Lethborg T et al
Immunity. 2008; 29:165-75
- **Pharmacogenetic information derived from analysis of HLA alleles**
Gatanaga H, Honda H, Oka S
Pharmacogenomics. 2008; 9:207-14
- **The microbial and danger signals that activate NOD-like receptors**
Benko S, Philpott DJ, Girardin SE
Cytokine 2008; 43(3):368-73
- **Structures of the Toll-like receptor family and its ligand complexes**
Jin MS and Lee JO
Immunity 2008; 29: 182-91
- **Surface phenotype and antigen specificity of human IL-17 producing T helper memory cells**
Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat D et al
Nat immunol 2007; 8: 639-46
- **Phenotypic and functional features of human Th17 cells**
Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V et al
J Exp Med 2007; 204: 1849-61
- **IL-23 rather than IL-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain**
Cua DJ, Sherlock J, Chen Y et al
Nature 2003; 421: 744-48
- **Human IL-17 producing cells originate from CD161+CD4+ T cell precursors**
Cosmi L, De Palma R, Santarlasci V et al
J Exp Med 2008; 205: 1903-16
- **An overview of IL-17 function and signalling**
Gaffen SI
Cytokine 2008; in corso di stampa
- **New IL-12 family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions**
Hunter CA
Nat Rev Immunol 2005; 5: 21-31
- **TGF-beta induces development of the Th17 lineage**
Mangan PR, Harington LE, O'Quinn DB et al
Nature 2006; 441: 231-34
- **Divergent pro- and anti-inflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation**
Murphy CA
J Exp Med 2003; 198: 1951-57
- **Essential role of NKT cells producing IL-4 and IL-13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity**
Akbari O, Tstock P, Meyer E et al
Nat Med 2003; 9: 582-8

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Basic and clinical immunology

Javier Chinen, William T. Shearer
March 2003 (Vol.111, Issue 3, Pages S813-S818)

Advances in mechanisms of allergy

Bruce S. Bochner, Qutayba Hamid
March 2003 (Vol.111, Issue 3, Supplement, Pages S819-S823)

Understanding exocytosis in immune and inflammatory cells: The molecular basis of mediator secretion

Michael R. Logan, Solomon O. Odemuyiwa, Redwan Moqbel
May 2003 (Vol.111, Issue 5, Pages 923-93)

Signaling molecules as therapeutic targets in allergic diseases

Magdalena M. Gorska, Rafeul Alam
August 2003 (Vol.111, Issue 2, Pages 241-250)

Innate immune activation as a broad-spectrum biodefense strategy: Prospects and research challenges

Charles J Hackett
October 2003 (Vol.112, Issue 4, Pages 686-694)

Advances in Asthma, Allergy and Immunology Series 2004:Basic and clinical immunology

Chinen J, Shearer WT.
December 2004 (Vol.11, Issue 2, Pages 398-405)

*** Overview of the human immune response**

David D. Chaplin,
Mini primer 2006 February 2006 (Vol.117, Issue 2, supplement 2, Pages S430-S435)

*** Overview of the human immune response**

Chaplin DD
Mini primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Pages 430-5)

Continuing Medical Education examination: Toll-like receptor function and signaling

May 2006 (Vol. 117, Issue 5, Page 988)

Signal transducer and activator of transcription signals in allergic disease

Weiguo Chen, PhD, Gurjit K. Khurana Hershey, MD, PhD
March 2007 (Vol.119, Issue 3, Pages 529-541)

Understanding how leading bacterial pathogens subvert innate immunity to reveal novel therapeutic targets

Victor Nizet
July 2007 (Vol. 120, Issue 1, Pages 13-22)

*** Dendritic cells as regulators of immunity and tolerance**

Natalija Novak, Thomas Bieber
Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S370-S374)

*** Gastrointestinal mucosal immunity**

Barry K. Wershil, Glenn T. Furuta
Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S380-S383)

2. Citochine e chemochine

Le citochine e chemochine sono proteine secrete in maniera ridondante coinvolte nella crescita, differenziazione ed attivazione cellulare, nella regolazione delle risposte immunitarie, nel reclutamento delle cellule infiammatorie e nell'organizzazione cellulare degli organi immunitari. In seguito ad un insulto immunologico, le citochine prodotte determinano, nella fase iniziale, l'avvio della risposta immunitaria e, successivamente, il tipo di risposta (citotossica, umorale, cellulo-mediata o allergica). Le citochine possono produrre una cascata di risposte e spesso è necessaria una sinergia tra diverse citochine o chemochine per rendere ottimale una funzione cellulare specifica. Lo studio delle funzioni delle citochine è complicato dal fatto che il ruolo di ciascuna di essa può variare notevolmente a seconda del tipo cellulare che la produce, del target e, soprattutto, della fase specifica della reazione immunitaria in cui viene secreta. Numerose citochine possono, infatti, avere un potenziale sia pro-infiammatorio che anti-infiammatorio; tuttavia, quale di queste attività sia predominante dipende dalle cellule immunitarie presenti nel sito di infiammazione e dal loro stato di responsività a quella determinata citochina. In questa review le citochine sono state raggruppate in base alla loro derivazione dai fagociti mononucleati o dai linfociti T, alla capacità di mediare risposte immunitarie di tipo citotossico (effetto antivirale o antitumorale), umorale, cellulo-mediato o allergico e di indurre effetti immunosoppressivi.

Le citochine sono virtualmente coinvolte in ogni fase della risposta immune ed infiammatoria, fra cui l'immunità innata, la presentazione dell'antigene, la differenziazione delle cellule immunocompetenti a livello midollare, il reclutamento e l'attivazione cellulare, e l'espressione delle molecole di adesione (Fig. 1).

Il tipo di citochine prodotte in risposta ad un insulto immunologico determina nell'immediato lo svilupparsi della risposta immune e, in un secondo momento, il tipo di risposta, citotossica, umorale, cellulo mediata o allergica. Per necessità didattiche in questa review le citochine saranno raggruppate in base alla derivazione principalmente da fagociti mononucleati o da linfociti T; alla capacità di mediare l'immunità citotossica (antivirale e antitumorale), umorale, cellulo mediata o allergica; e alla capacità di indurre una risposta immunosoppressiva.

Abbreviazioni utilizzate:

BIE:	Broncospasmo indotto da esercizio fisico
ADCC:	Antibody-dependent cellular cytotoxicity/Citotossicità cellulare anticorpo dipendente
AHR:	Airway hyperreactivity/Iperreattività bronchiale aspecifica
APCs:	Antigen presenting cells/Cellule presentanti l'antigene
GCSF:	Granulocyte-colony stimulating factor/Fattore di crescita per granulociti
ICAM:	Intercellular adhesion molecule/Molecole di adesione intercellulare
ICE:	Interleukin-1 converting enzyme/enzima che converte IL1
IFN:	Interferone
IL:	Interleuchina
LPS:	Lipopolisaccaride
MAPK:	Mitogen-activated protein kinase
NK:	Natural killer
SCF:	Stem cell factor
TGF- β :	Transforming growth factor β
TNF:	Tumor necrosis factor
VCAM:	Vascular cell adhesion molecule/Molecole di adesione delle cellule vascolari

CITOCINE PRODOTTE DALLE CELLULE PRESENTANTI L'ANTIGENE

Le citochine prodotte dai fagociti mononucleati e dalle altre cellule presentanti l'antigene (APCs) sono particolarmente attive nel promuovere l'infiltrato cellulare e nel determinare il danno infiammatorio tessutale. Una specifica classe di citochine è generalmente prodotta come conseguenza della processazione dell'antigene da parte delle APC e della successiva presentazione ai linfociti T-helper. Tuttavia, nei monociti, la produzione di citochine può essere indotta anche direttamente dall'attivazione dell'immunità innata, in seguito all'interazione di componenti molecolari dei patogeni non presenti sulle cellule di mammiferi, con recettori specifici appartenenti alla famiglia dei *Toll like receptors*. Questi recettori, come quello per il lipopolisaccaride (LPS), contribuiscono alla capacità del sistema immunitario di distinguere le proteine patogene da quelle non-patogene. Le principali citochine prodotte dai monociti includono il *Tumor Necrosis Factor* (TNF) e numerose interleuchine (IL) come IL-1, IL-6, IL-8 (definita anche CXCL8 per la sua azione chemiotattica), IL-12, IL-15, IL-18 e IL-23.

Traduzione italiana del testo di:
Larry C. Borish, John W. Steinke
J Allergy Clin Immunol 2003; 11: S460-75

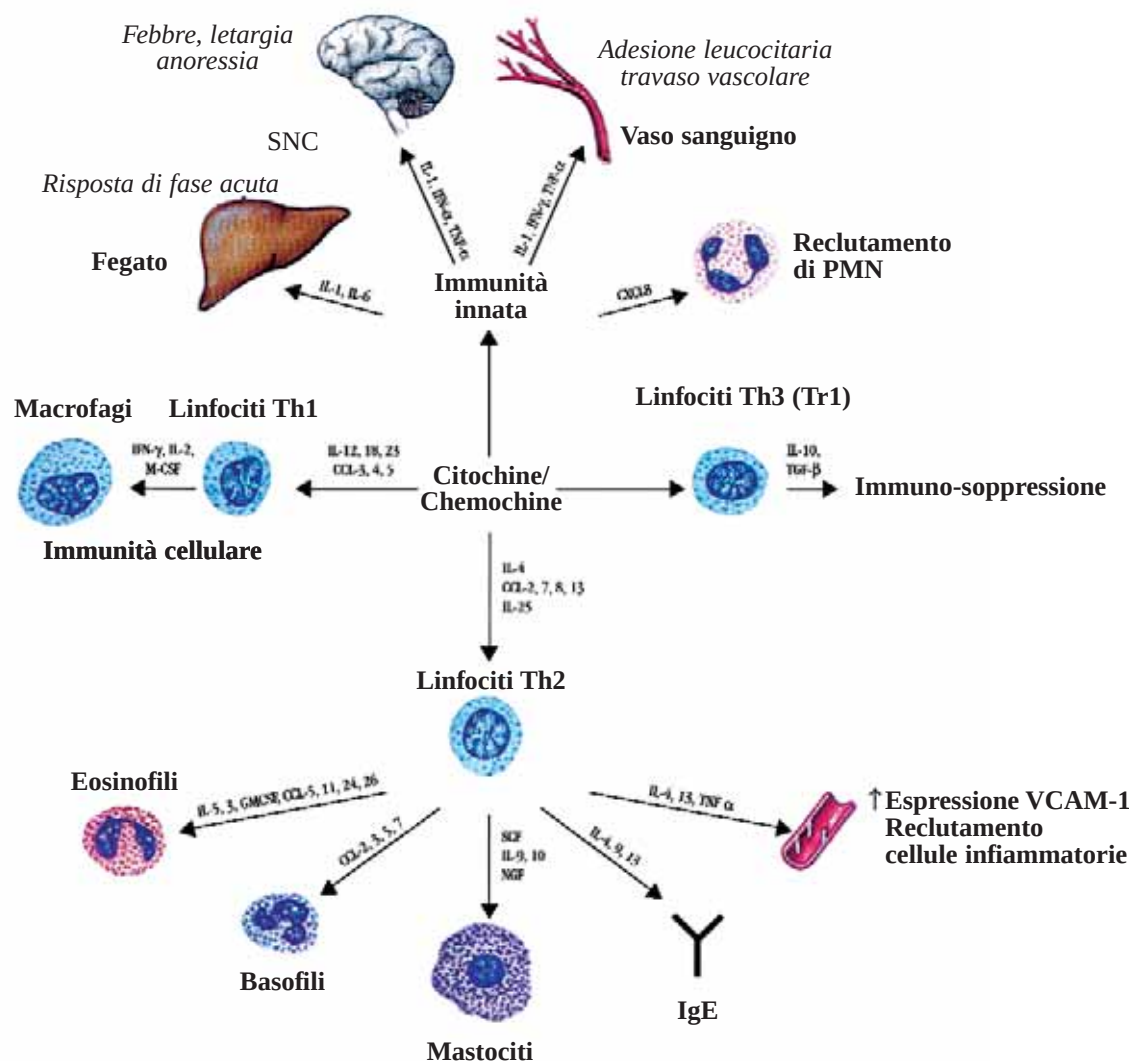


FIG 1. Riassunto delle funzioni svolte dalle citochine e chemochine. Le citochine prodotte principalmente dai fagociti mononucleati sono importanti unicamente per l'immunità innata, ed entrambi avviano e generano le risposte immuni e i sintomi associati a disordini di tipo infiammatorio e infettivo. Il fenotipo della successiva risposta immunitaria è funzione del repertorio di citochine prodotto dai linfociti T-helper responsivi. I linfociti Th1 producono IFN-gamma e contribuiscono principalmente all'immunità cellulare. I linfociti Th2, invece, producono IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 e contribuiscono all'immunità umorale e alle risposte allergiche. I linfociti Th3-like hanno funzioni immunosoppressive che esplicano attraverso la produzione di IL-10 e TGF-β.

TUMOR NECROSIS FACTOR

Il TNF costituisce una famiglia formata da due proteine omologhe prodotte principalmente dai fagociti mononucleati (TNF-α) e dai linfociti (TNF-β).¹ Entrambe sono attive in forma omotrimerica. Oltre che dai fagociti mononucleati, il TNF-α può essere prodotto anche dai neutrofili, linfociti attivati, cellule *natural killer* (NK), cellule endoteliali e mastociti. Nei monociti, il più potente stimolo per la produzione di TNF è rappresentato dall'LPS che interagisce con il *toll-like receptor 2* (TLR2) e TLR4. I *toll-like receptors* (tabella I) rappresentano una famiglia di recettori che riconoscono antigeni di patogeni, ma non di cellule di mammifero, e sono capaci di attivare efficacemente la risposta immunitaria

innata, inducendo, tra l'altro, la produzione di citochine dai fagociti mononucleati. Il TNF-α è sintetizzato come proteina di membrana da cui, per clivaggio da parte dell'enzima di conversione specifico (TNF-α *converting enzyme*: TACE), origina la forma solubile attiva.² Il TNF-β (noto anche come linfotossina-α) può essere sintetizzato e processato come una tipica proteina secretoria ma, di solito, si lega alla superficie cellulare formando eterotrimeri con un terzo membro di questa famiglia, la LT-β. TNF-α e TNF-β si legano a due specifici recettori di superficie, TNFRI (p55) e TNFRII (p75), con caratteristiche di affinità sovrapponibili, e producono effetti simili ma non identici.³ Queste citochine sono capaci di indurre un'immunità antitumorale sia mediante effetti citotossici diretti sulle cellule tumorali sia stimolando risposte immu-

TABELLA I. Recettori del sistema immune innato

Recettore	Ligando
TLR2	LPS (endotossina) dei batteri gram-negativi mediante la via CD14-dipendente Glicolipidi lipoarabinomannani dei micobatteri (AraLAM) e fosfatidilinositolo mannosilato (PIM), peptidoglicano (PGN)
TLR3	RNA a doppia elica (RNA derivato da virus)
TLR4	LPS dei batteri gram-negativi (lipide A, endotossina) Heat shock protein 6 RSV proteina F Taxolo prodotto da piante Acido lipoteicoico (LTA)
TLR5	Flagellina, salmonella, lipoproteine microbiche
TLR6	Proteoglicani batterici con TLR2
TLR9	CpG

nitarie antitumorali. Esse, inoltre, stimolano le cellule endoteliali a esprimere molecole di adesione intracellulare (ICAM)-1, molecole di adesione delle cellule vascolari (VCAM)-1 e E-selectina, permettendo, in questo modo, il reclutamento dei granulociti nei siti dell'infiammazione. I TNFs sono potenti attivatori dei neutrofili, in quanto inducono l'aderenza, la chemiotassi, la degranulazione e il *burst* respiratorio. Tuttavia, l'iniziale entusiasmo sul potenziale uso terapeutico di queste citochine come antitumorali è stato mitigato dai loro importanti effetti collaterali. Infatti, il TNF è responsabile della grave cachessia che si verifica in corso di infezioni croniche e tumori¹, induce stravasamento vascolare, possiede un effetto inotropo negativo ed è il principale mediatore endogeno dello *shock* settico e della sepsi.⁴

Interleuchina-1

La famiglia delle IL-1 è costituita da quattro peptidi (IL-1 α , IL-1 β , l'antagonista recettoriale dell'IL-1 (IL-1ra) e IL-18).⁵ L'IL-1 α e IL-1 β hanno attività biologiche comparabili ed entrambe insieme all'IL-1ra, interagiscono con affinità sovrapponibile con due recettori specifici (IL-1Rs). Il recettore di tipo I trasduce gli effetti biologici attribuiti all'IL-1⁶, mentre il recettore di tipo II è espresso sulle cellule B, neutrofili, cellule midollari ed ha un piccolo dominio intracellulare. Pertanto, il legame dell'IL-1 al recettore di tipo II ha un effetto antinfiammatorio; e, per questo motivo, il recettore II viene definito anche recettore "decoy" o recettore "trappola". La capacità dell'IL-1ra di legarsi al recettore di tipo I proinfiammatorio (IL-1R) senza attivare una risposta biologica è fondamentale affinché possa agire come antagonista citochinico.⁷ L'IL-1 è prodotta principalmente dai fagociti mononucleati ma può essere sintetizzata anche da cellule endoteliali, cheratinociti, cellule sinoviali, osteoblasti, neutrofili e cellule gliali. Gli agenti capaci di indurre la produzione di IL-1 sono numerosi quali, ad esempio, endotossine, altre citochine, microrganismi ed antigeni (tabella I). L'IL-1 α , IL-1 β e IL-18 sono tutte sintetizzate senza una sequenza leader secretoria come precursori meno attivi. Successivamente, il meccanismo che porta alla secrezione di IL-1 e IL-8 è legato al loro clivaggio

per azione di un enzima di conversione specifico, denominato enzima convertitore di IL-1 (ICE) o caspasi I che scinde le procitochine nella loro forma attiva secreta.⁸

Una delle più importanti attività biologiche dell'IL-1 è quella di attivare i linfociti T aumentando la produzione di IL-2 e l'espressione dei recettori per l'IL-2. In assenza di IL-1, si sviluppa una diminuita risposta immunitaria oppure uno stato di tolleranza. L'IL-1 aumenta la proliferazione delle cellule B e incrementa la sintesi delle immunoglobuline. La secrezione di IL-1 durante la risposta immune produce una serie di risposte cliniche che si traducono nella sensazione soggettiva di malessere generale. L'IL-1 agisce a livello del sistema nervoso centrale determinando febbre, sonnolenza e anoressia. A livello epatico, l'IL-1 inibisce la produzione di proteine "housekeeping", come l'albumina, e stimola la sintesi di peptidi della fase acuta della risposta infiammatoria (es. il peptide amiloide, la proteina C-reattiva e i fattori del complemento). Inoltre, l'IL-1 stimola l'adesione dei leucociti alle cellule endoteliali aumentando l'espressione di ICAM-1, VCAM-1 e E-selectina e contribuisce all'ipotensione nello shock settico. TNF e IL-1 condividono numerose attività biologiche con la differenza che il TNF non ha un effetto diretto sulla proliferazione linfocitaria.

L'IL-1ra è secreto spontaneamente durante i processi infiammatori. La sua produzione è up-regolata da numerose citochine come IL-4, IL-6, IL-13 e il *Transforming Growth Factor*- β (TGF- β). La sua produzione sembra modulare i possibili effetti deleteri dell'IL-1 che si possono osservare nel corso della storia naturale dell'infiammazione.

Interleuchina-6

I fagociti mononucleati sono la più importante origine di IL-6⁹; tuttavia essa viene prodotta anche dai linfociti B e T, fibroblasti, cellule endoteliali, cheratinociti, epatociti e cellule midollari. Sotto l'influenza dell'IL-6, i linfociti B si differenziano in plasmacellule e secernono immunoglobuline. L'IL-6 media l'attivazione, la crescita e la differenziazione dei linfociti T, oltre a condividere numerose funzioni con l'IL-1, quali l'induzione della febbre e la produzione di proteine della fase acuta dell'infiammazione a livello epatico. Accanto a queste attività proinfiammatorie, tale citochina media anche numerosi effetti antinfiammatori. Infatti, mentre l'IL-1 e il TNF sono capaci di potenziare reciprocamente la loro sintesi, così come quella dell'IL-6; l'IL-6 blocca questo effetto infiammatorio a cascata e inibisce la sintesi dell'IL-1 e TNF e stimolando la sintesi di IL-1ra.

Interleuchina -12, -18 e -23

L'IL-12 deriva principalmente dai monociti e dai macrofagi ma può essere sintetizzata anche da cellule B, cellule dendritiche, cellule di Langerhans, polimorfonucleati neutrofili (PMNs) e mastociti.¹⁰ La forma biologicamente attiva è un eterodimero. La subunità maggiore (p40) è omologa al recettore solubile dell'IL-6 (IL-6R), mentre la subunità minore (p35) è omologa all'IL-6. Omodimeri e monomeri del peptide p40 agiscono come antagonisti competitivi a livello del sito recettoriale IL12R senza trasdurre

segnali di attivazione. L'IL-12 induce la proliferazione, la citotossicità e la produzione di citochine nelle cellule NK. Altre attività attribuite all'IL-12 includono la proliferazione di linfociti T-helper e linfociti citotossici. Il suo ruolo nell'infiammazione allergica sarà discusso in seguito.

L'IL-18 è stata originariamente isolata a livello epatico ma è prodotta anche a livello polmonare, pancreatico, renale e muscolare ma non dai linfociti o dalle cellule NK.¹¹ Analogamente all'IL-1, anche l'IL-18 richiede uno specifico enzima di conversione (ICE o caspasi-1) per essere attivata e secreta. A differenza di altre citochine, l'IL-18 è espressa costitutivamente e la secrezione della forma funzionale è regolata dall'attivazione dell'enzima di conversione. Tuttavia, la sua principale attività biologica è più simile a quella dell'IL-12 che a quella dell'IL-1. L'IL-18 ha un ruolo importante nell'adesione cellulare, costituendo la via finale comune che attiva l'espressione di ICAM-1 indotta dall'IL-1 e dal TNF. L'IL-18 lega un unico recettore eterodimerico. L'espressione del recettore per IL-18 (IL-18R) è up-regolata dall'IL-12 per cui queste due citochine sinergizzano per attivare la secrezione di interferone- γ (IFN- γ). Sono stati descritti recettori solubili per IL-18 che derivano da un unico gene che ha perso il dominio di trasduzione del segnale e quindi funziona come un recettore *decoy* naturale con potenti funzioni antinfiammatorie.¹²

L'IL-23 è una citochina descritta recentemente avente un'omologia strutturale con la subunità p35 dell'IL-12.¹³ È un eterodimero costituito da un'unica catena, IL-23 α , e dal frammento p40 dell'IL-12. L'IL-23 viene secreta dalle cellule dendritiche attivate e, come l'IL-12 e IL-18, è un potente induttore dell'IFN- γ e si ritiene che contribuisca alla differenziazione linfocitaria Th1. Il suo recettore include la catena IL-12R β 1.

Interleuchina-15

L'IL-15 ha un'attività analoga all'IL-2 da cui si distingue per l'uso di un'unica catena α come parte del complesso recettoriale.¹⁴ Entrambi i recettori (per l'IL-2 e IL-15) utilizzano le stesse catene β e γ . Questa citochina è sintetizzata da fagociti mononucleati, cellule epiteliali, fibroblasti e dalla placenta, ma non dai linfociti T attivati, che producono prevalentemente di IL-2. Come discusso in seguito, analogamente all'IL-2, l'IL-15 è un fattore di crescita per le cellule T sulle quali ha anche un effetto chemiotattico, induce la differenziazione delle cellule NK e stimola la crescita e la differenziazione delle cellule B. Grazie a queste proprietà, l'IL-15 offre un meccanismo alternativo di regolazione della funzione e della proliferazione delle cellule T ed NK direttamente da parte dei fagociti mononucleati.

IMMUNITÀ CITOTOSSICA

Le risposte immuni dirette contro cellule infette da virus o neoplastiche sono mediate in gran parte da linfociti citotossici CD8⁺ e da cellule NK. Le citochine che attivano l'immunità citotossica includono: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IL-11 e, in maniera maggiore, TNF- α , TNF- β e gli interferoni.

Interleuchina-11

L'IL-11 è stata originariamente descritta come fattore stimolante la crescita dei precursori emopoietici. Questa citochina contribuisce alla differenziazione della linea linfoidale nel midollo osseo e sinergizza con altri fattori di crescita nella maturazione di eritrociti, piastrine e mastociti. L'IL-11, inoltre, stimola la produzione delle proteine della fase acuta dell'infiammazione, ed è un importante fattore stimolante la crescita delle cellule del tessuto connettivo, come i fibroblasti. Infatti, studi recenti hanno dimostrato che l'IL-11 è espressa nel corso di asma severo e può stimolare la proliferazione e la deposizione del collagene dai fibroblasti attivati, indicando che questa citochina può avere un ruolo nel rimodellamento delle vie aeree in corso di asma.¹⁵

Interferoni

La famiglia degli interferoni comprende tre membri (α , β e γ) e la loro nomenclatura deriva dall'capacità di "interferire" con la replicazione virale. L'interferone (IFN)- α prodotto prevalentemente dai monociti, macrofagi, linfociti B e cellule NK, ha una attività antivirale rilevante dovuta alla capacità di interferire con la replicazione virale nelle cellule infettate, proteggere le cellule non infettate dall'infezione e stimolare l'immunità antivirale dei linfociti citotossici e delle cellule NK. Esso, inoltre, aumenta l'espressione dell'MHC di classe I e partecipa alle attività antineoplastiche. Le funzioni biologiche dell'INF- β sono essenzialmente sovrapponibili a quelle dell'IFN- α .

L'IFN- γ è prodotto soprattutto da cellule T e NK ed, in misura minore, dai macrofagi. La modesta azione antivirale e la sua principale origine dai linfociti T suggerisce che sia più una citochina che un interferone. Il suo ruolo nell'immunità cellulare e nell'allergia sarà discusso in seguito.

IMMUNITÀ UMORALE

Almeno due citochine contribuiscono alla maturazione dei linfociti B nel midollo osseo: i fattori di crescita delle cellule staminali linfoidi, IL-7 e IL-11. L'IL-7 svolge un ruolo importante nello sviluppo dei linfociti B e T; infatti, è prodotta nel tessuto stromale del midollo osseo e nel timo, dove interagisce con i precursori linfoidi. Inoltre, la IL-7 stimola la proliferazione e la differenziazione delle cellule T citotossiche e NK e l'attività antitumorale dei monociti e dei macrofagi.

Dopo l'uscita dal midollo osseo, i linfociti B vanno incontro allo switch isotipico e alla differenziazione ed attivazione da cellule B mature a plasmacellule (cellule secernenti immunoglobuline). Tali eventi sono principalmente sotto il controllo delle cellule T.¹⁶ Le citochine che determinano lo switch isotipico sono: IL-4 e IL-13, che inducono l'isotipo IgE, il TGF- β , che catalizza lo switch a IgA e l'IL-10 che contribuisce alla generazione di IgG4. Altre citochine che influenzano la maturazione delle cellule B comprendono: IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-12, IL-15 e IL-21. Queste citochine sono state discusse individualmente nei paragrafi precedenti.

IMMUNITÀ CELLULARE

Interleuchina-2

La stimolazione delle cellule T da parte dell'antigene, in presenza di segnali accessori forniti dall'IL-1 e IL-6 e dell'interazione delle molecole B7 (CD80 o CD88) con il CD28, induce la simultanea secrezione di IL-2 e l'espressione del recettore ad alta affinità (IL-2R). In seguito all'interazione IL-2/IL-2R viene attivata la proliferazione clonale T. Il fatto che sia la produzione di IL-2 che l'espressione del recettore IL-2R siano necessari per la proliferazione delle cellule T assicura che solo cellule T specifiche per quel determinato antigene attivino una risposta immunitaria. L'IL-2 è, inoltre, coinvolta nell'attivazione delle cellule NK, delle cellule B, delle cellule T citotossiche e dei macrofagi.

Interleuchina-21

L'IL-21 è una citochina, recentemente descritta omologa all'IL-2 e IL-15 e principalmente prodotta da linfociti T attivati.¹⁷ Al pari dell'IL-2 e dell'IL-15, l'IL-21 è capace di attivare le cellule NK e promuovere la proliferazione delle cellule B e T attraverso l'interazione con recettori di membrana espressi da queste cellule.

Interferone- γ

La più importante citochina responsabile per l'immunità cellulo-mediata è l'INF- γ ,¹⁸ prodotto prevalentemente dai linfociti T helper, da cellule T citotossiche e cellule NK. L'INF- γ aumenta l'espressione di molecole MHC di classe I e II, stimola la presentazione dell'antigene e la produzione di citochine dai monociti e potenzia le funzioni effettrici dei monociti, quali l'adesione, la fagocitosi, l'esocitosi, il *burst* respiratorio e la produzione di ossido nitrico. Parte di questi effetti determinano la differenziazione e l'accumulo di macrofagi nel sito delle risposte immunitarie e l'attivazione del killing dei patogeni intracellulari. Oltre all'effetto sui monociti, l'INF- γ stimola anche la funzione citotossica delle cellule NK e dei neutrofili, l'adesione dei granulociti alle cellule endoteliali mediante induzione di ICAM-1, analogamente all'IL-1 e TNF. Come altri interferoni, l'INF- γ ha un effetto inibitorio sulla replicazione virale e, come discusso in seguito, inibisce le risposte allergiche, contrastando gli effetti mediati dall'IL-4.

Interleuchina-16 e -17

Altre citochine secrete dai linfociti T-helper che contribuiscono all'immunità cellulo-mediata sono rappresentate da: IL-16, IL-17 e TNF- β . L'IL-16 è sintetizzata dalle cellule T ed è chemiotattica per i linfociti CD4⁺, gli eosinofili e i monociti interagendo con la molecola CD4 e il suo recettore.¹⁹ La sua sintesi è up-regolata da TNF- α , TGF- β , IL-4, IL-9, IL-13 ed istamina. L'IL-17 rappresenta una famiglia di citochine che sono espresse da cellule T attivate, soprattutto quelle con fenotipo di memoria (CD4⁺CD45RO⁺) e anche dagli eosinofili. L'IL-17

attiva i macrofagi, i fibroblasti e le cellule stromali, induce l'espressione su queste stesse cellule di ICAM-1 e determina la secrezione di citochine (IL-6, IL-8, IL-11, fattori stimolanti colonie di granulociti [G-CSF]), prostaglandina E₂, e ossido nitrico. L'espressione di IL-17 è incrementata nell'asma, in cui la sua abilità di attivazione di fibroblasti suggerisce un ruolo nel rimodellamento delle vie aeree.

INFIAMMAZIONE ALLERGICA

Una possibile conseguenza dell'attivazione dei linfociti T è lo sviluppo della risposta immune di tipo allergico. Numerosi aspetti fisiopatologici, specialmente quelli associati allo stato asmatico, quali la regolazione delle IgE, l'eosinofilia e la proliferazione dei mastociti, sono regolati dalle citochine.

Regolazione delle IgE

Per atopia si intende una condizione caratterizzata da un'inappropriata produzione di IgE in risposta agli allergeni. La regolazione delle IgE è principalmente connessa alla funzione svolta da IL-4, IL-13 e INF- γ .

Interleuchina-4. L'IL-4 è stata identificata nel siero, nel fluido del lavaggio broncoalveolare, nel tessuto polmonare di soggetti asmatici, nel tessuto di polipi nasali e nella mucosa nasale di pazienti con rinite allergica. Essa è prodotta, oltre che dai linfociti T-helper, dagli eosinofili, dai basofili e dai mastociti.²⁰ Sia negli eosinofili che nei mastociti l'IL-4 esiste come peptide preformato associato ai granuli e può essere rapidamente secreta in corso di reazioni infiammatorie allergiche. Sulle cellule B, L'IL-4 promuove lo switch isotipico da IgM a IgE,^{21,22} stimola l'espressione di molecole MHC di classe II, B7, CD40, IgM di superficie e recettori per le IgE a bassa affinità (CD23), aumentandone la capacità di presentare l'antigene. Altre citochine che attivano le cellule B, come l'IL-2, -5, -6 e -9, agiscono in sinergia con l'IL-4 nel potenziamento della secrezione di IgE.

Oltre agli effetti sulle cellule B, l'IL-4 promuove la crescita, la differenziazione e la sopravvivenza delle cellule T, influenzando l'evoluzione dell'infiammazione allergica. Infatti, come discusso in seguito, l'IL-4 regola la fase iniziale della differenziazione dei linfociti T-helper naïve da tipo 0 (Th0) al fenotipo Th2, e sostiene le risposte immunitarie allergiche prevenendo l'apoptosi dei linfociti T.²³ La produzione di IL-4 dai linfociti Th2 rende queste cellule non responsive all'azione antinfiammatoria dei corticosteroidi.

Questa citochina aumenta l'espressione delle molecole MHC e dei recettori a bassa affinità per le IgE (CD23) sui macrofagi. Accanto agli effetti proinfiammatori, l'IL-4 promuove una serie di effetti antinfiammatori sui monociti, inibendo la differenziazione nei macrofagi, l'espressione dei recettori Fc, riducendo la citotossicità anticorpo-dipendente (ADCC), e la produzione di ossido nitrico, di IL-1, di IL-6 e di TNF- α , e stimolando quella di IL-1ra. Un'altra importante attività dell'IL-4 nell'in-

fiammazione allergica è legata alla sua capacità di indurre l'espressione di VCAM-1 sulle cellule endoteliali, aumentando l'adesione all'endotelio delle cellule T, degli eosinofili, dei basofili e dei monociti, ma non dei neutrofili, evento caratteristico della reazione allergica.²⁴ I recettori per l'IL-4, ma non per l'IL-13, sono presenti sui mastociti, dove agiscono stimolando l'espressione dei recettori per le IgE. Nell'ambito dell'infiammazione allergica l'IL-4 è importante anche perché induce l'espressione dell'enzima leucotriene C₄ (LTC₄) sintetasi nei mastociti promuovendo la sintesi di cisteinil-leucotrieni.²⁵ L'IL-4 stimola la sintesi di mucina contribuendo all'eccessiva produzione di muco che si osserva nelle vie aeree degli asmatici. I recettori dell'IL-4 sono eterodimeri costituiti da una catena IL-4R α accoppiata con la catena γ o con la catena α del recettore 1 per l'IL-13.²⁶ L'uso comune della catena IL-4R α da parte di IL-13 e IL-4 e l'attivazione mediante questa catena di Stat6 spiegano la similitudine degli effetti biologici indotti da queste due citochine.

Interleuchina-13. L'IL-13 è funzionalmente omologa all'IL-4 e agisce principalmente sui fagociti mononucleati, sulle cellule endoteliali, sulle cellule epiteliali e sulle cellule B. L'IL-13 induce lo switch isotipico delle IgE e l'espressione di VCAM-1.²⁷ I recettori per l'IL-13 sono eterodimeri contenenti la catena α del recettore dell'IL-4 (IL-4R α) ed una unica catena (IL-13 α). Sono state descritte due catene IL-13R α comprendenti una presente nella forma attiva del recettore (IL-13R α 1) ed una associata ad un recettore probabilmente inibitorio (IL-13R α 2) priva del dominio responsabile dell'interazione con le chinasi Janus (JNKs).²⁸ I recettori IL-13R α 1 sono meno diffusi dei recettori dell'IL-4 e sono espressi dalle cellule endoteliali, dalle cellule B, dai fagociti mononucleati e dai basofili, ma non dai mastociti o dai linfociti T. Questo spiega perché l'IL-13, a differenza dell'IL-4, non sia capace di indurre la differenziazione dei linfociti Th2 e l'attivazione dei mastociti. Tuttavia, l'IL-13 è sintetizzata in maggiore quantità rispetto all'IL-4, anche dai linfociti Th1-simili, ed è maggiormente espressa nel tessuto sede di infiammazione allergica.²⁹ Inoltre, topi che iperesprimono l'IL-13 mostrano un'infiammazione eosinofila, ipersecrezione di muco, fibrosi delle vie aeree e iperreattività bronchiale aspecifica (AHR).

Interleuchina-9. L'IL-9 è stata originariamente descritta come fattore di crescita dei mastociti³⁰ e partecipa alle risposte allergiche stimolando la produzione di proteasi e l'espressione della catena α dei recettori per le IgE ad alta affinità (Fc ϵ RI). IL-9, sintetizzata dagli eosinofili e dai linfociti Th2-simili, promuove la crescita e la sopravvivenza dei linfociti T antigene-specifici. La sua produzione selettiva da parte dei linfociti Th2 suggerisce un ruolo di questa citochina nell'infiammazione allergica. Il ruolo dell'IL-9 nell'infiammazione allergica è ulteriormente sostenuto dall'osservazione che questa citochina induce l'espressione di CCL11 (eotassina), dei recettori per l'IL-5 e del recettore 4 per le chemochine e sinergizza con l'IL-4 e l'IL-5 nell'aumentare rispettivamente la produzione di IgE ed il numero di eosinofili circolanti.

Interferone- γ . La terza citochina importante nella regolazione della sintesi delle IgE è l'IFN- γ . L'IFN- γ agisce come regolatore negativo delle risposte allergiche, inibendo l'espressione dei recettori a bassa affinità per le IgE indotta dall'IL-4 e lo switch isotipico IgE. L'inibizione della sintesi delle IgE indotta dall'IL-4 e IL-13 si verifica per effetto dell'IFN- γ che, a sua volta, viene prodotto fisiologicamente in seguito a stimolazione da parte dell'IL-12, IL-18 ed IL-23.

Interleuchina-25. L'IL-25 contribuisce alla secrezione delle IgE soprattutto attraverso l'induzione di IL-4 e IL-13.³¹ Questa citochina, prodotta soprattutto dai linfociti Th2, attiva la secrezione di IL-4, IL-5 e IL-13 da cellule non-linfoidi. L'iniezione intraperitoneale di IL-25 nei ratti determina un aumento della sintesi di IL-4 e IL-13 e dei livelli sierici di IgE. La stimolazione da parte di IL-25 dell'IL-5, invece, determina un aumento del numero degli eosinofili circolanti ed un'eosinofilia nei tessuti periferici.

Eosinofilia

Un altro aspetto caratteristico dell'infiammazione allergica è la presenza di un elevato numero di eosinofili attivati circolanti.

Interleuchina-5. L'IL-5 è la più importante eosinofilo-pietina. Topi transgenici esprimanti costitutivamente l'IL-5 sviluppano eosinofilia ematica e tessutale.³² Oltre a stimolare la differenziazione, l'IL-5 è chemiotattica ed attiva queste cellule inducendo l'esocitosi e aumentandone il potenziale citotossico. Un altro meccanismo mediante il quale l'IL-5 promuove l'accumulo di eosinofili è quello di up-regolare le risposte degli eosinofili alle chemochine e alle integrine α β 2 promuovendone, quindi, l'adesione alle cellule endoteliali esprimanti VCAM-1. Inoltre, l'IL-5 sostiene la sopravvivenza degli eosinofili inibendo i processi di apoptosi.³³ Nell'uomo, la somministrazione di IL-5 determina eosinofilia mucosale e incremento dell'iperreattività bronchiale. Altre attività svolte dall'IL-5 comprendono la maturazione dei linfociti T citotossici e la differenziazione dei basofili. Inoltre, l'IL-5 è prodotta dai mastociti, dalle cellule T naturali e dagli stessi eosinofili. L'IL-5 interagisce con specifici recettori (IL-5Rs) costituiti da un eterodimero contenente IL-5R α e una catena - β (CD131) comune ai recettori del fattore di crescita stimolante colonie (CSF) di granulociti e macrofagi (GM) e dell'IL-13.³⁴

Interleuchina-3 e GM-CSF. Insieme all'IL-5, altri due CSFs, l'IL-3³⁵ e l'GM-CSF³⁶, contribuiscono a sostenere la flogosi allergica promuovendo la sopravvivenza e l'attivazione degli eosinofili. L'IL-3 è un importante fattore di crescita per diversi precursori ematopoietici, tra cui quelli per le cellule dendritiche, eritrociti, granulociti (soprattutto basofili), macrofagi, mastociti e cellule linfoidi. La maggior fonte di IL-3 è rappresentata dai linfociti T, ma, in corso di flogosi allergica, è prodotta anche da eosinofili e mastociti.

Come l'IL-3, il GM-CSF è un importante fattore di crescita che regola la maturazione e l'attivazione delle cellule dendritiche, dei neutrofili e dei macrofagi. Il GM-CSF

sinergizza, inoltre, con altri fattori di crescita per la produzione di piastrine ed eritrociti. La sua importanza nell'immunità allergica deriva dalla capacità, condivisa dall'IL-3 e IL-5, di inibire l'apoptosi degli eosinofili e di prolungarne la sopravvivenza nei siti dell'infiammazione allergica. Il GM-CSF attiva gli eosinofili maturi, ne aumenta la degranolazione, la citotossicità e la risposta ai fattori chemiotattici. Le tre citochine attivanti gli eosinofili, IL-5, IL-3 e GM-CSF, legano recettori eterodimerici α - β , che possiedono una catena α specifica ed una catena β comune.

Proliferazione e attivazione dei mastociti

Nel corso delle malattie allergiche, accanto all'elevata concentrazione di IgE e all'eosinofilia, si osserva un aumento del numero di mastociti tissutali, tutti processi dipendenti dalle cellule T. La più importante citochina che regola la proliferazione e la crescita dei mastociti è lo Stem Cell Factor (SCF o ligando del *c-kit*).³⁷ Lo SCF viene sintetizzato dalle cellule stromali midollari, dalle cellule endoteliali, dai fibroblasti e dagli stessi mastociti. Lo SCF è l'unica citochina capace di indurre la secrezione di istamina dai mastociti umani ma non dai basofili. L'importanza di questo fattore nella differenziazione dei mastociti nell'uomo è sostenuta da diverse osservazioni cliniche. La somministrazione locale di SCF si associa, infatti, a secrezione di istamina dai mastociti³⁸, mentre la somministrazione sistemica determina proliferazione dei mastociti a livello cutaneo ed orticaria cronica. Oltre a essere essenziale nella differenziazione mastocitaria, l'SCF interagisce con altri fattori di crescita ematopoietici stimolanti progenitori cellulari mieloidi, linfoidi ed eritroidi. Numerose citochine, quali l'IL-3, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11 e il Nerve Growth Factor, possono contribuire alla proliferazione dei mastociti³⁹. L'induzione di rilascio di istamina dai basofili è un effetto dimostrato per molte citochine e molti fattori inducenti il rilascio di istamina appartengono anche alla famiglia delle chemochine.

CITOCINE ANTINFIAMMATORIE

Negli ultimi decenni sono state identificate alcune citochine come IL-1ra, TGF- β e i membri della famiglia dell'IL-10, che, a differenza delle altre, esplicano effetti prevalentemente di tipo antinfiammatorio.

Transforming Growth Factor- β

Il TGF- β comprende una famiglia di peptidi che regolano la crescita cellulare, promuovendo attività sia stimolatorie che inibitorie a seconda della cellula bersaglio.⁴⁰ Questo fattore è prodotto principalmente da condrociti, osteociti, fibroblasti, piastrine, monociti e da una classe specifica di cellule T, le cellule T regolatorie (Treg) o T-helper tipo 3. Il TGF- β , sintetizzato come precursore inattivo che richiede una attivazione proteolitica, è un importante fattore di stimolazione della fibrosi, che stimola la formazione di matrice extracellulare e i processi di riparazione tissutale e cicatrizzazione. In ambito

immunologico, il TGF- β ha un effetto inibitorio sui linfociti B, T helper e citotossici. Inibisce la secrezione di immunoglobuline dai linfociti B e la citotossicità dei fagociti mononucleati e delle cellule NK. La produzione di TGF- β dai linfociti T in apoptosi crea un milieu immunosoppressivo e spiega l'assenza di infiammazione e autoimmunità come conseguenza della morte cellulare per apoptosi.⁴¹ Oltre a queste funzioni antinfiammatorie, il TGF- β esplica un effetto chemiotattico su macrofagi e supporta lo switch isotipico della catena α delle IgA nelle cellule B.⁴² La produzione di TGF- β nel tessuto linfoide intestinale è responsabile della produzione di IgA secretorie ed è un fattore importante per il mantenimento della tolleranza immunologica verso i patogeni intestinali benigni e per gli allergeni alimentari. Il TGF- β può ridurre l'infiammazione allergica inibendo la sintesi delle IgE e la proliferazione dei mastociti. Il TGF- β è prodotto costitutivamente nel tessuto polmonare dall'individuo sano ma, nell'infiammazione allergica, l'iperepressione di TGF- β può essere associata alla fibrosi rilevabile, ad esempio, nell'asma.

Interleuchina-10, -19, -20, -22 e -24

L'IL-10 è prodotta da numerose cellule, come linfociti Th1 e Th2,⁴³ cellule T citotossiche, linfociti B, mastociti e fagociti mononucleati. Sebbene i monociti e le cellule B siano le maggiori cellule produttrici di IL-10, questa citochina è prodotta in maniera peculiare dal subset di cellule T regolatorie. L'IL-10 inibisce la produzione di IFN- γ e IL-2 dai linfociti Th1, di IL-4 e IL-5 dai linfociti Th2,⁴³ di IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 e TGF- β dai fagociti mononucleati e di IFN- γ e TNF- α dalle cellule NK. Inoltre, l'IL-10 inibisce l'espressione delle molecole MHC di classe II, di CD23 (Fc ϵ RII), ICAM-1 e di B7. L'inibizione dell'espressione di CD80/CD86 abolisce la capacità delle APCs di attivare i linfociti T-helper⁴⁴ con conseguente blocco della sintesi di citochine da parte dei linfociti sia Th1 che Th2. L'espressione costitutiva di IL-10 nell'apparato respiratorio di individui normali ha un ruolo critico nell'induzione e mantenimento di uno stato di tolleranza immunologica agli allergeni e ad altri antigeni inalatori non patogeni. Viceversa, nell'asma e nella rinite allergica vi è una ridotta espressione di IL-10 nelle vie aeree, che può contribuire allo sviluppo di un ambiente infiammatorio.⁴⁵ Il fatto che l'IL-10 abbia un ruolo modulatorio negativo nel corso della malattia allergica è sostenuto da osservazioni che indicano che essa riduce la sopravvivenza degli eosinofili e la sintesi di IgE indotta dall'IL-4. Questi effetti inibitori sono in contrasto con quelli espliciti sui linfociti B, nei quali l'IL-10 stimola la proliferazione cellulare e la secrezione di Ig. L'IL-10 aumenta lo switch isotipico a IgG4 ed agisce come cofattore di crescita per le cellule T citotossiche. In tal modo essa inibisce le citochine associate all'immunità cellulare e all'infiammazione allergica mentre stimola le risposte immunitarie umorali e citotossiche. Il fatto che il TNF- α ed altre citochine attivino la secrezione di IL-10, fa sì che si instauri un meccanismo omeostatico importante per lo spegnimento della reazione infiammatoria.

L'IL-19 ha un'omologia di sequenza con l'IL-10 del 20%. La sua espressione può essere indotta da LPS e GM-CSF. L'IL-20, un'altra citochina membro della famiglia dell'IL-10 recentemente descritta, è principalmente sintetizzata dai monociti e dai cheratinociti della cute dove è iperespressa nella psoriasi.⁴⁶ Un'ulteriore citochina della famiglia dell'IL-10 è l'IL-22, che deriva dai linfociti T e dai mastociti e la cui espressione è indotta da IL-9 e da LPS. L'IL-22 esplica la sua attività biologica soprattutto nella fase acuta delle reazioni infiammatorie. Infine, l'IL-24 è il quarto nuovo membro della famiglia dell'IL-10 ed è prodotta da linfociti Th2 murini stimolati con l'IL-4. In maniera simile all'IL-19, all'IL-20 e all'IL-22, l'IL-24 non inibisce la produzione di citochine da parte delle cellule mononucleate, un'attività caratteristica e unica dell'IL-10.

PROFILI DI ESPRESSIONE DELLE CITOCINE NEI LINFOCITI T-HELPER

In base al repertorio di citochine espresse sono state identificate diverse sottoclassi di linfociti T-helper⁴⁷ (tabella II). I linfociti Th0 naïve producono principalmente IL-2 ma possono anche sintetizzare citochine caratteristiche sia dei linfociti Th1 che Th2. Nell'uomo, i linfociti Th1 producono IFN- γ e TNF- β ma non IL-4 e IL-5.

I linfociti T-helper di tipo 2 producono IL-4, IL-5, IL-9 e IL-25 ma non IFN- γ o TNF- β . Entrambi i subsets linfocitari producono GM-CSF, TNF- α , IL-2, IL-3, IL-10 e IL-13. Sebbene nell'uomo non sia sempre possibile fare una netta distinzione tra il profilo citochinico Th1/Th2, resta un'inversa relazione tra la tendenza dei T linfociti a produrre IFN- γ o IL-4 e IL-5. I linfociti Th1 attivano le cellule T e i monociti, promuovono le risposte immunitarie cellulo-mediate e sono importanti nell'immunità anticorpo-dipendente. I linfociti Th2 producono IL-4, IL-5 e IL-13 e partecipano alle risposte immunitarie allergiche. I linfociti Th3 producono citochine ad attività immunosoppressiva come TGF- β e IL-10 e possono essere importanti nella immunosoppressione o nel terminare delle risposte immunitarie.⁴⁸

Per comprendere la patogenesi delle malattie allergiche è importante definire come avvenga la differenziazione linfocitaria Th1/Th2 in risposta all'allergene. Uno dei fattori determinanti la differenziazione T-helper è l'ambiente di citochine nel quale i linfociti T vengono attivati. La principale citochina responsabile della differenziazione linfocitaria Th2 è l'IL-4.⁴⁹ La fonte iniziale dell'IL-4 rimane da chiarire ma è probabile che sia costituita dai linfociti naïve Th0. I mastociti e linfociti T naturali possono, inoltre, avere un ruolo in particolari circostanze. Il risultato è, comunque, che nel tessuto in cui si sviluppa l'infiammazione allergica, si innescano nel tempo risposte allergiche sempre più efficaci contro antigeni esogeni. La differenziazione linfocitaria Th1 è mediata da IL-12, IL-18 e IL-23.⁵⁰ Dal momento che i fagociti mononucleati sono la principale fonte di IL-12 è ipotizzabile che gli antigeni, incluso quelli batterici e parassitari, più che essere processati dai macrofagi siano in grado di attivare risposte cellulari di tipo Th1 stimolando la produzione di questa citochi-

na dai fagociti. Analogamente all'IL-12, anche l'IL-18 induce la differenziazione e la proliferazione dei linfociti Th1. L'IL-23 è un eterodimero contenente una catena omologa ad una componente dell'IL-12 ed usa, come recettore, la catena IL-12R β 1. L'IL-23 è un potente induttore di IFN- γ e può probabilmente contribuire alla differenziazione linfocitaria Th1.

SEGNALI DI TRASDUZIONE MEDIATI DAI RECETTORI DELLE CITOCINE

I recettori delle citochine non hanno generalmente domini intracitoplasmatici con attività tirosin-chinasi intrinseca; tuttavia, essi possono attivare le tirosin-chinasi citoplasmatiche. Questi processi sono schematizzati nella fig. 2, prendendo come modello l'IL-4 e l'IL-12. La prima tappa nell'attivazione dei recettori citochinici è la dimerizzazione indotta dal ligando, che consente una interazione stabile con le tirosin-chinasi citoplasmatiche. Sebbene le cascate biochimiche intracellulari attivate dalle citochine siano numerose, questo paragrafo vuole principalmente focalizzare l'attenzione su due nuove famiglie proteiche di tirosin-chinasi denominate chinasi Janus (JAKs) e trasduttori del segnale di attivazione della trascrizione (STATs), che funzionano unicamente nel signaling citochinico.^{51,52}

Il ruolo dei membri della famiglia JAK nell'attivazione genica è stato ampiamente analizzato da studi sulla trasduzione del segnale dei recettori per l'IFN. Le due catene del recettore per l'IFN- α legano JAK1 e TYK2 rispettivamente, mentre le due catene del recettore IFN- γ legano JAK1 e JAK2. I recettori e JAKs si fosforilano e questo complesso, a sua volta, catalizza la fosforilazione di substrati citoplasmatici. Esistono quattro membri JAKs: JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2; pertanto, il segnale recettoriale è sorprendentemente mediato da un numero limitato di tirosin-chinasi altamente ridondanti. Per esempio, JAK2 è coinvolta nel segnale di GM-CSF, G-CSF, IL-6 e IL-3. JAK1 e JAK3 sono fosforilate in tirosina in risposta all'IL-2, IL-4 e a tutte le altre citochine i cui recettori appartengono alla famiglia γ c.

In seguito alla attivazione del complesso recettore/JAKs, vengono fosforilate su residui di tirosina le proteine STATs le quali, poi,^{51,52} migrano al nucleo dove legano sequenze regolatorie nel promotore di geni inducibili, determinandone la trascrizione dell'mRNA (vedi Fig. 2). Anche la funzione delle proteine STATs è stata caratterizzata studiando gli eventi biochimici responsabili della trascrizione genica indotta dall'IFN. Il legame dell'IFN- α/β induce la formazione di un complesso formato da 3 proteine: Stat1 α (p91) o Stat1 β (p84), Stat2 (p113) e una proteina non-Stat, p48. La stimolazione delle cellule da parte dell'IFN- γ , invece, determina la fosforilazione tirosinica di Stat1 da parte di JAK1 e JAK2, ma non della Stat2.

Alla famiglia delle proteine STAT appartengono anche altri quattro membri: Stat3, Stat4 e Stat6, responsabili dell'attivazione genica di IL-6, IL-12 e IL-4, rispettivamente, e Stat5 inizialmente identificata per la sua capacità di indurre la sintesi della prolattina. Il reclutamento del recettore dell'IL-4 porta all'attivazione di JAK1, che

fosforila Stat6 la quale, a sua volta, è necessaria per l'espressione di IL-4R α , della catena pesante ϵ , di MHC di classe II, del CD23 e della mucina⁵³ (Fig. 2). Un importante inibitore endogeno della Stat6 è rappresentato dal soppressore dell'attivazione del segnale citochinico-1 (SOCS-1).⁵⁴ SOCS-1 inibisce l'attivazione di JAK1 e Stat6 indotta dall'IL-4.

Il numero di proteine Stat è esiguo a confronto di quello delle citochine; pertanto è verosimile che citochine diverse siano in grado di indurre l'attivazione di una stessa Stat. Per esempio, l'*Epidermal Growth Factor* (EGF), PGDF, M-CSF, IL-6, IL-11 e gli interferoni attivano tutti Stat1a. Citochine diverse devono, pertanto, utilizzare meccanismi che portano a risposte distinte. In parte, ciò dipende dal fatto che esistono altre vie di trasduzione intracellulari attivate dall'interazione recettore/citochine. Una di queste è la via Ras-dipendente, avviata da numerosi fattori di crescita e dalle citochine IL-2, IL-3, IL-5 e EPO. In questa cascata, Ras, Raf-1, Map/Erk chinasi chinasi (MEKK) e la protein-chinasi attivata da mitogeni (MAP) sono sequenzialmente fosforilate e attivate. La via delle MAP chinasi è associata all'induzione di numerosi fattori trascrizionali quali c-myc, c-fos ed il fattore nucleare per l'IL-6. Un'ulteriore via di trasduzione è rappresentata dall'attivazione del substrato-1 di risposta all'insulina (IRS-1) e il suo omologo, IRS-2 da parte dell'IL-4. Questa via di trasduzione è coinvolta soprattutto nella regolazione della proliferazione e nella protezione dall'apoptosi.

CITOCHINE E RISPOSTE IMMUNI AGLI ALLERGENI

Le biopsie bronchiali di pazienti con asma allergico, le aree di challenge cutaneo specifico in soggetti atopici e la mucosa nasale in pazienti con rinite allergica sono tutti caratterizzati dalla presenza di linfociti T-helper con profilo Th2-like. Tuttavia, sebbene vi sia una ridotta presenza di citochine derivate dai linfociti Th1, nel tessuto infiammatorio allergico è possibile rilevare IFN- γ ed è probabile che esso potenzi la flogosi allergica attivando altre cellule, tra cui gli eosinofili, stimolando la secrezione di citochine e l'espressione di molecole di adesione. Il concetto che l'IFN- γ promuova l'infiammazione allergica è confermato da dati sperimentali su topi in cui la produzione di IFN- γ da linfociti Th1 peggiora l'asma.⁵⁵

Il pattern citochinico osservato in risposta agli allergeni nei soggetti non allergici è molto complesso. Gli individui normali vengono esposti alle stesse concentrazioni di allergeni, allo stesso modo dei pazienti allergici e nelle stesse condizioni ambientali. Rimanere sani richiede l'attivazione di sistemi capaci di prevenire lo sviluppo di infiammazione. Si ritiene che la risposta immune agli allergeni negli individui non allergici sia caratterizzata da risposte linfocitarie Th1. Tuttavia, le risposte mediate dai linfociti Th1 stimolano il reclutamento e l'attivazione dei fagociti mononucleati e sono associate all'immunità cellulare e alla formazione di granulomi, aspetti che non si osservano negli individui non allergici. Se presenti in vivo, questi linfociti Th1 devono trovarsi in un ambiente

TABELLA II. Sottotipi cellulari T-helper classificati in base alla produzione di citochine

Famiglia dei linfociti T-helper	Citochine
Th0	IL-2
Th1	IFN- γ , TNF- β
	TNF- α , GM-CSF, IL-2, IL-3, IL-10, IL-13
Th2	IL-4, IL-5, IL-9, IL-25
	TNF- α , GM-CSF, IL-2, IL-3, IL-10, IL-13
Tr1 (Th3)	TGF- β , IL-10

che previene lo sviluppo della risposta infiammatoria. L'assenza di infiammazione nei soggetti normali è mantenuta da fattori che influenzano e promuovono uno stato di tolleranza. In soggetti non atopici possono svilupparsi risposte immunitarie ad allergeni, ma l'entità con cui si presentano è certamente minore rispetto a quanto si verifica nei pazienti allergici. Inoltre, soggetti non allergici mostrano una ridotta proliferazione delle cellule T indotta dall'allergene e basse risposte anticorpali IgG specifiche rispetto ai pazienti allergici⁵⁶. I macrofagi alveolari e le cellule dendritiche polmonari dei soggetti sani esprimono poco o per nulla la molecola costimolatoria B7, sono incapaci di presentare l'antigene ai linfociti T-helper e di indurre l'attivazione e la proliferazione cellulare.⁵⁷ L'ambiente citochinico del tratto respiratorio dei non asmatici è caratterizzato da un'elevata concentrazione di IL-10 e TGF- β che contribuiscono alla tolleranza immunologica ed a prevenire l'infiammazione.

CHEMOCHINE

Le chemochine sono un gruppo di piccole (8-12 kD) molecole capaci di indurre la chemiotassi di numerose cellule quali: neutrofili, monociti, linfociti, eosinofili, fibroblasti e cheratinociti. Queste molecole esplicano la loro azione attraverso l'interazione con la superfamiglia dei recettori a 7 domini transmembrana accoppiati a proteine G. In questo capitolo le chemochine saranno definite secondo la nomenclatura corrente mettendo tra parentesi il nome con cui era state descritte originariamente.⁵⁸ Ad oggi, sono state identificate 47 chemochine e 18 recettori, come elencati nella tabella III. In tale tabella vengono anche riportate la localizzazione cromosomica e le proprietà fisiologiche di ciascuna chemochina. Il sistema delle chemochine è caratterizzato da una notevole ridondanza in quanto lo stesso recettore può interagire con diverse citochine.

Sebbene la chemiotassi sia la caratteristica principale delle chemochine, il loro ruolo fisiologico è molto più complesso. Inizialmente, le chemochine erano state collegate all'infiammazione in quanto riscontrate nella sede dell'infezione o prodotte in risposta ad uno stimolo proinfiammatorio. Le chemochine infiammatorie reclutano e attivano i leucociti col fine di montare una risposta immunitaria e avviare processi riparativi tissutali. Altre chemochine hanno invece dimostrato di avere una funzione omeostatica o "housekeeping". Queste funzioni comprendono il traffico linfocitario, l'emopoiesi, il cam-

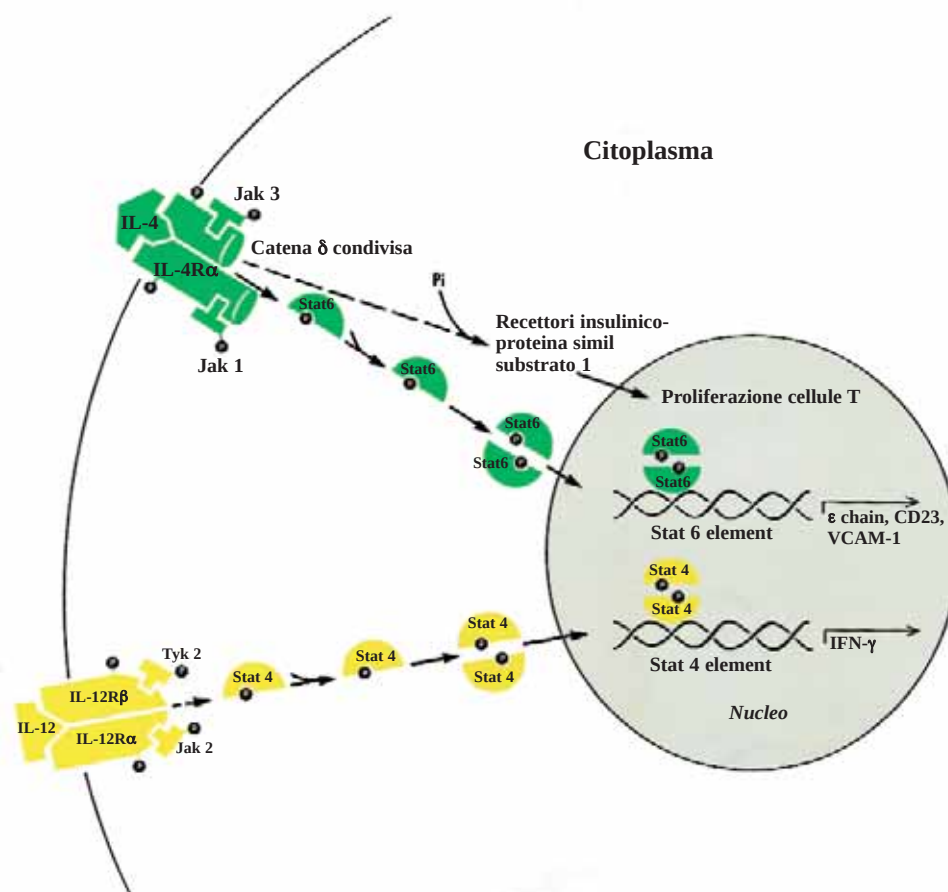


FIG 2. Modello delle vie di segnale intracellulare responsabili della trascrizione genica indotta dall'IL-4 e IL-12. Una nuova famiglia di quattro proteine tirosin-chinasi citoplasmatiche denominate chinasi Janus (JAKs) sono attivate nel signaling delle citochine: JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2. In seguito all'interazione con il ligando, il recettore lega le JAKs attivando l'azione tirosin chinasi. JAK1 e JAK3 sono attivate in risposta all'IL-4. JAK1 lega il recettore IL-4R, mentre JAK3 si lega alla catena γ c. I segnali mediati dall'IL-12 coinvolgono JAK2 e TYK2. A questi eventi segue la fosforilazione di fattori citoplasmatici, denominati attivatori e trasduttori del segnale per la trascrizione (STATs). Dopo la loro attivazione, mediante fosforilazione, come omodimeri, migrano nel nucleo, dove si legano a sequenze regolatorie di promotori di geni responsivi all'azione delle citochine. Il segnale per IL-4 è mediato da STAT6. La fosforilazione permette a STAT6 di dimerizzare e migrare al nucleo dove attiva le maggiori attività biologiche di IL-4: la trascrizione di ϵ germline e di VCAM-1 e la differenziazione a Th2. Altre vie di segnale coinvolgono l'attivazione dei substrati 1 e 2 del recettore dell'insulina e regolano la proliferazione e l'inibizione dell'apoptosi. Omodimeri di STAT4 fosforilata sono responsabili delle funzioni biologiche dell'IL-12, quali l'induzione della trascrizione di IFN- γ e la differenziazione in linfociti Th1.

pionamento antigenico nei tessuti linfatici e la sorveglianza immunitaria.⁵⁹ Le chemochine omeostatiche tendono ad essere espresse in specifici tessuti e organi, mentre le chemochine infiammatorie possono essere prodotte da diverse cellule ed in diversi siti.

CLASSIFICAZIONE DELLE CHEMOCHINE

Le chemochine mostrano un'omologia tra il 20 e il 50% e sono caratterizzate dalla presenza di tre o quattro residui di cisteina conservati. Possono essere suddivise in quattro famiglie, in base alla posizione di questi residui all'estremità N-terminale (tabella III). La sub-famiglia C-X-C è caratterizzata dalla presenza di un aminoacido variabile tra la prima e la seconda cisteina. Nella sub-famiglia C-C i residui di cisteina sono adiacenti. La maggior parte delle chemochine conosciute sono incluse in

queste due sub-famiglie. Inoltre, questi gruppi possono anche essere distinti in base alla cellula target principale: la sub-famiglia C-X-C agisce principalmente sui neutrofili, mentre i monociti e le cellule T sono il target della sub-famiglia C-C. Recentemente è stata identificata una nuova famiglia di chemochine definita "C" in quanto caratterizzata dalla perdita del primo e del terzo residuo di cisteina mantenendone solo uno nella posizione conservata. Questa sub-famiglia comprende il peptide chemiotattico specifico per i linfociti: XCL1 (linfotattina). È stata successivamente identificata una quarta sub-famiglia di chemochine (CX3C) in cui i due residui di cisteina N-terminali sono separati da tre aminoacidi variabili. Ad oggi, questa sub-famiglia ha un solo membro, la fractalchina o CX3CL1, particolare in quanto, a differenza delle altre chemochine, è ancorata alla membrana da un braccio di mucina.

RECETTORI E SEGNALI DI TRASDUZIONE

Il numero di recettori di superficie varia da 3.000/cellula per CCR1 e CCR2 sui monociti e linfociti e da 40.000 a 50.000/cellula per CCR3 sugli eosinofili. Ciascuna cellula può esprimere più recettori per le chemochine ciascuno dei quali può indurre specifici segnali intracellulari. La capacità di attivare segnali di trasduzione intracellulari diversi è in parte dovuta alla struttura a sette domini transmembrana del recettore. Il sito di legame per le subunità α e $\beta\gamma$ delle proteine G eterotrimeriche ed altre molecole effettrici è determinato dalla curvatura del recettore lungo la parte interna della membrana plasmatica e dell'orientamento laterale del terminale carbossilico.⁶⁰ In seguito all'interazione chemochina/recettore avviene il legame della guanina trifosfato (GTP) alla subunità $G\alpha$. Quest'evento determina la successiva dissociazione del complesso proteina G eterotrimerica/recettore e la separazione della subunità $G\alpha$ dalle $G\beta\gamma$. La subunità $G\alpha$ attiva direttamente la famiglia delle chinasi Src che, a loro volta, determinano la fosforilazione delle protein-chinasi attivate da mitogeni (MAPKs) e protein-chinasi B (PKB).⁹ Il segnale trasdotto dalle subunità $G\beta\gamma$ è molto più complesso e coinvolge tre separate vie. $G\beta\gamma$ può attivare PKB e le MAPKs mediante la fosfatidilinositolo 3 chinasi γ (PI3Kg), la PKC mediante la fosfolipasi C (PLC) e la Pyk-2.⁶¹ L'attivazione della PLC induce un influxo di calcio che può attivare numerosi processi cellulari, tra cui la degranulazione dei neutrofili, degli eosinofili e dei basofili. (ampiamente rivisto da Thelen⁶⁰).

CHEMIOTASSI

Le chemochine sono state originariamente identificate per la capacità di direzionare i linfociti nei siti dell'infiammazione. Nella fase iniziale della migrazione transendoteliale, i linfociti interagiscono transitoriamente con l'endotelio vascolare grazie alle selectine, in attesa che giungano segnali attivanti da parte delle chemochine. Le selectine mediano interazioni a bassa affinità che, in combinazione con un flusso ematico basso, determinano il rotolamento dei linfociti lungo l'endotelio (*rolling adhesion*). Successivamente all'interazione tra chemochina e recettore espresso sul linfocita, vengono up-regolate le integrine che consentono al leucocita di aderire saldamente alla parete vascolare. Un esempio di questo processo è quello iniziato dalle chemochine CCL19 (ELC), CCL21 (SLC) e CXCL12 (SDF-1) capaci di indurre l'espressione di ICAM-1, molecola ad alta affinità per la $\beta 2$ -integrina, LFA-1.⁶² Terminato il rotolamento, la cellula comincia ad attraversare l'endotelio. Si forma una protrusione citoplasmatica nota come "lamellipode" contenente un elevato numero di fibre di actina. I movimenti cellulari sono determinati dalla contrazione della miosina che "tira" i filamenti di actina posti intorno al corpo cellulare. Il risultato finale è il movimento del corpo cellulare verso il lamellipode.⁶³ In seguito al movimento cellulare, la forza del legame alle molecole di adesione espresse sull'endotelio si riduce. Il linfocita conti-

nuerà questo processo migrando lungo un gradiente di concentrazione di chemochine sino ad arrivare nel sito di produzione delle chemochine stesse. L'espressione di chemochine, recettori e molecole di adesione specifiche contribuisce a creare un processo di migrazione selettiva per i linfociti.

Il più importante fattore chemiotattico per i PMNs è la CXCL8 (IL-8) prodotta soprattutto dai fagociti mononucleari, cellule epiteliali ed endoteliali, ma anche da cellule T, eosinofili, neutrofili, fibroblasti, cheratinociti ed epatociti. La sintesi di CXCL8 può essere indotta da LPS, IL-1, TNF- α e virus.⁶⁴ La CXCL8 è uno dei più potenti fattori attivanti i neutrofili; infatti, ne stimola la degranulazione, il *burst* respiratorio e l'aderenza alle cellule endoteliali mediante CD11b/CD18. Durante la risposta infiammatoria, la CXCL8 viene sintetizzata relativamente tardi rispetto ad altri fattori chemiotattici. Ad esempio, il leucotriene B_4 (LTB₄) è rilevabile entro alcuni minuti dall'attivazione cellulare e le sue concentrazioni raggiungono livelli massimi a 3 ore. Quando le concentrazioni di LTB₄ declinano, la chemochina neo-sintetizzata CXCL8 inizia ad essere secreta e persiste per almeno 24 ore. Altri membri della famiglia delle chemochine, tra cui CCL3 (MIP-1 α) sono capaci di attivare i PMNs.

Oltre alla chemiotassi, le chemochine possono avere un effetto diretto sulla differenziazione delle cellule T mediante l'interazione ligando-recettore o indirettamente modificando il reclutamento delle APCs o la secrezione di citochine. Inoltre, CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β) e CCL5 (RANTES), possono promuovere lo sviluppo dei linfociti Th1 produttori di IFN- γ direttamente per interazione con il recettore CCR5 o indirettamente, incrementando la produzione di IL-12 dalle APCs. Viceversa, CCL2 (MPC-1), CCL7 (MCP-3), CCL8 (MPC-2) e CCL13 (MCP-4) possono inibire la produzione di IL-12 dalle APCs e aumentare la produzione di IL-4 dalle cellule T attivate, inducendo un fenotipo linfocitario Th2.⁶⁵ L'espressione dei recettori per le chemochine può essere utile per valutare la maturazione e differenziazione dei linfociti. Quando i monociti e le cellule dendritiche immature migrano dai vasi ematici nei tessuti ed iniziano la sorveglianza immunitaria, esprimono i recettori CCR1, CCR2, CCR5, CCR6 e CXCR2. In seguito all'interazione con un antigene e alla maturazione delle cellule dendritiche, i recettori infiammatori vengono down-regolati e rimpiazzati dall'espressione di CCR7 che permette alle cellule dendritiche di migrare verso i vasi linfatici di drenaggio e nelle aree T-cellulari dei linfonodi. CXCR5 è espresso da un distinto subset di cellule T che esplicano funzioni cellulari B-helper. Queste cellule rispondono alla CXCL13 (BCL) e sono dirette ai follicoli secondari costituiti da cellule B, dove promuovono la produzione di anticorpi.⁶⁶

RILEVANZA CLINICA DELLE CHEMOCHINE

Questa sezione sarà incentrata sul ruolo delle chemochine nei disturbi allergici. Il ruolo delle chemochine nella neoplasia è stato trattato di recente in alcune reviews,^{67,68} e il ruolo delle chemochine nelle infezioni da HIV e lo sviluppo dell'AIDS sarà trattato nel Capitolo 13.

TABELLA III. Famiglie di chemochine CC, C, CXC, and CX3C e rispettivi recettori

NOME SISTEMATICO	CROMOSOMA	LIGANDO	RECETTORE/I	EFFETTI FISIOLOGICI
Famiglia CC				
CCL1	17q11.2	I-309	CCR8	Infiammazione
CCL2	17q11.2	MCP-1/MCAF	CCR2	Infiammazione
CCL3	17q11.2	MIP-1 α /LD78 α	CCR1, CCR5	Infiammazione
CCL4	17q11.2	MIP-1 β	CCR5	Infiammazione
CCL5	17q11.2	RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	Infiammazione
CCL6	non noto	non noto	non noto	Non noto
CCL7	17q11.2	MCP-3	CCR1, CCR2, CCR3	Infiammazione
CCL8	17q11.2	MCP-2	CCR3	Infiammazione
CCL9	non noto	non noto	non noto	Non noto
CCL10	non noto	non noto	non noto	Non noto
CCL11	17q11.2	Eotassina	CCR3	Infiammazione
CCL12	non noto	non noto	CCR2	Non noto
CCL13	17q11.2	MCP-4	CCR2, CCR3	Infiammazione
CCL14	17q11.2	HCC-1	CCR1	Non noto
CCL15	17q11.2	HCC-2/Lkn-1	CCR1, CCR3	Non noto
CCL16	17q11.2	HCC-4/LEC	CCR1	Non noto
CCL17	16q13	TARC	CCR4	Infiamm, omeostasi
CCL18	17q11.2	DC-CK1/PARC	non noto	Omeostasi
CCL19	9p13	MIP-3 β /ELC	CCR7	Omeostasi
CCL20	2q33-q37	MIP-3 α /LARC	CCR6	Infiamm, omeostasi
CCL21	9p13	6Ckine.SLC	CCR7	Omeostasi
CCL22	16q13	MDC/STCP-1	CCR4	Infiamm, omeostasi
CCL23	17q11.2	MPIF-1	CCR1	Non noto
CCL24	7q11.23	MPIF-2/Eotassina-2	CCR3	Infiammazione
CCL25	19p13.2	TECK	CCR9	Omeostasi
CCL26	7q11.23	Eotassina-3	CCR3	Infiammazione
CCL27	9p13	CTACK/ILC	CCR10	Omeostasi
CCL28	5(?)	MEC	CCR10	Infiamm, omeostasi
Famiglia C				
XCL1	1q23	Linfotattina	XCR1	Non noto
XCL2	1q23	SCM1- α	XCR1	Non noto
Famiglia CXC				
CXCL1	4q12-q13	GRO α /MGS α - α	CXCR2 > CXCR1	Infiammazione
CXCL2	4q12-q13	GRO β /MGS α - β	CXCR2	Infiammazione
CXCL3	4q12-q13	GRO γ / MGS α - γ	CXCR2	Infiammazione
CXCL4	4q12-q13	PF4	non noto	Infiammazione
CXCL5	4q12-q13	ENA-78	CXCR2	Non noto
CXCL6	4q12-q13	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Non noto
CXCL7	4q12-q13	NAP-2	CXCR2	Non noto
CXCL8	4q12-q13	IL-8	CXCR1, CXCR2	Infiammazione
CXCL9	4q21.21	Mig	CXCR3	Infiammazione
CXCL10	4q21.21	IP-10	CXCR3	Infiammazione
CXCL11	4q21.21	I-TAC	CXCR3	Infiammazione
CXCL12	10q11.1	SDF-1 α / β	CXCR4	Non noto
CXCL13	4q21	BLC/BCA-1	CXCR5	Omeostasi
CXCL14	5q31	BRAK/bolechina	non noto	Omeostasi
CXCL15	non noto	non noto	non noto	Non noto
CXCL16	17p13	non noto	CXCR6	Infiammazione
Famiglia CX3C				
CX3CL1	16q13	Fractalchina	CX3CR1	Infiammazione

Nota : Questa tabella è un adattamento delle tabelle presentate da Zlotnik et al.⁵⁸ e Moser et al.⁵⁹. Sono elencati i più comuni nomi dei ligandi umani, ma non tutti i nomi presenti in letteratura.

Elevati livelli di chemochine CCL2 (MCP-1), CCL3, CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL11 (eotassina-1), CCL13 (MCP-4), CCL24 (eotassina-2), CXCL8 (IL-8) e CXCL10 (IP-10) sono stati rilevati nel lavaggio bronchoalveolare e nelle biopsie di pazienti asmatici.⁶⁹ In modelli d'asma murino, CCL2, CCL5, CCL11, CXCL10

e CXCL12 (SDF-1) contribuiscono all'iperreattività bronchiale e alla migrazione cellulare.

Per la capacità di reclutare eosinofili, cellule T e monociti nelle sedi di infiammazione, la famiglia delle chemochine C-C è stata ampiamente studiata nelle malattie allergiche. Diversamente da altri fattori chemiotattici per

gli eosinofili, come LTB₄, PAF e C5a, queste chemochine sono molto selettive per gli eosinofili. CCL5 (RANTES) e CCL11 (eotassina) agiscono in sinergia con l'IL-5 e sono i più importanti fattori chemiotattici per gli eosinofili nell'infiammazione allergica.⁷⁰ L'iniezione di CCL5 o CCL11 porta alla formazione di un infiltrato eosinofilo e mononucleato in assenza di neutrofili. Oltre ad eosinofili, macrofagi, mastociti e cellule T, è stato riportato che altre cellule, quali le cellule strutturali delle vie aeree come la fibrocellula muscolare liscia e i fibroblasti, possono potenziare la sintesi di CCL11. CCL17 (TARC) è espressa dalle cellule dell'epitelio nasale e la sua espressione è più elevata nei pazienti con rinite allergica rispetto ai controlli. L'IL-4 e IL-13 stimolano l'espressione di CCL17 promuovendo una risposta Th2⁷¹, il che consente di ipotizzare che l'espressione di CCL17 nel tessuto polmonare di pazienti asmatici possa aiutare a guidare risposte Th2. CCL13 (MCP-4) può partecipare alla risposta allergica inducendo la secrezione di istamina da basofili pre-attivati dall'IL-3. Questi studi suggeriscono che il *priming* del polmone per l'induzione di una risposta infiammatoria possa essere utile per la *clearance* di virus e batteri, ma sia deleterio nei confronti di stimoli non specifici, come osservato nelle malattie allergiche.

ANTAGONISTI DELLE CHEMOCHINE COME OPZIONI TERAPEUTICHE

Numerose molecole in grado di antagonizzare i recettori delle chemochine sono attualmente valutate in trials clinici. Un antagonista non peptidico per CCR1 (BX471) è in grado di bloccare gli effetti di CCL3 (MIP-1 α), CCL5 (RANTES), e CCL7 (MCP-3). In trials sperimentali su animali, BX471 si è dimostrato in grado di ridurre l'infiammazione nella encefalomielite allergica.⁷²

L'instillazione di CCL2 (MCP-1) nei polmoni di ratto aumenta l'iperreattività bronchiale associata alla degranulazione mastocitaria. La neutralizzazione di CCL2, invece, blocca lo sviluppo di iperreattività bronchiale in risposta all'antigene. Per questo motivo, numerosi antagonisti potenziali di CCL2 o dei suoi recettori sono attualmente in fase di sviluppo. Uno di questi è un derivato indolopiperidinico capace di inibire selettivamente CCR2 senza inibire il recettore strettamente correlato, CCR5.⁷³ Un altro composto, il tiazolidinedione (TZD), correntemente usato per migliorare la resistenza all'insulina in individui con diabete mellito, è stato usato in studi effettuati su linee di cellule umane epiteliali polmonari ed è stato dimostrato che tale farmaco determina un'inibizione dell'espressione di CCL2 indotta da IL-1 β e TNF- α . Il TZD, inibisce anche la chemiotassi dei monociti indotta da CCL2.⁷⁴ Molte chemochine implicate nell'asma, quali CCL5, CCL11 (eotassina), CCL13 (MCP-4), CCL24 (eotassina-2) e CCL26 (eotassina-3), funzionano attraverso l'interazione con il recettore CCR3. Uno studio condotto su un modello murino ha dimostrato che l'uso di un anticorpo neutralizzante anti-CCL11 riduce il reclutamento degli eosinofili nel tessuto polmonare dopo stimolazione con allergene e riduce anche l'associata iperreattività bronchiale. Sia un antagonista nonpeptidico

di CCR3, il recettore di CCL11, (SB-328437), che un derivato piperidinico di CCL11 (UCB-35625) bloccano il reclutamento degli eosinofili in modelli di asma allergico e sono attualmente in fase di utilizzo in trials clinici.⁷⁵

Un'altra molecola che sembra avere una potenziale efficacia è l'antagonista del recettore CCR3 noto come F-1322. F-1322 inibisce la trombassano A² sintetasi, la 5-lipossigenasi e funge da antagonista del recettore H₁ dell'istamina. *In vitro*, F-1322 inibisce la chemiotassi indotta da CCL11 e la polimerizzazione dell'actina degli eosinofili. Inoltre, F-1322 determina, *in vivo*, una riduzione dose-dipendente della migrazione eosinofila nelle vie aeree in risposta all'IL-5 e all'infusione di CCL11 nella cavia.⁷⁶

CCR4 è espresso sulle cellule Th2 e può essere attivato da CCL17 (TARC) e CCL22 (MDC). Ad oggi, non vi sono antagonisti per CCR4, ma è ragionevole ipotizzare che bloccanti di questo recettore possano prevenire il reclutamento dei linfociti Th2 nelle vie aeree. Infine, nell'uomo, il recettore solitamente utilizzato per il reclutamento dei neutrofili è CXCR2. Un antagonista non peptidico di questo recettore (SB225002) si è dimostrato in grado di inibire la migrazione dei neutrofili indotta da CCL8.⁷⁷

Sebbene l'obiettivo attuale sia di sviluppare antagonisti recettoriali specifici, la ridondanza pleiotropica delle chemochine e dei loro recettori potrebbe portare alla necessità di utilizzare simultaneamente diversi antagonisti recettoriali al fine di ottenere una efficace inibizione funzionale delle chemochine.

RIASSUNTO

Le citochine e chemochine rilevanti nella patofisiologia delle malattie allergiche sono riassunte nella tabella IV. Lo switch isotipico delle IgE è attivato dall'IL-4 e dell'IL-13 e potenziato da IL-2, IL-5, IL-6 e IL-9 mentre è inibito da IFN- γ e TGF- β . L'IL-4 è la citochina responsabile della differenziazione dei linfociti mentre il loro reclutamento è promosso soprattutto dalla chemochina CCL2 (MCP-1). L'IL-12, IL-18 e IL-23 inibiscono la differenziazione delle cellule Th2 mentre il reclutamento delle cellule Th1 è mediato da CCL5 (RANTES). L'IL-5 è il più importante fattore eosinofiloipoietico che, insieme al GM-CSF e IL-3, aumenta la sopravvivenza degli eosinofili maturi e li attiva. Queste tre citochine, insieme a TNF ed interferoni, sono responsabili della generazione degli eosinofili maturi che caratterizzano la condizione asmatica. L'eosinofilia può anche essere il risultato del reclutamento selettivo indotto da chemochine eosinofile come CCL3 (MIP-1 α), CCL5 e CCL11 (eotassina). La proliferazione e la differenziazione dei mastociti dipende dall'attività di SCF e di altre citochine, quali IL-3, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11 e Nerve Growth Factor. Lo Stem Cell Factor è un importante fattore di rilascio di istamina dai mastociti; mentre CCL2, CCL3, CCL5 e CCL7 (MCP-3) stimolano la secrezione di istamina dai basofili. Molte citochine contribuiscono allo stato infiammatorio in corso di malattie allergiche. L'IL-1, TNF e IFN- γ aumentano l'espressione delle molecole di adesione delle cellu-

TABELLA IV. Citochine e chemochine nell'allergia e nell'asma

Citochine/chemochine	Attività	
Regolazione IgE	IL-4, IL-13 IL-25 IL-9 IFN- γ , TGF- β IL-4 CCL3, CCL4, CCL5 IL-12, IL-18, IL-23 CCL2, CCL7, CCL8 CCL13, CCL8, CCL13	Switch isotipico ϵ Aumentata produzione di IL-4 e IL-13 Sinergia con IL-4 e IL-13 Inibizione di IL-4 e IL-13 Generazione di linfociti T (Th2-like) produttori di IL-4 Reclutamento di cellule Th1-like Stimolazione di T linfociti (Th1-like) produttori di IFN- γ Reclutamento di cellule Th2-like Reclutamento di cellule Th2-like
Regolazione IgA	TGF- β	Switch isotipico α
Eosinofilia	IL-5 IL-25 IL-5, IL-3, GM-CSF, IL-4, TNF- α , IFN- γ IL-5, IL-3, GM-CSF, CCL3, CCL5, CCL7, CCL11, IL-1, TNF- α , IFN- γ	Eosinofilopoietina Aumentata produzione di IL-5 Inibizione dell'apoptosi Chemiotassi, degranulazione, attivazione
Attivazione dei basofili	CCL2, CCL3, CCL5, CCL7	Chemiotassi e secrezione di istamina
Maturazione dei mastociti	Stem cell factor IL-3, IL-4, IL-9, IL-10, IL-11, NGF Stem cell factor	Crescita e differenziazione Cofattori per la crescita dei mastociti Rilascio di istamina
Espressione molecole di adesione	IL-1, IL-4, IL-13, TNF- α IL-1, TNF- α , IFN- γ IL-1, TNF- α CCL19, CCL21, CXCL12	Induzione di VCAM-1 Induzione di ICAM-1 Induzione di E-Selectina Up-regolazione di LFA-1
Iperreattività delle vie aeree	IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-31, CCL2	
Fibrosi e remodeling vie aeree	CCL5, CXCL10, IL-4, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-17, TGF- α , TGF- β , PDGF, β -FGF, IL-4, IL-9, IL-13	Promuovono la proliferazione dei fibroblasti, la deposizione di collagene e la fibrosi subepiteliale Iperplasia della fibrocellula muscolare liscia

le endoteliali come ICAM-1 e contribuiscono al reclutamento di cellule mononucleate, di neutrofili ed eosinofili a livello polmonare. L'induzione di VCAM-1 da parte dell'IL-4 e dell'IL-13 può promuovere la migrazione selettiva degli eosinofili, basofili e linfociti. Molte citochine e chemochine possono contribuire all'attivazione di questi leucociti quando questi raggiungono le vie aeree. Altre citochine, quali IL-4, IL-6, IL-11, IL-13, IL-17 e TGF- β , rivestono un ruolo importante nel promuovere la fibrosi ed il rimodellamento delle vie aeree.

BIBLIOGRAFIA

- Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF: a primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1989; 7:625-55.
- Perez C, Albert I, DeFay K, Zachariades N, Gooding L, Kriegler M. A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell* 1990; 63:251-8.
- Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today* 1992; 13:151-3.
- Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, et al. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987; 330:662-4.
- Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993; 328:106-13.
- Sims JE, Gayle MA, Slack JL, Alderson MR, Bird TA, Giri JG, et al. Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:6155-9.
- Arend WP. Interleukin-1 receptor antagonist. *Adv Immunol* 1993; 54:167-227.
- Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Greenstreet TA, et al. Molecular cloning of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Science* 1992; 256:97-100.
- Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54:1-78.
- Brunda MJ. Interleukin-12. *J Leukoc Biol* 1994; 55:280-8.
- Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11:483-6.
- Novick D, Schwartsburd B, Pinkus R, Suissa D, Belzer I, Sthoeger Z, et al. A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. *Cytokine* 2001; 14:334-42.
- Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity* 2000; 13:715-25.
- Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, Rauch C, Srinivasan S, Fung V, et al. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science* 1994; 264:965-8.

15. Minshall E, Chakir J, Laviolette M, Molet S, Zhu Z, Olivenstein R, et al. IL-11 expression is increased in severe asthma: association with epithelial cells and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:232-8.
16. Finkelman FD, Holmes J, Katona IM, Urban JF, Jr., Beckmann MP, Park LS, et al. Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection. *Annu Rev Immunol* 1990; 8:303-33.
17. Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, Hammond A, Sprecher C, Gross JA, et al. Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature* 2000; 408:57-63.
18. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993; 11:571-611.
19. Cruikshank WW, Center DM, Nisar N, Wu M, Natke B, Theodore AC, et al. Molecular and functional analysis of a lymphocyte chemoattractant factor: association of biologic function with CD4 expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:5109-13.
20. Paul WE, Ohara J. B-cell stimulatory factor-1/interleukin 4. *Annu Rev Immunol* 1987; 5:429-59.
21. Coffman RL, Ohara J, Bond MW, Carty J, Zlotnik A, Paul WE. B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J Immunol* 1986; 136:4538-41.
22. Romagnani S. Regulation and deregulation of human IgE synthesis. *Immunol Today* 1990; 11:316-21.
23. Vella A, Teague TK, Ihle J, Kapler J, Marrack P. Interleukin 4 (IL-4) or IL-7 prevents the death of resting T cells: Stat-6 is probably not required for the effect of IL-4. *J Exp Med* 1997; 186:325-30.
24. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, Tomioka K, et al. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992; 148:1086-92.
25. Hsieh FH, Lam BK, Penrose JF, Austen KF, Boyce JA. T helper cell type 2 cytokines coordinately regulate immunoglobulin E-dependent cysteinyl leukotriene production by human cord blood-derived mast cells: profound induction of leukotriene C(4) synthase expression by interleukin 4. *J Exp Med* 2001; 193:123-33.
26. Izuhara K, Shirakawa T. Signal transduction via the interleukin-4 receptor and its correlation with atopy. *Int J Mol Med* 1999; 3:3-10.
27. Zurawski G, de Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunol Today* 1994; 15:19-26.
28. Donaldson DD. The murine IL-13 receptor alpha 2: molecular cloning, characterization, and comparison with murine IL-13 receptor alpha 1. *J Immunol* 1998; 161:2317-24.
29. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, Geba GP, Wang J, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest* 1999; 103:779-88.
30. Hultner L, Druetz C, Moeller J. Mast cell growth-enhancing activity (MEA) is structurally related and functionally identical to the novel mouse T cell growth factor P40/TCGFIII (interleukin 9). *Eur J Immunol* 1990; 20:1413-6.
31. Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity* 2001; 15:985-95.
32. Clutterbuck EJ, Hirst EM, Sanderson CJ. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF. *Blood* 1989; 73:1504-12.
33. Rothenberg ME, Petersen J, Stevens RL, Silberstein DS, McKenzie DT, Austen KF, et al. IL-5-dependent conversion of normodense human eosinophils to the hypodense phenotype uses 3T3 fibroblasts for enhanced viability, accelerated hypodensity, and sustained antibody-dependent cytotoxicity. *J Immunol* 1989; 143:2311-6.
34. Kitamura T, Sato N, Arai K, Miyajima A. Expression cloning of the human IL-3 receptor cDNA reveals a shared beta subunit for the human IL-3 and GM-CSF receptors. *Cell* 1991; 66:1165-74.
35. Rothenberg ME, Owen WF, Jr., Silberstein DS, Woods J, Soberman RJ, Austen KF, et al. Human eosinophils have prolonged survival, enhanced functional properties, and become hypodense when exposed to human interleukin 3. *J Clin Invest* 1988; 81:1986-92.
36. Owen WF, Jr., Rothenberg ME, Silberstein DS, Gasson JC, Stevens RL, Austen KF, et al. Regulation of human eosinophil viability, density, and function by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in the presence of 3T3 fibroblasts. *J Exp Med* 1987; 166:129-41.
37. Anderson DM, Lyman SD, Baird A, Wignall JM, Eisenman J, Rauch C, et al. Molecular cloning of mast cell growth factor, a hematopoietin that is active in both membrane bound and soluble forms. *Cell* 1990; 63:235-43.
38. Lukacs NW, Strieter RM, Lincoln PM, Brownell E, Pullen DM, Schock HJ, et al. Stem cell factor (c-kit ligand) influences eosinophil recruitment and histamine levels in allergic airway inflammation. *J Immunol* 1996; 156:3945-51.
39. Matsuda H, Kannan Y, Ushio H, Kiso Y, Kanemoto T, Suzuki H, et al. Nerve growth factor induces development of connective tissue-type mast cells in vitro from murine bone marrow cells. *J Exp Med* 1991; 174:7-14.
40. Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 1992; 119:1017-21.
41. Chen W, Frank ME, Jin W, Wahl SM. TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity* 2001; 14:715-25.
42. Sonoda E, Matsumoto R, Hitoshi Y, Ishii T, Sugimoto M, Araki S, et al. Transforming growth factor beta induces IgA production and acts additively with interleukin 5 for IgA production. *J Exp Med* 1989; 170:1415-20.
43. Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol* 1993; 150:353-60.
44. Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM. IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *J Immunol* 1993; 151:1224-34.
45. Borish L, Aarons A, Rumblyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S. Interleukin-10 regulation in normal and asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1288-96.
46. Gallagher G, Dickensheets H, Eskdale J, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Peat JD, et al. Cloning, expression and initial characterization of interleukin-19 (IL-19), a novel homologue of human interleukin-10 (IL-10).
47. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7:145-73.
48. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell* 2000; 101:455-8.

49. Seder RA, Paul WE, Davis MM, Fazekas de St Groth B. The presence of interleukin 4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4⁺ T cells from T cell receptor transgenic mice. *J Exp Med* 1992; 176:1091-8.
50. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccinini MP, Maggi E, Trinchieri G, et al. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J Exp Med* 1993; 177:1199-204.
51. Darnell JE, Jr., Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994; 264:1415-21.
52. Ihle JN, Witthuhn BA, Quelle FW, Yamamoto K, Thierfelder WE, Kreider B, et al. Signaling by the cytokine receptor superfamily: JAKs and STATs. *Trends Biochem Sci* 1994; 19:222-7.
53. Takeda K, Tanaka T, Shi W, Matsumoto M, Minami M, Kashiwamura S, et al. Essential role of Stat6 in IL-4 signalling. *Nature* 1996; 380:627-30.
54. Losman JA, Chen XP, Hilton D, Rothman P. SOCS-1 is a potent inhibitor of IL-4 signal transduction. *J Immunol* 1999;162:3770-4.
55. Randolph DA, Carruthers CJ, Szabo SJ, Murphy KM, Chaplin DD. Modulation of airway inflammation by passive transfer of allergen-specific Th1 and Th2 cells in a mouse model of asthma. *J Immunol* 1999; 162:2375-83.
56. Platts-Mills T, Vaughan J, Squillace S, Woodfolk J, Sporik R. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study. *Lancet* 2001; 357:752-6.
57. von Bubnoff D, Geiger E, Bieber T. Antigen-presenting cells in allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:329-39.
58. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12:121-7.
59. Moser B, Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat Immunol* 2001; 2:123-8.
60. Thelen M. Dancing to the tune of chemokines. *Nat Immunol* 2001; 2:129-34.
61. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Ann Rev Immunol* 1997; 15:675-705.
62. Constantin G, Majeed M, Giagulli C, Piccio L, Kim JY, Butcher EC, et al. Chemokines trigger immediate beta2 integrin affinity and mobility changes: differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow. *Immunity* 2000; 13:759-69.
63. Mitchison TJ, Cramer LP. Actin-based cell motility and cell locomotion. *Cell* 1996; 84:371-9.
64. Horuk R. The interleukin-8-receptor family: from chemokines to malaria. *Immunol Today* 1994; 15:169-74.
65. Luther SA, Cyster JG. Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nature Immunol* 2001; 2:102-7.
66. Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, Ellwart J, Sallusto F, Lipp M, et al. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med* 2000; 192:1545-52.
67. Arenberg DA, Polverini PJ, Kunkel SL, Shanafelt A, Hesselgesser J, Horuk R, et al. The role of CXC chemokines in the regulation of angiogenesis in non-small cell lung cancer. *J Leukoc Biol* 1997;62:554-62.
68. Wang JM, Deng X, Gong W, Su S. Chemokines and their role in tumor growth and metastasis. *J Immunol Methods* 1998;220:1-17.
69. Miotto D, Christodoulouopoulos P, Olivenstein R, Taha R, Cameron L, Tsiocopoulos A, et al. Expression of IFN-gamma-inducible protein; monocyte chemoattractant proteins 1, 3, and 4; and eotaxin in Th1- and Th2-mediated lung diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:664-70.
70. Venge J, Lampinen M, Hakansson L. Identification of IL-5 and RANTES as the major eosinophil chemoattractants in the asthmatic lung. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1110-5.
71. Terada N, Nomura T, Kim WJ, Otsuka Y, Takahashi R, Kishi H, et al. Expression of C-C chemokine TARC in human nasal mucosa and its regulation by cytokines. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1923-31.
72. Liang M, Mallari C, Rosser M, Ng HP, May K, Monahan S, et al. Identification and characterization of a potent, selective, and orally active antagonist of the CC chemokine receptor-1. *J Biol Chem* 2000; 275:19000-8.
73. Witherington J, Bordas V, Cooper DG, Forbes IT, Gribble AD, Ife RJ, et al. Conformationally restricted indolopiperidine derivatives as potent CCR2B receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2001; 11:2177-80.
74. Momoi A, Murao K, Imachi H, Ishida T, Cao WM, Sato M, et al. Inhibition of monocyte chemoattractant protein-1 expression in cytokine-treated human lung epithelial cells by thiazolidinedione. *Chest* 2001; 120:1293-300.
75. White JR, Lee JM, Dede K, Imburgia CS, Jurewicz AJ, Chan G, et al. Identification of potent, selective non-peptide CC chemokine receptor-3 antagonist that inhibits eotaxin-, eotaxin-2-, and monocyte chemoattractant protein-4-induced eosinophil migration. *J Biol Chem* 2000; 275:36626-31.
76. Mochizuki A, Tamura N, Yatabe Y, Onodera S, Hiruma T, Inaba N, et al. Suppressive effects of F-1322 on the antigen-induced late asthmatic response and pulmonary eosinophilia in guinea pigs. *Eur J Pharmacol* 2001; 430:123-33.
77. White JR, Lee JM, Young PR, Hertzberg RP, Jurewicz AJ, Chaikin MA, et al. Identification of a potent, selective non-peptide CXCR2 antagonist that inhibits interleukin-8-induced neutrophil migration. *J Biol Chem* 1998; 273:10095-8.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Il numero delle citochine è andato via via aumentando da quando, più di 30 aa fa, è stato descritto il primo fattore solubile rilasciato dai linfociti T e responsabile della loro proliferazione ed attivazione. Negli ultimi 5 anni, numerose altre proteine sono state descritte o, come nel caso della IL-17, sono state approfondite alcune loro azioni. L'IL-17 è stata descritta per la prima volta circa 10 aa fa; essa è una citochina proinfiammatoria prodotta da linfociti T in seguito ad attivazione, costituisce il prototipo di una famiglia di molecole correlate, la famiglia della IL-17, ed è attualmente identificata come IL-17A. Cinque ulteriori componenti della famiglia sono stati identificati e clonati (IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E od IL-25 ed IL-17F) con scarsa omologia di sequenza aminoacidica tra loro (ad eccezione della IL-17A ed F che concordano per circa il 50% della loro sequenza) e, soprattutto, nessuna somiglianza con altre molecole citochiniche. Altrettante molecole recettoriali sono state descritte (IL-17R, IL-17R^u1, IL-17R-like, IL-17RD e IL-17RE) ma di esse non è ancora del tutto nota la specificità. L'IL-17A è al momento attuale la citochina più interessante in quanto prodotta da una particolare sottopopolazione di cellule CD4 (Th17) ad attività probabilmente patogenetica in alcune malattie autoimmuni oltre che verosimilmente regolatoria. Linfociti T CD8⁺, le cellule $\gamma\delta$ e le cellule NK sono le altre fonti cellulari capaci di produrre IL-17A ed F. Questa citochina svolge attività infiammatoria simile a quella dell'IL-1 beta e del TNF-alfa ed è importante per il richiamo, la mobilitazione e l'attivazione dei granulociti neutrofili, mentre l'espressione del suo recettore (IL-17RA) su cellule di diversi organi ed apparati fa sì che molti tipi cellulari possano rappresentare il suo bersaglio. La sua espressione è regolata da citochine dell'immunità innata quali IL-1 e TGF-beta e questa caratteristica la pone tra i primitivi componenti del sistema immune e probabile ponte tra immunità innata e specifica; in più, essa stessa induce l'espressione di fattori stimolanti la crescita di colonie (GM-CSF e G-CSF), CXC chemochine (CXCL8, CXCL1 e CXCL10), metalloproteinasi e IL-6 instaurando, quindi, un complesso network di amplificazione della risposta infiammatoria. Viceversa l'IL-17E (o IL-25) è responsabile del reclutamento di granulociti eosinofili e basofili, è prodotta dai linfociti Th2, induce la produzione di IL-5 ed IL-13 e la sua somministrazione nell'animale da esperimento provoca molti degli effetti tipici delle citochine Th2-correlate, come induzione della produzione di IgE, IgG1 ed IgA, iperplasia epiteliale a livello bronchiale ed intestinale, aumento della produzione di muco e infiltrazione eosinofila dei tessuti. Il suo ruolo fisiologico affiancherebbe quello della IL-4 e della IL-5 nella difesa dell'organismo dalle infestazioni parassitarie. Un'ottima ed esauriente revisione delle conoscenze su questa famiglia di citochine è fornita da Weaver e coll. Interessanti novità circa altre citochine coinvolte nelle malattie infiammatorie umane riguardano la famiglia della IL-12 ed in particolare la IL-27 e la IL-32.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

IL-13 receptors and signaling pathways: An evolving web

Gurjit K.Khurana Hershey
April 2003 (Vol.111, Issue 4, Pages 677-690)

Chemokines: Roles in leukocyte development, trafficking, and effector function

Santa Jeremy Ono, Takao Nakamura, Dai Miyazaki, Masaharu Ohbayashi, Maria Dawson, Masako Toda
June 2003 (Vol.111, Issue 6, Pages 1185-1199)

IL-21: a novel IL-2-family lymphokine that modulates B, T, and natural killer cell responses

Tania Habib, Andrew Nelson, Kenneth Kaushansky
December 2003 (Vol.112, Issue 6, Pages 1033-1045)

IL-17 cytokine family

Mio Kawaguchi, Mitsuru Adachi, Naruhito Oda, Fumio Kokubu, Shau-Ku Huang
December 2004 (Vol.114, Issue 6, Pages 1265-1273)

*** Cytokines and chemokines**

John W. Steinke, PhD, Larry Borish, MD
Mini Primer 2006 February 2006 (Vol.117, Issue 2, supplement 2, Pages S441-S445)

Chemokines and their receptors in allergic disease

James Edward Pease, PhD, Timothy John Williams, PhD
August 2006 (Vol.118, Issue 2, Pages 305-318)

*** Adhesion molecules and receptors**

C. Wayne Smith

Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S375-S379)

The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29

Scott Commins, John W. Steinke, Larry Borish
May 2008 (Vol. 121, Issue 5, Pages 1108-1111)

Altri articoli di interesse (2003/2008)

CD28 engagement and proinflammatory cytokines contribute to T cell expansion and long-term survival in vivo

Vella AT, Mitchell T, Groth B, Linsley PS, Green JM, Thompson CB, et al
J Immunol 1997; 158:4714-20

IL-10 subfamily members: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26

Conti P, Kempuraj D, Frydas S, Kandere K, Boucher W, Letourneau R, et al
Immunol Lett 2003; 88:171-4

IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R

Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE, et al
Nat Immunol 2003;4:63-8

Understanding the pro- and anti-inflammatory properties of IL-27

Villarino AV, Huang E, Hunter CA
J Immunol 2004;173:715-20

Human interleukin-19 and its receptor: a potential role in the induction of Th2 responses

Gallagher G, Eskdale J, Jordan W, Peat J, Campbell J, Boniotto M, et al
Int Immunopharmacol 2004;4:615-26

IL-19 induced Th2 cytokines and was up-regulated in asthma patients

Liao SC, Cheng YC, Wang YC, Wang CW, Yang SM, Yu CK, et al
J Immunol 2004;173:6712-8

Interleukin-26

Fickenscher H, Pirzer H
Int Immunopharmacol 2004; 4:609-13

Expression patterns of IL-10 ligand and receptor gene families provide leads for biological characterization

Nagalakshmi ML, Murphy E, McClanahan T, de Waal Malefyt R
Int Immunopharmacol 2004;4:577-92

Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice

Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, Bilsborough J, Rosenfeld-Franklin M, Presnell SR, et al
Nat Immunol 2004;5:752-60

Cutting edge: IL-26 signals through a novel receptor complex composed of IL-20 receptor 1 and IL-10 receptor 2

Sheikh F, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shah NK, Smirnov SV, Anantha S, et al
J Immunol 2004;172:2006-10

New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions

Hunter CA
Nat Rev Immunol. 2005;5:521-31

Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNFalpha

Kim SH, Han SY, Azam T, Yoon DY, Dinarello CA
Immunity 2005;22:131-42

H Interleukin 25 in allergic airway inflammation

Tamachi T, Maezawa Y, Ikeda K, Iwamoto I, Nakajima
Int Arch Allergy Immunol. 2006;140 Suppl 1:59-62

IL-32, a novel cytokine with a possible role in disease

Dinarello CA, Kim SH
Ann Rheum Dis. 2006;65 Suppl 3:61-4

IL-31-IL-31R interactions negatively regulate type 2 inflammation in the lung

Perrigoue JG, Li J, Zaph C, Goldschmidt M, Scott P, de Sauvage FJ, et al
J Exp Med 2007;19:481-7

IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages

Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE
Annu Rev Immunol. 2007;25:821-52

Update on cytokines in rheumatoid arthritis

Brennan F, Beech J
Curr Opin Rheumatol. 2007;19:296-301

3. I Linfociti

Il ruolo primario svolto dal sistema immunitario è rappresentato dalla difesa del “self” dal “non-self”. I linfociti sono le cellule principali del sistema immune che presiedono a uno dei più sofisticati e integrati meccanismi del sistema biologico. Le cellule T rivestono un ruolo fondamentale nell'organizzazione della risposta immune. Inoltre, sono responsabili dell'eliminazione intracellulare dei patogeni (virus, alcuni batteri) attraverso la differenziazione in linfociti T citotossici. Le cellule B ci difendono dai patogeni extracellulari attraverso la produzione di anticorpi. Le cellule Natural Killer sono una componente importante della risposta innata. Le cellule dendritiche svolgono un ruolo chiave nell'avvio della risposta immune attraverso la presentazione dell'antigene alle cellule T. Le interazioni fra linfociti T, B, cellule dendritiche e NK rappresentano la rete fondamentale su cui si fonda il sistema di difesa, la cui integrità garantisce il funzionamento corretto ed efficace del sistema immune.

Il sistema immune è rappresentato da due tipi di immunità: innata e acquisita. L'immunità acquisita si differenzia da quella innata per i seguenti aspetti: la specificità nel riconoscimento dell'antigene, la diversità del recettore per l'antigene, la rapida espansione clonale, la capacità di adattarsi al cambiamento dei vari stimoli esterni all'organismo e la memoria immunologica. I linfociti sono le cellule più importanti della immunità acquisita. I linfociti si dividono in cellule T, B e cellule natural killer (NK). La descrizione di tali sottopopolazioni sarà oggetto della trattazione di questo capitolo.

NASCITA E SVILUPPO

Generazione dei recettori antigene-specifici

La crescita delle cellule B e, in particolar modo, quella delle cellule T a partire dalle cellule staminali pluripotenti richiede successive differenziazioni attraverso tappe obbligate che vedono il loro inizio nel midollo osseo e terminano nel timo (cellule T) o nel tessuto linfoide (cellule B)¹⁻³. Durante la differenziazione i linfociti sono indirizzati a riconoscere gli antigeni “self” rispetto a quelli “non-self”, attraverso l'espressione sulla membrana cellulare di una struttura deputata al riconoscimento, nota come recettore per l'antigene dei linfociti T “T-cell receptors” (TCR) e B “B-cell receptors” (BCR)⁴. Il TCR è costituito da un eterodimero di due catene proteiche transmembrana che

Abbreviazioni utilizzate:

BCR:	B-cell receptor/Recettori cellule B
DC:	Dendritic cell/Cellula dendritica
ICAM:	Intercellular adhesion molecule/Molecola di adesione intercellulare
IFN:	Interferon/Interferone
MHC:	Major histocompatibility complex/Complesso maggiore di istocompatibilità
NK:	Natural killer cells/Cellule natural killer
Th:	T helper
TCR:	T-cell receptors/Recettori cellule T

può essere di tipo $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$, mentre il BCR è composto da immunoglobuline di membrana (Fig. 1 e 2).

Il 90% circa dei linfociti T periferici sono caratterizzati da un TCR di tipo $\alpha\beta$, i restanti da uno $\gamma\delta$, che raggiungono il 25-30% nella mucosa gastrointestinale o nella cute. La generazione del TCR e del BCR è un complicato processo che crea un numero di possibilità maggiori di 10^{14} attraverso l'unione combinatoria dei segmenti V, D e J (per le catene β e δ) o V e J (per le catene α e γ). Tali segmenti sono costituiti da qualche centinaia di esoni (200 per il TCR e 700 per le immunoglobuline) (Fig. 3).

La ricombinazione è avviata dall'interleuchina (IL)-7 e coinvolge un gran numero di enzimi tra cui 2 ricombinasi - geni attivanti la ricombinazione -1 e -2 (Rag-1 e Rag-2) e un enzima di riparazione del DNA (metallo- β -lattamasi) codificata dal gene Artemis⁵. La mancanza dell'enzima ricombinasi, del recettore per l'IL-7 e del prodotto del gene Artemis è causa di una grave immunodeficienza combinata. Una deficienza parziale di RAG-1 e RAG-2, causa la sindrome di Omenn (vedi capitolo 12), che può anche essere indotta da una alterazione di Artemis. Il BCR è in grado di riconoscere peptidi piccoli e larghi, come pure le loro strutture tridimensionali complesse (descritte come determinanti conformazionali), e anche antigeni non peptidici. Al contrario, il TCR riconosce solo peptidi lineari in piccoli frammenti di 10-12 residui amminoacidici, che sono processati e presentati dalle cellule presentanti l'antigene attraverso il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di I o II classe⁶.

SELEZIONE DELLE CELLULE T ALL'INTERNO DEL TIMO

Attraverso un processo di riarrangiamento di sequenze geniche vengono generati TCR reattivi e non nei con-

Traduzione italiana del testo di:
Rafeul Alam, Magdalena Gorska
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S476-85

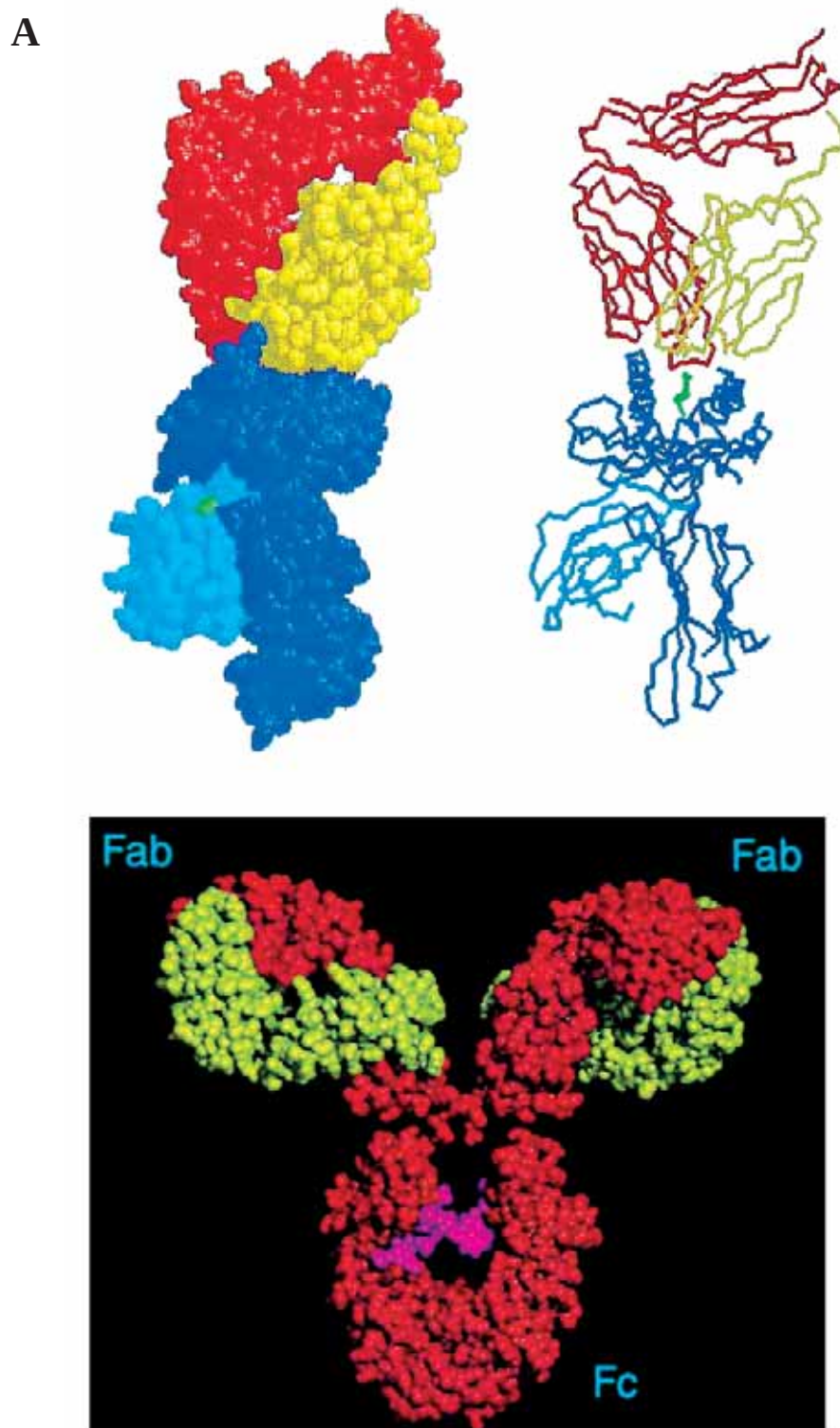


FIG 1. Struttura cristallografica dell'interazione tra il TCR e l'antigene legato alla molecola MHC di classe I (**A**) e la IgG1 (**B**). **A.** Il TCR (catena α in giallo e catena β in rosso) è rappresentato nella parte superiore e la molecola MHC di classe I (catena α in blu scuro e β 2 microglobulina in blu chiaro) nella parte inferiore. L'antigene (verde) è posto nella "tasca", cioè nella regione della molecola MHC che prende contatto fisico con il peptide antigenico. Il pannello a sinistra mostra un modello a riempimento spaziale, mentre nel pannello a destra è rappresentata una struttura a nastro. Nota che la figura della regione costante del TCR è incompleta (modificata da Garboczi DN, et al. Nature 1996;384:134-41). **B.** Le catene pesanti della IgG1 sono in rosso, le catene leggere in giallo, e i carboidrati in rosa. Fc, Frammento costante; Fab, Frammento legante l'antigene. Entrambe le figure sono state cortesemente concesse da Mike Clark sul sito <http://www.path.cam.ac.uk/~mrc7/>

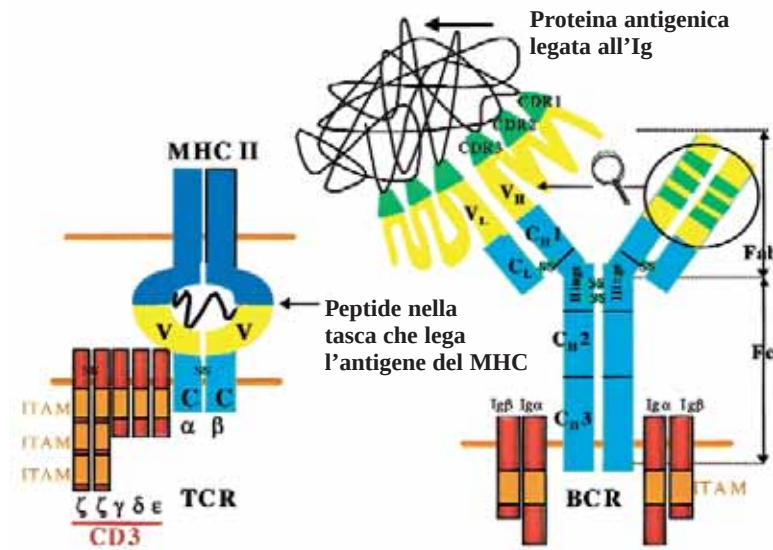


FIG 2. Composizione del TCR e del BCR. Il TCR è composto dal complesso CD3 e dalle subunità $\alpha\beta$ (o $\gamma\delta$). Le subunità $\alpha\beta$ (o $\gamma\delta$) legano il complesso MHC-peptide antigenico, il complesso CD3 trasduce il segnale intracellulare. Il BCR è composto da una immunoglobulina di superficie e dalle molecole accessorie Ig α e Ig β . V, Regione variabile del recettore; C, Regione costante del recettore; $\zeta\zeta\gamma\delta\epsilon$, subunità del complesso CD3; α e β , subunità del TCR; Ig, immunoglobuline di membrana; Ig α e Ig β , molecole accessorie del BCR; C_H e C_L , regioni costanti delle catene pesanti (H) o leggere (L) delle immunoglobuline; V_H e V_L , regioni variabili delle catene pesanti (H) o leggere (L) delle immunoglobuline; CDR, regione determinante la complementarità; ITAM, Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif (motivo di attivazione basato sulla tirosina dell'immunorecettore); Fc, frammento costante; Fab, frammento legante l'antigene.

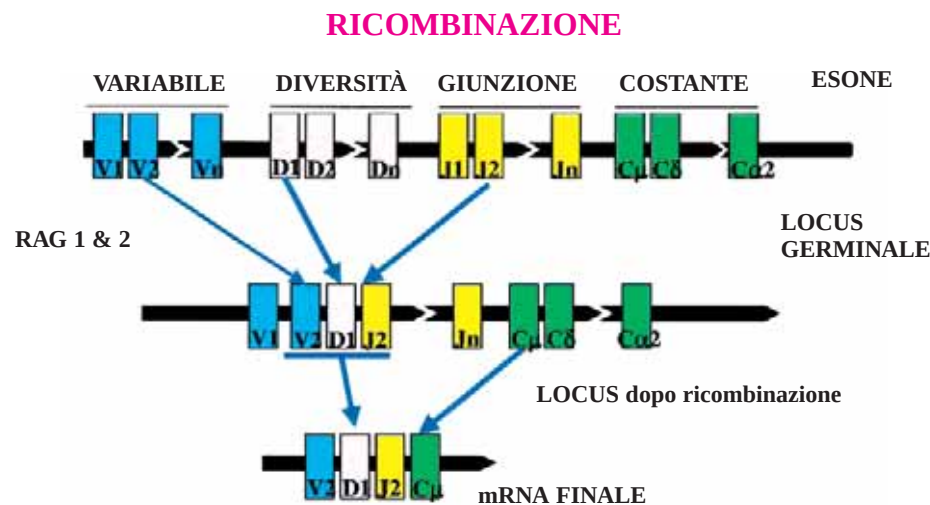


FIG 3. Il locus della catena pesante delle immunoglobuline rappresenta un esempio di organizzazione genomica dei recettori per l'antigene. Gli esoni V, D, J, codificano per la regione variabile del sito delle immunoglobuline legante l'antigene e gli esoni C codificano per la regione costante. RAG, gene attivante la ricombinazione.

fronti dell' MHC self⁷. Le cellule T richiedono un segnale attraverso il TCR per sopravvivere e proliferare. Le cellule T che non sono in grado di reagire con il complesso peptide-MHC self o che lo legano con scarsa avidità muoiono per mancanza del segnale legato al TCR (death by neglect). Le cellule T che riconoscono il complesso peptide-MHC self vengono selezionate per l'ulteriore maturazione (selezione positiva). Tra queste cellule, quelle con una avidità molto alta per i peptidi self (cellule T autoreattive) vengono eliminate (selezione negati-

va). In normali circostanze, sopravvivono e successivamente si differenziano solamente le cellule T contraddistinte da una moderata affinità nei confronti dei peptidi di tipo self. Il 95% dei precursori T cellulari viene eliminato per selezione negativa o per la mancata espressione di un TCR adeguato al riconoscimento del complesso MHC-peptide self. Anche i linfociti B autoreattivi, sebbene in percentuale inferiore ai linfociti T, sono soggetti ad eliminazione mediante un processo di selezione negativa. Tuttavia, la maggior parte delle cellule B autoreatti-

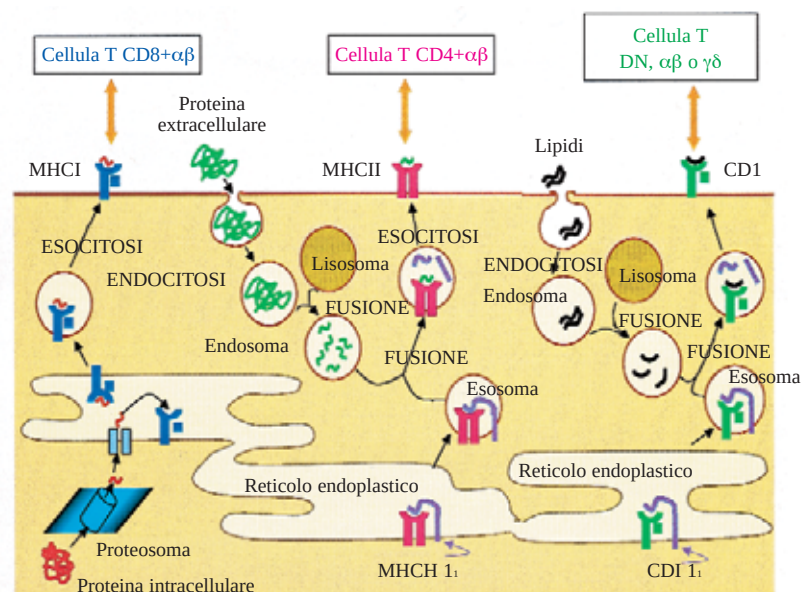


FIG 4. Presentazione e processazione degli antigeni. Le proteine endogene (proteine self e virali) vengono degradate nei proteosomi, trasportate dal TAP sul reticolo endoplasmatico, dove vengono associate alle molecole MHC di I classe e trasportate sulla superficie cellulare per la presentazione alle cellule T CD8. Al contrario delle molecole di I classe, le molecole di II classe e CD1 non si associano con le proteine endogene nel reticolo endoplasmatico, ma si associano con la catena invariante (Ii) e vengono trasportate agli esosomi. Le proteine extracellulari e i lipidi vengono endocitati e degradati dagli enzimi lisosomiali e, in seguito, vengono complessati con le molecole MHC di classe II e CD1, rispettivamente. Contemporaneamente la catena invariante viene degradata. Gli esosomi trasportano i peptidi associati alle molecole MHC di classe II e CD1 sulla superficie cellulare per la presentazione alle cellule T CD4 $\alpha\beta$ e doppiamente negative o CD8 $\gamma\delta$, rispettivamente.

ve è sottoposta ad una successiva ricombinazione genica attraverso un processo chiamato “receptor editing” che si conclude con la sostituzione del BCR autoreattivo. Nel corso della prima fase della differenziazione, dopo il primo stadio di riarrangiamento del gene del TCR, i linfociti T immaturi coesprimono il CD4 e il CD8 (cellule doppio-positive)⁹. Nella fase successiva le cellule CD4 sono selezionate mediante l’interazione con l’MHC di tipo II, mentre le cellule CD8 sono selezionate attraverso l’interazione con l’MHC di tipo I. I linfociti CD4 e CD8 rimangono ristretti per uno specifico antigene riconosciuto dall’MHC per tutta la loro vita. Due tirosin chinasi, Lck e la proteina associata alla catena-zeta (chiamata ZAP-70) svolgono un ruolo fondamentale nella selezione dei CD4 e dei CD8, rispettivamente. Pertanto, i pazienti con una grave alterazione dell’Lck presentano una immunodeficienza a causa dell’alterata differenziazione dei CD4. Allo stesso modo, alterazioni della ZAP-70 causano una immunodeficienza relativa ai CD8 (Vedi Cap. 12). Una piccola percentuale di cellule T, prevalentemente del sottotipo $\gamma\delta$, sono CD4 e CD8 negative (doppio negative).²

IL LINFOCITA ANTIGENE - NAÏVE

La frequenza di un linfocita antigene specifico nel sangue periferico è < allo 0,001%. Per aumentare le probabilità di incontrare l’antigene i linfociti circolano continuamente attraverso i vari tessuti. Le cellule naïve di tipo T e B migrano preferenzialmente verso i linfonodi per la

presenza di specifici recettori di homing, come la L-selectina e il CCR7. I ligandi corrispondenti per la migrazione periferica come, ad esempio, l’addressina dei linfonodi periferici, il ligando CC19 e il CC21 sono di norma espressi sull’endotelio venulare dei linfonodi. Le cellule T rimangono normalmente per 24 ore nel linfonodo, quindi lo abbandonano ma ricircolano attraverso i linfonodi periferici più volte.

INCONTRO CON L’ANTIGENE

Presentazione dell’antigene

Le cellule presentanti l’antigene (APC) professionali sono quelle cellule che esprimono elevati livelli di MHC II e sono capaci di fagocitare, processare e presentare gli antigeni all’interno del sistema MHC. Le classiche cellule APC includono le cellule dendritiche (CD), le cellule B, monociti, i macrofagi, e la loro controparte tissutale. Le cellule dendritiche immature presenti in periferia fagocitano e processano l’antigene con alta avidità (Tabella I).¹⁰

Le molecole derivate dai patogeni (ligandi per i recettori toll-like -lipopolisaccaride, flagellino, peptidoglicani, oligodeossinucleotidi) e le citochine derivanti dai tessuti infiammati, come il tumor necrosis factor (TNF) e l’IL-1, attivano la maturazione delle CD e stimolano la processazione e l’esposizione dell’antigene legato all’MHC. Le CD mature secernono citochine e stimolano la sintesi di differenti molecole costimolatorie e del CCR7. L’espressione del CCR7

TABELLA I. Molecole MHC

Geni	MHC I HLA-A, B, C	MHC II HLA-DP, -DQ, -DR
Struttura	La catena transmembrana α è legata alla β 2-microglobulina, solo la catena α interagisce con il peptide	Catene transmembrana α e β , entrambe interagiscono con il peptide
Peptide presentato	I peptidi derivano da proteine intracellulari self/nonself, p.e. peptidi virali	I peptidi derivano da proteine extracellulari, p.e. peptidi batterici
Meccanismo di presentazione	Le proteine intracellulari vengono degradate dall'ubiquitina /proteasoma nel citosol, trasportate dal TAP nel reticolo endoplasmatico e assemblata all'MHC; il complesso MHC/peptide trasloca sulla membrana cellulare	Le proteine extracellulari vengono endocitate e degradate da proteasi lisosomiali; in seguito gli endosomi contenenti il peptide si fondono con le vescicole contenenti l'MHC; il peptide è associato all'MHC e il complesso MHC/peptide trasloca sulla membrana cellulare
Cellule presentanti	Tutte le cellule nucleate, incluse le APC	APC: cellule B, cellule dendritiche, macrofagi
Cellule T coinvolte	Cellule T CD8	Cellule T CD4

TAP, Trasportatore eterodimerico associato alla processazione dell'antigene

TABELLA II. Molecole costimolatorie delle cellule T

Recettori	Espressione	Ligando	Ruolo	Topi knock-out
Membri della famiglia CD28 CD28	Costitutiva	B7.1 (CD80) inducibile (attraverso la stimolazione CD40), B7.2 (CD86) costitutiva sulle APC	Essenziale per l'attivazione della risposta delle cellule T naive, stimola la produzione di IL-2, protegge dall'apoptosi, la mancanza del segnale CD28 porta ad anergia delle cellule T	Diminuita produzione di IL-2, espressione di CD25, secrezione di immunoglobuline e scambio isotipico, deficit di risposta Th2, conservata la risposta CD8
CD152 (CTLA-4)	Inducibile su cellule attivate	B7.1/B7.2	Inibisce la proliferazione delle cellule T attivate e la produzione di IL-2, blocca la risposta T-cellulare	Massiva linfoproliferazione e danni a numerosi organi, le cellule T sono spostate verso una risposta Th2
ICOS	Inducibile su cellule attivate	B7RP-1, costitutiva, soprattutto cellule B e macrofagi	Importante per la differenziazione e le funzioni effettrici delle cellule Th1/Th2, aumenta la produzione di IL-4,-10,-13, ma non di IL-2, promuove la generazione di cellule T della memoria	Alterata formazione dei centri germinali e scambio di classe, bassi livelli di immunoglobuline, le cellule T non secernono IL-4 e IL-13.
PD-1	Inducibile su cellule attivate	B7-H1/B7-DC, inducibile su APC	Inibisce la proliferazione di cellule T attivate e la produzione di citochine	Patologie lupus-like, aumentato titolo di immunoglobuline
Membri della famiglia TNF CD134 (OX40)	Inducibile, espresso transitoriamente, entro 24-120 h dopo la stimolazione T cellulare	OX40L, inducibile su APC	Promuove l'espansione clonale delle cellule T attivate durante la risposta primaria e la generazione di cellule T della memoria	CD4 non possono sostenere la produzione di IL-2 e l'espansione clonale durante la risposta primaria. Ridotto numero di cellule T della memoria. Nel modello dell'asma deficit della risposta Th2 e infiammazione polmonare, risposta CD8 sostanzialmente normale.
CD27	Inducibile su cellule T attivate	CD27L	Come sopra (OX40), particolarmente importante per le cellule T CD8	Ridotta espansione clonale e formazione memoria; maggiormente affette le cellule CD8
CD137 (4-1BB)	Inducibile	4-1BBL	Stimola la funzione delle cellule CD8	Aumentata proliferazione T cellulare, ridotta funzione delle cellule effettrici
Light-R		Light	Stimola la proliferazione, la produzione di citochine, e la citotossicità di cellule CD8 dopo la stimolazione superantigenica	Deficit della risposta CD8 ai superantigeni, conservata la risposta agli antigeni classici

CTLA, Cytotoxic T lymphocyte antigen; ICOS, costimolatore inducibile; Light, linfotossina, espressione inducibile, compete con la glicoproteina D del virus herpes simplex per i mediatori dell'ingresso degli herpes virus, un recettore espresso dai linfociti T; OX40, antigene riconosciuto dall'anticorpo monoclonale OX; PD, morte programmata; TNF, fattore di necrosi tumorale.

permette la migrazione nei linfonodi coinvolti (Tabella II). Sono stati delineati almeno tre meccanismi di processazione e presentazione dell'antigene (Figura 4).

Proteine sintetizzate all'interno della cellula (proteine self e virali) sono degradate all'interno dei lisosomi. I peptidi così degradati sono trasportati nel reticolo endoplasmatico dalle proteine deputate al trasporto, quindi legati all'MHC di classe I ed esposti sulla superficie cellulare per la presentazione alle cellule CD8.

Proteine sintetizzate all'interno della cellula (proteine self e virali) sono degradate all'interno dei lisosomi. I peptidi così degradati sono trasportati nel reticolo endoplasmatico dalle proteine deputate al trasporto, quindi legati all'MHC di classe I ed esposti sulla superficie cellulare per la presentazione alle cellule CD8. Le proteine derivanti da patogeni extracellulari vengono endocitate da APC, degradate in piccoli peptidi in compartimenti lisosomiali o endosomiali, i quali vengono associati all'MHC di classe II e trasportati sulla superficie cellulare per la presentazione alle cellule CD4.

I lipidi e i derivati lipidici sono processati in maniera simile alle proteine extracellulari negli endosomi, coniugati al CD1, una molecola simile all'MHC, e presentati alle cellule doppio negative o alle cellule CD8 caratterizzate frequentemente dai recettori $\gamma\delta$.

Le CD mature, dopo aver processato l'antigene ed essere migrate nei linfonodi drenanti i tessuti infiammati, presentano gli epitopi antigenici ad un specifica cellula T. Tale processo richiede un contatto fisico fra le due cellule, denominato "sinapsi immunologica"¹¹. Durante la formazione di questo legame, il contatto avviene fra i lunghi ligandi e i loro recettori extracellulari (ad es. CD11a-1-molecola di adesione intercellulare [ICAM]1, non integrina afferrante ICAM-3 specifico delle CD-ICAM3. Successivamente, si verifica la segregazione delle molecole di superficie, che portano il TCR e le molecole costimolatorie (CD4/CD8, CD28), a localizzarsi al centro della zona di contatto. In seguito il TCR e le molecole costimolatorie si legano ai ligandi presenti sull'APC; questa interazione dura per molte ore. Il TCR è associato al complesso CD3, composto delle subunità γ , δ , ϵ e 2 ζ . Il corretto assemblaggio di tale complesso è necessario per l'attivazione del TCR. La mancanza della subunità CD3 γ determina una severa immunodeficienza, mentre quella della subunità CD3 ϵ ne induce una forma più lieve (Vedi Cap. 12). Il legame del TCR al complesso peptide-MHC causa un'attivazione delle tirosinchinasi associate al CD4 e al CD3 -Lck e Fyn. L'associazione tra queste chinasi e i componenti del CD3 porta alla fosforilazione dei residui di tirosina della catena ζ che trasmettono il segnale per l'attivazione cellulare¹². Un segnale simultaneo attraverso il TCR e le molecole costimolatorie è indispensabile per la corretta attivazione delle cellule T¹³ (2-signal paradigm). Tale attivazione porta alla produzione di IL-2 e alla proliferazione clonale antigene-specifica delle cellule T che possono temporaneamente espandersi dallo 0,001% a più del 30% dell'intera popolazione linfocitaria¹⁴. La stimolazione del TCR in assenza delle molecole costimolatorie comporta anergia cellulare (1-signal paradigm) con blocco della produzione di IL-2 e della proliferazione.

Per le cellule T naïve la molecola costimolatoria più importante è il CD28. Il CD28 lega le proteine della famiglia B7, presenti sulla superficie cellulare delle APC. Il legame del CD28 comporta l'attivazione di una guanosina trifosfatasi, con incremento del segnale TCR-indotto da protein-chinasi attivate da mitogeni, importante per la produzione di IL-2. Il CD28 attiva molecole anti-apoptotiche come il fosfatidil-inositolo-3-kinasi e la Akt (anche nota come protein-chinasi B) in modo da favorire la sopravvivenza delle cellule T. Il CD28 favorisce anche l'esposizione di altre molecole costimolatorie, come il ligando CD40 (CD40L) e il costimolatore inducibile, creando un feedback positivo e aumentando le interazioni con le APC. Il costimolatore inducibile aumenta la secrezione di citochine e la generazione di cellule T della memoria. Il CD40L ha un ruolo cruciale nella attivazione della cellula B.

A causa della bassa frequenza delle cellule T antigene specifiche, la stimolazione antigenica tipicamente attiva solo una piccola quota di linfociti T. I superantigeni sono prodotti microbici che legano il TCR al di fuori della tasca che normalmente lega il peptide complessato. Comprendono le esotossine stafilococciche, responsabili della sindrome da shock tossico, e altri prodotti batterici¹⁵. Essi si legano a famiglie di cellule T che esprimono particolari V β del TCR, determinando l'attivazione selettiva di tutti i membri con quella specifica V β (5-10% delle cellule T). Per esempio, l'enterotossina stafilococcica B attiva le cellule T che esprimono un TCR con catene V β 3 e V β 8.

CELLULE B

Il legame di un antigene multivalente al BCR (Fig. 1) stimola quattro differenti processi: la proliferazione B cellulare, la differenziazione in plasmacellule che producono anticorpi, l'induzione della memoria antigenica e la presentazione dell'antigene alle cellule T. Le cellule B costituiscono il centro germinativo dei linfonodi. Come il TCR, il BCR utilizza chinasi Src simili (Lyn, Fyn, Blk) per avviare il segnale di trasduzione¹⁶. Questo processo è favorito dall'azione del complesso costimolatorio: CD21-CD19-CD81. Il CD21 è il recettore per la proteina del complemento C3d; quest'ultimo interagisce con il suo ligando e il peptide legato al BCR. Tale interazione avvicina fisicamente il CD19 al BCR e aumenta il segnale intracellulare. Nei topi con deficit di C3/C4 la proliferazione delle cellule B e la secrezione di anticorpi sono diminuite. Una volta avvenuto il legame con l'antigene le cellule B internalizzano, processano (Tabella I) e presentano l'antigene alle cellule T. Le cellule T stimolano le cellule B in diverse maniere. Le citochine prodotte dalle cellule T, IL-4, IL-5, IL-6, IL-12 e l'INF- γ stimolano la proliferazione delle cellule B e la loro differenziazione in plasmacellule. L'interazione fra cellule T e cellule B permette il segnale mediante i corecettori CD40L-CD40 che, in presenza della IL-4 svolge un ruolo fondamentale nello scambio (switch) isotipico delle immunoglobuline. Le cellule B naïve esprimono sulla superficie IgM e IgD. Dopo la stimolazione antigenica, avviene lo switch

TABELLA III. Funzione delle immunoglobuline

Classe	Funzione immunoglobulinica	Funzione sul recettore legante Fc*
IgD	Forma il BCR sulle cellule B	Nessuna
IgM	Forma il BCR sulle cellule B, lega patogeni e tossine, attiva il complemento	Nessuna
IgG (IgG₁₋₄)	Neutralizza direttamente le tossine, blocca l'adesione di patogeni, attiva il complemento	Facilita l'ADCC, agisce come una opsonina, p.e. attiva i fagociti, inibisce la funzione dei linfociti attraverso il FcγRII (CD32)
IgA(IgA₁₋₂)	Neutralizza direttamente le tossine, blocca l'adesione di patogeni sulle mucose	Facilita l'ADCC
IgE	Nessuna	Induce la degranulazione di mast cellule e basofili, prolunga la sopravvivenza delle mast cellule, facilita l'ADCC mediata da eosinofili contro i parassiti

ADCC, Citotossicità anticorpo-mediata anticorpo dipendente; Fc, frammento costante.

* I recettori Fc sono presenti su numerose cellule del sistema immune e legano la regione costante delle immunoglobuline.

TABELLA IV. Cellule Th

Sottotipo	Fattori di differenziazione		
	Citochine	Fattori di trascrizione	Citochine prodotte*
Th1	IL-12, IL-18, IL-27, INF-γ	T-bet, STAT-4, STAT-1, Hlx, NF-ATp	INF-γ, IL-2, TNF-β*
Th2	IL-4, IL-13	GATA-3, STAT-6, NF-ATc, c-Maf, NF-kBp50, c-Rel	IL-3, 4, 5, 9, 10, 13, IL-25*

STAT, segnale di traduzione e attivazione della trascrizione; Hlx, H2.0 like homebox gene; T-bet, fattore di trascrizione T-box espresso dalle cellule T; TNF, fattore di necrosi tumorale; NF-ATp, fattore nucleare preesistente delle cellule T attivate; NF-ATc, fattore nucleare citoplasmatico delle cellule T attivate; GATA, fattore trascrizionale legato all'elemento di sequenza nucleotidica (A/T)GATA(AG); c-Maf, omologo cellulare dell'oncogene v-Maf; Maf, fibrosarcoma muscoloaponeurotico; c-Rel, omologo cellulare dell'oncogene v-Rel; Rel, relish.

*Per la descrizione della funzione delle citochine vedere il capitolo "Citochine"

TABELLA V. Meccanismi della citotossicità delle cellule CD8

Gruppo	Mediatore	Funzione
Proteine granulari citotossiche	Perforina	Le perforine si inseriscono nella membrane delle cellule target e formano pori. Le cellule T CD8 utilizzano questi pori per iniettare il contenuto dei granuli direttamente nel citosol delle cellule target
	Granzimi	Proteasi inducenti morte rapida delle cellule target attraverso l'attivazione di molecole pro-apoptotiche: caspasi, BID, DFF45
Recettori	FasL	FasL si associa con il recettore Fas sulle cellule target. Fas attiva direttamente le caspasi e stimola l'apoptosi delle cellule target
	TWEAK TRAIL	TWEAK e TRAIL inducono l'apoptosi attraverso meccanismi simili
Citochine	TNF-α	Attiva le caspasi nelle cellule target

BID; BH3-interacting death agonist; DFF45, fattore-45 di frammentazione del DNA; TRAIL, ligando inducente l'apoptosi correlata al TNF; TWEAK, debole induttore di apoptosi TNF-like

isotipico con produzione di IgG, IgA o IgE. La funzione delle diverse immunoglobuline è sintetizzata nella tabella III. I pazienti con deficit di CD40L sviluppano una ipergammaglobulinemia di tipo IgM, caratterizzata da ridotta produzione di IgG, IgA o IgE. Il segnale del CD40 attiva la via del nuclear factor (NF)-κB-inducibile (NF-κB). Pazienti con deficit del modulatore essenziale NF-κB, proteina coinvolta nella regolazione del fattore nucleare κB, sviluppano infezioni gravissime con bassi livelli di IgG (accompagnati da aumento delle IgM).

L'attivazione dello switch isotipico è solo uno dei molteplici ruoli del CD40. Il legame con il CD40 facilita la proliferazione e la differenziazione delle cellule B, la sopravvivenza, la memoria, l'ipermutazione somatica e la produzione di immunoglobuline. L'importanza del CD40L per la maturazione di organi linfoidi secondari è testimoniata dal fatto che in pazienti con deficit del CD40L, l'attivazione di cellule B e la formazione di centri germinativi non ha luogo. Lo switch isotipico richiede riarrangiamenti sequenziali dei segmenti costanti nel locus delle catene

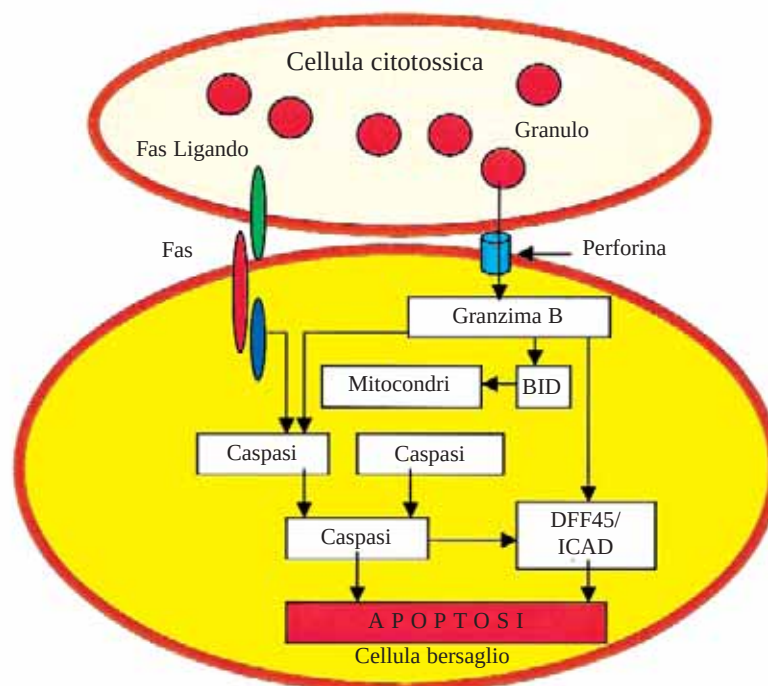


FIG 5. Meccanismo citotossico delle cellule T killer e NK. Le cellule killer attivano la via apoptotica esogena attraverso il legame di FasL con Fas. Alternativamente, inducono la formazione di pori nella membrana delle cellule target attraverso il legame della perforina. La formazione di pori permette la penetrazione di enzimi citotossici come il granzima B. Ciò può determinare l'attivazione sia della via esogena che endogena di apoptosi, mediante l'attivazione delle caspasi 8 e 9, rispettivamente. Entrambi i processi conducono all'attivazione della caspasi 3 e all'induzione di apoptosi. Il Granzima B può anche attivare direttamente la DNA-si caspasi-attivata (CAD) attraverso i fattori di frammentazione del DNA-(DFF)45/inibitore CAD (CAD). CAD è un endonucleasi e cliva il DNA.

pesanti. L'affinità antigenica è ottenuta grazie ad un processo chiamato ipermutazione somatica, nel quale si ha rottura del DNA seguita da riparazione mediante addizione o delezione di singoli nucleotidi, in modo da creare un anticorpo con la maggiore affinità possibile nei confronti dell'antigene¹⁷. Entrambi i processi di switch isotipico ed ipermutazione somatica sono facilitati dall'enzima citidina deaminasi RNA-riparatrice (Tabella III).

FASE EFFETTRICE

Il Fenotipo delle cellule T

Le cellule T e B linfonodali attivate diminuiscono l'espressione del CCR7, iniziano ad esprimere recettori per chemochine che sono preferenzialmente presenti nei tessuti periferici (CCR2, CCR4, CCR5, CXCR3) e migrano nel sito di penetrazione del patogeno. In questo sito le cellule esercitano le loro funzioni effettrici quali la citotossicità e la produzione di citochine per quanto riguarda i linfociti T e la produzione di anticorpi relativamente ai linfociti B. In seguito all'incontro dell'antigene con il linfocita CD4 naïve, la cellula T, chiamata anche T helper 0 (Th0), si differenzia in senso Th1/Th2, mentre il linfocita CD8 si differenzia in cellula T citotossica. (Tabella IV e V).

La differenziazione Th1/Th2 è indotta rispettivamente dalla presenza di IL-12 e IL-4¹⁸.

Le citochine sono usualmente secrete dalle APC e dalle

cellule accessorie. La differenziazione delle cellule helper è un processo a più fasi e comprende una serie di eventi collegati, la divisione cellulare e l'espressione genica che infine rendono la cellula in grado di produrre determinate citochine. Per quanto riguarda la differenziazione in senso Th1, l'interazione IL-12/STAT-1 gioca sicuramente un ruolo fondamentale. Anche l'interazione IL-27/STAT-1 è importante nella differenziazione precoce. L'azione congiunta di questi percorsi di signaling attiva il principale fattore Th1 regolatore-T-box trascrittore espresso nelle cellule T, in modo tale da indurre la differenziazione in senso Th1 e bloccare quella Th2. Il segnale dell'IL-4 via STAT-6, insieme ad altri segnali indotti da molecole non ancora ben identificati, inducono il principale fattore dello switch Th2-GATA-3. Una volta attivato, GATA-3 ha un effetto autoinducibile, stimola la produzione di citochine Th2 e inibisce la differenziazione Th1. Le citochine prodotte dalle cellule Th1 e Th2 sono elencate nella Tabella IV. Le cellule Th1 sono principalmente indotte da virus, Micobatteri, Listeria, etc., e svolgono un ruolo critico nei confronti di questi patogeni endocellulari.

Le cellule Th2 sono indotte da patogeni o antigeni extracellulari – parassiti, batteri, allergeni. Sono stati descritti due tipi fondamentali di cellule dendritiche. Le DC1 sono forti produttrici di IL-12 e favoriscono la differenziazione Th1, mentre le DC2 sono deboli produttrici di tale citochina e influenzano lo sviluppo verso Th2¹⁹. Alcuni autori hanno descritto una terza popolazione costituita da cellule Th3²⁰. La somministrazione cronica,

preferibilmente orale di basse dosi di antigeni, induce cellule CD4Th3, che producono TGF- β e inducono tolleranza orale.

I linfociti CD8 esplicano la loro attività citotossica attraverso il riconoscimento di antigeni nonself nel contesto delle MHC di I tipo. Le cellule CD8 hanno due tipi diversi di attività citotossica: il meccanismo Fas/FasL e le perforine (Fig. 5)²¹.

La perforina è una molecola formante pori nella membrana, che permette il rilascio di enzimi granulari (p.e. granzimi) direttamente nel citosol della cellula target. Il Granzima B induce rapida apoptosi della cellula target in maniera dipendente e indipendente da caspasi. Alcuni autori suddividono le cellule T citotossiche in due popolazioni -Tc1 e Tc2, applicando il criterio delle cellule Th. Le prime secernono INF- γ , le seconde IL-4 e IL-5. Le cellule naïve TCD8 hanno una forte tendenza a differenziarsi in cellule Tc1. INF- γ e IL-12 stimolano questo processo. Entrambi i subsets sono egualmente efficaci nella loro funzione citotossica. Le cellule Tc2 possono essere di sostegno ai linfociti B.

NK CELLS

Le cellule natural killer (NK) costituiscono una sottopopolazione di linfociti citotossici CD56 positivi (NK1.1+ nei topi), che non processano l'antigene, essendo componenti dell'immunità innata²². Si sviluppano nel midollo osseo sotto l'influenza dell'IL-2 e IL-15. Esprimono recettori per le molecole MHC di I tipo, appartenenti alla famiglia dei recettori inibitori delle cellule killer. Questi recettori inducono le fosfatasi (dominio omologo Src contenente la proteina tirosina fosfatasi 1) a tradurre il segnale inibitorio. Le cellule NK sono di per sé attive a meno che non vengano inibite da molecole MHC di tipo self. Svolgono pertanto un ruolo centrale nell'immunosorveglianza di target non self (p.e. cellule trapiantate, tumori, cellule modificate da virus). Allo stesso tempo mediano la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente, rilasciando i loro mediatori tossici, una volta che hanno legato le IgG presenti sulle cellule tumorali o infettate da virus. La citotossicità delle cellule NK è simile a quella delle cellule CD8 ed è descritta nella Tabella V. Anche alcune cellule T esprimono l'NK1.1. Rappresentano una distinta linea di cellule TCD3+, chiamate cellule T NK, caratterizzate dall'espressione di un repertorio TCR limitato (V α 14/V β 8.2 nei topi e V α 24/V β 11 nell'uomo)²³. Tali recettori non riconoscono peptidi ma glicolipidi nel contesto delle molecole CD1. In seguito ad attivazione producono elevati livelli di IL-4, INF- γ e TNF- α .

TOLLERANZA IMMUNOLOGICA

L'eliminazione di cellule B e T autoreattive nel timo e nel midollo osseo, attraverso la selezione negativa è definita come "tolleranza centrale"²⁴. Alcune evidenze indicano che cellule T e B autoreattive possono sfuggire a questo processo. Tali cellule possono riconoscere

questi antigeni con una avidità non sufficiente a innescare la selezione negativa. Allo stesso tempo non tutti gli autoantigeni sono presenti a livello del timo e del midollo osseo. Nonostante la presenza di cellule autoreattive e la presentazione di antigeni self negli organi linfoidi, l'autoimmunità non si sviluppa grazie alla presenza della tolleranza periferica che può essere indotta dai meccanismi di seguito descritti. Le cellule dendritiche che esprimono autoantigeni sono praticamente sprovviste di molecole costimolatorie e non sono attivate. Secernono inoltre IL-10. Sotto l'influsso di tali fattori la maggior parte dei linfociti sono spinti verso uno stato di anergia piuttosto che verso uno di attivazione. Inoltre, la presentazione dell'antigene in assenza di segnali costimolatori può portare alla delezione clonale tramite apoptosi. Negli organi periferici le cellule autoreattive sono soppresse da una particolare popolazione di cellule che esprimono contemporaneamente il CD4+ e il CD25 e che vengono definite cellule T regolatorie²⁵. Sono coinvolte nel mantenimento della tolleranza al self, poiché secernono grandi quantità di IL-10 e TGF- β e bloccano la proliferazione di linfociti autoreattivi. I topi knock-out per il gene TGF- β presentano lesioni infiammatorie multiple in diversi organi; quelli knock-out per il gene dell'IL-10 sviluppano una colite simile al morbo di Crohn.

L'OMEOSTASI

Il sistema immune è contraddistinto da una notevole plasticità. L'azione del compartimento linfocitario dopo l'eliminazione dell'agente patogeno termina rapidamente così come era iniziata. L'attivazione T-cellulare è programmata in modo tale da autolimitarsi ed è governata da una serie di stimoli eccitatori e inibitori. L'antigene-4 linfocita T citotossico, il CD32 (FC γ RII), il recettore B Ig-like, il CD22, il gp49B1, il recettore inibitorio delle cellule killer sono esempi di una crescente famiglia di recettori che inibiscono la risposta immune mediante un immunorecettore presente sulla loro catena citosolica, definito motivo della sequenza inibitoria²⁶. Un altro meccanismo è l'attivazione della morte cellulare, nel quale il CD95 stimolato interagisce con il recettore Fas ed elimina le cellule T esprimenti Fas.

LE CELLULE DELLA MEMORIA

Alcuni linfociti antigene specifici sono destinati a sopravvivere alla fase di remissione precedentemente descritta andando a formare il pool delle cellule di memoria. Nel caso di un secondo incontro con l'antigene, tali linfociti garantiscono una più pronta e adeguata risposta immune. La formazione di cellule della memoria nei linfociti CD8 è correlata alla espressione di IL-15. I linfociti T di memoria esprimono aumentati livelli di markers di attivazione come p.e. CD2, CD44, CD25, CD11a e CD49d. Le cellule T naïve presentano sulla membrana il CD45RA, mentre le cellule T della memoria esprimono il recettore CD45RO. Vi sono due popolazioni di cellule T destinate alla memoria: le cel-

lule T effettrici e quelle della memoria centrale²⁷. Le cellule T effettrici non esprimono il CCR7 e l'L-selettina, migrano in periferia e danno un adeguato supporto nei confronti di patogeni, producendo rapidamente citochine. Le cellule della memoria centrale migrano nei linfonodi grazie all'espressione di CCR7 e L-selettina. Una volta incontrato l'antigene possono differenziarsi in cellule T effettrici e migrare nei tessuti periferici. In tal modo, esse costituiscono gli elementi cellulari di riserva per la popolazione di cellule effettrici.

CONCLUSIONI

Il sistema immune si è evoluto in modo tale da combinare elevata specificità e sensibilità, capacità di distinguere il self dal non-self, capacità di rispondere alle emergenze e di conservare la memoria antigenica a lungo-termine. È strutturato in modo tale da garantire molteplici meccanismi di ricombinazione nonostante un numero limitato di geni. Grazie a tale eccellente plasticità il sistema immune può essere considerato unico rispetto a tutti gli altri organi e apparati.

BIBLIOGRAFIA

- Marrack P, Bender J, Hildeman D, Jordan M, Mitchell T, Murakami M, et al. Homeostasis of alpha beta TCR+ T cells. *Nat Immunol* 2000;1:107-11.
- Carding SR, Egan PJ. Gammadelta T cells: functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2002;2:336-45.
- Calame KL. Plasma cells: finding new light at the end of B cell development. *Nat Immunol* 2001;2:1103-8.
- Nemazee D. Receptor selection in B and T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 2000;18:19-51.
- Hesslein DG, Schatz DG. Factors and forces controlling V(D)J recombination. *Adv Immunol* 2001;78:169-232.
- Hennecke J, Wiley DC. T cell receptor-MHC interactions up close. *Cell* 2001;104:1-4.
- Sebzda E, Mariathasan S, Ohteki T, Jones R, Bachmann MF, Ohashi PS. Selection of the T cell repertoire. *Annu Rev Immunol* 1999;17:829-74.
- Germain RN. T-cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat Rev Immunol* 2002;2:309-22.
- Moser B, Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat Immunol* 2001;2:123-8.
- Guermonprez P, Valladeau J, Zitvogel L, Thery C, Amigorena S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2002;20:621-67.
- Dustin ML. Membrane domains and the immunological synapse: keeping T cells resting and ready. *J Clin Invest* 2002;109:155-60.
- Hermiston ML, Xu Z, Majeti R, Weiss A. Reciprocal regulation of lymphocyte activation by tyrosine kinases and phosphatases. *J Clin Invest* 2002;109:9-14.
- Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2002;2:116-26.
- Blattman JN, Antia R, Sourdive DJ, Wang X, Kaech SM, Murali-Krishna K, et al. Estimating the precursor frequency of naïve antigen-specific CD8 T cells. *J Exp Med* 2002;195:657-64.
- Papageorgiou AC, Acharya KR. Microbial superantigens: from structure to function. *Trends Microbiol* 2000;8:369-75.
- Gauld SB, Dal Porto JM, Cambier JC. B cell antigen receptor signaling: roles in cell development and disease. *Science* 2002;296:1641-2.
- Papavasiliou FN, Schatz DG. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes: merging mechanisms for genetic diversity. *Cell* 2002;109 (suppl):S35-44.
- Glimcher LH. Lineage commitment in lymphocytes: controlling the immune response. *J Clin Invest* 2001;108:s25-s30.
- Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2002;2:151-61.
- Weiner HL. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol Rev* 2001;182:207-14.
- Russell JH, Ley TJ. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol* 2002;20:323-70.
- Moretta L, Bottino C, Pende D, Mingari MC, Biassoni R, Moretta A. Human natural killer cells: their origin, receptors and function. *Eur J Immunol* 2002;32:1205-11.
- Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol Today* 2000;21:573-83.
- Walker LS, Abbas AK. The enemy within: keeping self-reactive T cells at bay in the periphery. *Nat Rev Immunol* 2002;2:11-9.
- Shevach EM, McHugh RS, Piccirillo CA, Thornton AM. Control of Tcell activation by CD4+ CD25+ suppressor T cells. *Immunol Rev* 2001;182:58-67.
- Cambier JC. Inhibitory receptors abound? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:5993-5.
- Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat Rev Immunol* 2002;2:251-62.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Nessun altro capitolo dell'immunologia di base si è tanto arricchito in questi ultimi 5 anni di nuove conoscenze quanto l'immunologia cellulare con la descrizione di diverse nuove sottopopolazioni a funzione effettrice e regolatoria: linfociti Th17, Tregs e NKT. Nonostante che la IL-17 (in particolare IL-17A ed F) fosse conosciuta da almeno dieci anni, soltanto recentemente è stata riconosciuta l'esistenza di cellule a funzione effettrice capaci di produrre tale citochina da sola (Th17) o in associazione ad IFN-gamma. Nel topo, l'esistenza di tale sottotipo cellulare e dei possibili meccanismi di differenziazione è stata dimostrata a partire da animali k.o. per IL-23 che sono protetti dallo sviluppo di encefalite allergica sperimentale e artrite da collagene, patologie che erano state finora correlate all'azione patogenetica delle cellule Th1. In tali animali, in realtà, il numero delle cellule capaci di produrre IFN-gamma è normale mentre sono drasticamente diminuite le cellule Th17 il cui ruolo nella sclerosi multipla e nell'artrite reumatoide umana è stato quindi indagato. Allo stato attuale, un ruolo patogenetico di tale tipo cellulare è stato individuato nella psoriasi, nella artrite da Borrelia e nella malattia di Crohn, tra le altre, mentre in alcune infezioni batteriche la produzione di IL-17 sarebbe associata ad una possibile funzione protettiva (infezioni da *Klebsiella pneumoniae*, da *Bacterioides fragilis*, da *Candida albicans*). A questo proposito, la dimostrazione che lo zimosan sia capace di stimolare la produzione di IL-17 fa supporre un ruolo protettivo delle cellule che la producono anche nelle infezioni da batteri intracellulari quali i micobatteri. Più incerti sono i meccanismi differenziativi delle cellule Th17; le citochine che regolano lo sviluppo di tale sottopopolazione cellulare sarebbero parzialmente diverse tra uomo e topo ed il relativo ruolo svolto da IL-23, TGF-beta, IL-1 e IL-6 deve essere ancora definito. Oltre all'azione patogenetica in alcune malattie autoimmuni, le cellule Th17 potrebbero anche svolgere un ruolo regolatorio specie nei confronti delle cellule Th1.

Inoltre, da pochi anni sono conosciuti tipi cellulari specificatamente deputati alla soppressione delle risposte effettrici, chiamati genericamente Tregolatori (o Tregs) il cui fenotipo, funzione e modalità di azione sono ancora motivo di discussione. Le cellule Tregs sono linfociti CD4⁺ specializzati nel controllo delle risposte effettrici, nella regolazione negativa delle risposte nei confronti dei patogeni e nella prevenzione delle risposte nei confronti del self: essi operano cioè nel mantenimento della tolleranza periferica (ovvero extra-timica). Essi si dividono in Treg naturali che si sviluppano nel timo e sono caratterizzati dalla coespressione di CD4 e CD25 (nTreg CD4⁺CD25⁺) e Treg adattivi che si sviluppano in periferia in risposta a diversi antigeni o in condizioni che favoriscono la tolleranza. Le cellule Treg esprimono il fattore di trascrizione FOXP3 che sembra essere fondamentale per la funzione regolatoria. Mutazioni del gene che codifica per tale fattore sono responsabili della comparsa di una rara ma gravissima sindrome nell'uomo (IPEX) caratterizzata da autoimmunità, iperIgE, ed eczema atopico. Una vasta letteratura al riguardo consente di comprendere l'importanza di queste cellule nel mantenere una corretta omeostasi immunologica. Tale controllo è anche esercitato dalle cellule NKT cosiddette per la co-espressione di marcatori tipici sia dei linfociti T che delle cellule NK ed inizialmente identificate come tipi cellulari capaci di riconoscere gli antigeni presentati in associazione con la molecola CD1. Di derivazione timica analogamente ai classici linfociti T, esse sono distinte in due sottopopolazioni: i) iNKT (i da invariant) o NKT di tipo I che esprimono un repertorio TCR limitato (V α 14-J α 18 e V β 11 nell'uomo) e che possono essere a loro volta distinte in CD4⁺ e CD4⁻CD8⁻; ii) niNKT che esprimono invece un repertorio TCR più ampio. Anche se inizialmente riconosciute come cellule capaci di essere attivate da α -GalCer, reagente derivato dalle spugne e, quindi, verosimilmente simile ad un ligando naturale esogeno od endogeno, le cellule NKT si sono differenziate per la risposta nei confronti di costituenti lipidici di varia derivazione (microbi, cellule autologhe, cellule cancerose, allergeni) e come tali sono quindi implicate nelle risposte immuni nei confronti di agenti infettivi, tumori e trapianti. È possibile un loro coinvolgimento anche in alcune patologie autoimmuni quali il lupus eritematoso sistemico e l'aterosclerosi, nonché in altre patologie croniche quali le epatiti virali, la colite ulcerosa e l'asma.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma

Dale T Umetsu, Omid Akbari, Rosemarie H DeKruyff, William T Shearer, Lanny J Rosenwasser, Bruce S Bochner
September 2003 (Vol.112, Issue 3, Pages 480-487)

Immunologic influences on allergy and the Th1/Th2 balance

Sergio Romagnani
March 2004 (Vol.113, Issue 3, Pages 395-400)

Involvement of human natural killer cells in asthma pathogenesis: Natural killer 2 cells in type 2 cytokine predominance

Haiming Wei, Jian Zhang, Wei Xiao, Jinbo Feng, Rui Sun, Zhigang Tian
January 2005 (Vol.115, Issue 4, Pages 841-847)

Role of regulatory T cells and FOXP3 in human diseases

Rosa Bacchetta, Eleonora Gambineri, Maria-Grazia Roncarolo
August 2007 (Vol. 120, Issue 2, Pages 227-235)

Th17 cells in the big picture of immunology Carsten B. Schmidt-Weber, Mübeccel Akdis, Cezmi A. Akdis
August 2007 (Vol. 120, Issue 2, Pages 247-254)

*** Lymphocytes**

David F. LaRosa, Jordan S. Orange

Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S364-S369)

T-cell effector pathways in allergic diseases: Transcriptional mechanisms and therapeutic targets

Talal A. Chatila, Ning Li, Maria Garcia-Lloret, Hyon-Jeen Kim, Andre E. Nel

April 2008 (Vol. 121, Issue 4, Pages 812-823)

Altri articoli di interesse (2003/2008)

Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage

Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT

Curr Opin Immunol. 2006;18:349-56

Regulation of the T cell response

Romagnani S

Clin Exp Allergy. 2006;36:1357-66

Differentiation and function of Th17 T cells

Stockinger B, Veldhoen M

Curr Opin Immunol. 2007;19:281-286

Th17 cell induction and immune regulatory effects

Bi Y, Liu G, Yang R

J Cell Physiol. 2007;211:273-8

IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages

Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE

Annu Rev Immunol. 2007;25:821-52

Invariant NKT cells and tolerance

Nowak M, Stein-Streilein J

Int Rev Immunol. 2007;26:95-119

Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression

Miyara M, Sakaguchi S

Trends Mol Med. 2007;13:108-16

iNKT cells in allergic disease

Meyer EH, DeKruyff RH, Umetsu DT

Curr Top Microbiol Immunol. 2007;314:269-91

Control points in NKT-cell development

Godfrey DI, Berzins SP

Nat Rev Immunol. 2007;7:505-18

NKT cells: T lymphocytes with innate effector functions

Van Kaer L

Curr Opin Immunol. 2007;19:354-64

4. IgE, mastociti, basofili ed eosinofili

Le IgE, i mastociti e gli eosinofili costituiscono elementi essenziali dell'infiammazione allergica. Le IgE allergene specifiche, sintetizzate in individui suscettibili in risposta ad allergeni ambientali, si legano ai recettori ad alta affinità presenti, principalmente, sulle membrane cellulari di basofili e mastociti. Se, in seguito ad una ri-esposizione allo specifico allergene, i recettori presenti su mastociti e basofili vanno incontro ad aggregazione, vengono liberati dagli stessi basofili e mastociti mediatori che producono la risposta allergica. Gli eosinofili sono le cellule principali ad essere richiamate nel sito di rilascio dei mediatori.

IgE

Gli anticorpi di tipo reaginico IgE (immunoglobuline E) hanno un peso molecolare approssimativo di 190 kd, non passano la barriera placentare e, diversamente dalle altre immunoglobuline, non attivano il complemento attraverso la via classica. Le IgE sono termolabili e non inducono sensibilizzazione dopo diverse ore di riscaldamento a 56°C. Sono inoltre conosciute soprattutto per la capacità di legarsi al recettore specifico ad alta affinità (R) FcεRI, che è localizzato nella sua forma completa (αβγ₂) sulle membrane di mastociti e basofili.¹

La concentrazione di IgE nel siero è, fra i 5 isotipi di immunoglobuline umane, la più bassa (0-0,0001 g/L, costituente lo 0.004% della concentrazione sierica totale delle immunoglobuline) ed è dipendente dall'età. La concentrazione sierica è bassa nel cordone ombelicale (<2kIU/L, <4,8 mg/L) ed aumenta con l'età fino al raggiungimento dei 10-15 anni. Gli individui con una predisposizione all'allergia vanno incontro ad un aumento precoce e più rapido della concentrazione. Il valore delle IgE totali declina fra la seconda e l'ottava decade di vita. Si stima che approssimativamente il 50% delle IgE del corpo umano si trovi nel compartimento intravascolare. L'emivita delle IgE nel sangue periferico è di 1 - 5 giorni.^{1,2}

LA SINTESI DI IgE

Le cellule B inizialmente producono anticorpi IgM ma, in seguito a stimolo appropriato, cambiano l'isotipo dell'anticorpo prodotto, conservando, allo stesso tempo, per mezzo della condivisione della stessa regione variabile, la stessa specificità. Questo "cambio di isotipo" (switch isotipico) è efficiente per il fatto che permette ad un singolo clone di cellule B di produrre anticorpi con la stessa

Abbreviazioni utilizzate:

CD40L:	Ligando CD40
EDN:	Eosinophil derived neurotoxin/ Neurotossina Eosinofilo-Derivata
GM-CSF:	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor/Fattore stimolante le colonie di granulociti-monociti
INF:	Interferone
Ig:	Immunoglobulina
IL:	Interleuchina
ITAM:	Immunoreceptor tyrosine-based activation motif
LT:	Leucotriene
MBP:	Major basic protein/Proteina Basica Maggiore
MC ^T :	Mastocita (T: contenente triptasi)
MC ^{TC} :	Mastocita (TC: contenente triptasi e chimasi)
PGD ² :	Prostaglandina D2
R:	Recettore
SCF:	Stem Cell Factor
STAT-6:	Signal transducer and activator of transcription 6/Segnale di trasduzione e attivazione della trascrizione 6
TNF:	Tumor Necrosis Factor
VCAM:	Molecola di adesione vascolare cellular
VLA:	Very late antigen

sa specificità ma la cui regione costante delle catene pesanti determina differenti funzioni effettrici. Questo processo consiste nel riarrangiamento (splicing and rejoining) del DNA genomico col fine di giustapporre segmenti genici VDJ ad esoni della regione C che codificano, nel caso delle IgE, per la catena ε la quale, a sua volta, determina l'isotipo IgE.

La sintesi di IgE necessita di due tipi di segnale. Il primo segnale è dato dalle citochine interleuchina (IL)-4 e IL-13, le quali attivano la trascrizione in uno specifico locus immunoglobulinico. Il secondo segnale è dato dal legame del CD40 sulle cellule B che, a turno, attiva la ricombinazione del DNA necessaria allo switch isotipico. Entrambi i segnali sono presentati alle cellule B da cellule T.^{3,4}

Il processo inizia con il legame dell'allergene ad un anticorpo IgM allergene-specifico adeso alla cellula B, la quale procede, a sua volta, a processare l'allergene. Quando, a seguire, la cellula B presenta frammenti di questo allergene nel contesto di molecole MHC di classe II al complesso recettore cellula T- CD3 su una cellula Th2, la cellula T rapidamente esprime IL-4 e CD40 ligando (CD40L, CD154). CD40 L interagisce con CD 40

Traduzione italiana del testo di:
Calman Prussin e Dean D. Metcalfe
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S486-94

espresso sulle cellule B. Questa interazione porta all'espressione sulle cellule B di B7, che a sua volta lega CD28 sulla cellula T determinando la up-regolazione di IL-4 di derivazione dalle cellule T (Fig. 1). L'IL-4, poi, si lega al suo recettore (IL-4R) sulla cellula B scatenando la trascrizione della linea germinale per C. L'interazione CD40-CD40L attiva la ricombinazione del DNA nella regione target per lo ϵ switch isotipico verso IgE a cui segue, la secrezione di anticorpi IgE allergene-specifici.^{3,5}

L'attivazione della linea ϵ germinale da parte di IL-4 ha inizio con il legame γ di quest'ultimo al suo recettore sulla cellula B (IL-4R); questo recettore è un eterodimero formato da una catena α e una catena γ , che è presente anche nell'IL-2, IL-7, IL-9 e nell'IL-15. La dimerizzazione di IL-4R indotta da IL-4 conduce all'attivazione di Janus chinasi 1, adesa alla catena α , e di Janus chinasi 3, adesa alla catena γ . La fosforilazione della catena α genera siti di legame (docking sites) per il fattore di trasduzione del segnale e attivazione della trascrizione 6 (STAT-6). La fosforilazione della tirosina porta alla omodimerizzazione di STAT-6 con il risultato che STAT-6 è traslocato al nucleo, dove si lega agli elementi promotori IL-4-responsivi e attiva la trascrizione.⁵ La trascrizione della linea germinale e lo switch di classe IgE sono profondamente danneggiati nei topi carenti di per STAT-6.⁴ Oltre a STAT-6 è necessario che, a livello del promoter del gene, siano presenti ed attivi il fattore nucleare B, la cui attivazione è successiva al legame di CD40, e gli elementi proteici attivatori specifici per la cellula B. BCL-6, un fattore di trascrizione POZ/zinc-finger, è in grado di reprimere la trascrizione ϵ germinale. I topi carenti di BCL-6 sono caratterizzati da un aumentato switch di classe.⁴ Polimorfismi del gene per BCL-6 sono stati associati ad atopia.⁶

Nelle cellule umane B, oltre all'IL-4, anche l'IL-13 induce la trascrizione del gene ϵ per la linea germinale.⁷ L'IL-13 attiva il segnale attraverso il recettore per IL-4 tipo II, che è costituito dalla catena α dell'IL-4R e da un'unica catena IL-13R1 nella sua forma attivante.

Il ruolo critico dell'interazione di CD40 - CD40L, nella sintesi delle IgE e nello switch di classe isotipico, è visibile nei pazienti con Sindrome da iper-IgM X-linked.^{3,4} Questi pazienti, deficienti in CD40L, sono, di conseguenza, incapaci di produrre IgA, IgG o IgE.

I mastociti ed i basofili umani hanno la proprietà, come dimostrato più volte, di secernere IL-4, IL-13 od entrambi e di esprimere alcune molecole CD40L. Queste osservazioni suggeriscono che queste cellule possono interagire con le cellule B nel fornire il segnale per la sintesi o l'amplificazione di IgE. Questo meccanismo non sembra essere allergene specifico, ma piuttosto induce una risposta policlonale.³ L'osservazione che la risposta IgE negli stati iper-IgE è policlonale è in accordo con quest'ipotesi.

Recettori per le IgE

Esistono 2 distinti recettori per le IgE, il recettore a bassa affinità (Fc ϵ RII; CD23) presente sulle cellule B ed il recettore ad alta affinità (Fc ϵ RI). L'Fc ϵ RI è espresso sui mastociti e basofili in forma di tetramero ($\alpha\beta\gamma_2$), laddove sulle cellule presentanti l'antigene, quali monociti, cellule di Langerhans e cellule dendritiche di sangue

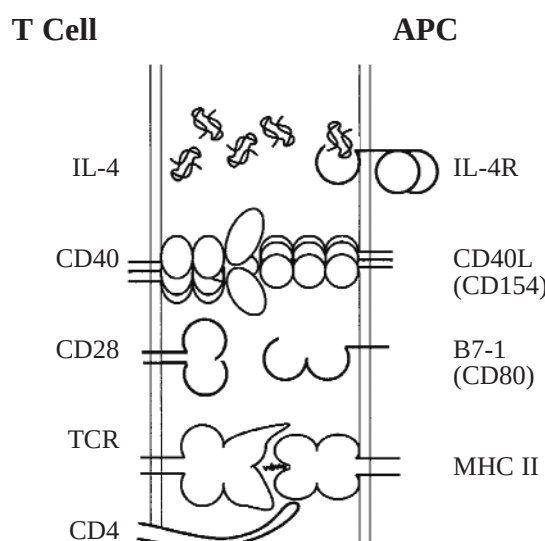


FIG 1. Interazioni molecolari fra cellule Th2 e cellule B necessarie per la sintesi di IgE. APC, cellula presentante l'antigene; TCR, recettore della cellula T.

periferico, assume una forma trimerica ($\alpha\gamma_2$). La densità di espressione di Fc ϵ RI sui basofili umani è correlata alla concentrazione sierica di IgE⁸ poiché il recettore è stabilizzato alla superficie cellulare dal legame delle IgE a Fc ϵ RI. Le interazioni Fc ϵ RI-IgE possono anche promuovere la sopravvivenza dei mastociti.

Il frammento Fc delle IgE si lega alla catena α del Fc ϵ RI. La catena unica β del Fc ϵ RI, che presenta due *tyrosine-based activation motifs* (ITAMs), amplifica il segnale di questo recettore ed è associato alla chinasi lyn. Le due catene γ , legate da un ponte disolfuro, contengono ciascuna due ITAMs, che si fosforilano in seguito all'aggregazione del complesso IgE-recettore. La chinasi syk si lega, poi, all'ITAM della catena γ e ne determina l'attivazione.⁹ Le concentrazioni proteiche di syk sono indosabili nei basofili "nonreleaser", cioè basofili che non degranulano in risposta al cross-linking con Fc ϵ RI.¹⁰ I basofili nonreleaser vengono "salvati" dall'IL-13, la quale induce l'espressione di syk. Anche lyn, legato all'ITAM β , è fosforilato in seguito all'aggregazione di Fc ϵ RI.

La cascata lyn-syk-dipendente implica la fosforilazione di substrati multipli. Fanno parte di questi substrati: molecole *adaptor*, quali la proteina simil-collagene src omologa, vav ed il clinker per l'attivazione delle cellule T; fosfolipasi, quali PLC γ_1 e PLC γ_2 ; tirosin-chinasi, quali "focal adhesion" chinasi e Bruton tirosin-chinasi; proteine o fosfatasi-inositolo, quali SHP1, SHP2 e SHIP. Il co-legame con recettori inibitori, tipo Fc ϵ RI con Fc γ RIIb, comporta, nei basofili umani, una down-regolazione delle risposte secretorie.¹¹

Dosaggio delle IgE totali e specifiche

Le concentrazioni di IgE totali sono influenzate da età, predisposizione genetica, gruppo etnico, stato immunitario, stagione dell'anno e da alcuni stati patologici (vedi anche Capitolo 23). Valori aumentati di IgE vengono

riscontrati nelle: infezioni parassitarie, quali schistosomiasi e anchilostomiasi; infezioni, quali aspergillosi broncopolmonare allergica e mononucleosi da virus di Epstein-Barr; malattie cutanee, quale pemfigoide bolloso; malattie neoplastiche, quali la malattia di Hodgkin e mieloma IgE; immunodeficienze, quali la sindrome di Wiskott-Aldrich, la sindrome da iper-IgE, l'ipoplasia timica (sindrome di Di George) e la immunodeficienza cellulare con immunoglobuline (sindrome di Nezelof); e svariate altre patologie, quali la sindrome nefrosica, la fibrosi cistica, la malattia di Kawasaki e la poliarterite nodosa infantile.² Tutte queste informazioni dimostrano come il dosaggio delle IgE totali sieriche sia di limitato valore nello screening delle malattie allergiche.

Le IgE totali vengono generalmente dosate per mezzo di un test immunometrico non competitivo a due siti. Questa tecnica utilizza, per la cattura delle IgE, una fase solida a cui sono covalentemente legati anticorpi anti-IgE in eccesso molare per la cattura delle IgE sieriche. Un diverso anticorpo IgE antiumano marcato con enzima, fluoroforo o radionuclide è aggiunto anch'esso in eccesso molare per svelare le IgE legate (vedi Capitolo 23).

Anticorpi IgE antigene-specifici vengono in genere misurati per mezzo di test cutanei o per mezzo di appositi test in vitro. La somministrazione di estratto allergenico si effettua per puntura (prick) o per iniezione intradermica. Il test cutaneo per puntura (skin prick test) si effettua ponendo una piccola goccia di estratto allergenico sulla cute a cui segue una puntura attraverso la goccia per far penetrare l'allergene nel derma. Una reazione immediata con eritema e pomfo, viene valutata dopo 15-20 minuti. Il test cutaneo intradermico comporta una iniezione intradermica di 0,02 mL di antigene diluito, per mezzo di una siringa con ago 26-27 gauge. La reazione è valutata dopo 15-20 minuti (vedi Capitolo 23).

Esistono in commercio molteplici metodi per la ricerca degli anticorpi IgE allergene-specifici nel siero. Questi metodi sono particolarmente utili quando non è possibile usare la cute per la presenza di una malattia cutanea estesa, quando è in corso una terapia farmacologica, in caso di dermatografismo spiccato o quando sarebbe necessario utilizzare per il test cutaneo un estratto che ha un'alta probabilità di indurre una reazione sistemica.

I valori di IgE allergene-specifici, in un determinato individuo, dipendono dall'intensità e dalla durata dell'esposizione. Le concentrazioni di anticorpi IgE allergene-specifici, come regola, hanno un picco a circa 4 settimane dall'inizio della stagione pollinica e gradatamente diminuiscono fino alla stagione successiva. Le IgE specifiche normalmente diminuiscono durante immunoterapia. È necessario ricordare che molti individui hanno risposte positive ad un test per ricerca delle IgE allergene-specifiche ma non manifestano reattività clinica nei confronti degli stessi allergeni.

MASTOCITI

I mastociti sono cellule infiammatorie localizzate nei tessuti, che originano nel midollo osseo e che rispondono a segnali di pericolo giocando un ruolo nell'immunità

innata e nell'immunità acquisita, attraverso il rilascio immediato e ritardato di mediatori infiammatori.¹² È noto che i mastociti svolgono un ruolo fondamentale nel determinismo dei processi di anafilassi ed in altre malattie allergiche in virtù della loro capacità di essere attivati dal legame con le IgE allergene-specifiche, mediante interazione con i recettori FcεRI, modulando anche la loro concentrazione sulla superficie cellulare in base all'interazione con l'ambiente esterno.

Il mastocita umano, nei tessuti, ha generalmente forma ovoidale o irregolarmente allungata. Suo elemento caratteristico è la presenza di granuli citoplasmatici densi che occupano il citoplasma. Negli esseri umani, questi granuli contengono strutture a forma reticolare o spirale. Il nucleo del mastocita ricorda una plasmacellula. Dopo colorazione con blu di toluidina i granuli, che sono metacromatici, si presentano di colore blu rossastro. I mastociti sono relativamente abbondanti nella cute, nel timo, nei tessuti linfatici, nel polmone, nella mucosa nasale, nella congiuntiva, nell'utero, nella vescica, nella lingua, nella sinovia e nel mesentero; intorno ai vasi sanguigni piccoli e grandi e nella sub-sierosa e sottomucosa dell'apparato digerente. I mastociti si trovano principalmente nel connettivo lasso che circonda vasi sanguigni, nervi e dotti ghiandolari e sotto l'epitelio, le sierose e le membrane sinoviali. In generale i mastociti sono scarsamente presenti nei tessuti parenchimali. Nei polmoni, i mastociti sono localizzati sia nel tessuto connettivo bronchiale che negli spazi intra-alveolari periferici. Nella cute i mastociti si trovano, in maggioranza, vicino a vasi sanguigni, follicoli piliferi, ghiandole sebacee e ghiandole sudoripare. La densità mastocitaria nella cute umana è di circa 10.000 mastociti per millimetro cubo.¹³

I mastociti tissutali umani sono divisi in due sottotipi maggiori in base al contenuto secretorio di proteasi: MC_T che contiene solo triptasi e MC_{TC} che contiene anche chimasi. Il tipo cellulare MC_{TC} contiene inoltre carbosipeptidasi e catepsina G. La colorazione per triptasi è dunque divenuto il metodo principale per identificare e visualizzare tutti i mastociti. Il fenotipo cellulare MC_{TC} è predominante nella cute e nella mucosa dell'intestino tenue. Il fenotipo MC_T predomina nel tessuto delle vie aeree in condizioni fisiologiche e nella mucosa dell'intestino tenue. I mastociti MC_T sono selettivamente diminuiti nell'intestino tenue dei pazienti con malattie da immunodeficienza allo stadio terminale.¹⁴ I mastociti umani sono Kit⁺ (positivi per il recettore dello *stem cell factor* SCF) e FcεRI⁺. Esprimono una varietà di recettori di membrana in base alla provenienza tissutale, allo stato di differenziazione e alle condizioni di coltura. I mastociti umani a riposo esprimono il recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) e FcγRIIb (CD32). Dopo esposizione in vitro all'interferone (INF)-γ, esprimono il recettore ad alta affinità per le IgG (FcγRI, CD64). I mastociti possono anche esprimere i recettori per C3a e C5a. Una colorazione istochimica, può, allo stesso modo, rivelare, fra i tanti recettori, quelli per le citochine (IL-3R, IL-4R, IL-5R, IL-9R, IL-10R, fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi [GM-CSF]R, INF-γR), per le chemochine (CCR3, CCR5, CXCR₂, CXCR4),¹⁵ e per il nerve growth factor.

Sviluppo

I mastociti umani si sviluppano da cellule staminali pluripotenti CD34⁺, che sono Kit⁺. I precursori dei mastociti circolano nel sangue e nei vasi linfatici fino a migrare nei tessuti. Qui sopravvivono e maturano sotto l'influenza di SCF prodotto in loco dalle cellule stromali, fra cui fibroblasti e cellule endoteliali. SCF si trova in due forme, entrambi attive: solubile e legata alla membrana. La sopravvivenza, maturazione ed espressione biologica dei mastociti tissutali può essere influenzata da citochine quali l'IL-4, l'IL-5 e l'INF- γ . L'IL-5 promuove la proliferazione dei mastociti in presenza di SCF, mentre l'esposizione ad INF- γ up-regola l'espressione di Fc γ RI sulla membrana. È descritto che l'IL-4 aumenta sia la proliferazione dei mastociti che l'induzione dell'apoptosi, e ciò in base alla presenza di altre citochine quali l'IL-6.

Il numero dei mastociti aumenta significativamente in associazione a reazioni di ipersensibilità immediata IgE-dipendenti fra cui la rinite, l'orticaria e l'asma. Un piccolo aumento del numero di mastociti è associato a connettivopatie, quali l'artrite reumatoide e la scleroderma, malattie infettive, quali la tubercolosi e la sifilide, malattie neoplastiche, quali linfomi e leucemie, osteoporosi, malattie croniche del fegato e malattie croniche dei reni.¹⁶ L'aumento più straordinario (molto più significativamente) avviene in associazione con la mastocitosi.

Attivazione

I mastociti esprimono un recettore Fc ϵ RI ($\alpha\beta\gamma_2$) completo e funzionale, la cui aggregazione porta all'attivazione del mastocita, all'esocitosi dei granuli e al rilascio dei mediatori. I mastociti possono anche essere attivati da C3a e C5a attraverso C3aR e C5aR (CD88),¹⁷ dal *nerve growth factor* (NGF) attraverso TrkA,¹⁸ e dalle IgG attraverso FC γ RI.¹⁹ L'attivazione per mezzo di uno qualsiasi di questi recettori porta al rilascio di istamina, alla sintesi di eicosanoidi e all'espressione genica di citochine (Fig. 2). Il grado ed il tipo di rilascio di mediatori dipende dal segnale, dalla sua intensità e dal tipo di citochine presenti nell'ambiente circostante al momento del rilascio. Per esempio, la formazione ed il rilascio di mediatori sono aumentati in presenza di SCF.

Mediatori

I mediatori prodotti dai mastociti umani sono classicamente divisi in tre categorie: mediatori preformati, mediatori lipidici di nuova sintesi e citochine. Queste categorie non sono assolutamente esclusive, infatti almeno una citochina, *tumor necrosis factor* (TNF)- α , esiste in forma preformata e sintetizzata ex novo.

I mediatori preformati sono compattati all'interno dei granuli secretori. Nell'arco di pochi minuti dall'attivazione, il contenuto dei granuli viene rilasciato nello spazio extracellulare. I granuli principali sono costituiti da istamina, proteasi sieriche, carbossipeptidasi A e proteoglicani (eparina e condroitin-solfato). I mastociti umani contengono approssimativamente da 2 a 5 pg di istamina per cellula. Nei granuli, l'istamina si trova in associazione ionica con i

residui acidi delle catene laterali dell'eparina e del condroitin-solfato E e si dissocia da questi nei fluidi extracellulari per scambio di ioni sodio.²⁰ L'istamina produce effetti sulla muscolatura liscia (contrazione), sulle cellule endoteliali, sulle terminazioni nervose e sulla secrezione di muco. È rapidamente degradata in N-metilistamina, imidazolo acido acetico e metilimidazolo acido acetico. I proteoglicani eparina e condroitin-solfato si ritiene siano d'aiuto alla conservazione delle molecole preformate, le quali, in una soluzione tampone fisiologica, si separano dai proteoglicani a ritmi variabili. L'eparina è capace, di per se stessa, di un'azione anticoagulante per mezzo del legame con anti-trombina 3.

La maggior parte delle proteine nei granuli dei mastociti è costituita da 4 proteasi neutre: triptasi, chimasi, carbossipeptidasi e catepsina G. La triptasi, un tetramero con un peso molecolare di 116-130 kd composto da subunità di 29-36 kd (l'eterogeneità è dovuta principalmente a differenti glicosilazioni), è stabilizzata dall'associazione all'eparina e ad altri proteoglicani. La funzione della triptasi, in vivo, è sconosciuta ma, in vitro, può clivare C3 e C3a, attivare i fibroblasti e promuovere l'accumulo di cellule infiammatorie. Sono descritte sia una triptasi β che una α e si dice che la forma α sia secreta costitutivamente, mentre la forma β sia rilasciata durante degranulazione. L'accuratezza di questa conclusione è ancora da dimostrare.

I principali mediatori lipidici sintetizzati dai mastociti comprendono la prostaglandina D₂ (PGD₂), il prodotto principale della ciclossigenasi ed il prodotto della lipossigenasi leucotriene (LT) C₄. Il processo extracellulare di peptidolisi di LTC₄ produce i metaboliti attivi LTD₄ e LTE₄. I mastociti cutanei producono più PGD₂ che LTC₄, laddove per i mastociti polmonari è vero il contrario. PGD₂ e LTC₄, LTD₄ e LTE₄ sono tutti broncocostrittori. LTC₄, LTD₄ e LTE₄ aumentano anche la permeabilità vascolare.⁹ PGD₂ è anche un chemoattraente per i neutrofili.

I mastociti sono capaci di sintetizzare e secernere una gamma di citochine. Le citochine variano secondo le condizioni di coltura, il tipo di malattia ed il grado e tipo di stimolo. Ci sono, però, alcune generalizzazioni che possono essere estrapolate. TNF- α , in accordo con tutti gli studi, appare essere la citochina maggiormente prodotta dai mastociti umani. Sembra che possa essere sia preformata che sintetizzata in seguito all'attivazione del mastocita. TNF- α aumenta l'espressione di molecole di adesione endoteliali ed epiteliali, aumenta la reattività bronchiale ed esercita effetti antitumorali. In letteratura è riportato che i mastociti umani producono anche altre citochine fra cui: IL-4, in associazione alla differenziazione cellulare Th2 e alla sintesi di IgE; IL-13, GM-CSF ed IL-5, il cui ruolo è critico per lo sviluppo e la sopravvivenza degli eosinofili; IL-6, IL-8 ed IL-16.^{13,20} È inoltre, documentato che i mastociti umani producono chemochine quale la proteina infiammatoria macrofagica-1 α .

Ruoli in condizioni di benessere e malattia

L'attivazione dei mastociti attraverso meccanismi IgE-dipendenti innesca una cascata di eventi che scatenano reazioni sia di ipersensibilità immediata che ritardata (Fig. 2).

nell'asma.²³ I basofili esprimono una varietà di recettori per: citochine (IL-3R, IL-5R, GM-CSFR), chemochine (CCR2, CCR3), complemento (CD11b, CD11c, CD35, CD88), prostaglandine (CRTH2) e per il frammento Fc delle immunoglobuline (FcεRI e FcγRII).^{24,25}

Differenziazione

I basofili si sviluppano dalle cellule staminali pluripotenti CD34⁺, si differenziano e maturano nel midollo osseo e, poi, circolano in periferia. L'IL-3 è la principale citochina che indirizza la differenziazione dei basofili ed è sufficiente a differenziare una cellula staminale in basofilo.²⁶ Il consensus generale vede i basofili come una linea cellulare diversa dai mastociti che si differenzia da un precursore comune basofilo-eosinofilo; questa ipotesi è confortata dall'evidenza di colonie miste di basofili ed eosinofili derivanti da cellule precursori individuali.²⁷

Attivazione

Come i mastociti, i basofili esprimono un recettore FcεRI (αβγ₂) completo e funzionale, il cui cross-legame determina l'attivazione del basofilo, l'esocitosi dei granuli ed il rilascio dei mediatori.²⁸ C3a e C5a possono anche attivare i basofili per mezzo dei rispettivi recettori per il complemento C3aR e C5aR. L'attivazione attraverso qualsiasi di questi recettori porta al rilascio dell'istamina, alla sintesi degli eicosanoidi e all'espressione genica di IL-4 ed IL-13 (Fig. 2). Alcune molecole, che da sole non sono in grado di attivare i basofili, possono aumentare l'attivazione IgE mediata. Questa attività è definita "priming". Mediatori con attività priming sono chemochine CC (eotassina, proteina chemoattraente i monociti 3, proteina chemoattraente i monociti 4, RANTES), N-formil-metionil-leucil-fenilalanina, IL-3, IL-5, GM-CSF ed il fattore che induce il rilascio di l'istamina.²⁵ La presenza di tali mediatori nel sito di esposizione all'allergene può diminuire la soglia necessaria per lo sviluppo dell'infiammazione allergica.

Mediatori

I basofili producono molti mediatori, simili a quelli dei mastociti, quali istamina, leucotrieni, IL-4 ed IL-13.³⁰ Al contrario, i mediatori dei mastociti PGD₂ e IL-5 non vengono prodotti dai basofili. Fra i mediatori eicosanoidi neoformati, i basofili producono principalmente LTC₄. In aggiunta all'istamina, i granuli basofili contengono vari altri mediatori preformati, quali il condroitin solfato, la proteina basica maggiore ed il cristallo proteico di Charcot-Leyden. I basofili, tipicamente, contengono solo poca triptasi; tuttavia, pare, l'espressione della triptasi basofila sia soggetta ad una grande variabilità individuale.^{31,32}

Oltre al ruolo nell'ipersensibilità immediata, i basofili possono contribuire all'infiammazione allergica per mezzo di una serie di meccanismi non-classici. L'espressione sui basofili di IL-4 e CD40L induce, nella cellula B, in vitro, lo switch di classe e ciò può essere

considerato un meccanismo alternativo di promozione dello switch di classe IgE. In alternativa, la rapida ed abbondante espressione di IL-4 da parte dei basofili è una fonte di IL-4 che, come suggerito, potrebbe ulteriormente guidare la differenziazione cellulare Th2.

Ruolo in condizioni di benessere ed in malattia

Il ruolo fisiologico dei basofili rimane sconosciuto, anche se, presumibilmente, come altri leucociti, essi hanno una funzione nella difesa dell'ospite. Da tempo si ritiene che i basofili giochino un ruolo nell'eliminazione delle zecche e che partecipino, in maniera rilevante, nella risposta infiammatoria verso numerosi parassiti.³³ L'ipotesi di un ruolo nella difesa dell'ospite dai parassiti, è ulteriormente rafforzata dalla recente scoperta di omologhi funzionali del parassita di fattori rilascianti l'istamina nella famiglia, sotto controllo traslazionale, delle proteine tumorali.^{34,35} Nonostante i basofili posseggano molte caratteristiche che suggeriscono un loro contributo all'infiammazione allergica, il preciso ruolo svolto nella patogenesi dell'asma non è chiaro. Dopo provocazione con allergene, i basofili si ritrovano ad essere, il tipo cellulare che maggiormente esprime IL-4, nelle vie aeree umane,³⁶ nelle cellule mononucleate di sangue periferico³⁷ ed in un modello di asma murino.³⁸ Anticorpi monoclonali specifici per basofili hanno permesso di identificarli nella risposta ritardata cutanea³⁹ e polmonare⁴⁰ ed è stato dimostrato un loro aumento nei polmoni dopo un episodio di asma fatale.⁴¹

EOSINOFILI

Gli eosinofili sono i primi granulociti descritti a tingersi con coloranti acidi anilini, come l'eosina. Nonostante queste cellule siano rare nel sangue periferico di persone sane, nel sangue e nella cute l'eosinofilia è un segno di riconoscimento di infezione da elminti, allergia ed asma. A causa della entità di evidenza sperimentale che dimostra il ruolo critico nella patogenesi dell'asma, gli eosinofili sono un bersaglio terapeutico maggiore per la terapia immunologica dell'asma.^{42,44}

Morfologia e fenotipo

Gli eosinofili sono tipicamente caratterizzati, da un nucleo bilobato con cromatina fortemente addensata e da citoplasma contenente due tipi maggiori di granuli, i granuli specifici e quelli principali. I granuli specifici hanno una distinta ultrastruttura, che consiste in un core cristallino elettron-denso. Questi granuli contengono le numerose proteine cationiche che determinano le caratteristiche tintoriali degli eosinofili. I granuli primari sono simili a quelli che si evidenziano in altre linee cellulari granulocitarie e si trovano già nelle fasi iniziali dello sviluppo.⁴⁵ Gli eosinofili contengono anche corpi lipidici che hanno un ruolo nella produzione di mediatori eicosanoidi.⁴⁶

Poiché non esiste un marker di superficie specifico per gli eosinofili, la loro colorazione con coloranti eosino-

simili è ancora il metodo di riconoscimento più comune. Lo sviluppo di anticorpi monoclonali contro le varie proteine granulari è un ulteriore mezzo, per l'identificazione immunoistochimica cellulare.^{47,48} Gli eosinofili esprimono una grande varietà di molecole di superficie, fra cui, i recettori per le citochine (IL-3R, IL-5R, GM-CSFR), per le chemochine (CCR1 e CCR3), FcγRII (CD32), FCαRI (IgA secretoria); recettori per il complemento (C3aR, C5aR, CD88 e CD35); molecole di adesione (very late antigen VLA-4 e α₄β₇ integrina); CD9 e CD69.^{24,25} CD69 è un marker di attivazione eosinofila ed è aumentato negli eosinofili isolati dai siti di infiammazione allergica.²⁹ L'espressione sugli eosinofili di FcεRI è minima ed il suo significato funzionale non chiaro.^{50,51}

Sviluppo e migrazione

Gli eosinofili si sviluppano e maturano nel midollo osseo da cellule progenitrici CD34⁺ e vengono poi rilasciati nel sangue periferico in forma matura. L'IL-5, la citochina più efficace nell'attivazione degli eosinofili, ha un intenso effetto sulla differenziazione e proliferazione delle cellule precursori nel midollo osseo.^{42,45} In questa maniera, l'IL-5 prodotta in periferia nei siti di infiammazione allergica, o di infiammazione da elminti agisce a distanza sul midollo osseo. Ancora, la provocazione allergica o la somministrazione sperimentale di eotassina determinano il rilascio, dal midollo, di eosinofili maturi e di precursori degli eosinofili.⁵²

Una volta rilasciati dal midollo, gli eosinofili circolano nel sangue periferico e, poi, migrano nei tessuti; l'emivita nel sangue periferico è di circa 8-18 ore. Nonostante gli eosinofili siano conosciuti soprattutto in quanto leucociti periferici, la grande maggioranza delle cellule è localizzata nell'intestino e nei polmoni.⁵³ Le tappe della migrazione degli eosinofili dal sangue periferico ai tessuti sono stati ben caratterizzate,²⁵ e, attualmente, c'è un grande entusiasmo sulla possibilità di sfruttare questi meccanismi per il trattamento dell'asma. Dopo rotolamento mediato da selectine e VLA-4, una prima adesione è garantita in gran parte dall'interazione di VLA-4 sugli eosinofili con VCAM-1, una molecola di adesione espressa sull'epitelio. Eotassina ed altre chemochine sono necessarie per aumentare l'avidità di VLA-4 per VCAM-1 e per promuovere direttamente la chemiotassi eosinofila attraverso i tessuti.⁵⁴ L'IL-4 e l'IL-13 svolgono un ruolo centrale nel promuovere la migrazione attraverso l'induzione di un incremento dell'espressione endoteliale di VCAM-1 e la up-regolazione dell'espressione di eotassina da parte delle cellule epiteliali bronchiali e dei fibroblasti. TNF-α agisce sinergicamente con IL-4 e IL-13 per promuovere l'espressione di VCAM-1. Due ulteriori omologhi dell'eotassina, eotassina 2 ed eotassina 3 sono state recentemente identificate, lasciando immaginare un sistema molto più complesso. A differenza dell'eotassina, l'IL-5 non ha un grande ruolo nel promuovere il passaggio degli eosinofili nei tessuti. Oltre all'eotassina potenti fattori chemiotattici per gli eosinofili sono rappresentati dal fattore attivante le piastrine (PAF) e da LTB₄.

Attivazione

Una volta migrati nei tessuti, i leucociti hanno bisogno di un segnale di attivazione per attivare la loro funzione. A differenza dell'attivazione di mastociti e basofili mediata da FcεRI, non esiste un consenso sul meccanismo principale di attivazione degli eosinofili. Gli eosinofili sono attivati dal cross-legame di granuli rivestiti di IgG, IgA o IgA secretorie, queste ultime essendo le più potenti.²⁹ Questi dati e la localizzazione più cospicua degli eosinofili nell'intestino e nei polmoni, suggerisce l'ipotesi che gli eosinofili possano svolgere una funzione nella sorveglianza delle superfici mucosali nel processo di difesa dell'ospite. Gli eosinofili di donatori con eosinofilia periferica possono attivarsi per mezzo di anti-IgE o di parassiti rivestiti con IgE. Tuttavia, la maggior parte dei lavori scientifici non ha dimostrato l'espressione di FcεRI sugli eosinofili.^{50,51}

Gli eosinofili sono anche capaci di essere "primed" da un numero di mediatori inclusi IL-3, IL-5, GM-CSF, CC chemochine e PAF. Dal fluido di lavaggio bronco-alveolare dopo provocazione allergica si ottengono eosinofili con fenotipo "primed", scoperta che sostiene l'importanza del fenomeno di "priming" in vivo. L'IL-5, il GM-CSF ed, in maniera minore, l'IL-3 hanno un effetto antiapoptotico sugli eosinofili e promuovono la sopravvivenza degli eosinofili nei tessuti. Eosinofili attivati o primed spesso manifestano una minore densità degli eosinofili a riposo e vengono definiti ipodensi.²⁹

Mediatori e funzione effettrice

Gli eosinofili rilasciano un gran numero di mediatori preformati, fra cui proteine cationiche conservate preformate, eicosanoidi di nuova sintesi e citochine.⁴⁵ Contengono, inoltre, una varietà di proteine granulari fortemente basiche che sembra giochino un ruolo sia nella difesa dell'ospite sia nella patogenesi delle malattie eosinofilo-mediate.

La proteina basica maggiore (MBP) è così chiamata in quanto incide per oltre il 50% della massa granulare proteica eosinofila. In qualità di proteina purificata, la MBP è fortemente tossica, in vitro, nei confronti di un numero di parassiti, inclusi elminti e schistosomula.⁵⁵ MBP è tossica nei confronti delle cellule epiteliali dell'albero respiratorio e induce iperreattività bronchiale e broncocostrizione se installata nei polmoni di scimmie cynomolgus. Questi dati e la correlazione dei valori di MBP serici e del lavaggio broncoalveolare con l'iperreattività bronchiale suggeriscono l'ipotesi che MBP sia una delle maggiori molecole effettrici nella patogenesi dell'asma.⁴²

La neurotossina di derivazione eosinofila (EDN) è così chiamata per la sua tossicità, in animali sperimentali, nei confronti di neuroni a fibre mieliniche. Alcune delle manifestazioni della sindrome ipereosinofila possono essere mediate dal rilascio di questa tossina. Sia L'EDN che la proteina cationica degli eosinofili hanno una dimostrata attività RNAsica e sono capaci di uccidere pneumovirus ad RNA a singola elica, come il virus respiratorio sinciziale. I geni per EDN e proteina cationica degli eosinofili sono sottoposti ad un ritmo estremamen-

te elevato di evoluzione molecolare, suggerendo che queste molecole sono sottoposte ad una enorme pressione selettiva, come ci si aspetterebbe da geni che sono deputati al controllo della rapida evoluzione di patogeni microbici.^{42,56} Inoltre, EDN e la proteina cationica degli eosinofili hanno una dimostrata tossicità in vitro nei confronti dei parassiti.⁵⁵ La perossidasi eosinofila esibisce omologia nei confronti della mieloperossidasi neutrofila ed è capace di produrre acidi iposalici microbicidi.⁴⁵ Gli eosinofili sono la fonte principale di cisteinil leucotriene LTC₄ e dei suoi metaboliti attivi LTD₄ e LTC₄. Ancora gli eosinofili, insieme ai mastociti ed ai basofili, sono le principali cellule che producono LTC₄-sintetasi nella mucosa bronchiale di soggetti asmatici.⁴⁶ Essi sono capaci di produrre un numero notevole di citochine fra cui, IL-1, transforming growth factor (TGF)- β , IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, e TNF- α . Tuttavia, gli eosinofili producono meno citochine di altre cellule infiammatorie, come la cellula T.^{29,44} Detto questo, il contributo relativo della produzione citochinica eosinofila al processo infiammatorio allergico è ancora da determinare.

Ruolo in condizioni di benessere e malattia

La conta degli eosinofili di sangue periferico è aumentata nelle malattie allergiche, nell'asma, nelle infezioni da elminti ed è spesso possibile riscontrare eosinofilia tissutale nel sito di infiammazione associato a queste malattie.⁵⁷ Nonostante la loro attività in vitro contro i parassiti, studi in vivo su topi knock-out per IL-5, non hanno dimostrato che gli eosinofili giochino un ruolo essenziale nell'eliminazione dell'infezione da parassiti.⁵⁵

Nelle malattie allergiche e nell'asma, gli eosinofili hanno una funzione pro-infiammatoria, in cui i mediatori eosinofili, quali MBP, si ritiene siano la causa dell'infiammazione della mucosa e della conseguente iperreattività bronchiale.⁴² I corticosteroidi riducono in maniera significativa sia il numero degli eosinofili periferici che tissutali, sottolineando ancora il ruolo centrale svolto dagli eosinofili nella patogenesi dell'asma. Poiché gli eosinofili sono considerati come le cellule effettrici finali nell'asma, molteplici terapie sperimentali hanno utilizzato queste cellule come target. Recentemente, uno studio di Fase II sull'anti IL-5 nell'asma nell'uomo ha dimostrato una riduzione del 90% degli eosinofili nel sangue periferico ma nessun miglioramento del flusso aereo o della risposta allergica ritardata.⁴³ Uno studio successivo dell'anti IL-5 ha dimostrato una simile riduzione del 90% degli eosinofili nel sangue periferico ma solo del 55% nella mucosa bronchiale. Questi dati dimostrano che l'anti IL-5 da solo non è sufficiente ad eliminare l'eosinofilia polmonare e che è necessario individuare ulteriori strategie "anti-eosinofili" per poterne determinare il potenziale terapeutico nel trattamento dell'asma.

BIBLIOGRAFIA

1. Hamilton RG. Assessment of human allergic disease. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Katzin BL, Schroeder

- HW, editors. Clinical immunology: principles and practice. 2nd ed. London: Mosby; 2001. p.124.1-14.
2. Ownby DR. Clinical significance of immunoglobulin E. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, editors. Allergy: principles and practice. 5th ed. St Louis: Mosby; 1998. p. 770-82.
3. Verelli D. The regulation of IgE synthesis. Clin Allergy Immunol 2002;16:179-96.
4. Oettgen HC, Geha RS. IgE regulation and roles in asthma pathogenesis. J Allergy Clin Immunol 2001;107:429-40.
5. Gould HJ, Beavil RL, Vercelli D. IgE isotype determination: -germline gene transcription, DNA recombination and B-cell differentiation. Br Med Bull 2000;56:908-24.
6. Adra CN, Gao PS, Mao XQ, Baron BW, Pauker S, Miki T, et al. Variants of B cell lymphoma 6 (RCL6) and marked atopy. Clin Genet 1998; 54:362-4.
7. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie AN, Menon S, Zurawski G, et al. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:3730-4.
8. Saini SS, Klion AD, Holland SM, Hamilton RG, Bochner BS, Mac-Glashan DW. The relationship between serum IgE and surface levels of Fc ϵ R on human leukocytes in various diseases: correlation of expression of Fc ϵ RI on basophils but not on monocytes or eosinophils. J Allergy Clin Immunol 2000;106:514-20.
9. Tkaczyk C, Gilfillan AM. Fc ϵ RI-dependent signaling pathways in human mast cells. Clin Immunol 2001;99:198-210.
10. Kepley CL, Youssef L, Andrews RP, Wilson BS, Oliver JM. Multiple defects in Fc ϵ RI signaling in Syk-deficient non-releaser basophils and IL-3 induced recovery of Syk expression and secretion. J Immunol 2000;165:5913-20.
11. Kepley CL, Cambier JC, Morel PA, Lujan D, Ortega E, Wilson BS, et al. Negative regulation of Fc ϵ RII costimulation in human blood basophils. J Allergy Clin Immunol 2000;106:337-48.
12. Taylor ML, Metcalfe DD. Mast cells in allergy and host defense. Allergy Asthma Proc 2001;22:115-9.
13. Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. Physiol Rev 1997;77:1033-79.
14. Schwartz LB. Mast cells and basophils. Clin Allergy Immunol 2002;16:3-42.
15. Quackenbush EJ, Wershil BK, Gutierrez-Ramos JC. Modulation of mast cell development from embryonic haematopoietic progenitors by eotaxin. In: Marone G, Lichtenstein LM, Galli SJ, editors. Mast cells and basophils. London: Academic Press; 2000. p. 31-49.
16. Galli SJ, Metcalfe DD, Dvorak AM. Basophils and mast cells and their disorders. In: Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ, Seligsohn U, editors. Williams hematology. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 801-15.
17. Nilsson GM, Johnell CH, Hammer HL, Tiffany HL, Nilsson K, Metcalfe DD, et al. C3a and C5a are chemotaxins for human mast cells and act through distinct receptors via a pertussis toxin sensitive signal transduction pathway. J Immunol 1996;157:1693-8.
18. Nilsson G, Forsberg-Nilsson K, Hallbook F, Nilsson K, Metcalfe DD. Human mast cells express functional TRKA and are a source of nerve growth factor. Eur J Immunol 1997;27:2295-301.
19. Tkaczyk C, Okayama Y, Woolhiser M, Hagaman D, Gilfillan A, Metcalfe D. Activation of human mast cells through the high affinity IgG receptor. Mol Immunol 2002;38:1289.
20. Church MK, Holgate ST, Shute JK, Walls AF, Sampson AP. Mast cell derived mediators. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, editors.

- Allergy principles and practice. 5th ed. St Louis: Mosby; 1998. p. 146-67.
21. Hagaman DD, Okayama Y, D'Ambrosio C, Gilfillan AM, Prussin C, Metcalfe DD. Secretion of interleukin-1 receptor antagonist from human mast cells following IgE mediated activation and following segmental antigen challenge. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:685-91.
22. Simpson JK, Metcalfe DD. Mastocytosis and disorders of mast cell proliferation. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002;22:175-88.
23. Buckley MG, McEuen AR, Walls AF. The return of the basophil. *Clin Exp Allergy* 2002;32:8-10.
24. Agis H, Fureder W, Bankl HC, Kundi M, Speer WR, Willheim M, et al. Comparative immunophenotypic analysis of human mast cells, blood basophils and monocytes. *Immunology* 1996;87:535-43.
25. Bochner BS, Schleimer RP. Mast cells, basophils, and eosinophils: distinct but overlapping pathways for recruitment. *Immunol Rev* 2001;179:5-15.
26. Kepley CL, Pfeiffer JR, Schwartz LB, Wilson BS, Oliver JM. The identification and characterization of umbilical cord blood-derived human basophils. *J Leukoc Biol* 1998;64:474-83.
27. Denburg JA, Telizyn S, Messner H, Lim B, Jamal N, Ackerman SJ, et al. Heterogeneity of human peripheral blood eosinophil-type colonies: evidence for a common basophil-eosinophil progenitor. *Blood* 1985;66:312-8.
28. Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (FcεRI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol* 1999;17:931-72.
29. Bochner BS. Systemic activation of basophils and eosinophils: markers and consequences. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(5 Suppl):S292-302.
30. Schroeder JT, MacGlashan DW Jr, Lichtenstein LM. Human basophils: mediator release and cytokine production. *Adv Immunol* 2001; 77:93-122.
31. Li L, Li Y, Reddel SW, Cherrian M, Friend DS, Stevens RL, et al. Identification of basophilic cells that express mast cell granule proteases in the peripheral blood of asthma, allergy, and drug-reactive patients. *J Immunol* 1998;161:5079-86.
32. Foster B, Schwartz LB, Devouassoux G, Metcalfe DD, Prussin C. Characterization of mast-cell tryptase-expressing peripheral blood cells as basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:287-93.
33. Falcone FH, Pritchard DI, Gibbs BF. Do basophils play a role in immunity against parasites? *Trends Parasitol* 2001;17:126-9.
34. Rao KV, Chen L, Gnanasekar M, Ramaswamy K. Cloning and characterization of a calcium-binding, histamine-releasing protein from *Schistosoma mansoni*. *J Biol Chem* 2002;277:31207-13.
35. MacDonald SM, Bhisutthibhan J, Shapiro TA, Rogerson, SJ, Taylor TE, Tembo M, et al. Immune mimicry in malaria: *Plasmodium falciparum* secretes a functional histamine-releasing factor homolog in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10829-32.
36. Nouri-Aria KT, Irani AM, Jacobson MR, O'Brien F, Varga EM, Till SJ, et al. Basophil recruitment and IL-4 production during human asthmatic allergen-induced late asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:205-11.
37. Devouassoux G, Foster B, Scott LM, Metcalfe DD, Prussin C. Frequency and characterization of antigen-specific IL-4- and IL-13-producing basophils and T cells in peripheral blood of healthy and asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:811-9.
38. Luccioli S, Brody DT, Hasan D, Kojima N, Noben-Trauth N, et al. IgE+ Kit I-A/I-E myeloid cells are the initial source of IL-4 following antigen challenge in a mouse model of allergic pulmonary inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:117-24.
39. Gauvreau GM, Lee JM, Watson RM, Irani AM, Schwartz LB, O'Byrne PM. Increased numbers of both airway basophils and mast cells in sputum after allergen inhalation challenge of atopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1473-8.
40. Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ, Zeibecoglou K, Khan LN, Barata LT, et al. Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:99-107.
41. Kepley CL, McFeeley PJ, Oliver JM, Lipscomb MF. Immunohistochemical detection of human basophils in postmortem cases of fatal asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1053-8.
42. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:651-63.
43. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000;356:2144-8.
44. Lee NA, Gelfand EW, Lee JJ. Pulmonary T cells and eosinophils: coconspirators or independent triggers of allergic respiratory pathology? *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:945-57.
45. Kita H, Adolphson C, Gleich G. Biology of eosinophils. In: Middleton E, editor. *Allergy principles and practice*, vol 1. 5th ed. St Louis: Mosby; 1998. p. 242-60.
46. Bandeira-Melo C, Bozza PT, Weller PF. The cellular biology of eosinophil eicosanoid formation and function. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:393-400.
47. Krug N, Thureau AM, Lackie P, Baier J, Schultze-Werninghaus G, Rieger CH, et al. A flow cytometric method for the detection of intracellular basic proteins in unseparated peripheral blood and bone marrow eosinophils. *J Immunol Methods* 1996;190:245-54.
48. Ying S, Meng Q, Smith SJ, Larche M, Robinson DS, Kay AB. Methods for identifying human eosinophils in blood and tissue. *ACI Int* 2002;12:64-71.
49. Tachimoto H, Bochner BS. The surface phenotype of human eosinophils. *Chem Immunol* 2000;76:45-62.
50. Seminario MC, Saini SS, MacGlashan DW Jr, Bochner BS. Intracellular expression and release of FcεRI by human eosinophils. *J Immunol* 1999;162:6893-900.
51. Kita H, Kaneko M, Bartemes KR, Weiler DA, Schimming AW, Reed CE, et al. Does IgE bind to and activate eosinophils from patients with allergy? *J Immunol* 1999;162:6901-11.
52. Denburg JA, Sehmi R, Saito H, Pil-Seob J, Inman MD, O'Byrne PM. Systemic aspects of allergic disease: bone marrow responses. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(5 Suppl):S242-6.
53. Hogan SP, Foster PS, Rothenberg ME. Experimental analysis of eosinophil-associated gastrointestinal diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:239-48.
54. Lukacs NW. Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nat Rev Immunol* 2001;1:108-16.
55. Meeusen EN, Balic A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitol Today* 2000;16:95-101.
56. Rosenberg HF, Domachowske JB. Eosinophils, eosinophil ribonucleases, and their role in host defense against respiratory virus pathogens. *J Leukoc Biol* 2001;70:691-8.
57. Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med* 1998;338:1592-600.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Mastociti, basofili ed eosinofili sono stati a lungo considerati come le cellule-chiave della infiammazione allergica e la loro diffusa localizzazione (cute, mucose, sangue circolante) rende bene ragione del ruolo da esse svolto. Negli ultimi anni, tuttavia, la dimostrazione della capacità dei mastociti di produrre citochine e chemochine e di esprimere particolari recettori di superficie ha sottolineato il loro ruolo fisiologico in quanto cellule dell'immunità innata probabilmente coinvolte nella regolazione delle risposte immuni a livello periferico (tolleranza periferica) e patologico in alcune malattie umane diverse dall'allergia. Una recente rivisitazione della letteratura da parte di Bischoff riassume le principali caratteristiche dei mastociti umani che presentano importanti differenze con quelli murini. Comunque, una delle novità più interessanti su questo tipo cellulare è rappresentata dalla dimostrazione di alcuni recettori di superficie (od intracellulari) indipendenti dalle IgE e correlati con costituenti microbici, i Toll-like receptors. In molti studi è stata osservata l'espressione di vari TLRs da parte dei mastociti ma soltanto TLR2, TLR4 (ma non CD14) e TLR6 sarebbero espressi in modo consistente. Il ruolo dei patogeni nell'attivazione mastocitaria è, comunque, tuttora controverso. L'espressione di TLRs è per altro caratteristica sia dei basofili (TLR2 e TLR4) che degli eosinofili e potrebbe implicare un loro ruolo nella difesa dell'ospite. Mentre per i basofili è stata prospettata una possibile attività immunoregolatoria basata sulla capacità di produrre IL-4 in seguito alla stimolazione con LPS e, quindi, di modulare la funzione delle cellule dendritiche, tale evidenza non è chiara per gli eosinofili la cui attivazione da parte di ligandi specifici di TLR non è stata definitivamente dimostrata nell'uomo. Circa gli eosinofili, sono invece emerse importanti implicazioni sulla interazione eotassina/CCR3 con la dimostrazione della completa inibizione dell'infiammazione bronchiale nei topi geneticamente deficienti in eotassina 1 e 2. Tali conoscenze sono ovviamente di ausilio per proporre nuovi e più efficaci trattamenti terapeutici nelle malattie caratterizzate da eosinofilia. Se, come è già noto, il trattamento con anticorpi monoclonali anti-IL-5 ha fornito risultati deludenti nei trials clinici nell'asma bronchiale (verosimilmente per il complesso network di cellule/citochine/chemochine/fattori solubili coinvolti nella patogenesi della malattia), questo approccio potrebbe essere invece assai promettente per le malattie primitivamente dominate dagli eosinofili quali la sindrome ipereosinofila e l'esofagite eosinofila, per le quali esistono già alcune segnalazioni in letteratura. A questo proposito, la migliorata conoscenza dei meccanismi di sviluppo, traffico e sopravvivenza degli eosinofili recentemente riassunti da Rosenberg e coll. può aprire nuovi scenari terapeutici basati sull'attivazione di recettori inibitori recentemente individuati (FcγRIIB, LIR3, Siglec-8, CD300a) che potrebbero rappresentare, come ben suggerito da Munitz e Levi-Schaffer, un tallone d'Achille di questo tipo cellulare.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

The role of eosinophils in host defense against helminth parasites

Amy D. Klion, Thomas B. Nutman
January 2004 (Vol.113, Issue 1, Pages 30-37)

Eosinophils in allergic inflammation

Qutayba Hamid
January 2004 (Vol.113, Issue 1, Pages 182-184)

Advances in mechanisms of allergy

Bruce S. Bochner, William W. Busse
May 2004 (Vol.113, Issue 5, Pages 868-875)

Diagnosis and classification of mast cell proliferative disorders: delineation from immunologic diseases and non-mast cell hematopoietic neoplasms

Peter Valent, Wolfgang R Sperr, Lawrence B Schwartz, Hans-Peter Horny
July 2004 (Vol.114, Issue 1, Pages 3-11)

The biology of Kit in disease and the application of pharmacogenetics

Cem Akin, Dean D Metcalfe
July 2004 (Vol. 114, Issue 1, Pages 13-19)

Mast cells in innate immunity

Jean S Marshall, Dunia M Jawdat
July 2004 (Vol. 114, Issue 1, Pages 21-27)

Mast cells: Ontogeny, homing, and recruitment of a unique innate effector cell

Michael F. Gurish, Joshua A. Boyce
June 2006 (Vol. 117, Issue 6, Pages 1285-1291)

The role of leukotrienes in airway inflammation

Yoshiko Ogawa, MD, William J. Calhoun, MD, FAAAAI, FAAAAI
October 2006 (Vol. 118, Issue 4, Pages 789-798)

Eosinophilic disorders

Dagmar Simon, Hans-Uwe Simon
June 2007 (Vol. 119, Issue 6, Pages 1291-1300)

Inhibitory receptors on eosinophils: a direct hit to the Achilles heel

Munitz A, Levi-Schaffer F
June 2007 (Vol. 119, Issue 6, Pages 1382-1387)

Eosinophils in the new millennium

Rothenberg ME

June 2007 (Vol. 119, Issue 6, Pages 1321-1322)

Eosinophil trafficking in allergy and asthma

Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS

June 2007 (Vol. 119, Issue 6, Pages 1303-1310)

*** IgE, mast cells, basophils, and eosinophils**

Calman Prussin, MD, Dean D. Metcalfe, MD

Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 117, Issue 2, Supplement 2, Pages S450-S456)

The eosinophil

Rothenberg ME, Hogan SP

Annu Rev immunol 2006;24:147-174

Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data

Bischoff SC

Nature Rev Immunol 2007;7:93-104

Altri articoli di interesse (2003/2008)

Basophils: a potential liaison between innate and adaptive immunity

Min B, Le Gros G, Paul WE

Allergol Int 2006;55:99-104

5. Genetica dell'Ipersensibilità

La genetica fornisce le basi per la risposta dell'ospite verso i molteplici fattori ambientali che possono svolgere un ruolo patogenetico in patologie quali l'asma e l'atopia. La comprensione dei meccanismi genetici che stanno alla base di queste condizioni è pertanto essenziale per capirne i processi fisiopatologici. Gli studi sulla genetica dell'asma e dell'atopia si sono rivelati particolarmente impegnativi. Ciò è dovuto al fatto che tali condizioni sono influenzate da numerosi geni, ognuno dei quali può assumere un diverso ruolo nei differenti individui. Inoltre ogni gene contribuisce presumibilmente solo in piccola percentuale nel determinare l'effettivo rischio di un soggetto di sviluppare asma. Pertanto si verifica spesso una mancanza di riproducibilità tra i vari studi. Inoltre la fisiopatologia dell'asma e dell'atopia è solo parzialmente conosciuta e la mancanza di un fenotipo chiaramente definito contribuisce all'inadeguatezza dell'attuale letteratura. Non di meno, regioni del genoma umano sono state associate in modo riproducibile all'asma e all'atopia. Queste regioni sono state sottoposte ad uno studio accurato e molte variazioni genetiche sono state identificate come geni dell'asma e dell'allergia. Inoltre, l'approccio con geni candidati, ha permesso di correlare numerosi polimorfismi genetici in modo convincente ad un aumentato rischio di sviluppare asma o atopia. Molti dei geni individuati sono stati associati ad alterazioni nella responsività ad agenti farmacologici utilizzati per il trattamento di queste condizioni. Questi studi possiedono un interessante potenziale nello stabilire il corretto regime terapeutico da somministrare ad un soggetto con determinato genotipo. È da sperare, infine, che tali studi possano anche stabilire nuovi target per i farmaci di nuova generazione per il trattamento dell'asma e dell'allergia.

L'idea che la genetica giochi un ruolo nelle malattie allergiche e nell'asma si è affermata negli ultimi 100 anni. La componente genetica era chiara agli studiosi d'asma e di allergia fin dalla prima e seconda decade del ventesimo secolo^{1,2} in base all'osservazione che i soggetti allergici mostravano un'incidenza significativamente più alta di storia familiare rispetto ai soggetti controllo. Dopo quei primi lavori, tuttavia, la mancanza di un forte supporto sia per i meccanismi dominanti che recessivi di ereditarietà ha condotto ad un periodo in cui l'intera concezione di ereditarietà dell'atopia fu messa in dubbio e, in seguito, al riconoscimento che l'allergia e l'asma rappresentano modelli di disordini genetici complessi, disordini che implicano il

Abbreviazioni utilizzate:

- 5-LO: Gene 5-lipossigenasi
- ADAM-33: Disintegrina A e Metalloproteasi
- CCL2: Gene della proteina chemiotattica del monocita
- CCL5: Gene dell'eotassina
- LTC4S: Gene della leucotriene C4 sintetasi
- SNP: Single-nucleotide polymorphism/ Polimorfismo di un singolo nucleotide
- STAT-6: Segnale di trasduzione e attivatore della trascrizione-6
- TIM: Integrina mucina-simile della cellula T (famiglia di geni)

coinvolgimento di numerosi geni, ognuno con un contributo di grado variabile in ciascun individuo. In aggiunta ai fattori genetici, l'esposizione ambientale, compresa l'esposizione agli allergeni, al fumo di sigaretta passivo e all'inquinamento, il basso peso alla nascita, gli agenti infettivi e molti altri elementi, contribuiscono allo sviluppo di allergia e asma attraverso la loro capacità di influenzare l'espressione genica.

Il contributo della genetica in queste patologie è stato identificato per la prima volta attraverso l'analisi di studi condotti sui gemelli³⁻⁶. Gli studi sui gemelli rappresentano un utile mezzo per mettere in evidenza una componente genetica nelle malattie influenzate sia da fattori ambientali che ereditari. I gemelli crescono nelle stesse condizioni domestiche e sia che siano monozigoti o dizigoti condividono la maggior parte delle influenze esercitate dall'ambiente esterno. Nei gemelli monozigoti il genoma è identico, mentre nei gemelli dizigoti in media la metà dei cromosomi è in comune. Perciò, una più alta percentuale di concordanza di una data condizione in gemelli monozigoti fornisce l'evidenza della presenza di influenze genetiche. Questi dati forniscono l'informazione statistica necessaria per valutare il relativo contributo fornito dai fattori genetici in opposizione a quelli ambientali in una condizione genetica complessa. Sulla base del pionieristico lavoro di Hopp et al.⁵, è stato valutato che approssimativamente il 50% del rischio di sviluppare asma potrebbe essere legato a fattori ambientali con una equivalente percentuale associata a fattori ereditari. Di ulteriore interesse in questi primi studi è emerso il trend secondo cui l'ereditarietà materna era leggermente più importante di quella paterna, fenomeno non facilmente spiegato dai tradizionali concetti dell'ereditarietà mendeliana.

Traduzione italiana del testo di:

John W. Steinke, Larry Borish e Lanny J. Rosenwasser
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S495-501

“POSITIONAL CLONING”

Uno degli approcci per individuare i geni responsabili di malattia si effettua sull'intero genoma per mezzo di una tecnica denominata *positional cloning*. Questa tecnica si basa sulla presenza di markers genetici altamente polimorfici in posizioni cromosomiali conosciute. L'analisi di più famiglie evidenzia che quei markers vicini ai geni responsabili di malattia saranno statisticamente co-ereditati con la malattia. Tipicamente questi approcci possono solo localizzare un marker nell'arco di circa 10^6 paia di basi dal gene in questione. All'identificazione di un marker così strettamente correlato segue poi la “*chromosomal walking*”, finché l'esatto gene mutato viene localizzato. Ciò rappresenta un compito enorme anche per le attuali tecniche di biologia molecolare. Con il completamento del progetto genoma umano, tuttavia, l'approccio abitualmente più utilizzato consiste nell'accedere all'ultima mappa del genoma umano ed ottenere la lista di tutti i geni localizzati nella regione cromosomiale in cui il marker correlato è stato identificato. È poi possibile determinare se mutazioni a carico di uno di questi geni o di regioni adiacenti in grado di influenzarne l'espressione, possano contribuire allo sviluppo di allergie ed asma. Spesso, nell'ambito di quella regione, possono essere identificati geni ovviamente implicati nella genetica delle allergie ed è possibile, anche, determinarne il ruolo. Tuttavia la funzione della maggior parte dei geni identificati attraverso il progetto genoma umano non è ancora conosciuta. Perciò, uno dei più importanti obiettivi da raggiungere utilizzando il *positional cloning* consiste nell'identificare geni precedentemente sconosciuti, ciò può portare ad alcune delle più interessanti scoperte genetiche.

Gli ultimi 15 anni hanno fatto del *positional cloning* uno dei metodi più utilizzati per identificare markers che possano essere collegati alle allergie e all'asma. Diversi problemi hanno, tuttavia, limitato il valore di questi studi; tra questi l'eterogeneità genetica, la penetranza incompleta e l'importanza delle interazioni genotipo-ambiente e gene-gene. La riuscita ottimale dello studio con *positional cloning* necessita di un fenotipo non ambiguo. Pertanto l'assenza di definizioni esatte di asma, dermatite atopica e di altre malattie atopiche ha contribuito alla deprimente mancanza di riproducibilità osservata negli studi di correlazione. Un approccio più utile ma ancora problematico consiste nell'eseguire le correlazioni con quelli che vengono definiti *fenotipi intermedi*, i quali possono essere meglio quantificati. Questi fenotipi intermedi includono l'iperattività bronchiale, la funzionalità respiratoria, i test cutanei di reattività agli allergeni inalanti, i livelli totali e specifici di IgE e così via. L'impossibilità di avere chiari fenotipi dei membri familiari e la mancanza di un consenso generale su come queste misure dovessero essere condotte ed interpretate hanno contribuito all'attuale confusione, da cui scaturisce che un linkage genetico ad un particolare tratto, risultato da un primo studio, non venga poi riconfermato in un secondo studio. Molte ricerche genomiche ad ampio spettro sono anche state inconcludenti poiché è stato sottostimato il numero di famiglie necessario per un'accurata analisi. L'asma e le allergie rappresentano il prodotto ultimo di molti, forse dozzine, di geni. I differen-

ti geni presumibilmente agiscono in differenti famiglie ed in differenti individui. Inoltre ogni gene presumibilmente contribuisce solo in piccola percentuale ad un dato rischio genetico individuale per lo sviluppo di asma. Per questi motivi, occorre studiare migliaia di famiglie per giungere ad un'evidenza conclusiva sul ruolo di un dato marker genetico. La complessità di questi studi spiega perché molti studi di *positional cloning* non vengano successivamente confermati. Non di meno, durante l'ultimo decennio sono stati riportati almeno 18-20 quadri genetici con una varietà di fenotipi intermedi⁷⁻⁹. Questi studi ci hanno dato suggerimenti ed hanno identificato i marker genetici che sono collegati con le allergie e l'asma. La prima ampia ricerca genomica fu effettuata da Moffatt et al.¹⁰ a Oxford. Con la tecnologia disponibile a quel tempo, questi studiosi eseguirono un'analisi di correlazione su un numero molto limitato di markers polimorfici di DNA sia per le IgE specifiche sia per quelle totali. La loro analisi mostrò una correlazione con il cromosoma 11q quando era legato al fenotipo materno ma non al paterno. Tipico di questi studi genetici è stato il riscontro di una significatività della correlazione al cromosoma 11 controversa, tanto che diversi altri gruppi non hanno potuto confermare questi dati¹¹⁻¹⁵. L'analisi del cromosoma 11q ha dimostrato che questo marker è localizzato vicino al gene per la catena β del recettore ad alta affinità per le IgE (Fc ϵ RI). Sebbene le catene α e γ del recettore ad alta affinità per le IgE siano sufficienti per mandare segnali alla cellula per l'attivazione, la catena β è importante come meccanismo di amplificazione per questa via di traduzione del segnale e permette l'attivazione dei mastociti in presenza di un ridotto numero di molecole di IgE cross-linked. Questi autori hanno suggerito che cambiamenti di base nella regione citoplasmatica della catena β possano essere le mutazioni responsabili di malattia.

Attualmente esistono in letteratura molti studi più esauritivi su tutto il genoma^{7,8,16}. Il National Heart, Lung and Blood Institute ha ideato un progetto multicentrico denominato “Studio collaborativo sulla genetica dell'asma”. All'inizio lo studio includeva tre gruppi razziali (neri, bianchi ed ispanici)¹⁶, e più recentemente questo gruppo ha pubblicato su individui di origine Utterite⁸. Questo progetto ha scoperto circa 15 promettenti correlazioni separate, incluse molte in regioni del genoma umano precedentemente insospettite. Molte delle correlazioni più promettenti sono state confermate in differenti popolazioni da altri gruppi competenti (Tabella I). Queste includono un locus sul cromosoma 2 vicino al cluster dell'IL-1 che comprende i geni per i CD28 e per i linfociti T citotossici antigene-4 associati (CTLA-4) ed il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sul cromosoma 6. Non sorprendentemente, sono stati correlati all'allergia e all'asma il cluster genico per le citochine sul cromosoma 5 che include i geni per IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, ed il fattore stimolante la linea granulocitica-macrofagica, così come il gene per la leucotriene sintetasi C4. Gli studi genome-wide hanno anche ipotizzato la presenza di geni correlati all'allergia e all'asma sul cromosoma 12 in associazione con IFN- γ , con il segnale di traduzione e con l'attivatore di trascrizione-6 (STAT-6). Altri impor-

tanti loci possono essere localizzati sul cromosoma 13 e sul 19. Molti dei potenziali siti genici riportati per la suscettibilità per asma possono infine sembrare dei risultati falsi positivi. Similmente non ci sarebbe da meravigliarsi se possano essere identificati ancor più geni per la suscettibilità all'asma. Molteplici geni sono coinvolti nella fisiopatologia delle allergie e dell'asma, ognuno dei quali può contribuire solo in piccola percentuale alla globale predisposizione genetica verso queste condizioni. Ad oggi l'utilizzo dei positional cloning per l'identificazione dei geni coinvolti nelle patologie genetiche complesse è controverso e questo scetticismo ha acceso una ancor più grande attenzione per l'individuazione dei polimorfismi nei geni candidati.

STUDI SUI GENI CANDIDATI

La considerazione che lo screening dell'intero genoma poteva non essere il miglior modo per analizzare i meccanismi genetici dell'asma e dell'atopia ha portato all'utilizzo di studi sui geni candidati. I geni candidati includono tutti i numerosi markers biochimici conosciuti per essere regolati in modo anormale o d'altro canto che funzionino in modo inappropriato al punto da causare allergie ed asma (Tabella II). Gli studi sui geni candidati consistono nel ricercare in modo dettagliato una ristretta regione del genoma con numerosi marker polimorfici che saturano l'area d'interesse in una maniera che non sarebbe pratico valutare con un approccio genome-wide¹⁵. Diverse tecniche statistiche vengono utilizzate in questi studi sui geni candidati. In studi paralleli, un particolare gene che si pensi abbia conseguenze patologiche viene esaminato per la sua variabilità nella frequenza predetta nelle popolazioni, in presenza o meno della sindrome sospettata. Questo approccio può confermare l'importanza dei geni candidati nei meccanismi genetici dell'atopia e dell'asma, ma non tiene conto del contributo di altri loci sconosciuti e senza bias che potrebbero risultare importanti. Uno strumento che è stato utilizzato per incrementare il potere degli studi di associazioni e mantenere in parte il potere degli studi di correlazione, consiste nell'eseguire il test di trasmissione del disequilibrio. Ciò significa valutare la frequenza con cui un allele, potenzialmente causa di malattia, viene trasmesso da ciascun genitore ad un discendente affetto. Recentemente la sequenza del genoma umano è stata frammentata in blocchi di aptotipi. L'identificazione di questi blocchi di aptotipi rafforzerà poi il concetto di linkage-disequilibrio e di ricombinazione degli hot-spots, che potenzialmente controllano i meccanismi di ereditarietà di un'ampia varietà di tratti condivisi, associati con questi blocchi di aptotipi. Questi ultimi possono essere incorporati nel test di trasmissione del disequilibrio e negli studi di associazione per accrescere il potere dell'analisi genetica cercando una correlazione di porzioni di genoma con tratti particolarmente complessi¹⁸. Quest'approccio costituirà un primo importante step dell'analisi genetica. Un recente studio ha dimostrato l'utilità delle tecniche positional cloning se combinate con le analisi sui geni candidati nell'identificare potenziali geni responsabili di asma e allergia. Un'analisi genomica-wide

TABELLA I. Linkages con asma e allergia

Cromosoma	Geni candidati o prodotti
1p	Recettore per l'IL-12
2q	IL-1; linfociti T citotossici antigene 4 associati; CD28
3p24	Linfoma-6 a cellule B (inibitore di legame STAT-6); recettore cellulare per le chemochine 4
5q23-35	IL-3; IL-4; IL-5; IL-9; IL-13; GM-CFS; LTC4S; Macrophage colony-stimulating factor receptor; Recettore β 2 adrenergico; Recettore per i glucocorticosteroidi; TIM1, TIM3
6p21-23	MHC, TNFs, Transporters coinvolti nelle fasi di processazione e presentazione dell'antigene (TAP1 e TAP2); particelle proteolitiche e multi catalitiche
7q11-14	Catena γ recettore cellule-T, IL-6
11q13	Catena β recettore IgE ad alta affinità (Fc ϵ R1), proteina 16 cellule di Clara, fattore di crescita 3 dei fibroblasti
12q14-24	IFN- γ , Stem Cell Factor, sintetasi ossido nitrico (costitutiva), sub unità β fattore Y nucleare (fattore di trascrizione dei geni HLA), fattore di crescita 1 insulina-like, idrolasi leucotriene A4, STAT-6 (IL-4 STAT)
13q21-24	Recettore 2 cisteinil-leucotriene
14q11-13	Catene α e δ recettore cellula T, inibitore nucleare κ B
16p11-12	Recettore per IL-4
17p12-17	Cluster per le chemochine CC
19q13	CD22; Transforming growth factor β ₁
20p13	ADAM-33

eseguita su 460 famiglie ha identificato un legame relativamente forte tra asma ed iperreattività bronchiale con markers sul cromosoma 20p13. Un successivo esperimento di 135 polimorfismi in 23 geni mappati nella suddetta regione ha identificato il gene per ADAM-33 come gene significativamente correlato all'asma, conformemente a quanto dimostrato dalle analisi di associazione e di trasmissione del disequilibrio¹⁹. ADAM-33 è una proteasi attiva a livello della membrana cellulare e fa parte della famiglia delle metalloproteasi. Il suo ruolo nella patologia asmatica è dibattuto, ma l'espressione di questa proteina sull'epitelio, sul muscolo liscio e sulle cellule infiammatorie può modificare la risposta dei linfociti e delle cellule infiammatorie alle citochine, alterando il turnover dei recettori proteici; potrebbe anche alterare l'espressione dei fattori di crescita e le risposte di remodeling nella membrana basale dell'epitelio danneggiato e della muscolatura liscia delle vie aeree²⁰. Queste funzioni, fondamentalmente speculative, di ADAM-33 necessitano di essere confermate, ma l'evidenza genetica che indica ADAM-33 come un target nell'asma ha iniziato ad essere ampiamente condivisa.

POLIMORFISMI GENETICI

Si è pensato che la vasta maggioranza di varianti genetiche che contribuiscono a causare disordini genetici complessi probabilmente rappresenti il contributo di mutazioni di singole basi di DNA denominate *polimorfismi di*

TABELLA II. Geni candidati di asma e allergia

	Esempio
Citochine che influenzano il fenotipo allergico	
Fattori di crescita, di attivazione di inibizione dell'apoptosi degli eosinofili	IL-5, IL-3, GM-CSF, eotassina, RANTES
Fattori di crescita dei mastociti	IL-3, IL-9, IL-10, nerve growth factor, stem cell factor, transforming growth factor β
Fattori per il rilascio dell'istamina	Monocyte chemoattractant protein1, monocyte chemoattractant protein 3, RANTES
Fattori determinanti lo switch isotipico delle IgE	IL-4, IL-13
Inibizione dello switch isotipico delle IgE	INF- γ , IL-12, IL-18, IL-23
Via metabolica delle lipossigenasi	5LO, 5-lipoxygenase-activating peptide, leukotriene C4 synthase
Citochine pro-infiammatorie	IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6
Citochine anti-infiammatorie	Transforming growth factor β , interleukin-1 receptor antagonist
Recettori	
Recettori degli antigeni	T-cell receptor ($\alpha/\beta, \gamma/\delta$), B-cell receptor (Ig, κ/λ light chain)
IgE	Fc ϵ RI β chain, Fc ϵ RII (CD23)
Recettori genici delle citochine	INF- γ receptor β chain, macrophage colony-stimulating factor receptor, IL1 receptor, IL-4 receptor, TNF receptors
Molecole di adesione	Virus-like agent 4, vascular cellular adhesion molecule1, intercellular adhesion molecule1, leukocyte functional activating molecule 1, TIM1, TIM 3
Recettori dei corticosteroidi	Glucocorticoid receptor-heat shock protein 90
Recettori neurogenici	β_2 -Adrenergic, cholinergic receptors
Fattori di trascrizione nucleare	Activating protein-1, nuclear factor of interleukin-2, octamer transcription factor-1, STAT-1/2, GATA3, T-box expressed in T cells, nuclear factor κ B, inhibitor of nuclear factor κ B, nuclear factor of activated T cells, STAT-4, STAT-6, BCL-6.

uno singolo nucleotide (SNPs). Altri meccanismi genetici, inclusa la delezione e la trasposizione, possono giocare un ruolo. Gli SNPs si verificano approssimativamente con una frequenza di 1/1000 paia di basi. Poiché nel genoma umano ci sono 4,2 miliardi di paia di basi, ciò suggerirebbe che ci siano almeno 4,2 milioni di SNPs che determinano tutte le nostre caratteristiche individuali, quali altezza, peso, personalità, colore degli occhi,

TABELLA III. Utili links fra polimorfismi e malattia

- Mutamento genico si traduce in un'alterazione rilevante della funzione o del prodotto genico
- Studi di associazione hanno un potere adeguato
- Meccanismo biologicamente plausibile

colore dei capelli e così via. Gli SNPs sono generalmente silenti senza alcun effetto sulla struttura del gene né sulla sua espressione. Un grandissimo interesse è stato focalizzato sul contributo degli SNPs nel codificare la sequenza di geni denominati coding SNPs che influiscono sulla struttura delle proteine. Tuttavia gli SNPs localizzati nei geni promoter o enhancer o nelle sequenze che influiscono sulla struttura cromatinica possono modificare l'espressione genica e perciò avere importanti effetti genetici. L'importanza della biologia degli SNP ha portato alla creazione di un consorzio di industrie biotecnologiche e farmaceutiche che lavora al fine di sviluppare una mappa completa degli SNP del genoma umano. Per provare che un dato SNP sia coinvolto in un processo patologico, devono essere rispettati alcuni criteri. Questi concetti sono riassunti nella Tabella III. Primo, il polimorfismo deve causare un'alterazione rilevante nella funzione o nel livello di espressione del prodotto del gene candidato. Secondo, la variante SNP essere supportata da uno studio di correlazione con potere sufficiente a documentare la sua correlazione con la malattia. Infine il criterio più preciso per dimostrare la correlazione tra l'SNP e la patologia, consisterebbe nell'esaminare la mutazione genetica in un modello animale in cui il gene originale sia stato deletato e rimpiazzato con la variante rilevante del genoma umano. Non è ancora possibile stabilire un quadro completo del ruolo potenziale degli SNPs nell'asma e nell'atopia. Tuttavia, quest'approccio è stato analizzato in uno studio sull'ipertensione nel quale 75 geni candidati venivano plausibilmente identificati e 874 SNPs venivano riconosciuti nell'ambito di questi geni²¹. Il 44% circa era costituito da SNPs codificanti ed il 24% aveva la possibilità di alterare una di queste proteine²¹. Anche per l'asma e l'atopia ci si aspetta un meccanismo genetico altrettanto complesso.

GENI CANDIDATI NELL'ASMA E NELL'ALLERGIA

I geni candidati nell'asma e nelle malattie allergiche includono i numerosi geni che regolano la produzione di IgE e la proliferazione e la maturazione delle cellule effettrici dell'allergia, inclusi gli eosinofili e i mastociti (Tabella II). Molti di questi geni sono localizzati sul braccio lungo del cromosoma 5, inclusi i geni per IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, e GM-CSF²². Altri geni in quest'area che possono essere rilevanti per l'asma comprendono quelli per i recettori corticosteroidi, per il recettore dell'M-CSF, per il recettore β_2 -adrenergico e per la leucotrien-sintetasi C4²³. Sebbene queste citochine non siano di per se polimorfiche, mutazioni in regioni adiacenti di DNA responsabili per la regolazione della tra-

scrizione, possono influenzare la loro capacità di essere prodotte in seguito a stimolazione ad allergeni e di conseguenza contribuire allo sviluppo di asma e allergia. Molti studi hanno riportato correlazioni tra i polimorfismi presenti sul cromosoma 5q e l'asma e l'atopia^{24,25}. Marsh e al.²⁴ hanno trovato evidenze per le correlazioni genetiche con il fenotipo ad alte IgE totali (ma non con IgE specifiche) per numerosi markers localizzati in una ristretta regione del 5q vicina al locus per l'IL-4. Risultati analoghi sono stati ottenuti con lo studio di Myers e al.²⁵ che ha dimostrato l'elevata significatività delle correlazioni con le IgE totali; rispetto al lavoro di Marsh e al.²⁴ tuttavia, i loro markers di correlazione con la più alta significatività erano più vicini ai loci per l'IL-9 e per il recettore β 2-adrenergico. Questi Autori hanno riportato successivamente una correlazione separata con l'iperreattività bronchiale nell'ambito di questo cluster genico²⁶. Studi di follow-up condotti su differenti popolazioni hanno sia confermato²⁷ che smentito^{15,28,29} le strette correlazioni tra l'asma e questo cluster sul cromosoma 5, pertanto l'attendibilità di queste ultime scoperte deve ancora essere stabilita.

Viste le correlazioni riportate tra allergia ed asma e la regione del cromosoma 5, che include i geni per l'IL-4 e l'IL-13, e le mutazioni nello stesso gene dell'IL-4, le analisi sono state eseguite con 16 markers nelle immediate vicinanze del gene per recettore dell'IL-4, recettore che è utilizzato da entrambe le citochine. Una correlazione significativa tra il cromosoma 16p con un'aumentata risposta IgE degli alleli materni ma non paterni è stata trovata in due popolazioni indipendenti e confermata dal test di trasmissione del disequilibrio⁷. Correlazioni significative sono state anche riportate con i polimorfismi all'interno o nelle immediate vicinanze del gene per il recettore α dell'IL-13 sul cromosoma X. Un'aumentata sintesi di IgE correlata ad un promoter polimorfico nel gene per l'IL-10 sul cromosoma 1 è stata inoltre osservata negli asmatici³¹. Questo polimorfismo è stato anche collegato a numerosi studi sulle patologie autoimmuni. È interessante notare che esistono varianti genetiche dei geni per l'IL-4, per l'IL-13, per il recettore α dell'IL-4 e per il recettore α 1 dell'IL-13 che sono state correlate all'asma e all'atopia e che possono contribuire sia ad un'alta che ad una bassa produzione di queste citochine e dei loro recettori. La combinazione di un'alta produzione di IL-4 e di IL-13 con un aumento delle varianti funzionali dei recettori per l'IL-4 e l'IL-13 costituisce un esempio di come le interazioni gene-gene possano essere importanti per lo sviluppo di patologia asmatica. Questi polimorfismi possono determinare un eccesso di produzione di cellule di tipo Th2 e di conseguenza predisporre verso lo sviluppo di atopia ed asma^{24,32-35}. Recenti studi hanno identificato varianti in geni candidati sul cromosoma umano 5q complesso 31-33, quali *TIM1* e *TIM3* (*TIM* = cellule T integrina-mucina simili). *TIM1* e *TIM3* codificano recettori che influenzano lo sviluppo e le funzioni dei linfociti Th1 e Th2. I polimorfismi che controllano l'espressione variabile di questi geni può pertanto influenzare lo shift immunitario delle cellule T helper^{36,37}. È interessante che *TIM1* sia il recettore per il virus dell'epatite A³⁶. Ciò può essere messo in rela-

zione con la documentata capacità delle infezioni da virus dell'epatite A di costituire un fattore protettivo per lo sviluppo di asma. È stato ipotizzato che l'attivazione del recettore di TIM1 da parte del virus dell'epatite A possa costituire un elemento di protezione verso lo sviluppo di reazioni immunitarie Th2 mediate³⁸⁻⁴⁰.

Il cromosoma 12 costituisce una regione candidata particolarmente forte, con diversi geni in stretta associazione, inclusi quelli per l'interferon γ , per l'ossido-nitrico sintetasi, per il fattore per le cellule staminali, il fattore di crescita simil-insulinico 1, per la subunità β del fattore nucleare Y e per STAT-6 (Tabella I). Utilizzando tutta la regione come fosse un gene candidato, sia l'asma che i livelli di IgE totali sono stati collegati con il cromosoma 12q in numerose popolazioni separate⁴¹⁻⁴³. Una ulteriore conferma per il ruolo di STAT-6 nella predisposizione all'asma deriva dall'osservazione che il fattore di trascrizione per il linfoma-6 a cellule B è un inibitore dell'attività biologica dell'IL-4 attraverso la sua capacità di interferire con il legame di STAT-6 alla sua sequenza di riconoscimento sul DNA. Il gene per il linfoma-6 a cellule B è presente sul cromosoma 3p24, un'area associata all'asma dagli studi collaborativi⁸.

Ulteriori regioni candidate includono i geni sul cromosoma 6 che regolano la risposta immune, come gli alleli del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe I e classe II. L'MHC determina sia il tipo che l'intensità della risposta che si sviluppa verso un determinato antigene⁴⁴⁻⁴⁶. Le correlazioni all'MHC servono quasi unicamente a spiegare una base ereditaria della risposta immunitaria specifica nei confronti di un dato epitopo, piuttosto che i meccanismi di sviluppo di asma e allergia. Per esempio, le risposte allergiche verso l'antigene dell'ambrosia Amb a 1⁴⁷, gli antigeni delle graminacee Lol p I e II⁴⁸ e l'antigene della polvere Der p I^{49,50} sono stati messi in correlazione con specifici loci dell'MHC di classe II. Numerosi altri geni all'interno dell'MHC hanno un'ovvia rilevanza per la funzione immunitaria e possono anche influenzare il fenotipo atopico e asmatico. Questi comprendono i geni del *tumor necrosis factor* e i geni coinvolti nei meccanismi di processazione e presentazione dell'antigene, inclusi quelli associati con la proteolisi degli antigeni (grandi particelle proteolitiche multicatalitiche) e con il trasporto dei peptici antigenici alle molecole MHC di classe I (trasportatori coinvolti nella processazione e presentazione dell'antigene, *TAP1* e *TAP2*). Questi geni sono notoriamente polimorfici^{51,52}, e questa variabilità può influire sulla predisposizione a contrarre malattia⁵³.

Così come potrebbe essere possibile che i geni dell'MHC influenzino l'intensità della risposta immunitaria verso uno specifico allergene, è stato anche proposto che i geni dei recettori delle cellule T possano ugualmente contribuire alla componente genetica dell'allergia. La struttura del recettore dei linfociti T determina l'affinità dell'interazione della cellula T con l'allergene e pertanto influisce sull'intensità della risposta immunitaria verso allergeni specifici. Sono state trovate associazioni tra i markers polimorfici localizzati nel recettore per le cellule T sul cromosoma 7q e 14q e la tendenza a sviluppare una risposta allergica verso gli acari della polvere e la forfora di gatto⁵⁴.

In aggiunta ai promoters e alle regioni codificanti dei geni per le citochine, numerosi studi hanno dimostrato l'esistenza di una correlazione tra i geni per le chemochine e l'asma o le malattie atopiche. Il "Collaborative Study on the Genetics of Asthma" ha dimostrato un'associazione tra l'asma ed il cluster chemochinico C-C mappato sul cromosoma 17p11, in una popolazione di razza nera⁵⁵. Due polimorfismi promoter sono stati identificati sul gene *CCL5* (*RANTES*) localizzato in questo cluster genico. Il polimorfismo in posizione -403 costituito da una sostituzione di paia di basi da G ad A, portava alla formazione di un nuovo fattore di trascrizione (*GATA 3*) per il sito di legame determinando un'aumentata attività del promoter. Questo polimorfismo è stato associato alle dermatiti atopiche sia in popolazioni di discendenza di razza bianca sia nera, ed in un altro studio è stato messo in correlazione sia con l'asma che con l'atopia^{56,57}. Un altro gruppo ha mostrato in una popolazione giapponese l'associazione tra un polimorfismo in posizione -28 del gene *CCL5* e la predisposizione a sviluppare asma ad esordio tardivo, sebbene nessuna correlazione fosse stata dimostrata tra l'asma ed il polimorfismo in posizione -403⁵⁸. Recentemente due gruppi di studio hanno identificato una sostituzione di paia di basi da G ad A in posizione +67 all'interno della regione codificante del gene *CCL11* (eotaxina), gene che deriva da una sostituzione aminoacidica di un alanina con una treonina. Nakamura e al. hanno dimostrato che le cellule che esprimevano la variante A del gene *CCL11* producevano minor quantità di eotaxina delle cellule con variante G⁵⁹. Pazienti asmatici con la variante A mostravano un ridotto numero di eosinofili e più alti livelli di funzionalità polmonare. Miyamasu e al.⁶⁰ non hanno trovato associazioni tra questo polimorfismo e la tendenza a sviluppare asma, suggerendo che questo scambio di basi possa influenzare la gravità di malattia piuttosto che esserne agente causale. Un polimorfismo da A a G in posizione -2518 nella regione distale del promoter del gene *CCL2* (proteina chemiotattica del monocita 1) influenza i livelli di espressione di *CCL2* in risposta all'IL-1 β ⁶¹. Come il polimorfismo del *CCL11*, il polimorfismo di *CCL2* si associa alla gravità di asma. I pazienti asmatici monozigoti per l'allele G mostrano aumentati livelli ematici di eosinofili e maggior gravità di asma⁶².

FARMACOGENETICA

La farmacogenetica, che è definita come lo studio delle variazioni nelle risposte ai farmaci nei diversi individui come risultato di differenze genetiche, rappresenta uno dei potenziali utilizzi della comprensione dei meccanismi genetici delle patologie complesse. Le variazioni nei geni target per i farmaci possono essere usate per predire la risposta clinica ad un trattamento. Polimorfismi sono stati riportati nei promoters del gene della 5-lipoossigenasi (*5LO*) e del gene della leucotrien-sintetasi *C4* (*LTC4S*) che sono coinvolti nella produzione del cistenil leucotriene. Anomalie nella regolazione della trascrizione di questi geni possono essere importanti nel determinare il fenotipo aspirina-sensibile e possono identificare

gli individui che saranno maggiormente sensibili ai modificatori dei leucotrieni. Cambi di basi nel promoter della *5LO* alterano il numero dei siti di legame per il fattore di trascrizione 1 che stimola la proteina e influenzano l'efficacia del promoter. Il loro ruolo nella sensibilizzazione all'aspirina rimane speculativo; tuttavia questi genotipi alternativi influenzano la risposta allo zileuton, inibitore della *5LO*⁶³. Analogamente, mutazioni del gene per *LTC4S*, codificato su 5q nel complesso cluster di geni per le citochine, sono correlate all'asma da aspirina.⁶² Analoghi dati sono stati correlati alla risposta delle vie aeree ai β -agonisti. Sono state identificate 4 variazioni genetiche strutturali per il gene del recettore dei β 2-adrenergici che è anch'esso localizzato nel complesso 5q31⁶⁵. Sebbene nessuna di queste modificazioni aminoacidiche sia stata associata alla presenza di asma, tuttavia si è vista una correlazione con il grado di severità di malattia. La presenza di glicina al residuo aminoacidico 16 è associata alla dipendenza da corticosteroidi, a sintomi notturni e alla perdita di risposta ai broncodilatatori con somministrazione di albuterolo a lungo termine. D'altra parte la presenza di glutamina al residuo aminoacidico 27 appare correlata ad un'iperreattività bronchiale meno severa. Infine una componente della risposta e della resistenza agli steroidi osservata nella popolazione di asmatici è dovuta alle variazioni nel recettore dei glucocorticoidi (un altro gene mappato nel complesso 5q31). Queste varianti farmacogenetiche possono essere di grande valore nel cercare di sperimentare e sviluppare forme individualizzate di trattamento dell'asma.

BIBLIOGRAFIA

1. Cooke RA, van der Veer A. Human sensitization. *J Immunol* 1916;1:201-5.
2. Coca AF, Cooke RA. On the classification of the phenomenon of hypersensitivity. *J Immunol* 1923;8:163-82.
3. Falliers CJ, de Cardoso RR, Bane HN, Coffey R, Middleton E Jr. Discordant allergic manifestations in monozygotic twins: genetic identity versus clinical, physiologic, and biochemical differences. *J Allergy* 1971;47:207-19.
4. Hanson B, McGue M, Roitman-Johnson B, Segal NL, Bouchard TJ Jr, Blumenthal MN. Atopic disease and immunoglobulin E in twins reared apart and together. *Am J Hum Genet* 1991;48:873-9.
5. Hopp RJ, Bewtra AK, Watt GD, Nair NM, Townley RG. Genetic analysis of allergic disease in twins. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:265-70.
6. Koppelman GH, Los H, Postma DS. Genetic and environment in asthma: the answer of twin studies. *Eur Respir J* 1999;13:2-4.
7. Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, et al. A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature* 1996;383:247-50.
8. Ober C, Cox NJ, Abney M, Di Rienzo A, Lander ES, Changyaleket B, et al. Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma. *Hum Mol Genet* 1998;7:1393-8.
9. Wjst M, Fischer G, Immervoll T, Jung M, Saar K, Rueschendorf F, et al. A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group. *Genomics* 1999;58:1-8.

10. Moffatt MF, Sharp PA, Faux JA, Young RP, Cookson WO, Hopkin JM. Factors confounding genetic linkage between atopy and chromosome 11q. *Clin Exp Allergy* 1992;22:1046-51.
11. Lympny P, Welsh K, MacCochrane G, Kemeny DM, Lee TH. Genetic analysis using DNA polymorphism of the linkage between chromosome 11q13 and atopy and bronchial hyperresponsiveness to methacholine. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:619-28.
12. Hizawa N, Yamaguchi E, Ohe M, Itoh A, Furuya K, Ohnuma N, et al. Lack of linkage between atopy and locus 11q13. *Clin Exp Allergy* 1992;22:1065-9.
13. Rich SS, Roitman-Johnson B, Greenberg B, Roberts S, Blumenthal M. Genetic analysis of atopy in three large kindreds: no evidence of linkage to D11S97. *Clin Exp Allergy* 1992;22:1070-6.
14. Brereton HM, Ruffin RE, Thompson PJ, Turner DR. Familial atopy in Australian pedigrees: adventitious linkage to chromosome 8 is not confirmed nor is there evidence of linkage to the high affinity IgE receptor. *Clin Exp Allergy* 1994;24:868-77.
15. Thomas NS, Wilkinson J, Holgate ST. The candidate region approach to the genetics of asthma and allergy. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(4 Pt 2):S144-51.
16. Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. *Nat Genet* 1997;15:389-92.
17. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000;405:847-56.
18. Gabriel SB, Schaffner SE, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, et al. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002;296:2225-9.
19. Van Eerdekewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002;418:426-30.
20. Yoshinaka T, Nishii K, Yamada K, Sawada H, Nishiwaki E, Smith K, et al. Identification and characterization of novel mouse and human ADAM33s with potential metalloprotease activity. *Gene* 2002;282:227-36.
21. Halushka MK, Fan JB, Bentley K, Hsie L, Shen N, Weder A, et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for bloodpressure homeostasis. *Nat Genet* 1999;22:239-47.
22. Wilkinson J, Holgate ST. Candidate gene loci in asthmatic and allergic inflammation. *Thorax* 1996;51:3-8.
23. Chandrasekharappa SC, Rebelsky MS, Firak TA, Le Beau MM, Westbrook CA. A long-range restriction map of the interleukin-4 and interleukin-5 linkage group on chromosome 5. *Genomics* 1990;6:94-9.
24. Marsh DG, Neely JD, Breazeale DR, Ghosh B, Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, et al. Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 1994;264:1152-6.
25. Meyers DA, Postma DS, Panhuysen CI, Xu J, Amelung PJ, Levitt RC, et al. Evidence for a locus regulating total serum IgE levels mapping to chromosome 5. *Genomics* 1994;23:464-70.
26. Postma DS, Bleecker ER, Amelung PJ, Holroyd KJ, Xu J, Panhuysen CI, et al. Genetic susceptibility to asthma - bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. *N Engl J Med* 1995;333:894-900.
27. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Maki T, Miyamoto T, et al. Evidence for linkage between asthma/atopy in childhood and chromosome 5q31-q33 in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1390-3.
28. Kamitani A, Wong ZY, Dickson P, van Herwerden L, Raven J, Forbes AB, et al. Absence of genetic linkage of chromosome 5q31 with asthma and atopy in the general population. *Thorax* 1997;52:816-7.
29. Mansur AH, Bishop DT, Markham AF, Britton J, Morrison JF. Association study of asthma and atopy traits and chromosome 5q cytokine cluster markers. *Clin Exp Allergy* 1998;28:141-50.
30. Deichmann KA, Heinzmann A, Forster J, Dischinger S, Mehl C, Brueggelente E, et al. Linkage and allelic association of atopy and markers flanking the IL4-receptor gene. *Clin Exp Allergy* 1998;28:151-5.
31. Hobbs K, Negri J, Klennert M, Rosenwasser LJ, Borish L. Interleukin-10 and transforming growth factor- γ promoter polymorphisms in allergies and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1958-62.
32. Rosenwasser LJ. Promoter polymorphism in the candidate genes, IL-4, IL-9, TGF-beta1, for atopy and asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;118:268-70.
33. Rosenwasser LJ, Klemm DJ, Dresback JK, Inamura H, Mascali JJ, Klennert M, et al. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:74-8.
34. Walley AJ, Cookson WO. Investigation of an interleukin-4 promoter polymorphism for associations with asthma and atopy. *J Med Genet* 1996;33:689-92.
35. Graves PE, Kabesch M, Halonen M, Holberg CJ, Baldini M, Fritzsche C, et al. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:506-13.
36. McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, Potter M, Kuchroo VK, Barsh GS, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family. *Nat Immunol* 2001;2:1109-16.
37. Wills-Karp M. Asthma genetics: not for the TIMid? *Nat Immunol* 2001;2:1095-6.
38. Matricardi PM, Rosmini F, Ferrigno L, Nisini R, Rapisetta M, Chionne P, et al. Cross sectional retrospective study of prevalence of atopy among Italian military students with antibodies against hepatitis A virus. *BMJ* 1997;314:999-1003.
39. Matricardi PM, Rosmini F, Rapisetta M, Gasbarrini G, Stroffolini T. Atopy, hygiene, and anthroposophic lifestyle. San Marino Study Group. *Lancet* 1999;354:430.
40. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapisetta M, et al. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ* 2000;320:412-7.
41. Barnes KC, Neely JD, Duffy DL, Freidhoff LR, Breazeale DR, Schou C, et al. Linkage of asthma and total serum IgE concentration to markers on chromosome 12q: evidence from Afro-Caribbean and Caucasian populations. *Genomics* 1996;37:41-50.
42. Nickel R, Wahn U, Hizawa N, Maestri N, Duffy DL, Barnes KC, et al. Evidence for linkage of chromosome 12q15-q24.1 markers to high total serum IgE concentrations in children of the German multicenter allergy study. *Genomics* 1997;46:159-62.
43. Wilkinson J, Thomas NS, Lio P, et al. Evidence for linkage between markers on chromosome 12q and asthma and atopy in 191 families [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:A257.

44. Marsh DG, Meyers DA, Bias WB. The epidemiology and genetics of atopic allergy. *N Engl J Med* 1981;305:1551-9.
45. Blumenthal M, Marcus-Bagley D, Awdeh Z, Johnson B, Yunis EJ, Alper CA. HLA-DR2, [HLA-B7, SC31, DR2], and [HLA-B8, SC01, DR3] haplotypes distinguish subjects with asthma from those with rhinitis only in ragweed pollen allergy. *J Immunol* 1992;148:411-6.
46. Blumenthal M, Mendell N, Yunis E. Immunogenetics of atopic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1980;65:403-5.
47. Marsh DG, Hsu SH, Roebber M, Ehrlich-Kautzky E, Freidhoff LR, Meyers DA, et al. HLA-Dw2—a genetic marker for human immune response to short ragweed allergen RAS: 1. Response resulting primarily from natural antigenic exposure. *J Exp Med* 1982;155:1439-51.
48. Freidhoff LR, Ehrlich-Kautzky E, Meyers DA, Ansari AA, Bias WB, Marsh DG. Association of HLA-DR3 with human immune response to Lol p I and Lol p II antigens in allergic subjects. *Tissue Antigens* 1988;31:211-9.
49. Verhoef A, Higgins JA, Thorpe CJ, Marsh SG, Hayball JD, Lamb JR, et al. Clonal analysis of the atopic immune response to the group 2 allergens of *Dermatophagoides spp.*: identification of HLA-DR and -DQ restricted T cell epitopes. *Int Immunol* 1993;5:1589-97.
50. Yssel H, Johnson KE, Schneider PV, Wideman J, Terr A, Kastelein R, et al. T cell activation-inducing epitopes of the house dust mite allergen *Der p I*: proliferation and lymphokine production patterns by *Der p I*-specific CD4+ T cell-clones. *J Immunol* 1992;148:738-45.
51. Carrington M, Colonna M, Spies T, Stephens JC, Mann DL. Haplotypic variation of the transporter associated with antigen processing (TAP) genes and their extension of HLA class II region haplotypes. *Immunogenetics* 1993;37:266-73.
52. Powis SH, Rosenberg WM, Hall M, Mockridge I, Tonks S, Ivanson A, et al. TAP1 and TAP2 polymorphism in coeliac disease. *Immunogenetics* 1993;38:345-50.
53. Kuwata S, Yanagisawa M, Saeki H, Nakagawa H, Etoh T, Tokunaga K, et al. Lack of primary association between transporter associated with antigen processing genes and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:1051-60.
54. Moffatt MF, Hill MR, Cornelis F, Schou C, Faux JA, Young RP, et al. Genetic linkage of T-cell receptor alpha/delta complex to specific IgE responses. *Lancet* 1994;343:1597-600.
55. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). A genomewide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. *Nat Genet* 1997;15:389-92.
56. Nickel RG, Casolaro V, Wahn U, Beyer K, Barnes KC, Plunkett BS, et al. Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES. *J Immunol* 2000;164:1612-6.
57. Fryer AA, Spiteri MA, Bianco A, Hepple M, Jones PW, Strange RC, et al. The -403 G_A promoter polymorphism in the RANTES gene is associated with atopy and asthma. *Genes Immun* 2000;1:509-14.
58. Hizawa N, Yamaguchi E, Konno S, Jinushi E, Nishimura M. The role of functional polymorphisms in the RANTES gene promoter in asthma [abstract]. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:S173.
59. Nakamura H, Luster AD, Nakamura T, In KH, Sonna LA, Deykin A, et al. Variant eotaxin: its effects on the asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:946-53.
60. Miyamasu M, Sekiya T, Ohta K, Ra C, Yoshie O, Yamamoto K, et al. Variations in the human CC chemokine eotaxin gene. *Genes Immun* 2001;2:461-3.
61. Rovin BH, Lu L, Saxena R. A novel polymorphism in the MCP-1 gene regulatory region that influences MCP-1 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;259:344-8.
62. Szalai C, Kozma GT, Nagy A, Bojszko A, Krikovszky D, Szabo T, et al. Polymorphism in the gene regulatory region of MCP-1 is associated with asthma susceptibility and severity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:375-81.
63. In KH, Asano K, Beier D, Grobholz J, Finn PW, Silverman EK, et al. Naturally occurring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. *J Clin Invest* 1997;99:1130-7.
64. Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997;350:1599-600.
65. Reihnsaus E, Innis M, MacIntyre N, Liggett SB. Mutations in the gene encoding for the beta2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:334-9.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Negli ultimi 20 aa si è molto discusso sulle complesse interazioni tra ambiente e genetica nel determinismo delle malattie allergiche e, soprattutto, dell'asma. Se, intorno alla prima metà degli aa '90, era prevalente la visione di cause DNA-correlate dell'asma, le successive evidenze sperimentali di Von Mutius e di altri Autori hanno condotto ad una riconsiderazione dell'importanza dei fattori ambientali.

1. Il polimorfismo di un singolo nucleotide sul gene che codifica per CD14 (*CD14C-159T*) correla con un'aumentata trascrizione della molecola CD14. Nei soggetti etero ed omozigoti che vivono in ambienti rurali; la mutazione riduce il rischio di sviluppo di malattie allergiche (Leynaert et al.).
2. Il polimorfismo *CD14C-260T* correla con la produzione di IgE ed è modificato dall'entità dell'esposizione all'endotossina. La produzione di IgE è:
 - più elevata nei genotipi CC (ma non nei CT e TT) a basse concentrazioni di endotossina,
 - più elevata nei genotipi TT ad alte concentrazioni di endotossina (Willimas et al.)
3. Marcatori localizzati all'interno di tre regioni del locus AOA (gene che codifica per l'enzima aciloxiacil idrolasi che idrolizza le catene lipidiche dell'LPS) sarebbero associati al fenotipo asmatico, alla produzione di IgE, il rapporto IL-13/IFN-gamma e il CD14 solubile. Questi studi suggeriscono anche interazioni gene-gene tra il marcatore rs2727831 del gene AOA e *CD14C-206T* (Barnes et al.).
4. La molecola di IL-17 con una singola sostituzione aminoacidica istidina/arginino codificata dalla variante *IL17FT7488C* non è in grado di attivare la produzione di citochine e chemochine da parte delle cellule epiteliali bronchiali. La mutazione, presente sia pure raramente nella popolazione giapponese studiata, è inversamente correlata con il rischio di sviluppo di asma (Kawaguchi et al.).
5. Il polimorfismo dei geni che codificano per le citochine Th2 (*IL-4*, *IL-13*), i fattori di trascrizione ad essi correlati (*STAT-6*) ed al loro recettore (*IL-4Rα*) è associato al rischio di maggiore produzione di IgE ed allo sviluppo di asma (Kabesh et al.). Questi dati sono stati anche confermati da un altro studio di Autori cinesi (Chan et al.) che hanno ricercato le possibili associazioni tra sviluppo di asma, produzione di IgE e polimorfismi in 12 differenti loci in 8 geni candidati ad essere coinvolti nella regolazione delle manifestazioni allergiche.
6. È dimostrata l'associazione tra varianti geniche per *IL-13* e la produzione di aumentate quantità di IgE, mentre non esiste associazione tra livello di IgE totali e i geni di suscettibilità per il diabete di tipo I (*CTLA4*, *PTPN22*, *IL2Rα*), che sono stati ricercati per la correlazione inversa esistente tra diabete autoimmune e malattie allergiche (possibile effetto protettivo?) (Maier et al.).
7. Il polimorfismo del gene che codifica per il recettore estrogenico ESR1 correla con lo sviluppo della broncoreattività e con il peggior andamento dell'asma (Dijkstra et al.).
8. Diversi lavori indicano un possibile ruolo di polimorfismi di geni che codificano per citochine/fattori solubili o loro recettori implicati nella patogenesi dell'asma (e, più in generale dell'allergia) quali, tra gli altri, *VEGFR2*, *TGFB1*, *PTGDR*.
9. Studi più ampi (ovvero non strettamente correlati a geni candidati) hanno indicato possibili associazioni tra broncoreattività, sviluppo di sensibilizzazione per pollini ed asma e le regioni 13q34, 20p12, 21q21 e una vasta regione sul cromosoma 5p.

Mentre il coinvolgimento delle cellule e citochine Th2 nei meccanismi effettori delle malattie allergiche non è più in discussione, come anche confermano le numerose evidenze nei modelli animali, studi clinici e sperimentali hanno individuato altre molecole che potrebbero svolgere un ruolo critico in queste malattie. Queste nuove evidenze suggeriscono che esistono interessanti interconnessioni tra genetica ed ambiente e che la considerazione dell'uno o dell'altro fattore separatamente può condurre ad una visione parziale (e non corretta) dei meccanismi che contribuiscono allo sviluppo delle malattie allergiche.

Un'ampia rivisitazione dei concetti che correlano l'asma, i meccanismi patogenetici delle malattie allergiche e la genetica è stata recentemente pubblicata su *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Influences in allergy: Epidemiology and the environment

Erika von Mutius

March 2004 (Vol.113, Issue 3, Pages 373-379)

Genetics, epigenetics, and the environment: Switching, buffering, releasing

Donata Vercelli

March 2004 (Vol.113, Issue 3, Pages 381-386)

The epidemiology and genetics of asthma risk associated with air pollution

David B. Peden

February 2005 (Vol. 115, Issue 2, Pages 213-219)

Allergy-related genes in microarray: An update review

Hirohisa Saito, Jun Abe, Kenji Matsumoto

July 2005 (Vol. 116, Issue 1, Pages 56-5)

Advances in asthma, allergy mechanisms and genetics in 2006

Finkelman FD, Vercelli D

September 2007 (Vol. 120, Issue 3, Pages 544-550)

*** Genetics of allergic disease**

John W. Steinke, Stephen S. Rich, Larry Borish

Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S384-S387)

6. Asma

La crescente incidenza e prevalenza dell'asma in molte parti del mondo fanno di questa patologia un argomento di grande preoccupazione per la salute a livello globale. L'eterogeneità delle manifestazioni cliniche e delle risposte alla terapia, negli adulti e nei bambini depone per la natura sindromica dell'asma, più che per un disturbo isolato d'organo. Numerosi agenti stimolanti (infezioni virali, esposizione ad allergeni, agenti irritanti e l'esercizio fisico) complicano, tra gli altri fattori, il trattamento acuto e cronico dei pazienti asmatici. La terapia si basa sull'evidenza che l'ostruzione delle vie aeree nell'asma sia data dallo spasmo della muscolatura liscia bronchiale e da gradi variabili di infiammazione delle vie aeree, caratterizzati da edema, secrezione mucosa ed afflusso di varie cellule infiammatorie. La presenza di reversibilità solo parziale dell'ostruzione bronchiale in alcuni pazienti indica che col tempo si può verificare un rimodellamento strutturale delle vie aeree. La scelta di una terapia appropriata dipende dalla gravità dell'asma (intermittente, lieve persistente, moderata persistente e grave persistente), dal grado di reversibilità sia in acuto che in cronico, dai livelli di attività della malattia (esacerbazioni legate a virus, allergeni, esercizio, ecc) e dall'età di insorgenza (infanzia, adolescenza, età adulta).

DEFINIZIONE

Nonostante la spiccata eterogeneità dei fenotipi della malattia, c'è consenso nel definire l'asma un disordine infiammatorio cronico delle vie aeree nel quale concorrono svariati tipi cellulari, in particolare mastociti, eosinofili, linfociti T, neutrofili e cellule epiteliali. Negli individui suscettibili questa infiammazione causa ricorrenti episodi di respiro sibilante, dispnea e tosse, in particolar modo di notte e/o nelle prime ore del mattino. Questi episodi sono di solito associati ad una diffusa ma variabile ostruzione del flusso aereo che è spesso reversibile spontaneamente o con trattamento farmacologico. L'infiammazione causa anche un aumento della reattività bronchiale a stimoli diversi.

A partire da questa definizione meritano di essere messi a fuoco alcuni punti chiave riguardo il riconoscimento, il trattamento e le cause dell'asma:

- l'asma, a prescindere dalla gravità, è una patologia infiammatoria cronica delle vie aeree; questa caratteristica ha implicazioni per la diagnosi, la prevenzione e il trattamento della malattia

Abbreviazioni utilizzate:

BIE: broncospasmo indotto da esercizio fisico
 FANS: farmaci antinfiammatori non steroidei
 COX: ciclo-ossigenasi
 RGE: reflusso gastroesofageo
 PEF: picco di flusso espiratorio
 VCD: vocal cord dysfunction/disfunzione delle corde vocali
 MDI: metered-dosed inhaler/inalatori a dose fissa
 DPI: inalatori a polvere fissa
 CFC: cloro-fluoro-carboni
 HFA: hydrofluoroalkane/idro-fluoro-alcani
 ICS: inhaled corticosteroids/corticosteroidi per inalazione
 GR: glucocorticoid receptors/recettori dei glucocorticoidi
 RSV: respiratory syncytial virus/virus respiratorio sinciziale

- l'infiammazione delle vie aeree può essere variamente associata a cambiamenti della reattività bronchiale, della limitazione del flusso aereo, dei sintomi respiratori e dell'andamento cronico di malattia
- l'infiammazione delle vie aeree può essere associata acutamente e cronicamente con lo sviluppo di limitazione del flusso aereo per la presenza di broncocostrizione, di edema delle vie aeree, della secrezione di muco e, in alcuni pazienti, del rimodellamento delle pareti delle vie aeree
- l'infiammazione delle vie aeree documentata istologicamente in pazienti asmatici adulti potrebbe avere inizio durante la prima infanzia in individui ad alto rischio
- l'atopia, predisposizione genetica allo sviluppo di una risposta antigene-specifica mediata dalle IgE ai comuni allergeni, è il più forte fattore identificabile predisponente per lo sviluppo dell'asma.

FISIOPATOFISIOLOGIA

Genetica

La genetica dell'asma è stata di recente ampiamente rivisitata.¹ Al momento c'è ampio consenso sull'importanza del ruolo svolto dall'ereditarietà sia nell'asma che nelle malattie allergiche. Tuttavia l'ereditarietà

Traduzione italiana del testo di:
 Robert F. Lemanske, Jr e William W. Busse
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S502-19

dell'asma appare più come "disordine genetico complesso" (dovuto, cioè, sia a fattori genetici sia ambientali) così come è stato dimostrato nell'ipertensione, nell'aterosclerosi, nell'artrite e nel diabete mellito. Quindi, l'asma non può essere considerata semplicemente come una malattia a trasmissione autosomica dominante, recessiva, o legata al sesso.

Gli studi rivolti all'identificazione dei geni che causano la malattia o che la modificano, hanno dimostrato l'esistenza di significative associazioni con i seguenti cromosomi o regioni di cromosoma: 5q31 [livelli di IgE totali e di eosinofili; citochine (interleuchine -4, -5, e -13); CD14 (recettore di endotossine, importante per l'inizio della risposta immune innata)]; 6 [complesso maggiore di istocompatibilità, complesso del tumor necrosis factor (infiammazione nell'asma)]; 11q13 [catena β dei recettori IgE ad alta affinità]; 12q [asma]; 13q [atopia e asma], tra gli altri.¹

Recentemente è stata descritta un'associazione fra l'asma e il gene ADAM33, che codifica per un enzima di processazione proteica conosciuto come metalloproteasi.²

La determinazione, inoltre, del polimorfismo dei geni di risposta al trattamento (farmacogenetica) ha aperto nuovi orizzonti nella ricerca su questa malattia.³ Finora il principale obiettivo dell'attività di ricerca è stata la caratterizzazione dei geni correlati alla risposta, β adrenergica,⁴ alla via della 5-lipossigenasi⁵ e ai recettori dei glucocorticoidi.³ In futuro è possibile che gli schemi terapeutici per l'asma possano essere individualizzati, basandosi sulla natura dei polimorfismi di ogni singolo paziente per i geni che si ritengono in grado di influenzare significativamente la risposta alla terapia sia in acuto che in cronico.

Ostruzione delle vie aeree

Le manifestazioni cliniche e le relative alterazioni fisiopatologiche sono diretta conseguenza dell'ostruzione delle vie aeree. Per valutare l'ostruzione bronchiale e il suo effetto sulla fisiologia del polmone e sui sintomi del paziente devono essere considerati vari fattori: 1) l'ostruzione delle vie aeree può essere intermittente, persistente e/o progressiva; 2) l'ostruzione può essere totalmente, parzialmente o non reversibile; 3) l'ostruzione può essere il risultato finale di molteplici fattori strutturali e/o fisiologici che contribuiscono individualmente o collettivamente all'ostruzione delle vie aeree. Il preciso contributo di ognuno di questi fattori varia tra i pazienti asmatici e contribuisce alla diversità nelle manifestazioni cliniche, incluse la gravità della malattia e la risposta terapeutica ai farmaci.

Spasmo della muscolatura liscia delle vie aeree. Uno dei tratti caratteristici dell'asma è rappresentato dall'iperreattività delle vie aeree, il che significa che la ostruzione acuta al flusso aereo insorge in seguito a stimoli di vario genere e che la risultante risposta contrattile porta ad una sproporzionata ostruzione delle vie aeree. Lo spasmo della muscolatura liscia bronchiale probabilmente è conseguente a questa eccessiva reattivi-

età, ma molti fattori regolano o contribuiscono a sostenere il tono della muscolatura liscia. Per esempio, le vie aeree contengono varie cellule residenti (mastociti, macrofagi alveolari, epitelio ed endotelio delle vie aeree) e cellule infiammatorie provenienti dal torrente ematico (eosinofili, linfociti, neutrofili, basofili e, a volte, piastrine). Queste cellule sono in grado di secernere una varietà di mediatori, come l'istamina, i cisteinil-leucotrieni (LTC⁴, LTD⁴, LTE⁴), la prostaglandina D², e il fattore attivante le piastrine, che possono contrarre direttamente la muscolatura liscia bronchiale. In più, le cellule reclutate possono generare mediatori dell'infiammazione, che rendono la muscolatura liscia delle vie aeree più sensibile ai mediatori del broncospasmo. La muscolatura liscia bronchiale è anche sotto il controllo neuroregolatore, ed è innervata dal nervo vago. Sia attraverso l'attivazione diretta di questo nervo, sia con meccanismi riflessi, la secrezione di acetilcolina porta alla contrazione della muscolatura bronchiale. Altri neuroregolatori, inoltre, come la sostanza P e le neurochinine, contribuiscono a determinare il tono della muscolatura liscia delle vie aeree.

Edema della mucosa delle vie aeree. Molti degli stessi mediatori che portano alla contrazione della muscolatura liscia bronchiale, ad esempio l'istamina, i cisteinil-leucotrieni e la bradichinina, possono indurre un aumento della permeabilità della membrana dei capillari causando edema della mucosa. Questi cambiamenti nel tessuto delle vie aeree contribuiscono all'ostruzione del flusso aereo.

Ipersecrezione mucosa. Uno dei tratti caratteristici dell'asma grave è l'iperproduzione di muco, che può restringere meccanicamente il lume delle vie aeree e, nell'asma grave, formare tappi che possono obliterare il lume bronchiale. Lo sviluppo dei tappi di muco avviene anche nei prolungati e gravi attacchi di asma o in pazienti con malattia cronica. Il risultato finale è una ulteriore ostruzione del lume delle vie aeree.

Infiammazione. L'infiammazione delle vie aeree rappresenta un aspetto tipico dell'asma e contribuisce in maniera significativa nel determinare molte caratteristiche di questa malattia, incluse l'ostruzione del flusso aereo, l'iperreattività bronchiale e l'inizio del processo di riparazione del danno (rimodellamento) osservato in alcuni pazienti. Le caratteristiche dell'infiammazione variano considerevolmente e dipendono dallo stadio della malattia: acuta, cronica o in rimodellamento. Il grado di infiammazione delle vie aeree varia con la gravità e la cronicità della malattia e può anche determinare la risposta del paziente al trattamento.

Nei tessuti bronchiali di soggetti deceduti per male asmatico si osserva un pattern caratteristico di infiammazione che comprende disepitelizzazione, tappi mucosi nei bronchi segmentali e nei bronchioli, deposizione di collagene sotto la membrana basale, edema della sottomucosa, infiltrazione di cellule infiammatorie [eosinofili e neutrofili (questi ultimi osservati più frequentemente nelle esacerbazioni improvvise e

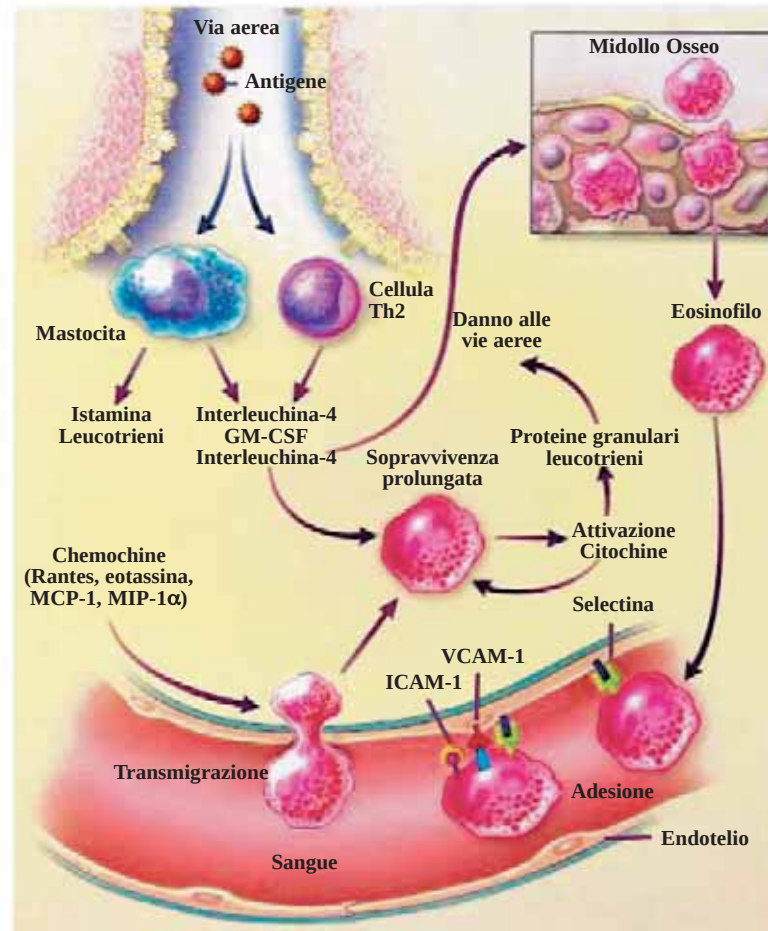


FIG 1. Uno dei meccanismi che da origine alla infiammazione allergica conseguente all'esposizione all'antigene nei soggetti sensibilizzati. L'interazione dell'antigene con gli anticorpi IgE-specifici legati alle mastcellule determina il rilascio di mediatori preformati (istamina) e sintetizzati (leucotrieni) assieme alle citochine [interleuchine 4 e 5 e granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF)].

Questi fattori possono indurre un afflusso localizzato di cellule infiammatorie e la loro attivazione attraverso la up-regolazione di varie chemochine e molecole di adesione e il reclutamento di cellule midollari (ad es. eosinofili). (Modificato e riprodotto con l'autorizzazione di Busse WW, Lemanske RF Jr. N Engl J Med 2001;344:350-62)

gravi)] e ipertrofia/ipertrofia della muscolatura liscia. Le gradazioni di queste risposte sono viste come una progressione della gravità della malattia da asma lieve ad un processo cronico, persistente.

Molte cellule infiammatorie contribuiscono all'infiammazione delle vie aeree nell'asma, incluse mastociti attivati e linfociti (in particolare la sottopopolazione Th2, che rilascia una famiglia di citochine proinfiammatorie tra cui IL-4, IL-5 e IL-13). Queste citochine agiscono tra l'altro nel reclutare ed attivare gli eosinofili. I linfociti, insieme con le cellule epiteliali, generano chemochine, (RANTES ed eotassina), che sembrano svolgere un ruolo essenziale nel reclutamento degli eosinofili.

Un altro passaggio importante in questo processo è rappresentato dall'attivazione delle proteine di adesione endoteliali, particolarmente quelle della superfamiglia delle immunoglobuline, ICAM-1 e VCAM-1. Queste proteine si combinano con specifici recettori sulle cellule infiammatorie (per esempio, neutrofili,

eosinofili e linfociti), facilitandone l'afflusso verso le vie aeree (Fig. 1).

Rimodellamento. È stato recentemente osservato che alcuni pazienti con asma possono avere un'ostruzione irreversibile delle vie aeree.⁶ Questo processo è stato denominato rimodellamento delle vie aeree e rappresenta un processo di riparazione del danno tissutale. Sono stati identificati vari componenti del rimodellamento nell'asma, come l'ipertrofia della muscolatura liscia, l'iperplasia delle ghiandole mucose e delle cellule caliciformi, l'angiogenesi (iperplasia vascolare) e la deposizione di collagene nelle vie aeree. Questi fattori istologici sembrano essere permanenti e non regredire con il trattamento.

Sebbene siano state evidenziate le conseguenze del rimodellamento delle vie aeree, devono essere ancora definiti i processi coinvolti nella sua regolazione. Ciononostante, il processo pare sotto il controllo di mediatori chiaramente distinti da quelli coinvolti nella

risposta infiammatoria acuta. Per esempio, nel rimodellamento, la produzione e la presenza di fattori di crescita sembra più critica e porta al cambiamento strutturale nel tessuto delle vie aeree. Così, il cambio o il passaggio dall'infiammazione allergica al rimodellamento suggerisce la presenza di una nuova famiglia di mediatori con azioni sulla crescita della muscolatura liscia, sulla deposizione di collagene, la proliferazione di vasi sanguigni e l'iperplasia delle ghiandole mucose. Nell'insieme, questi nuovi dati forniscono un quadro dell'asma, che inizia con una risposta infiammatoria cellulare acuta che poi può evolvere in un processo cronico, nel quale si verificano cambiamenti strutturali che incidono ulteriormente sull'iperreattività delle vie aeree e sull'ostruzione del flusso aereo.⁷

Iperreattività delle vie aeree

Una delle caratteristiche dell'asma è rappresentata dalla iperreattività delle vie aeree indotta da varie sostanze inalanti (come ad esempio la metacolina) o in associazione con l'esposizione ad aria fredda, esercizio fisico, irritanti o con l'iperventilazione.⁸ Molti fattori contribuiscono all'iperreattività osservata nell'asma inclusi polimorfismi genetici, architettura delle vie aeree (edema, ipertrofia della muscolatura liscia e deposizione di materiale collagene), età e momento della giornata (nelle ore notturne risulta maggiore che nelle ore diurne). L'iperreattività delle vie aeree, se dimostrata durante l'infanzia e la prima giovinezza, potrebbe essere un fattore di rischio per il successivo sviluppo dell'asma clinico.⁹ Sebbene l'infiammazione delle vie aeree contribuisca a questa peculiarità dell'asma, molteplici altri fattori che influenzano il calibro delle vie aeree svolgono un ruolo nel suo determinismo.¹⁰ È importante enfatizzare che l'iperreattività delle vie aeree non è caratteristica solo dell'asma. Un test alla metacolina positivo è diagnostico per iperreattività delle vie aeree (che può essere osservata in atopici, in pazienti con fibrosi cistica, in altre malattie croniche del polmone e anche in individui normali per alcune settimane dopo un'infezione virale del tratto respiratorio), non per l'asma di per sé. La potenziale utilità di questo test è maggiore se risulta negativo (ad esempio nella valutazione della tosse cronica), dal momento che è insolito per un paziente con asma clinico avere un livello di sensibilità delle vie aeree che rientri nel range di normalità.

CLASSIFICAZIONE

Gravità della malattia

L'asma può essere classificato sulla base di fattori eziologici, della gravità e del modello di limitazione del flusso aereo. Poiché l'asma è un disordine eterogeneo, esistono senza dubbio molteplici fattori causali sia per l'insorgenza che per l'esacerbazione dei sintomi una volta che la malattia si è stabilita. I fattori alla base dell'esordio possono variare da infezioni virali del trat-

to respiratorio nell'infanzia (virus respiratorio sinciziale¹¹) all'esposizione occupazionale negli adulti.¹² I fattori alla base delle esacerbazioni dell'asma includono, tra gli altri, esposizione agli allergeni negli individui sensibilizzati, infezioni virali, esercizio, agenti irritanti ed assunzione di agenti anti-infiammatori non steroidei. I fattori di esacerbazione possono includere una o tutte queste esposizioni e variare sia fra i pazienti che nell'ambito dello stesso paziente.

Determinazioni convenzionali dei livelli di gravità dell'asma hanno combinato la valutazione dei sintomi, la quantità di β -agonisti usati per trattare i sintomi e la funzione polmonare. Sulla base di questi parametri il livello di gravità di malattia in un paziente prima del trattamento è stata classificata dagli esperti in intermittente e persistente: lieve, moderata o grave (Fig. 2 e 3).¹³ Quando un paziente sta già effettuando un trattamento, la classificazione della severità dovrebbe essere basata sulle caratteristiche cliniche attuali e sull'entità della terapia giornaliera al momento della valutazione. Così, un paziente che al momento della valutazione ha sintomi di asma lieve persistente nonostante il trattamento di mantenimento adatto al suo grado (Fig. 2 e 3), dovrebbe essere curato per asma persistente moderato. Bisogna sottolineare che questo schema di classificazione riguarda la gravità della malattia in cronico; i pazienti che presentano solo sintomi intermittenti (ad es. asma indotto da virus in bambini piccoli) possono ancora avere un grave deterioramento nella funzione polmonare durante una esacerbazione acuta. È stato osservato che persone di reddito basso, coloro che non usano farmaci, la popolazione che vive in città o certi gruppi culturali, hanno un rischio aumentato di sviluppare livelli di maggiore gravità di malattia.^{14,15}

Fattori precipitanti

Allergeni. L'esposizione agli allergeni è un importante fattore nell'indurre la sensibilizzazione allergica e nel precipitare la sintomatologia asmatica sia nei bambini sia negli adulti sensibilizzati. Lo sviluppo della malattia allergica implica, *in primis*, il processo di sensibilizzazione [formazione di anticorpi IgE allergene-specifici in soggetti geneticamente predisposti (atopici)] e quindi l'espressione e l'ottimizzazione di questa risposta ai vari sistemi d'organo (naso, cute, polmone, occhi). Nell'asma l'organo bersaglio è ovviamente il polmone, ma gli eventi immunoinfiammatori nelle vie aeree superiori potrebbero contribuire comunque alla comparsa e/o alla riacutizzazione della sintomatologia a carico delle vie aeree inferiori.¹⁶

La formazione di anticorpi IgE antigene-specifici verso gli allergeni inalanti (ad es. acari, graminacee, forfora animale, alberi) di solito non avviene fino ai 2 o 3 anni di vita. Così, l'asma indotto da allergeni è inusuale durante i primi anni di vita ma inizia ad aumentare in proporzione durante la tarda infanzia e l'adolescenza, con un picco nella seconda decade di vita. Una volta stabilitesi in individui geneticamente predisposti, le reazioni IgE-mediate rappresentano il maggiore fattore patogenetico sia per i sintomi asmatici acuti sia

per l'infiammazione cronica delle vie aeree. L'esposizione cronica a bassi livelli di allergeni in ambienti confinati (in particolare ad acari della polvere e scarafaggi) potrebbe svolgere un ruolo molto importante sia nella patogenesi dell'asma che nel successivo scatenamento dei sintomi.¹⁷ Sebbene una vasta gamma di allergeni inalanti possa provocare sintomi asmatici, la sensibilizzazione agli acari della polvere di casa¹⁸, agli scarafaggi¹⁹, all'*Alternaria*²⁰ e, in alcuni casi, al gatto²¹ è particolarmente importante nella patogenesi dell'asma. Paradossalmente, dati recenti suggeriscono tuttavia che l'esposizione ai gatti o ai cani durante i primi anni di vita potrebbe proteggere dallo sviluppo dell'asma.²² Le caratteristiche di questi allergeni nello sviluppo dell'asma non sono del tutto definite potendosi collegare alla loro attività enzimatica oltre che alla loro natura antigenica.²³ L'esposizione all'*Alternaria*, in particolare, potrebbe produrre gravi sintomi di asma acuto, dal momento che la sensibilizzazione a questo micete è stata implicata come fattore di rischio per arresto respiratorio improvviso in adolescenti e giovani adulti con asma.²⁴ Sebbene l'allergia ad alimenti possa produrre broncospasmo insieme a sintomi cutanei e gastrointestinali, è molto raro che essa produca una reazione respiratoria isolata.²⁵

Infezioni. Le infezioni del tratto respiratorio causate da virus^{26,27}, *Chlamydia*²⁸⁻³⁰ e *Mycoplasma*³¹ sono state coinvolte nella patogenesi dell'asma. Di questi patogeni respiratori, i virus si sono dimostrati associati con l'asma in almeno tre modi.

1) Durante l'infanzia, alcuni virus sono stati implicati come potenzialmente responsabili dell'esordio del fenotipo asmatico. In tal senso, il virus più implicato è quello respiratorio sinciziale (RSV).^{11,32} Tuttavia, poiché quasi ogni bambino viene infettato almeno una volta da questo virus entro i 2 anni, altri fattori genetici, ambientali o inerenti allo sviluppo devono contribuire alla tendenza di questo virus ad associarsi all'asma dell'infanzia.^{33,34}

2) Nei pazienti che già presentano asma, particolarmente i bambini, le infezioni virali del tratto respiratorio superiore svolgono un ruolo significativo nel produrre esacerbazioni acute di ostruzione delle vie aeree che possono determinare frequenti visite ambulatoriali o ospedalizzazioni.^{26,35-37} Il rinovirus, il comune virus del raffreddore, rappresenta la causa più frequente delle esacerbazioni, ma sono stati implicati altri virus compresi il parainfluenzale, l'RSV, l'influenzale e il coronavirus, sebbene in una minore percentuale di casi. L'aumentata tendenza per le infezioni virali a produrre sintomi a livello delle basse vie aeree in individui asmatici potrebbe essere collegata, almeno in parte, ad interazioni tra sensibilizzazione allergica, esposizione all'allergene e infezioni virali, che possono agire come cofattori nell'induzione degli episodi acuti di ostruzione delle vie aeree.^{38,39}

3) Le infezioni paradossalmente sono state considerate in grado di prevenire lo sviluppo di malattie allergiche del tratto respiratorio, inclusa l'asma. Tale ipotesi, denominata "ipotesi igienica"⁴⁰, è inizialmente derivata

dall'osservazione che l'aumento del numero dei componenti della famiglia, coincidendo con un aumento nel numero delle infezioni, possa svolgere un ruolo protettivo sulla successiva comparsa di asma. In seguito, sono stati valutati vari altri fattori epidemiologici e biologici, in base alla loro capacità di influenzare lo sviluppo della sensibilizzazione allergica e/o dell'asma.⁴⁰

Per le infezioni indotte da altri agenti microbici, di recente l'attenzione si è focalizzata su *Chlamydia*^{41,42} e *Mycoplasma*³¹ come potenziali fattori che contribuiscono sia alle esacerbazioni che alla gravità dell'asma cronico in termini di perdita della funzione o di necessità della terapia. Infine, si ritiene che le infezioni che coinvolgono le vie aeree superiori (ad es. sinusiti) possano contribuire all'instabilità del controllo dell'asma, richiamando il concetto di vie aeree unificate in relazione alle risposte infiammatorie e alle alterazioni nella fisiologia delle vie aeree.

Il trattamento per l'asma associato ad infezione dipende dall'agente coinvolto e dall'età del paziente. Per le esacerbazioni dell'asma indotto da virus, i corticosteroidi orali rappresentano la più efficace forma di terapia. Per la gravità o la cronicità della malattia collegata a *Chlamydia* o *Mycoplasma* potrebbe essere preso in considerazione il trattamento con antibiotici macrolidi.⁴³

Esercizio fisico. L'esercizio è uno dei fattori precipitanti più comuni dell'ostruzione delle vie aeree nei pazienti asmatici. I sintomi del broncospasmo indotto dall'esercizio (BIE) potrebbero includere uno o tutti i seguenti sintomi: respiro sibilante, tosse, dispnea, e, nei bambini, dolore e/o oppressione toracica. I sintomi sono più intensi dopo 5 o 10 minuti dall'inizio dell'attività fisica e di solito si risolvono dopo 15-30 minuti dalla cessazione dell'esercizio.

Dato un sufficiente stimolo di esercizio (80% del massimo della frequenza cardiaca per 5-10 minuti) il pattern clinico del BIE è abbastanza caratteristico. La broncodilatazione è la risposta iniziale all'esercizio, che avviene sia in soggetti normali che in quelli affetti da asma, e può essere mediata dal rilascio di catecolamine. Questa risposta è transitoria, con un picco a metà esercizio e ritorna a valori normali alla fine dell'esercizio. In alcuni soggetti può manifestarsi un broncospasmo progressivo, con ostruzione massima da 5 a 10 minuti dopo la fine dell'esercizio. Di solito segue una remissione spontanea, così che la normale funzione polmonare torna ai valori basali in 30-60 minuti. In tali circostanze il grado di broncocostrizione è raramente così grave da risultare pericoloso per la vita, ed una tale situazione riflette quasi costantemente una malattia non trattata in fase avanzata o fattori scatenanti concomitanti (concomitante esposizione ad allergene o irritante) o entrambi. Il BIE avviene più spesso dopo un breve periodo (da 4 a 10 minuti) di intenso esercizio, sebbene sia stato dimostrato come l'ostruzione possa verificarsi per esercizio fisico che duri fino ai 30'. Alcuni individui con BIE sono capaci di "fare regredire" i loro sintomi. Ovvero, a dispetto dell'esercizio

Classificazione di gravità: Caratteristiche cliniche prima del trattamento o controllo adeguato		Farmaci necessari ad ottenere un controllo a lungo termine
Sintomi diurni Sintomi notturni		Terapia quotidiana
Livello 4 Grave persistente	Continui Frequenti	- Terapia di scelta - Corticosteroidi ad alte dosi per via inalatoria - E - Beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione - E, se necessario, - Corticosteroidi per via orale a lungo termine (2mg/kg/die, generalmente non oltre 60 mg al giorno)(Effettuare ripetuti tentativi di ridurre il dosaggio dei corticosteroidi sistemici e di mantenere il controllo con alte dosi di steroidi inalatori)
Livello 3 Moderato Persistente	Quotidiani > 1 notte /settimana	- Terapia di scelta - Corticosteroidi per via inalatoria a basso dosaggio e beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione - o - Corticosteroidi per via inalatoria a medio dosaggio - Terapia alternativa - Corticosteroidi per via inalatoria a basso dosaggio e antagonisti del recettore dei leucotrieni o teofillina Se necessario (in particolare in pazienti con riacutizzazioni severe ricorrenti): - Terapia di scelta - Corticosteroidi per via inalatoria a medio dosaggio e beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione - Terapia alternativa - Corticosteroidi per via inalatoria a medio dosaggio e antagonisti del recettore dei leucotrieni o teofillina
Livello 2 Lieve persistente	> 2/settimana ma < 1/giorno > 2 notti /mese	- Terapia di scelta - Corticosteroidi per via inalatoria a basso dosaggio (con nebulizzatore o MDI con distanziatore con o senza maschera facciale o DPI) - Terapia alternativa (elencata in ordine alfabetico) - Cromoni (preferibilmente con nebulizzatore o MDI con distanziatore) o antagonisti del recettore dei leucotrieni
Livello 1 Lieve intermittente	≤ 2giorni/settimana ≤ 2 notti/mese	Non c'è indicazione alla terapia quotidiana

Al bisogno per un sollievo rapido:

Tutti i pazienti

- Broncodilatatori al bisogno secondo i sintomi. Il dosaggio dei farmaci dipende dalla gravità della riacutizzazione.
 - Terapia di scelta: beta²-agonisti a breve durata d'azione per via inalatoria con nebulizzatore o maschere facciali e distanziatore
 - Terapia alternativa: beta²-agonisti per via orale
- Con infezione virale in corso
 - Beta²-agonisti ogni 4-6 ore fino a 24 ore (anche più a lungo secondo consiglio medico); in generale non ripetere più di una volta ogni 6 settimane
 - Valutare la somministrazione di corticosteroidi sistemici se la riacutizzazione è grave o se il paziente ha una storia di precedenti riacutizzazioni gravi.
- Uso di beta²-agonisti a breve durata d'azione >2 volte a settimana nell'asma intermittente (quotidianamente, o un'aumento dell'uso nell'asma persistente) suggerisce la necessità di iniziare (aumentare) una terapia di controllo a lungo termine.



Passaggio ad un livello inferiore

Rivalutare la terapia ogni 1-6 mesi; è possibile diminuire la terapia passando gradualmente ad un livello inferiore



Passaggio ad un livello superiore

Se non si riesce ad ottenere un controllo a lungo termine, considerare il passaggio ad un livello superiore. Prima di passare al livello superiore rivalutare sia la tecnica di assunzione e l'aderenza alla terapia che il controllo ambientale.

Scopo della terapia: Controllo dell'asma

- Sintomi cronici notturni o diurni minimi o assenti
- Riacutizzazioni minime o assenti
- Assenza di limitazione delle attività; nessuna perdita di giorni scolastici o lavorativi
- Mantenimento della normale funzionalità polmonare
- Utilizzo minimo di beta²-agonisti a breve durata d'azione (< 1volta/giorno, < 1 confezione/mese)
- Effetti collaterali dei farmaci minimi o assenti

NOTE:

- L'approccio ai livelli è volto ad assistere ma non a sostituire il processo decisionale clinico necessario a soddisfare le necessità del singolo paziente
- La presenza di una sola caratteristica clinica è sufficiente ad assegnare il paziente ad un livello di gravità superiore
- Esistono pochissimi studi sulla terapia dell'asma nei neonati
- Raggiungere il controllo più rapidamente possibile (può essere necessario un ciclo breve di corticosteroidi per via sistemica); successivamente scegliere il minimo dosaggio di terapia necessario a mantenere il controllo
- Educare il paziente o i genitori a gestire la patologia e a tenere sotto controllo i fattori ambientali potenzialmente responsabili di peggioramento dell'asma (per es. allergeni ed irritanti)
- Raccomandare ai pazienti con asma persistente moderato o grave il consulto di uno specialista. Valutare la necessità di un consulto con uno specialista per i pazienti con asma persistente lieve.

FIG 2. Approccio a livelli per il trattamento dell' asma acuto e cronico in neonati e bambini (età ≤ 5 anni) (riprodotta da <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.htm>).

Classificazione di gravità: Caratteristiche cliniche prima del trattamento o controllo adeguato			Farmaci necessari ad ottenere un controllo a lungo termine
	Sintomi diurni Sintomi notturni	PEF o FEV ₁ Variabilità del PEF	Terapia quotidiana
Livello 4 Grave persistente	Continui Frequenti	≤ 60% > 30%	■ Terapia di scelta - Corticosteroidi ad alte dosi per via inalatoria - E - Beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione - E, se necessario, - Corticosteroidi per via orale (comprese o sciroppo) a lungo termine (2mg/kg/die, generalmente, non oltre 60 mg al giorno). (Effettuare ripetuti tentativi di ridurre il dosaggio dei corticosteroidi sistemici e di mantenere il controllo con alte dosi di steroidi inalatori)
Livello 3 Moderato Persistente	Quotidiani > 1 notte /settimana	> 60% - < 80% > 30%	■ Terapia di scelta - Corticosteroidi per via inalatoria a basso - medio dosaggio - e Beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione ■ Terapia alternativa (in ordine alfabetico) - Aumentare il dosaggio steroidi inalatori nell'ambito del dosaggio medio - O - Corticosteroidi per via inalatoria a basso - medio dosaggio e antagonisti del recettore dei leucotrieni o teofillina Se necessario (in particolare in pazienti con riacutizzazioni gravi ricorrenti): ■ Terapia di scelta - Aumentare il dosaggio steroidi inalatori nell'ambito del dosaggio medio e aggiungere Beta²- agonisti inalatori a lunga durata d'azione ■ Terapia alternativa - Aumentare il dosaggio steroidi inalatori nell'ambito del dosaggio medio e aggiungere antagonista del recettore dei leucotrieni o teofillina
Livello 2 Lieve persistente	> 2/settimana ma < 1/giorno > 2 notti /mese	≥ 80% 20-30%	■ Terapia di scelta - Corticosteroidi per via inalatoria a basso dosaggio ■ Terapia alternativa (elencate in ordine alfabetico) - Cromoglicato, antagonisti del recettore dei leucotrieni, nedocromile O teofillina a rilascio prolungato a raggiungimento concentrazione sierica di 5-15 mcg/mL
Livello 1 Lieve intermittente	≤ 2giorni/settimana ≤ 2 notti/mese	≥ 80% < 20%	■ Non c'è indicazione alla terapia quotidiana - È possibile andare incontro a riacutizzazioni gravi intervallate da lunghi periodi con funzionalità respiratoria normale e assenza di sintomi. Si consiglia un ciclo di steroidi sistemici.

Al bisogno per un sollievo rapido:	■ Broncodilatatori a breve durata d'azione: 2-4 puff di beta²-agonisti inalatori a breve durata d'azione, a seconda dei sintomi ■ L'intensità della terapia dipende dalla gravità della riacutizzazione; fino a tre trattamenti in un'ora o una sola dose di aerosol al bisogno. Si può rendere necessario un ciclo di steroidi orali ■ L'uso di beta²-agonisti inalatori a breve durata d'azione > 2 volte a settimana nell'asma intermittente (l'uso giornaliero o l'incremento dell'uso nell'asma persistente) può indicare la necessità di iniziare (aumentare) la terapia di fondo per il controllo dei sintomi.

Passaggio ad un livello inferiore Rivalutare la terapia ogni 1-6 mesi; è possibile diminuire la terapia passando gradualmente ad un livello inferiore Passaggio ad un livello superiore Se non si riesce ad ottenere un controllo a lungo termine, considerare il passaggio ad un livello superiore. Prima di passare al livello superiore rivalutare sia la tecnica di assunzione e l'aderenza alla terapia che il controllo ambientale.	Scopo della terapia: Controllo dell'asma ■ Sintomi cronici notturni o diurni minimi o assenti ■ Riacutizzazioni minime o assenti ■ Assenza di limitazione delle attività; nessuna perdita di giorni scolastici o lavorativi ■ Mantenimento della normale funzionalità polmonare ■ Utilizzo minimo di beta²-agonisti a breve durata d'azione (< 1 volta/giorno, < 1 confezione/mese) ■ Effetti collaterali dei farmaci minimi o assenti

NOTE:

- L'approccio a livelli è volto ad assistere ma non a sostituire il processo decisionale clinico necessario a soddisfare le necessità del singolo paziente
- La presenza di una sola caratteristica clinica è sufficiente ad assegnare il paziente ad un livello di gravità superiore (PEF è % del miglior valore personale; FEV₁ è % del valore predetto)
- Raggiungere il controllo più rapidamente possibile (può essere necessario un ciclo breve di corticosteroidi per via sistemica); successivamente scegliere il minimo dosaggio di terapia necessario a mantenere il controllo
- Educare il paziente a gestire da solo la patologia e a tenere sotto controllo i fattori ambientali potenzialmente responsabili di peggioramento dell'asma (ad es. allergeni ed irritanti)
- Raccomandare uno specialista ai pazienti che hanno difficoltà a mantenere il controllo della malattia o se ricadono nel livello 4 (asma grave persistente). Un consulto con uno specialista può essere necessario anche per i pazienti che ricadono nel livello 3 (asma moderato persistente).

FIG 3. Approccio a livelli per il trattamento dell'asma in adulti e bambini di età maggiore di 5 anni (riprodotta da <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.htm>).

continuato in presenza di asma acuto, si verifica una spontanea graduale risoluzione del broncospasmo dando a questi soggetti una "seconda possibilità" di cimentarsi.

Per fare una diagnosi di BIE è richiesta un'oggettiva documentazione di ostruzione del flusso aereo dopo un test di stimolazione con esercizio o una anamnesi convincente con appropriate risposte alla profilassi o alla terapia farmacologica. Il test di stimolazione con esercizio dovrebbe essere di sufficiente intensità e durata per poter diagnosticare la condizione, tenendo in mente che patologie confondenti, come la disfunzione alle corde vocali, dovrebbero essere considerate nella diagnosi differenziale.⁴⁴ Classicamente, dopo un appropriato stimolo, riduzioni del picco di flusso o del FEV¹ del 10% sono altamente indicative e riduzioni del 15% sono diagnostici di BIE.

Farmaci anti-infiammatori non steroidei.

Approssimativamente dal 5 al 10% dei pazienti asmatici presentano un peggioramento acuto dei sintomi dopo l'assunzione di farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS).⁴⁵ La triade dell'aspirina, caratterizzata da asma, polipi nasali e ipersensibilità all'aspirina, è di solito osservabile nei pazienti asmatici adulti. La reazione all'aspirina o ad altri FANS, inizia entro un'ora dall'ingestione dell'aspirina ed è associata con grave rinorrea, lacrimazione e può essere seguita da grave broncospasmo. I pazienti sensibili all'aspirina di solito sono reattivi a tutti gli altri FANS; variazioni nella frequenza e nella gravità delle reazioni avverse sembrano dipendere dalla potenza di ogni molecola di questa classe di composti nell'inibire l'attività dell'enzima cicloossigenasi (COX)-1. L'uso di inibitori dell'enzima COX-2 nei pazienti sensibili all'aspirina non è di solito un problema nella maggior parte dei pazienti⁴⁶; a questo riguardo è stato recentemente osservato che il rofecoxib presenta un eccellente profilo di sicurezza.⁴⁷

La ipersensibilità ai FANS non è IgE mediata ma coinvolge la regolazione della produzione di eicosanoidi. È stato ipotizzato che i FANS agiscano riducendo la produzione di prostaglandine, che aiutano a mantenere la normale funzione delle vie aeree, incrementando la formazione di eicosanoidi che provocano l'asma, incluso l'acido idrossieicosatetraenoico e grandi quantità di cisteinil-leucotrieni.⁴⁵ Inoltre, c'è evidenza di attivazione dei mastociti, e i mediatori liberati da queste cellule possono essere trovati nelle secrezioni nasali durante un episodio di asma indotto da aspirina.⁴⁸

Un fenotipo preciso per i pazienti a rischio di risposta all'aspirina deve essere ancora completamente identificato, tuttavia la sovraespressione della sintesi di leucotriene C⁴ è stata associata con questa sindrome.⁴⁹ Questa sindrome dovrebbe essere tenuta in considerazione in ogni paziente asmatico con poliposi nasale, sinusite cronica ed eosinofilia, tenendo presente che poliposi e sinusite possono precedere di anni l'inizio della ipersensibilità ai FANS.

Reflusso gastroesofageo. La vera incidenza della

malattia da reflusso gastroesofageo (RGE) nell'asma e di questa come fattore causale nella severità della malattia, deve ancora essere stabilita. Comunque, è stato stimato che il 45-65% di bambini e adulti con asma è affetto da RGE.

I meccanismi attraverso i quali il RGE influenza l'asma non sono ancora stati stabiliti ma sembrano includere microaspirazione o irritazione dell'esofago con broncospasmo riflesso. Sebbene spesso il RGE sia asintomatico nella sua presentazione, molti pazienti hanno esacerbazioni notturne o sintomi di difficile controllo. La conferma dell'importanza del RGE nell'asma spesso richiede un'endoscopia e un monitoraggio di 24 ore dei livelli di pH intraesofagei con concomitanti misure dei picchi del flusso espiratorio. Il riconoscimento di questo potenziale fattore precipitante di asma è importante, dal momento che è attualmente controllabile con una terapia efficace.⁵⁰

Fattori psicosociali. Il ruolo dei fattori psicosociali o dello "stress" ha subito un'importante rivalutazione sia come fattore di rischio per la malattia sia come concomitante componente di severità. Oltre allo stress del paziente che agisce in maniera autocrina, una recente evidenza ha dimostrato che lo stress dei genitori rappresenta un fattore di rischio per la manifestazione di asma in alcuni bambini. Il meccanismo con il quale questo avviene non è ancora stato definito ma potrebbe includere l'attivazione della infiammazione allergica.⁵¹

DIAGNOSI

Parametri oggettivi

L'asma è una malattia ostruttiva polmonare (definita da una diminuzione del rapporto FEV¹/FVC) ma differisce dalle altre malattie ostruttive dello stesso organo (enfisema, fibrosi cistica, e così via) in quanto la capacità di diffusione è normale e l'ostruzione delle vie aeree è generalmente reversibile (parzialmente o completamente). Valutazioni della funzione polmonare sono essenziali per determinare la gravità dell'asma e sono utili per monitorarne il decorso e la risposta del paziente alla terapia. La spirometria è raccomandata nella valutazione iniziale della maggior parte dei pazienti con sospetto di asma. La successiva misurazione del picco di flusso espiratorio (PEF) domiciliare può essere un'utile guida per valutare i sintomi, per allertare sull'aggravamento dell'ostruzione bronchiale e per monitorare la risposta alla terapia.

Le anomalie nella funzione polmonare sono una misura e il riflesso del livello di ostruzione del flusso aereo e rappresentano la conseguenza dell'asma sulla meccanica delle vie aeree. Tipiche anomalie della spirometria durante un'esacerbazione dei sintomi includono una riduzione di FEV¹, PEF, rapporto FEV¹/capacità vitale forzata e un aumento nel FEV¹ (>12-15%) in risposta ai broncodilatatori. Tuttavia, la mancata dimostrazione di un miglioramento con i

broncodilatatori non dovrebbe essere interpretato come un'assoluta evidenza di malattia irreversibile delle vie aeree, ma piuttosto del fatto che la maggiore componente dell'ostruzione è l'infiammazione, non il broncospasmo. La dimostrazione del grado di reversibilità spesso richiede la somministrazione di corticosteroidi. Altre anomalie nei volumi polmonari includono una diminuzione della capacità vitale e un aumento della capacità funzionale residua, della capacità totale polmonare e del volume residuo (fino al 300-600% del valore normale predetto durante un attacco acuto). Ulteriori anomalie nei parametri della funzione polmonare includono una diminuzione della *compliance* frequenza-dipendente (un sensibile indicatore di ostruzione delle piccole vie aeree), una aumentata resistenza delle vie aeree e una diminuzione del suo reciproco, la conduttanza specifica delle vie aeree. Semplici test della funzione polmonare (come il PEF o il FEV¹) eseguiti di routine ad un paziente ambulatoriale sono utili metodi per monitorare l'andamento dell'asma. Per aiutare a gestire l'asma domiciliariamente può essere usato un sistema a zone del PEF, che correla i valori e la variabilità del PEF con appropriati livelli di farmaci per controllare l'asma.⁵² Sono stati anche utilizzati piani d'azione aventi come bersaglio il controllo del sintomo nei confronti dei valori del PEF (<http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.htm>). È opinione comune che non esista sufficiente documentazione sui benefici dei programmi di azione basati sul monitoraggio del PEF, confrontati con i programmi basati sui sintomi, nel migliorare il controllo della malattia. Nei pazienti con asma persistente da moderato a severo, dovrebbe essere considerato il monitoraggio domiciliare del picco di flusso perché potrebbe aumentare la comunicazione medico-paziente ed accrescere la consapevolezza di paziente e medico della malattia e del suo controllo.

Test di provocazione bronchiale

Metacolina. L'iperreattività delle vie aeree è una caratteristica fisiopatologica dell'asma e la sua presenza può essere d'aiuto nello stabilire la diagnosi. Sebbene la presenza di iperreattività non sia diagnostica di asma, la sua assenza suggerisce fortemente che la condizione che si sta valutando sia con poca probabilità asma. L'iperreattività delle vie aeree può essere identificata e quantificata attraverso la misura della funzione polmonare, usando la stimolazione bronchiale o tecniche di provocazione, che sono utili per stabilire la presenza dell'asma quando le funzioni di base del polmone sono normali e la diagnosi dubbia. I metodi più comunemente utilizzati per valutare l'iperreattività delle vie aeree includono la provocazione bronchiale con inalazione di metacolina (stimolo diretto) e la prova da sforzo (stimolo indiretto). Lo stimolo diretto agisce su recettori della muscolatura liscia bronchiale provocando direttamente la contrazione della muscolatura delle vie aeree. Lo stimolo indiretto porta alla contrazione della muscolatura liscia delle vie aeree, attraverso uno o più meccanismi intermedi, inclusi riflessi

neuronali locali o centrali, attivazione di cellule residenti (mastociti, attraverso il rilascio di mediatori non dipendenti da IgE) o infiammatorie, o altri meccanismi.⁸

Il test di broncoprovocazione con metacolina è più sensibile ma meno specifico della prova da sforzo per la diagnosi dell'asma. Inoltre la reattività delle vie aeree correla meglio con la gravità dell'asma, i sintomi e l'infiammazione delle vie aeree.⁸

Nella broncoprovocazione con metacolina, i cambiamenti nella funzione polmonare (ad es. caduta del FEV¹) sono misurati con spirometrie seriali dopo l'inalazione da parte del paziente di dosi crescenti di metacolina. I soggetti asmatici rispondono alla provocazione bronchiale con un livello maggiore di ostruzione delle vie aeree rispetto ai soggetti normali. La concentrazione alla quale i pazienti rispondono, che è quella che provoca un 20% di caduta del FEV¹ (PC²⁰), definisce il livello di reattività bronchiale. La provocazione bronchiale può essere utile nella diagnosi differenziale dell'asma quando la storia, i rilievi obiettivi e la funzione polmonare di base non sono adeguati per confermare la diagnosi clinica di asma, ovvero della tosse come equivalente asmatico e della dispnea indotta dallo sforzo.

Esercizio fisico. Per fare diagnosi di BIE, può essere eseguita una prova da sforzo.⁵³ Con l'esercizio c'è perdita di calore e acqua delle vie aeree, con conseguente broncospasmo. Per simulare queste condizioni in laboratorio, i pazienti vengono sottoposti ad un esercizio per 4-8 minuti per ottenere il 50% o più del consumo massimo di ossigeno teorico. In laboratorio, la prova da sforzo è spesso effettuata con esercizio fisico su tappeto rotante per portare la frequenza cardiaca del paziente a quella che ha prodotto l'80-90% del consumo di ossigeno per 6-8 minuti. Le misurazioni della funzione polmonare (FEV¹) sono effettuate prima e dopo l'esercizio, ad intervalli di 5 minuti per 20-30 minuti dalla fine dello sforzo.

Oppure, un paziente può correre all'esterno (o realizzare l'entità e il tipo di esercizio associato ai sintomi) per 4-8 minuti. Si può anche utilizzare il PEF per il monitoraggio del test. Questo tipo di test può essere utile perché ricrea le condizioni associate alla induzione dei sintomi respiratori. Molti esperti di fisiologia dello sforzo considerano una riduzione del 10% del FEV¹ come compatibile con la diagnosi di broncospasmo indotto da sforzo, e un decremento del 15% diagnostico.⁵³

Altre alterazioni fisiologiche

Radiografia del torace. Nei pazienti con asma di recente diagnosi, spesso si fa una radiografia del torace per escludere malattie coesistenti; tuttavia è raro il riscontro di reperti radiologici legati all'asma.⁵⁴ Durante le esacerbazioni acute, si possono verificare comunemente iperinflazione e formazione di tappi di muco tale da generare atelettasia; occasionalmente nell'asma grave si possono verificare pneumotorace o pneumomediasti-

no. Una radiografia del torace in queste situazioni fornisce un'utile informazione se c'è una significativa compromissione dello spazio polmonare o se è richiesta la ventilazione assistita. Il beneficio delle nuove tecniche, come la tomografia assiale computerizzata ad alta risoluzione, non è stato pienamente valutato nella diagnosi e nel trattamento dell'asma.

Formula leucocitaria nel sangue periferico. Sebbene la cellularità dei globuli bianchi del sangue periferico aggiunga poco al trattamento dell'asma, il riscontro di eosinofilia del sangue periferico può essere di aiuto nella diagnosi di asma o rappresentare un marker della sua gravità. Nei bambini l'aumento nella conta degli eosinofili potrebbe essere un fattore predittivo di rischio per asma.⁵⁵

Emogasanalisi. La misurazione dei gas nel sangue arterioso consente di valutare le conseguenze dell'ostruzione del flusso aereo sull'ossigenazione arteriosa e sui livelli di biossido di carbonio.⁵⁶ Con lo sviluppo dell'ostruzione del flusso aereo nell'asma, c'è una distribuzione irregolare dell'aria inspirata, che si riflette nel rapporto ventilazione/perfusione. Durante un'esacerbazione dell'asma da media a moderata, compare ipossia che diventa tanto più grave quanto più si intensifica l'ostruzione del flusso aereo.

L'emogasanalisi dovrebbe essere eseguita in pazienti con un'esacerbazione acuta dell'asma e con un test di funzionalità respiratoria gravemente compromesso, in caso di mancata risposta alla terapia nell'arco di 30 e 60 minuti, oppure se c'è una storia di frequenti ospedalizzazioni per asma oppure di ripetute visite al pronto soccorso nelle ore o nei giorni precedenti. Le anomalie più precoci nei livelli dei gas nel sangue arterioso sono l'alcalosi respiratoria e l'ipocapnia, con normale pressione parziale di ossigeno. Dovrebbero essere monitorati strettamente i livelli di ipossiemia, di biossido di carbonio e il pH con l'aumento della gravità dell'asma. Il riscontro di una pCO₂ "normale" suggerisce affaticamento del paziente, mentre la presenza di acidosi e di aumento della pCO₂ indicano la possibile evoluzione in insufficienza respiratoria. Quindi un paziente con un'esacerbazione grave può progredire attraverso diversi stadi: ipossiemia con alcalosi respiratoria, ipossiemia con normale pH e pCO₂, fino allo stadio di arresto respiratorio. Conoscere questa possibile progressione è essenziale affinché il trattamento clinico non dia un falso senso di sicurezza quando sono presenti caratteristiche dell'emogasanalisi significative per una "moderata esacerbazione".

Diagnosi differenziale

Neonati e bambini. Il respiro sibilante, un sintomo principalmente associato con l'asma, è una presentazione clinica comune in neonati e bambini. Approssimativamente il 20% di tutti i bambini presenta respiro sibilante entro un anno di età, più o meno il 33% entro i tre anni e circa il 50% entro i 6 anni di età.⁵⁷ La maggioranza di questi episodi è scatenata da infezioni virali del tratto respiratorio.⁵⁸ Comunque

devono essere considerate molte altre cause di dispnea in questi gruppi di età, incluse, tra le altre, fibrosi cistica, anomalie anatomiche (anello vascolare, tracheomalacia, broncomalacia), inspirazione di corpi estranei e il reflusso gastroesofageo. Una volta escluse queste dispnee "non asmatiche" si può passare alla caratterizzazione dei vari fenotipi di dispnea e dei loro rischi per lo sviluppo di asma.

I bambini fino all'età di 6 anni sono stati raggruppati in almeno tre fenotipi di dispnea, sulla base del tempo di comparsa dei sintomi e delle caratteristiche della dispnea: wheezing transitorio (presente nei primi tre anni con successiva scomparsa), wheezing persistente (presente nei primi tre anni e ancora presente oltre i tre anni) e dispnea wheezing ad esordio tardivo (assente nei primi tre anni con sintomi che iniziano tra i 3 e i 6 anni).⁵⁹ La dispnea transitoria è associata a una riduzione della funzione polmonare alla nascita (dovuta generalmente ad una ridotta dimensione del polmone) che con il tempo tende a normalizzarsi.⁵⁹ La dispnea ad esordio tardivo è associata ad una maggiore tendenza alla sensibilizzazione allergica e ad una funzione polmonare relativamente stabile, almeno oltre la prima decade di vita.⁵⁹ La dispnea persistente è più comunemente osservata nei bambini con genitori asmatici⁵⁵; in quelli che hanno una significativa malattia delle basse vie respiratorie da virus respiratorio sinciziale¹¹; e, nella parte sud-occidentale degli Stati Uniti, in quelli con una sensibilizzazione allergica ad *Alternaria*.²⁰ È importante ricordare che i bambini con dispnea persistente tendono ad avere livelli di funzione polmonare vicini alla norma alla nascita, che diminuiscono però significativamente durante i primi 5-10 anni di vita. Pertanto il precoce riconoscimento e trattamento dei bambini che avranno dispnea persistente riveste un ruolo critico nella prevenzione o nel rallentamento del declino della funzione polmonare.

Per aiutare i clinici nell'identificare i bambini ad alto rischio di sviluppare asma, è stato recentemente individuato un indice di rischio dell'asma sulla base dei risultati ottenuti in un'ampia coorte di bambini seguiti dalla nascita fino all'adolescenza.⁵⁵ I bambini con una storia di dispnea ricorrente (più di 3 episodi nell'anno precedente, uno dei quali con diagnosi medica) e con uno dei criteri maggiori (storia familiare di asma, diagnosi medica di dermatite atopica o sensibilità ad allergeni inalanti), o due dei criteri minori (eosinofilia periferica $\geq 4\%$, sensibilità a cibi, dispnea non collegata ad infezioni) hanno una possibilità del 65% di avere asma all'età di 6 anni. Se non è presente nessuno di questi criteri, la possibilità per un bambino di avere asma a questa età è $< 5\%$. Si stanno ora sviluppando studi clinici per verificare se bambini con indici di rischio di asma positivi, che sono stati identificati e curati nella prima infanzia, possano avere una riduzione nell'incidenza di sviluppo di asma e/o una prevenzione della diminuzione della funzione polmonare.

Adulti. Come per i bambini, le caratteristiche cliniche dell'asma includono tosse, dispnea e fiato corto. Questi non sono sintomi specifici, per cui nella diagnosi dell'asma devono essere considerati altri problemi respi-

ratori. Inoltre, poiché l'asma può essere intermittente nelle sue manifestazioni, nel momento della valutazione possono essere assenti alterazioni all'esame obiettivo e alle prove di funzionalità respiratoria. Quindi la diagnosi di asma richiederebbe un'attenta ricerca dei dati anamnestici, l'esame fisico, che valuta anche la presenza di malattie concomitanti, e lo studio della funzione polmonare per la ricerca di un'ostruzione del flusso aereo reversibile o di iperreattività bronchiale. Molti degli stessi fattori che possono causare dispnea nei bambini e mascherare l'asma sono presenti negli adulti. Questi includono ostruzione delle vie aeree superiori, corpi estranei, compressione tracheale e malattie della trachea, lumenali o extralumenali. Di questi il più frequente elemento di confusione è la disfunzione delle corde vocali (VCD). I pazienti con VCD hanno sofferenza respiratoria acuta, dispnea fortemente rumorosa e segni di ostruzione del flusso aereo nei test di funzionalità polmonare. In alcuni pazienti, il quadro clinico può essere ulteriormente complicato se coesistono VCD e asma. Le altre due comuni cause di malattia polmonare cronica ostruttiva negli adulti, enfisema e bronchite cronica, possono essere differenziate dall'asma sulla base di una anormale capacità di diffusione nell'enfisema, tosse ed espettorato nella bronchite cronica e una storia di fumo in entrambi. Si deve notare che l'asma può coesistere con entrambe queste condizioni, rendendo in alcuni casi il riscontro di reversibilità di difficile interpretazione. L'eosinofilia è una caratteristica tipica dell'asma. Molte malattie polmonari presentano dispnea, infiltrazione polmonare ed eosinofilia. Queste includono l'aspergillosi broncopulmonare allergica, la polmonite cronica eosinofila e la sindrome di Churg-Strauss. La presenza di infiltrati ricorrenti o persistenti nella radiografia del torace è indice che il paziente ha probabilmente un'asma complicata.

TERAPIA

Farmaci

Agonisti β^2 -adrenergici. Attualmente i farmaci β^2 adrenergici sono i broncodilatatori più potenti e ad azione più rapida nell'uso clinico. La loro disponibilità in varie forme (a breve, intermedia e lunga durata d'azione) e i sistemi di somministrazione (inalatori a dose fissa [MDI], soluzioni nebulizzate, compresse e soluzioni per os, polveri inalatorie) forniscono loro un'ampia versatilità clinica (vedi Fig. 4 e 5). Oltre a rilassare la muscolatura liscia delle vie aeree, i β^2 -agonisti aumentano la clearance mucociliare, riducono la permeabilità vascolare e possono modulare il rilascio di mediatori dai mastociti.⁶⁰ Gli effetti collaterali dei β^2 -agonisti includono tremore, tachicardia e ansietà crescente, ma questi effetti sono minimi quando i β^2 -agonisti sono somministrati per inalazione.⁶⁰ Per il trattamento acuto delle esacerbazioni dell'asma possono essere usati β^2 -agonisti ad azione intermedia (albuterolo, terbutalina, pirbuterolo) ogni 4-6 ore per

inalazione (MDI o nebulizzatori). Una necessità di somministrazione più frequente di due volte la settimana per il sollievo dei sintomi (uso al bisogno) dovrebbe allertare il medico sul fatto che la malattia sottostante (ad es. infiammazione) richiede un intervento più aggressivo e appropriato (Fig. 2 e 3).

Anche i β -agonisti a lunga durata d'azione, salmeterolo e formoterolo, sono efficaci per il trattamento dell'asma persistente da moderato a grave.⁶¹ I β^2 -agonisti a lunga azione non dovrebbero essere usati in monoterapia in pazienti che necessitano di farmaci per il controllo giornaliero della malattia.⁶² Tuttavia, nei pazienti che assumono corticosteroidi inalatori (ICS), la cui asma è controllata in maniera subottimale, questi farmaci producono un migliore controllo della malattia quando aggiunti alla dose basale di ICS rispetto a ciò che si ottiene raddoppiando la dose di ICS.^{63,64} Il solo risultato che sembra differire è la frequenza delle esacerbazioni dell'asma, nelle quali sia l'aumento della dose di ICS, sia l'aggiunta di un β -agonista a lunga durata d'azione alla dose base di ICS induce un significativo miglioramento.⁶⁵ Una volta ottimizzato il controllo dell'asma con l'introduzione di β -agonisti a lunga durata d'azione in questo piano terapeutico, nella maggior parte dei pazienti può essere tranquillamente effettuata una riduzione nella dose ma non l'eliminazione degli ICS.⁶⁶

L'interesse nello sviluppo di levalbuterolo, (R) enantiomero di albuterolo racemico (RS), è nato da dati provenienti da modelli animali che suggerivano che lo (S) enantiomero poteva produrre effetti avversi.⁶⁷ Nonostante l'approvazione dell'uso sotto i 6 anni di età, i vantaggi relativi all'uso del levalbuterolo al posto dell'albuterolo racemico (sia in termini di efficacia che di sicurezza) sono stati messi in dubbio da molti ricercatori.⁶⁸⁻⁷² Basandosi su queste opinioni divergenti, non sarà possibile raggiungere un consensus sul suo utilizzo come sostituto dell'albuterolo racemico finché ulteriori studi non risolveranno queste controversie.

Teofillina. La teofillina, una metilxantina, è un broncodilatatore che può anche avere effetti anti-infiammatori di media entità.⁷³ Preparazioni a rilascio programmato di teofillina e aminofillina possono essere usate come terapie di controllo dell'asma sia nei bambini che negli adulti.^{74,75}

Grazie al basso costo è usata in molti paesi per trattare la malattia di media gravità. Sebbene possa essere usata come terapia aggiuntiva a basse o alte dosi di glucocorticoidi inalatori quando è necessario un ulteriore controllo dell'asma, è meno efficace dell'aggiunta di β^2 -agonisti a lunga azione.⁷⁶

Molte variabili, come l'età, la dieta, stati di malattia ed interazioni con altri farmaci, possono condizionare fortemente i livelli sierici di teofillina, a causa del metabolismo epatico.⁷³

Tutte queste variabili contribuiscono alla complessità del suo utilizzo.⁷³ In più la teofillina può indurre l'insorgenza di molti effetti collaterali in maniera dose-dipendente. I sintomi gastrointestinali potrebbero essere intollerabili per alcuni pazienti, anche ai normali

Farmaco	Forma farmaceutica	Dosaggio adulti	Dosaggio pediatrico
Corticosteroidi inalatori (vedi fig. 5)			
Corticosteroidi sistemici (Vale per tutti e tre gli steroidi)			
Metilprednisolone	cpr mg 2, 4, 8, 16, 32	■ 7.5-60 mg /die in dose singola al mattino o a giorni alterni, al bisogno per il mantenimento del controllo	■ 0.25-2 mg/kg/die in dose singola al mattino o a giorni alterni, al bisogno per il mantenimento del controllo
Prednisolone	cpr mg 5 5mg/5cc 15mg/5cc	■ ciclo breve per il rapido raggiungimento del controllo: 40-60mg/die in dose singola o divisa in due per 3-10 gg	■ ciclo breve per il rapido raggiungimento del controllo: 1-2mg/kg/die max 60 mg/die per 3-10 gg
Prednisone	cpr mg 1, 2.5, 5, 10, 20, 50 5mg/cc, 5mg/5cc		
Beta²-agonisti a lunga durata d'azione (Non dovrebbero essere usati per il rilievo dei sintomi al bisogno o per le riacutizzazioni. Usare in combinazione agli steroidi inalatori)			
Salmeterolo	MDI 21 mcg/puff DPI 50 mcg/blister	2 puff /ogni 12 ore 1 blister/ogni 12 ore	1-2 puff /ogni 12 ore 1 blister /ogni 12 ore
Formoterolo	DPI 12 mcg/capsula-singola	1 capsula/ogni 12 ore	1 capsula/ogni 12 ore
Farmaci in associazione			
Fluticasone/Salmeterolo	DPI 100, 250 o 500mcg/50mcg	1 inalazione/bid; la dose dipende dalla gravità dell'asma	1 inalazione/bid; la dose dipende dalla gravità dell'asma
Cromoni (sodio cromoglicato e nedocromile)			
Sodio cromoglicato	MDI 1mg/puff Neb. 20mg/fl	2-4 puff/tid - qid 1 fiala/tid - qid	1-2 puff/tid - qid 1 fiala/tid - qid
Nedocromile	MDI 1.75mg/puff	2-4 puff/tid - qid	1-2 puff/tid - qid
Antagonista recettoriale dei leucotrieni			
Montelukast	cpr masticabile 4 o 5 mg cpr 10 mg	10 mg prima di dormire	4 mg prima di dormire (2-5 anni) 5 mg prima di dormire (6-14 anni) 10 mg prima di dormire (>14 anni)
Zafirlukast	cpr mg 10 o 20 die	40 mg /die (cpr mg 20 bid)	20 mg /die (7-11 anni) (cpr mg 10 bid)
Zileuton	cpr mg 300 o 600	2,400 mg/ die (cpr qid)	
Metilxantine (è fondamentale monitorare che il valore sierico si mantenga fra 5-15 mcg/mL)			
Teofillina	liquida, cpr a rilascio ritardato e capsule	dosaggio d'inizio 10 mg/kg/die fino a 300 mg max; dosaggio abituale max 800 mg/die	dosaggio d'inizio 10 mg/kg/die; dosaggio massimo abituale: ■ < 1 anno: 0.2(età in settimane) + 5 mg/kg/die ■ ≥ 1 anno: 16 mg/kg/die

FIG 4. Dosaggi dei farmaci per terapie a lungo termine (riprodotta da <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.htm>).

Farmaco	Dosaggio giornaliero basso		Dosaggio giornaliero medio		Dosaggio giornaliero alto	
	Adulti	Bambini*	Adulti	Bambini*	Adulti	Bambini*
Beclometasone CFC 42 o 84 mcg/puff	168-504 mcg	84-336 mcg	504-840 mcg	336-672 mcg	> 840 mcg	>672 mcg
Beclometasone HFA 40 o 80 mcg/puff	80-240 mcg	80-160 mcg	240-480 mcg	160-320 mcg	> 480 mcg	> 320 mcg
Budesonide DPI 200 mcg /inalazione	200-600 mcg	200-400 mcg	600-1.200 mcg	400-800 mcg	>1.200 mcg	> 800 mcg
Sospensione inalatoria per aerosol (dosaggio pediatrico)	0.5 mg		1.0 mg		2.0 mg	
Flunisolide 250 mcg/puff	500-1.000 mcg	500-750 mcg	1.000-2.000 mcg	1.000-1.250 mcg	> 2.000 mcg	> 1.250 mcg
Fluticasone MDI: 44,110 o 220 mcg/puff DPI: 500, 100 o 250 mcg/inalazione	88-264 mcg 100-300 mcg	88-176 mcg 100-200 mcg	264-660 mcg 300-600 mcg	176-440 mcg 200-400 mcg	> 660 mcg > 600 mcg	> 440 mcg > 400 mcg
Triamcinolone acetoneide 100 mcg/puff	400-1.000 mcg	400-800 mcg	1.000-2.000 mcg	800-1.200 mcg	> 2.000 mcg	> 1.200 mcg

* Bambini ≤ 12 anni d'età

FIG 5. Dosaggi giornalieri equivalenti di steroidi inalatori (riprodotta da <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsum.htm>).

livelli di dose terapeutica del farmaco. Per i bambini che assumono teofillina, c'è la preoccupazione, da parte di genitori ed insegnanti, che il farmaco possa avere effetti negativi sulle prestazioni scolastiche, sebbene numerosi studi non abbiano evidenziato questa associazione.⁷³ Sembra comunque ragionevole evitare di prescrivere la teofillina a bambini con preesistenti problemi di comportamento o difficoltà scolastica.

Disodiocromoglicato e sodio nedocromile. Il disodiocromoglicato e il sodio nedocromile sono due farmaci antinfiammatori per il trattamento dell'asma cronico, differenti strutturalmente ma con proprietà simili. Sono rapidamente assorbiti dai polmoni e notevolmente sicuri. Entrambe le molecole non sono broncodilatatori ma si sono dimostrate in grado di inibire l'attivazione delle cellule infiammatorie e il rilascio dei mediatori, la broncostrizione precoce e ritardata indotta da allergeni e l'iperreattività delle vie aeree.^{77,78} Il meccanismo d'azione di questi agenti potrebbe essere collegato ai loro effetti sui canali del cloro dell'epitelio delle vie aeree⁷⁹ o sui riflessi neuronali locali. È stato dimostrato che il cromoglicato ha effetti sia nei pazienti adulti⁸⁰ sia in quelli di età pediatrica.⁸¹ Entrambi possono essere modestamente efficaci in via profilattica nell'attenuazione del broncospasmo indotto dall'esercizio⁸², anche se in misura inferiore ai β_2 -agonisti. Entrambi gli agenti possono essere utili per la profilassi prima di una rilevante esposizione agli allergeni nei pazienti sensibilizzati. Per la gestione a lungo termine dell'asma persistente nei bambini, è stato dimostrato che il trattamento con ICS è superiore al nedocromile per ottenere un totale controllo dell'asma.⁸³

Antagonisti dei leucotrieni. I leucotrieni sono acidi grassi biologicamente attivi derivati dal metabolismo ossidativo dell'acido arachidonico, una parte integrante della membrana cellulare. I cisteinil-leucotrieni (LTC⁴, LTD⁴ e LTE⁴) possono essere prodotti da eosinofili, mastcellule e macrofagi alveolari e si combinano con specifici recettori, CysLT¹ e CysLT². La maggior parte delle azioni dei leucotrieni cisteinici deriva dall'interazione con il recettore CysLT¹, che può dare il via alla contrazione della muscolatura liscia delle vie aeree, alla chemiotassi dei leucociti e all'aumento della permeabilità vascolare. Le azioni dei leucotrieni possono essere prevenute dall'inibizione della sintesi dei leucotrieni cisteinici [inibitori della 5-lipossigenasi (zileuton)] o da antagonisti dei recettori dei leucotrieni (zafirlukast e montelukast). Di questi composti, gli antagonisti recettoriali sono attualmente i più usati nella cura dell'asma.^{84,85}

È stato dimostrato che gli antagonisti dei recettori inibiscono il broncospasmo indotto da esercizio fisico, modificano la risposta delle vie aeree agli antigeni inalati e migliorano la funzione delle vie aeree nei pazienti con asma cronico. Nei pazienti adulti con asma, gli antagonisti recettoriali dei leucotrieni possono migliorare l'ostruzione del flusso aereo tra l'8% e il 13%, ridurre il bisogno di β -agonisti e ridurre le esacerbazioni

asmatiche. In studi di confronto con i corticosteroidi inalati, gli antagonisti recettoriali dei leucotrieni sono meno efficaci in termini di miglioramento della funzione polmonare e di riduzione delle esacerbazioni. Tuttavia, quando è aggiunta alla dose base di corticosteroidi inalati, questa classe di composti ha la capacità di migliorare il controllo totale dell'asma. La convenienza del dosaggio di una sola volta al giorno per via orale (montelukast) e la sicurezza rappresentano un'attrattiva per alcuni pazienti. Con l'aumento dell'esperienza nei profili di risposta clinica e nella variabilità farmacogenetica, potrebbe essere possibile una più precisa indicazione sul loro posizionamento e priorità di prescrizione.

Glucocorticoidi. I glucocorticoidi sono gli agenti antinfiammatori più potenti disponibili per il trattamento dell'asma.⁸⁶ La loro efficacia è legata a molti fattori, inclusa una diminuzione della funzione e attivazione delle cellule infiammatorie, una stabilizzazione dello stravasamento vascolare, una riduzione della produzione di muco e un aumento della risposta β -adrenergica. I glucocorticoidi producono i loro effetti su varie cellule legandosi ai recettori intracellulari dei glucocorticoidi (GR), che vanno a regolare la trascrizione di alcuni geni bersaglio. I GR leganti steroidi formano dimeri che si legano a elementi responsivi ai glucocorticoidi sul DNA (GRES), con un aumento nella trascrizione, un aumento dello mRNA e un aumento nella sintesi delle proteine. Tuttavia, nell'asma, è più verosimile che il controllo dell'infiammazione derivi dalla repressione della trascrizione dei geni che controllano molecole infiammatorie.

L'ICS hanno la potenzialità di produrre effetti collaterali sistemici che dipendono dalla dose e dalla potenza così come dalla loro biodisponibilità, dall'assorbimento intestinale, dal metabolismo di primo passaggio nel fegato e dall'emivita della frazione assorbita per via sistemica (dal polmone e poi anche dall'intestino).

Sebbene gli ICS, quando usati alle dosi raccomandate, abbiano minimi effetti collaterali (con l'eccezione di candidosi orale, se l'igiene orale è carente), è sorta la preoccupazione che l'uso di questi agenti nei bambini possa essere associato ad una alterazione della crescita.⁸⁷ Tuttavia, dati recenti sono, al riguardo, rassicuranti. Studi a lungo termine hanno dimostrato che sebbene si verificano alcune riduzioni nella velocità di crescita (circa 1 contro 1,5 cm/anno) nei primi mesi di terapia (usando le dosi raccomandate)⁸³, il trattamento a lungo termine non dovrebbe influenzare il raggiungimento delle altezze previste per l'adulto nella maggioranza dei bambini.⁸⁸ Tuttavia, poiché l'uso di basse dosi di ICS potrebbe, anche se raramente, influenzare negativamente la crescita e l'uso di alte dosi di ICS può essere associato con conseguenze a lungo termine più significative, dovrebbero essere consigliate riduzioni della dose quando possibile con l'aggiunta di varie altre forme di farmaci di controllo. Gli obiettivi dell'uso dei corticosteroidi nel trattamento dell'asma sono simili a quelli dell'uso di altre

Osservazione	Lieve	Moderata	Grave	Arresto respiratorio imminente
Dispnea	Mentre cammina	Mentre parla Neonati: pianto più dolce e breve	A riposo Neonati: smettono di mangiare	
	Può sdraiarsi	Preferisce posizione seduta	Posizione con busto piegato in avanti	
Capacità di parlare	A periodi	A frasi	A parole	
Stato di vigilanza	Può essere agitato	Generalmente agitato	Generalmente agitato	Confuso o letargico
Frequenza respiratoria	Aumentata	Aumentata	Spesso > 30/min	
	Frequenze respiratorie in bambini svegli: Età: < 2 mesi < 60 /min 2-12 mesi < 50/min 1-5 anni < 40/min 6-8 anni < 30 /min			
Muscoli accessori e retrazione retrosternale	Generalmente no	Generalmente si	Generalmente si	Movimenti paradossi toraco-addominali
Sibili	Moderati, spesso solo tele espiratori	Forti	Generalmente forti	Assenza di sibili
Frequanza cardiaca	< 100	100-120	> 120	Bradycardia
Pulsazioni/min	Limiti normali del polso nei bambini: Neonati 2-12 mesi - Polso normale < 160/min Età prescolare 1-2 anni < 120/min Età scolare 2-8 anni < 110 /min			
Polso paradosso	Assente < 10 mmHg	Può essere presente 10-25 mm Hg	Spesso presente > 25 mm Hg (adulti) 20-40 mm Hg (bambini)	L'assenza suggerisce affaticamento dei muscoli respiratori
PEF dopo broncodilatatore % predetto % migliore personale	oltre 80%	Circa 60-80%	< 60% predetto o migliore personale (<100L/min adulti) o risposta al broncodilatatore durata < 2 ore	
PaO ² (in aria) § e/o PaCO ² (in aria) §	Normale test spesso non necessario; < 45 mm Hg	> 60 mm Hg < 45 mm Hg	< 60 mmHg Cianosi possibile > 45 mm Hg; Possibile collasso respiratorio (vedi testo)	
SaO ² (in aria) §	> 95%	91-95%	< 90%	
	Ipercapnia (ipoventilazione) si sviluppa più facilmente e più rapidamente nei bambini che negli adolescenti e adulti			
* Nota: la presenza di più parametri, ma non necessariamente di tutti § Internazionalmente vengono anche usati i Kilopascals; nel qual caso sarebbe opportuno praticare una conversione.				

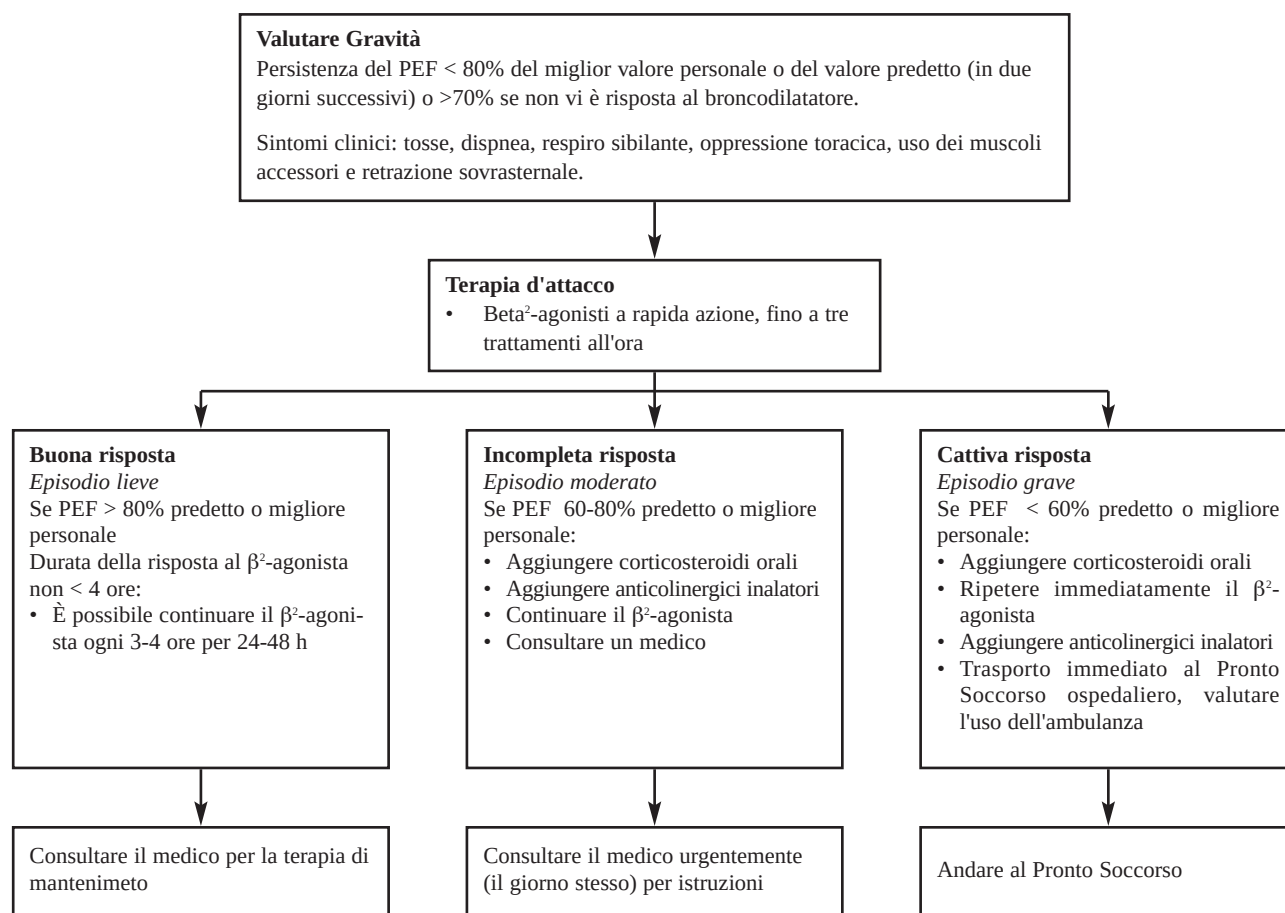
FIG 6. Stima della gravità delle riacutizzazioni di asma (riprodotta da <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.htm>) da Murphy S, Bleecker ER, Boushey H, et al, editors. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Asthma Education and Prevention Program. II, 1-150, 1997. Bethesda, Md: National Institutes of Health).

classi di farmaci e possono essere riassunti semplicemente in due modi:

- primo, controllare il processo alla base della malattia o ottenere uno stato di remissione della malattia (ad es. in stato di male asmatico o in pazienti con asma stabile cronico che hanno avuto significative riduzioni nella funzione polmonare per periodi di tempo prolungati)
- secondo, mantenere questo controllo (remissione) più a lungo possibile con il minimo apporto di effetti collaterali.

Queste azioni iniziali di solito richiedono alte dosi di

ICS o, più frequentemente, corticosteroidi sistemici. La terapia della fase di remissione di solito richiede un trattamento con corticosteroidi orali [ad es. da 0.5 a 1.0 mg/kg al giorno di prednisone per 5 giorni (il massimo usuale per gli adulti è da 40 a 60 mg/d)]. La durata del trattamento varierà considerevolmente tra i pazienti, ma l'obiettivo dovrebbe essere quello di migliorare al massimo la funzione del polmone, minimizzare i sintomi e ridurre l'uso di farmaci di supporto. Allo stesso tempo, una terapia con ICS dovrebbe essere iniziata a dosi sufficienti a mantenere l'iniziale remissione per prolungati periodi di tempo. La dose e il tipo di farma-



* I pazienti a rischio di morte (vedi testo) per asma dovrebbero contattare immediatamente il medico appena iniziata la terapia. È possibile che si renda necessaria ulteriore terapia

FIG 7. Trattamento a domicilio di riacutizzazione di asma (Riprodotta da Murphy S, Bleeker ER, Boushey H, et al. Editors. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Asthma Education and Prevention Program. II, 1-150. 1997 Bethesda, Md: National Institute of Health).

co possono essere influenzati dall'età (sistemi di erogazione, effetti collaterali), dai costi e dalla familiarità del medico con le novità dei vari prodotti disponibili. Bisognerebbe sottolineare che la brusca interruzione dei ICS è un'importante causa di esacerbazioni dell'asma.

Schemi di trattamento

Asma acuto. Le esacerbazioni dell'asma (attacchi d'asma) possono verificarsi per una varietà di ragioni (infezioni respiratorie virali, esposizione agli allergeni, assunzione di aspirina o riduzione brusca di farmaci, in particolare corticosteroidi inalatori). La cura di queste esacerbazioni dipenderà dall'età del paziente e dalla gravità dell'episodio al momento della valutazione (Fig. 6).^{56,89}

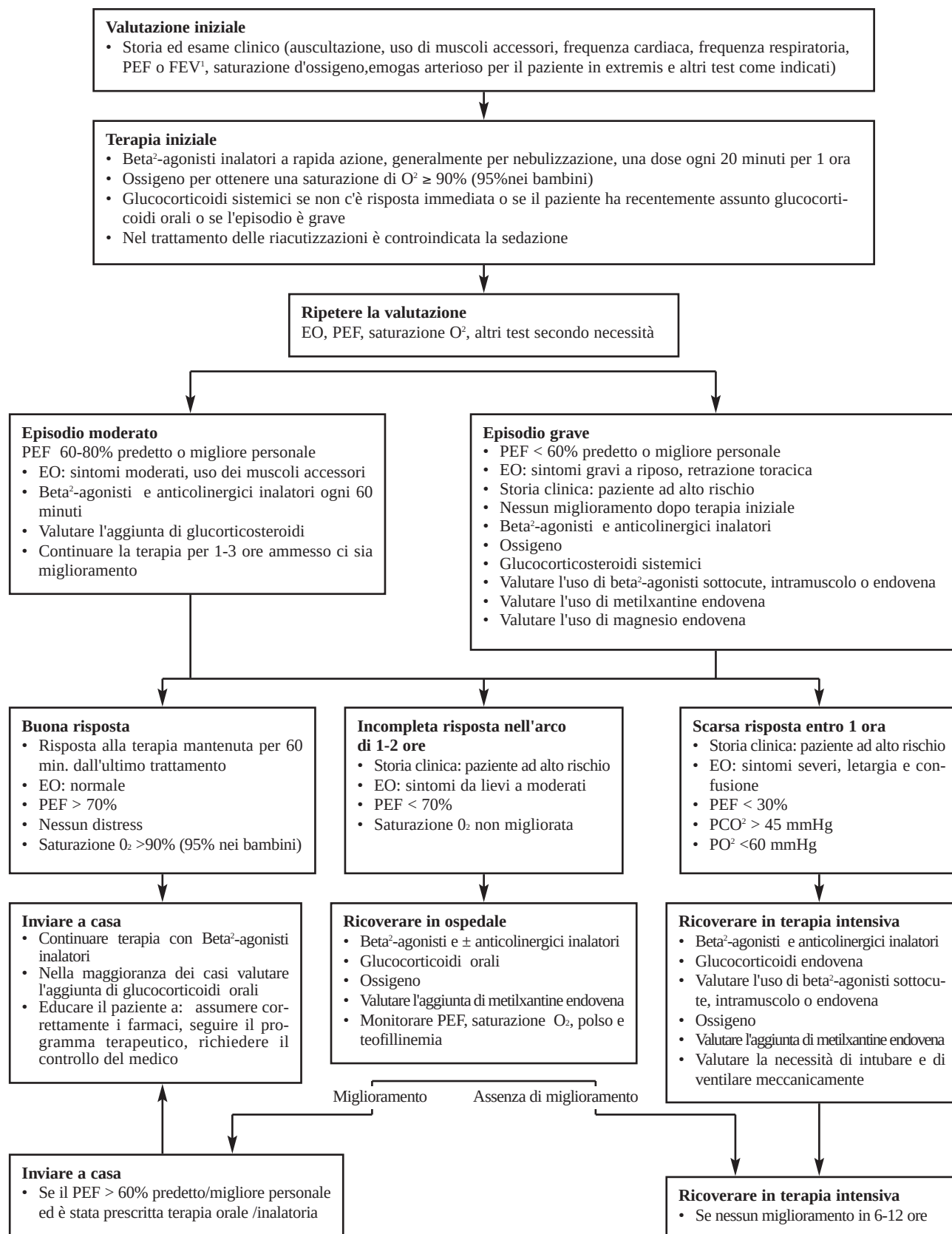
Le esacerbazioni lievi possono essere trattate a domicilio (Fig. 7) con piani d'azione basati sui sintomi ed elaborati dal medico; le esacerbazioni acute gravi dell'asma sono potenzialmente a rischio per la vita e richiedono una valutazione critica e un'appropriata

terapia. Per determinare la gravità di un'esacerbazione d'asma possono essere valutati vari fattori desumibili dall'anamnesi, dall'esame obiettivo e dalla funzionalità respiratoria (Fig. 6).

Per i pazienti con esacerbazioni particolarmente gravi da richiedere la valutazione in ambulatorio (Fig. 8), sono necessari ed appropriati una breve storia e l'esame fisico prima di cominciare il trattamento.

Nell'anamnesi del paziente sono importanti la gravità dei sintomi, i farmaci correntemente utilizzati (incluso l'uso recente di corticosteroidi), l'esordio dei sintomi e la presenza di precedenti ospedalizzazioni o visite al pronto soccorso. In aggiunta all'esame fisico per determinare i segni vitali e all'auscultazione del torace per rumori patologici o dispnea o "silenzio respiratorio", dovrebbe essere fatta attenzione a segni di allerta, quali cianosi e uso dei muscoli accessori della respirazione (ad es. retrazione toracica o respiro addominale nei bambini). Globalmente, questi segni possono dare un'idea oggettiva della gravità dell'asma.

La valutazione della funzionalità respiratoria, con l'uso del misuratore di picco di flusso o con la spiro-



Nota: Trattamento preferito è rappresentato da beta²-agonisti inalatori ad alte dosi e glucocorticoidi sistemici. Se non sono disponibili beta²-agonisti inalatori, valutare l'uso di teofillina endovena; vedi testo.

FIG 8. Trattamento ospedaliero di una riacutizzazione asmatica (Riprodotta da Murphy S, Bleecker ER, Boushey H, et al. Editors. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Asthma Education and Prevention Program. II, 1-150. 1997 Bethesda, Md: National Institute of Health).

metria (FEV¹ e FVC), è essenziale per determinare più precisamente il livello dell'ostruzione del flusso aereo e la risposta alla terapia. Con ostruzione grave del flusso aereo (FEV¹ <40%) o con una storia di compromissione respiratoria grave, l'emogasanalisi può valutare l'ossigenazione e le concentrazioni di CO² come indicatore di imminente arresto respiratorio.

Il trattamento iniziale consiste nella somministrazione di ossigeno [mantenere la saturazione di ossigeno al 90% (95% nei bambini)] e nella somministrazione di β²-agonisti inalatori (Fig. 8).

Sebbene i β²-agonisti per via inalatoria a rapida azione sono generalmente somministrati con nebulizzazione, una broncodilatazione equivalente con un inizio più semplice e rapido e minori effetti collaterali possono essere ottenuti mediante un MDI con uno spaziatore.⁹⁰

Per un'ostruzione del flusso aereo che non risponde adeguatamente al broncodilatatore somministrato con un MDI, una terapia con nebulizzazione continua si è dimostrata più efficace in confronto con una terapia simile somministrata in maniera intermittente.⁹¹

La somministrazione di epinefrina sottocute o intramuscolo dovrebbe essere riservata a situazioni di emergenza nelle quali la somministrazione con aerosol di β²-agonisti non è possibile, o quando l'ostruzione acuta del flusso aereo è parte di una più generalizzata reazione anafilattica.

In caso di esacerbazioni asmatiche acute è stato anche valutato l'uso di una terapia addizionale di broncodilatatori (ad es. ipratropium bromuro o teofillina). Una combinazione di β²-agonisti e dell'anticolinergico ipratropium bromuro potrebbe produrre una broncodilatazione migliore di quella garantita da ciascun singolo farmaco ed è associata con un minore tasso di ospedalizzazione sia in pazienti adulti che pediatrici.⁹² È stata valutata l'efficacia di aminofillina endovenosa nell'asma grave acuto, ma l'evidenza accumulata nella maggioranza dei pazienti non sostiene il suo uso di routine nelle crisi asmatiche per l'alto rapporto rischio/beneficio.⁹³

I glucocorticosteroidi (per via inalatoria, orale e/o parenterale) rappresentano il trattamento migliore per le esacerbazioni asmatiche. Dai vari approcci che sono stati valutati per il trattamento delle esacerbazioni da lievi a severe, globalmente i risultati sottolineano l'importanza di trattare ogni paziente individualmente, basandosi sui loro precedenti schemi di risposta alla terapia e/o sulla natura e la severità della attuale presentazione clinica. Per la cura domiciliare delle esacerbazioni lievi, al fine di evitare la progressione dei sintomi, può essere efficace aumentare la dose dei ICS regolari o fare interventi intermittenti con alte dosi di ICS, particolarmente nei bambini.⁹⁴ Nei pazienti che afferiscono al pronto soccorso, il trattamento con alte dosi di ICS, sia di bambini che di adulti che non stanno attualmente ricevendo una terapia con ICS, può ridurre il rischio di successive ospedalizzazioni.⁹⁵

Per esacerbazioni da più moderate a gravi sono di solito richiesti corticosteroidi sistemici, perché questi aumentano la velocità di risoluzione dei sintomi e migliorano significativamente i risultati. Dovrebbero

essere considerati parte integrante del trattamento di questi episodi, specialmente se:

- la dose iniziale di β²-agonisti inalatori a rapida azione ha fallito nel procurare un miglioramento duraturo
- l'esacerbazione è insorta anche se il paziente stava assumendo corticosteroidi orali
- le esacerbazioni precedenti hanno richiesto corticosteroidi orali.

I corticosteroidi sistemici richiedono almeno 4 ore per produrre miglioramenti clinici.¹³ Una meta-analisi ha suggerito che dosi di corticosteroidi equivalenti a 60-80 mg di metilprednisolone o 300-400 mg di idrocortisone al giorno sono adeguate per i pazienti ospedalizzati, ma sono probabilmente adeguati anche 40 mg di metilprednisolone o 200 mg di idrocortisone.^{96,97} Non ci sono dati conclusivi sulla giusta durata del trattamento con prednisone orale, sebbene una durata di 10-14 giorni negli adulti e 3-5 giorni nei bambini è di solito considerata appropriata.¹³ L'evidenza attuale suggerisce che non ci sia beneficio nel diminuire progressivamente la dose di prednisone orale né per brevi tempi⁹⁸ né per varie settimane.⁹⁹

Asma cronico. Nel formulare una strategia per la cura dell'asma cronico devono essere tenuti presenti gli obiettivi della terapia, con particolare riferimento al controllo dell'asma. I seguenti criteri, anche se non sono ottenibili in tutti i pazienti, dovrebbero rappresentare il fine ultimo da raggiungere con il trattamento⁵²:

- minimi(o nessuno) sintomi cronici inclusi i sintomi notturni
- ridotta frequenza delle esacerbazioni, incluso il bisogno di visite al pronto soccorso e di ospedalizzazioni
- minimizzare la necessità di terapie al bisogno come l'uso dei β²-agonisti inalatori
- stabilire un normale stile di vita senza limitazioni nelle attività, incluso l'esercizio fisico
- normalizzare la funzionalità respiratoria
- minimi o nulli effetti collaterali da farmaci.

Sebbene la selezione del trattamento farmacologico dipenda da molti fattori, essa è, in generale, basata sulla gravità dell'asma. Poiché l'asma è una malattia (o sindrome) variabile ma cronica, il trattamento specifico dovrà essere modulato sia acutamente o durante le esacerbazioni sia cronicamente per mantenere un adeguato controllo dei sintomi e minimizzare gli effetti collaterali e i costi, mantenendo il tutto il più a lungo possibile.

Per conseguire questi risultati è stato preparato per il trattamento un approccio a gradini (Fig. 2 e 3).⁵² (www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthsumm.html). La base dell'approccio a gradini è di aumentare il numero, la frequenza e la dose dei farmaci con l'aumentare della gravità dell'asma, finché non si sia ottenuta una sua remissione. Di solito, il trattamento iniziale è dato ad un livello alto ma adeguato alla gravità dell'asma. Quando si è raggiunto il controllo, occorre considerare un attento "step-down" nella terapia per

mantenere la remissione dell'asma con il minor numero di farmaci e il minor numero di effetti collaterali dai vari trattamenti.

La gravità dell'asma è stata divisa in intermittente e persistente, quest'ultima ulteriormente suddivisa in lieve, moderata e grave (Fig. 2 e 3). Il posizionamento dei pazienti nei vari gradini è basato sulle caratteristiche dell'asma al momento della valutazione iniziale (quando i pazienti non hanno ancora ricevuto farmaci per la loro asma) o sui caratteri della loro malattia e/o richiesta di farmaci per mantenere il massimo controllo della malattia. La classificazione dell'asma intermittente non indica un livello di gravità, dato che i pazienti in questa categoria possono avere solo sintomi intermittenti, ma, quando i sintomi si sviluppano, questi possono irrompere improvvisamente e in modo severo.

RIASSUNTO

L'asma è un disordine genetico complesso caratterizzato da infiammazione delle vie aeree e ostruzione reversibile del flusso aereo. La malattia è caratterizzata da molteplici fenotipi, che possono differire sulla base di età, esordio, fattori scatenanti e gravità, sia durante le esacerbazioni acute, sia su una base cronica, con esito finale in una perdita, ancora variabilmente reversibile, della funzionalità respiratoria. Come risultato di questa eterogeneità clinica, gli approcci terapeutici devono essere individualizzati e modificati per ottenere e mantenere nel tempo un adeguato controllo di sintomi e malattia. Sebbene la terapia attuale sia indirizzata allo sviluppo di strategie di prevenzione secondarie e terziarie, la ricerca avanzata sta valutando la possibilità di una prevenzione primaria.

BIBLIOGRAFIA

1. Cookson WO. Asthma genetics. *Chest* 2002;121(3 Suppl):7S-13S.
2. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002;418:426-30.
3. Fenech A, Hall IP. Pharmacogenetics of asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2002;53:3-15.
4. Israel E, Drazen JM, Liggett SB, Boushey HA, Cherniack RM, Chinchilli VM, et al. The effect of polymorphisms of the b2-adrenergic receptor on the response to regular use of albuterol in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:75-80.
5. Palmer LJ, Silverman ES, Weiss ST, Drazen JM. Pharmacogenetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:861-6.
6. Vignola AM, Kips J, Bousquet J. Tissue remodeling as a feature of persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1041-53.
7. Richter A, Puddicombe SM, Lordan JL, Bucchieri F, Wilson SJ, Djukanovic R, et al. The contribution of interleukin (IL)-4 and IL-13 to the epithelial-mesenchymal trophic unit in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:385-91.
8. Cockcroft DW. How best to measure airway responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1514-5.
9. Palmer LJ, Rye PJ, Gibson NA, Burton PR, Landau LI, LeSouef PN. Airway responsiveness in early infancy predicts asthma, lung function, and respiratory symptoms by school age. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:37-42.
10. James AL, Pare PD, Hogg JC. The mechanics of airway narrowing in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:242-6.
11. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999;354:541-5.
12. Malo JL, Chan-Yeung M. Occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:317-28.
13. Clark TJH, Cagnani CB, Bousquet J, et al. Global initiative for asthma. Global strategy for asthma management and prevention. NIH Publication No. 02-3659, 1-176. 2002.
14. Adams RJ, Fuhlbrigge A, Guilbert T, Lozano P, Martinez F. Inadequate use of asthma medication in the United States: results of the asthma in America national population survey. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:58-64.
15. Hessel PA, Mitchell I, Tough S, Green FHY, Cockcroft DW, Kepron W, et al. Risk factors for death from asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:362-8.
16. Simons FER. Allergic rhinobronchitis: the asthma-allergic rhinitis link. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:534-40.
17. Duff AL, Platts-Mills TAE. Allergens and asthma. *Pediatr Clin North Am* 1992;39:1277-91.
18. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TA, Cogswell JJ. Exposure to house dust mite allergen (Der p 1) and the development of asthma in childhood: a prospective study. *N Engl J Med* 1990;323:502-7.
19. Rosenstreich DL, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavin RG, Gergen P, et al. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *N Engl J Med* 1997;336:1356-63.
20. Halonen M, Stern DA, Lohman C, Wright AL, Brown MA, Martinez FD. Two subphenotypes of childhood asthma that differ in maternal and paternal influences on asthma risk. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:564-70.
21. Platts-Mills TA, Vaughan JW, Blumenthal K, et al. Serum IgG and IgG4 antibodies to Fel d 1 among children exposed to 20 microg Fel d 1 at home: relevance of a nonallergic modified Th2 response. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;124:126-9.
22. Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. *JAMA* 2002;288:963-72.
23. Platts-Mills TA, Vervloet D, Thomas WR, Aalberse RC, Chapman MD. Indoor allergens and asthma: report of the Third International Workshop. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:S2-24.
24. O'Hollaren MT, Yunginger JW, Offard KP, et al. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. *N Engl J Med* 1991;324:359-63.
25. James JM, Bernhisel-Broadbent J, Sampson HA. Respiratory reactions provoked by double-blind food challenges in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:59-64.
26. Folkerts G, Busse WW, Nijkamp FP, Sorkness R, Gern JE. Virus-induced airway hyperresponsiveness and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1708-20.
27. Lemanske RF Jr, Lemen RJ, Gern JE. Infections in childhood. In: Barnes PJ, Grunstein MM, Leff AR, et al, editors. *Asthma*. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p. 1207-16.
28. Hahn DL, Dodge RW, Golubjatnikov R. Association of

- Chlamydia pneumoniae (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. *JAMA* 1991;266:225-30.
29. Cook PJ, Davies P, Tunnicliffe W, Ayres JG, Honeybourne D, Wise R. Chlamydia pneumoniae and asthma. *Thorax* 1998;53:254-9.
30. Cunningham AF, Johnston SL, Julious SA, Lampe FC, Ward ME. Chronic Chlamydia pneumoniae infection and asthma exacerbations in children. *Eur Respir J* 1998;11:345-9.
31. Kraft M, Cassell GH, Henson JE, Watson H, Williamson J, Marmion BP, et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae in the airways of adults with chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:998-1001.
32. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1501-7.
33. Gern JE, Lemanske RF Jr, Busse WW. Early life origins of asthma. *J Clin Invest* 1999;104:837-43.
34. Wennergren G, Kristjansson S. Relationship between respiratory syncytial virus bronchiolitis and future obstructive airway diseases. *Eur Respir J* 2001;18:1044-58.
35. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Role of virus infections in children with recurrent wheeze or cough. *Thorax* 1993;48:1055-60.
36. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ* 1995;310:1225-9.
37. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Campbell MJ, Josephs LK, et al. The relationship between upper respiratory infections and hospital admissions for asthma: a time-trend analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:654-60.
38. Green RM, Custovic A, Sanderson G, et al. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ* 2002;324:763.
39. Rakes GP, Arruda E, Ingram JM, Hoover GE, Zambrano JC, Hayden FG, et al. Rhinovirus and respiratory syncytial virus in wheezing children requiring emergency care: IgE and eosinophil analyses. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:785-90.
40. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis." *Thorax* 2000;55(Suppl 1):S2-10.
41. Von Hertzen LC. Role of persistent infection in the control and severity of asthma: focus on Chlamydia pneumoniae. *Eur Respir J* 2002;19:546-56.
42. Martin RJ, Kraft M, Chu HW, Berns EA, Cassell GH. A link between chronic asthma and chronic infection. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:595-601.
43. Kraft M, Cassell GH, Pak J, Martin RJ. Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in asthma: effect of clarithromycin. *Chest* 2002;121:1782-8.
44. Rundell KW, Judelson DA, Williams SD. Diagnosis of exercise-induced asthma in the elite athlete. In: Rundell KW, Wilber RL, Lemanske RF Jr, editors. Exercise-induced asthma: Pathophysiology and treatment. Champaign, Ill: Human Kinetics Publishers, Inc; 2002. p. 181-210.
45. Szczeklik A, Stevenson DD. Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:5-13.
46. Szczeklik A, Nizankowska E, Bochenek G, Nagraba K, Mejza F, Swierczynska M. Safety of a specific COX-2 inhibitor in aspirin-induced asthma. *Clin Exp Allergy* 2001;31:219-25.
47. Martin-Garcia C, Hinojosa M, Berges P, Camacho E, Garcia-Rodriguez R, Alfaya T, et al. Safety of a cyclooxygenase-2 inhibitor in patients with aspirin-sensitive asthma. *Chest* 2002;121:1812-7.
48. Fischer AR, Rosenberg MA, Lilly CM, Callery JC, Rubin P, Cohn J, et al. Direct evidence for role of the mast cell in the nasal response to aspirin in aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:1046-56.
49. Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet* 1997;350:1599-600.
50. Harding SM. Gastroesophageal reflux and asthma: insight into the association. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:251-9.
51. Wright RJ, Rodriguez M, Cohen S. Review of psychosocial stress and asthma: an integrated biopsychosocial approach. *Thorax* 1998;53:1066-74.
52. Murphy S, Bleecker ER, Boushey H, Brown C, Buist AS, Busse W, et al. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Asthma Education and Prevention Program, editor. II, 1-150. 1997. Bethesda, Md: National Institutes of Health.
53. Anderson SD, Beck KC, Davis MS, Dempsey JA, Derchak PA, Freed AN, et al. Exercise-induced asthma: Pathophysiology and treatment. Champaign, Ill: Human Kinetics; 2002.
54. Gershel JC, Goldman HS, Stein REK, Shelov SP, Ziprkowski M. The usefulness of chest radiographs in first asthma attacks. *N Engl J Med* 1983;309:336-9.
55. Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1403-6.
56. Corbridge TC, Hall JB. The assessment and management of adults with status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1296-316.
57. Wright AL, Taussig LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ. The Tucson Children's Respiratory Study, II: lower respiratory tract illness in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1989;129:1232-46.
58. Cypcar D, Busse WW. Role of viral infections in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 1993;13:745-66.
59. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med* 1995;332:133-8.
60. Nelson HS. Drug therapy: beta-adrenergic bronchodilators. *N Engl J Med* 1995;333:499-506.
61. Kips JC, Pauwels RA. Long-acting inhaled beta(2)-agonist therapy in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:923-32.
62. Lazarus SC, Boushey HA, Fahy JV, Chinchilli VM, Lemanske RF, Jr, Sorkness CA, et al. Long-acting beta2-agonist monotherapy vs continued therapy with inhaled corticosteroids in patients with persistent asthma: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:2583-93.
63. Greening AP, Wind P, Northfield M, Shaw G. Added salmeterol versus higher-dose corticosteroid in asthma patients with symptoms on existing inhaled corticosteroid. *Lancet* 1994;344:219-24.
64. Woolcock A, Lundback B, Ringdal N, Jacques LA. Comparison of addition of salmeterol to inhaled steroids with doubling of the dose of inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1481-8.
65. Pauwels RA, Löfdahl CG, Postma DS, Tattersfield AE, O'Byrne P, Barnes PJ, et al. Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. *N Engl J Med* 1997;337:1405-11.
66. Lemanske RF Jr, Sorkness CA, Mauger EA, et al. Inhaled

- corticosteroids reduction and elimination in patients with persistent asthma receiving salmeterol: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:2594-603.
67. Jenne JW. The debate on S-enantiomers of β -agonists: tempest in a teapot or gathering storm? *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:893-5.
68. Asmus MJ, Hendeles L, Weinberger M, Ahrens RC, Bisgaard H, Lotvall J, et al. Levalbuterol has not been established to have therapeutic advantage over racemic albuterol. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:325.
69. Baramki D, Koester J, Anderson AJ, Borish L. Modulation of T-cell function by (R)- and (S)-isomers of albuterol: anti-inflammatory influences of (R)-isomers are negated in the presence of the (S)-isomer. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:449-54.
70. Chowdhury BA. Comparative efficacy of levalbuterol and racemic albuterol in the treatment of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:324.
71. Ahrens R, Weinberger M. Levalbuterol and racemic albuterol: are there therapeutic differences? *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:681-4.
72. Lotvall J, Palmqvist M, Arvidsson P, Maloney A, Ventresca GP, Ward J. The therapeutic ratio of R-albuterol is comparable with that of R-salbuterol in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:726-31.
73. Weinberger M, Hendeles L. Theophylline in asthma. *N Engl J Med* 1996;334:1380-94.
74. Tinkelman DG, Reed CE, Nelson HS, Offord KP. Aerosol beclomethasone dipropionate compared with theophylline as primary treatment of chronic, mild to moderately severe asthma in children. *Pediatrics* 1993;92:64-77.
75. Reed CE, Offord KP, Nelson HS, Li JT, Tinkelman DG, American Academy of Allergy AalBD-TSG. Aerosol beclomethasone dipropionate spray compared with theophylline as primary treatment for chronic mild-to-moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:14-23.
76. Davies B, Brooks G, Devoy M. The efficacy and safety of salmeterol compared to theophylline: meta-analysis of nine controlled studies. *Respir Med* 1998;92:256-63.
77. Hoag JE, McFadden ER Jr. Long-term effect of cromolyn sodium on nonspecific bronchial hyperresponsiveness: a review. *Ann Allergy* 1991;66:53-63.
78. Schwartz HJ, Blumenthal M, Brady R, Braun S, Lockey R, Myers D, et al. A comparative study of the clinical efficacy of nedocromil sodium and placebo: how does cromolyn sodium compare as an active control treatment? *Chest* 1996;109:945-52.
79. Alton EFWF, Kingsleigh-Smith DJ, Munkonge FM, Smith SN, Lindsay ARG, Gruenert DC, et al. Asthma prophylaxis agents alter the function of an airway epithelial chloride channel. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14:380-7.
80. Bel EH, Timmers MC, Hermans J, Dijkman JH, Sterk RJ. The long-term effects of nedocromil sodium and beclomethasone dipropionate on bronchial responsiveness to methacholine in nonatopic asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:21-8.
81. Shapiro GG, Sharpe M, DeRouen TA, Pierson WE, Furukawa CT, Virant FS, et al. Cromolyn versus triamcinolone acetonide for youngsters with moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:742-8.
82. Kelly K, Spooner CH, Rowe BH. Nedocromil sodium vs. sodium cromoglycate for preventing exercise-induced bronchoconstriction in asthmatics. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;4:CD002731.
83. Childhood Asthma Management Program Research Group. Long-term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. *N Engl J Med* 2000;343:1054-63.
84. Horwitz RJ, McGill KA, Busse WW. The role of leukotriene modifiers in the treatment of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1363-71.
85. Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med* 1999;340:197-206.
86. Barnes PJ. Mechanisms of action of glucocorticoids in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:521-7.
87. Allen DB. Safety of inhaled corticosteroids in children. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:208-20.
88. Agertoft L, Pedersen S. Effect of long-term treatment with inhaled budesonide on adult height in children with asthma. *N Engl J Med* 2000; 343:1064-9.
89. Keogh KA, Macarthur C, Parkin PC, Stephens D, Arseneault R, Tennis O, et al. Predictors of hospitalization in children with acute asthma. *J Pediatr* 2001;139:273-7.
90. Cates CJ, Rowe BH, Bara A. Holding chambers versus nebulisers for beta-agonist treatment of acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;2:CD000052.
91. Reisner C, Kotch A, Dworkin G. Continuous versus frequent intermittent nebulization of albuterol in acute asthma: a randomized, prospective study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;75:41-7.
92. Rodrigo GJ, Rodrigo C. The role of anticholinergics in acute asthma treatment: an evidence-based evaluation. *Chest* 2002;121:1977-87.
93. Parameswaran K, Belda J, Rowe BH. Addition of intravenous aminophylline to β_2 -agonists in adults with acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;4:CD002742.
94. Volovitz B, Nussinovitch M, Finkelstein Y, Harel L, Varsano I. Effectiveness of inhaled corticosteroids in controlling acute asthma exacerbations in children at home. *Clin Pediatr (Phila)* 2001;40:79-86.
95. Edmonds ML, Camargo CA, Pollack CV, Rowe BH. Early use of inhaled corticosteroids in the emergency department treatment of acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;3:CD002308.
96. Manser R, Reid D, Abramson M. Corticosteroids for acute severe asthma in hospitalised patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2:CD001740.
97. Rowe BH, Spooner C, Ducharme FM, Bretzlaff JA, Bota GW. Early emergency department treatment of acute asthma with systemic corticosteroids. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2:CD002178.
98. O'Driscoll BR, Kalra S, Wilson M, Pickering CA, Carroll KB, Woodcock AA. Double-blind trial of steroid tapering in acute asthma. *Lancet* 1993;341:324-7.
99. Lederle FA, Pluhar RE, Joseph AM, Niewoehner DE. Tapering of corticosteroids therapy following exacerbation of asthma: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 1987;147:2201-3.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

La fisiopatologia dell'asma si è arricchita in questi ultimi cinque anni di significative informazioni che hanno contribuito ad una sempre migliore conoscenza dei meccanismi eziopatogenetici e della storia naturale della malattia. Gli studi più significativi al riguardo si riferiscono alla identificazione di nuovi geni coinvolti nel determinismo della malattia, alle complesse interazioni tra fattori genetici ed ambientali¹, al coinvolgimento di nuove citochine e fattori di crescita², all'importanza dei processi di rimodellamento tessutale nel condizionare l'evoluzione e la reversibilità del quadro clinico³, al ruolo attivo, infine, svolto da muscolo liscio⁴ ed epitelio⁵ nel contribuire al substrato infiammatorio dell'asma mediante il rilascio di propri mediatori in risposta a vari stimoli ambientali (allergeni, inquinanti, etc).^{6,7}

I dati più rilevanti, da un punto di vista pratico, riguardano tuttavia i numerosi studi clinici controllati randomizzati che hanno portato ad una sostanziale modifica delle linee guida di diagnosi e terapia dell'asma.

Inizialmente nelle linee guida NHLBI e GINA (www.gina-sthma.org), sulla base dell'entità dei sintomi e della limitazione al flusso aereo, l'asma è stata suddivisa in quattro categorie di gravità: intermittente, lieve persistente, moderata persistente e grave persistente. Questa classificazione dell'asma per gravità può essere utile per la gestione del paziente nel momento della sua prima valutazione (Fig. 1).

Dal momento che la gravità dell'asma coinvolge anche la sua risposta al trattamento farmacologico, le linee guida GINA nei successivi aggiornamenti hanno definito la severità dell'asma non solo sulla base delle caratteristiche cliniche già proposte ma anche sul trattamento che il singolo paziente sta effettuando al momento della valutazione (Fig. 2).

Pertanto un'asma inizialmente classificata come severa persistente può divenire moderata persistente, qualora risponda in maniera idonea alla terapia farmacologica prescritta.

In effetti, mentre la classificazione di gravità suggerisce un aspetto di staticità, la gravità di per sé non rappresenta una caratteristica stabile dell'asma, in quanto può variare nel corso dei mesi o degli anni. D'altra parte, se la gravità viene utilizzata come misura di outcome, essa ha un valore limitato nel predire il tipo di trattamento necessario e il tipo di risposta che ci si deve attendere. Pertanto, la classificazione

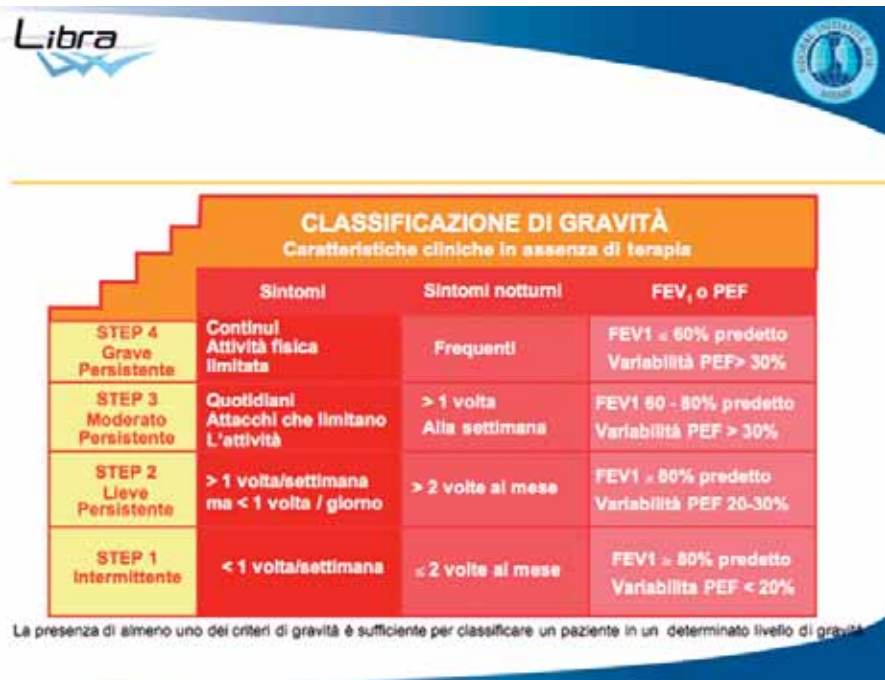


FIG 1. Classificazione di gravità dell'asma in pazienti già in trattamento regolare (Roche et al, Allergy 2007)

Sintomi e funzionalità polmonare del paziente con terapia in corso	Trattamento corrente		
	Livello di severità		
	Livello 1: Intermittente	Livello 2: Lieve Persistente	Livello 3: Moderato Persistente
LIVELLO 1: Intermittente Sintomi <1 volta a settimana Riacutizzazioni brevi Sintomi notturni non >2 volte al mese Funzionalità polmonare normale fra le riacutizzazioni	Intermittente	Lieve Persistente	Moderato Persistente
LIVELLO 2: Lieve Persistente Sintomi >1 volta a settimana ma <1 volta al giorno Sintomi notturni non >2 volte al mese ma < 1 volta a settimana Funzionalità polmonare normale fra le riacutizzazioni	Lieve Persistente	Moderato Persistente	Severo Persistente
LIVELLO 3: Moderato persistente Sintomi quotidiani Riacutizzazioni potrebbero avere ripercussioni sulle attività e sonno Sintomi notturni almeno 1 volta a settimana -FEV ₁ >60 <80% del predetto oppure -PEF >60 <80% del miglior valore personale ottenuto	Moderato Persistente	Severo Persistente	Severo Persistente
LIVELLO 4: Grave Persistente Sintomi quotidiani Riacutizzazioni frequenti Sintomi di asma notturno frequenti -FEV ₁ ≤60 % del predetto oppure -PEF >60 <80% del miglior valore personale ottenuto	Severo Persistente	Severo Persistente	Severo Persistente

FIG 2. Il controllo dell'asma

dell'asma sulla base della gravità non può essere considerata come la base per decidere il trattamento; sembra invece più appropriato ed utile eseguire una valutazione periodica del controllo dell'asma.

Quindi il principale obiettivo della gestione dell'asma risiede nel suo controllo, dal momento che esso riflette in maniera più idonea gli effetti della malattia e la necessità del trattamento farmacologico. Il controllo di una malattia può essere definito in vari modi; in linea generale il termine di per sé può indicare sia la prevenzione della malattia che la sua cura. Nel caso dell'asma si riferisce soprattutto al controllo della sintomatologia e, idealmente, alla possibilità di modificare i markers biologici dell'infiammazione e le caratteristiche fisiopatologiche della malattia. L'utilizzo di tecniche in grado di monitorare l'infiammazione bronchiale può essere utile sia per la diagnosi di asma che per valutare la risposta alla terapia. Le tecniche non invasive potenzialmente utilizzabili nella pratica clinica includono la valutazione della iperreattività bronchiale aspecifica, lo studio di cellule e mediatori nell'espettorato indotto, dell'ossido nitrico nell'esalato e di vari componenti nel condensato espirato; è dimostrato che il monitoraggio dell'infiammazione bronchiale con l'utilizzo

di tali metodiche può migliorare il controllo dell'asma, specialmente in alcuni sottogruppi di pazienti. Tuttavia, sia a motivo dei costi e della scarsa disponibilità nella routine di molte di queste tecniche, sia per la non provata utilità di "azzerare" l'infiammazione bronchiale nel modificare la storia naturale della malattia, nella pratica clinica viene raccomandato di eseguire un trattamento che consenta di controllare i sintomi e le modificazioni funzionali delle basse vie aeree.

La fig. 3 riporta uno schema di valutazione dei livelli di controllo dell'asma (asma controllato, parzialmente controllato o non controllato) proposti da GINA⁸, sulla base del quale si sceglie l'approccio farmacologico a "step", più idoneo per il raggiungimento del controllo.

Esistono in letteratura diversi strumenti costruiti e validati allo scopo di monitorare il controllo dell'asma, alcuni dei quali non includono la valutazione della funzionalità bronchiale, come ad esempio l'ACT, ovvero l'Asthma Control Test. Questi strumenti sono utilizzabili non solo a scopo di ricerca ma anche nella pratica clinica dal Medico di Medicina Generale. Va sottolineato che nessuno di questi approcci, costituiti generalmente da questionari, prende in considerazione in maniera appropriata le riacutizzazioni della malattia, che rivestono un ruolo fondamentale per valutare sia l'iniziale grado di severità dell'asma⁹ che il controllo della malattia. Il completo controllo delle riacutizzazioni asmatiche è invece un obiettivo primario nella gestione dell'asma, anche considerando il




CARATTERISTICHE	CONTROLLATO	PARZIALMENTE CONTROLLATO	NON CONTROLLATO
Sintomi giornalieri	Nessuno (<2/settimana)	>2/settimana	3 o più aspetti presenti nell'asma parzialmente controllato
Limitazione delle attività	Nessuna	Qualche	
Sintomi notturni / risvegli	Nessuno	Qualche	
Necessità di farmaco al bisogno	Nessuna (<2/settimana)	>2/settimana	
Funzione polmonare (PEF o FEV ₁) §	Normale	<80% del predetto o del personal best (se noto)	
Riacutizzazioni	Nessuna	1 o più per anno *	1 in qualsiasi settimana §

* Qualsiasi riacutizzazione dovrebbe essere prontamente seguita da una revisione del trattamento di mantenimento per assicurarsi che esso sia adeguato.

§ Per definizione, 1 riacutizzazione in una qualsiasi delle settimane di monitoraggio rende l'intera settimana non controllata.

§ La funzione polmonare è valutabile solo in individui con età superiore a 5 anni.

GINA '06

FIG 3. Il controllo dell'asma




	STEP 1	STEP 2	STEP 3	STEP 4	STEP 5
Opzione principale	β_2 -agonisti a breve azione al bisogno	CSI a bassa dose	CSI a bassa dose + LABA	CSI a media dose + LABA	CSI a alta dose + LABA
Altre opzioni (in ordine decrescente di efficacia)		Anti-leucotrieni * Cromoni	CSI a bassa dose + anti-leucotrieni * CSI a bassa dose + teofilina-LR CSI a dose medio-alta	aggiungere 1 o più: Anti-leucotrieni Teofilina-LR	aggiungere 1 o più: Anti-leucotrieni Anti-IgE (omalizumab) ** Teofilina-LR CS orali
	β_2 -agonisti a breve azione al bisogno				
	Programma di educazione				
	Controllo ambientale e immunoterapia quando indicata				

CSI = corticosteroidi inalatori; LABA = long-acting β_2 -agonisti; LR = a lento rilascio

* I pazienti con asma e rinite rispondono bene agli anti-leucotrieni

** nei pazienti allergici ad allergeni perenni e con livelli di IgE totali sieriche compresi tra 30 e 700 UI/ml

FIG 4. Approccio progressivo alla terapia dell'asma nell'adulto

ruolo importante che hanno questi eventi nell'influenzare la qualità di vita e il declino progressivo della funzione respiratoria.¹⁰

Una volta effettuata la valutazione del grado di controllo dell'asma, è possibile stabilire se il livello di terapia ("step") è adeguato o se, in mancanza del controllo, è necessario prospettare un incremento ("step-up") del livello di terapia. In caso di buon controllo dell'asma, specie se questo è stato mantenuto per lunghi periodi, si può considerare una riduzione della terapia regolare ("step-down") (Fig. 4).

Lo studio GOAL (Gaining Optimal Asthma Control) ha dimostrato che il controllo dell'asma viene raggiunto in una più elevata percentuale di pazienti e con maggiore rapidità mediante l'utilizzo combinato di fluticasone propionato e salmeterolo rispetto al solo utilizzo dello steroide a più alto dosaggio e che il trattamento di step-up rappresenta un valido approccio per il controllo dell'asma, con riduzione delle riacutizzazioni e miglioramento della qualità della vita.¹¹ Lo studio GOAL rappresenta il migliore e il più recente modello dell'efficacia della terapia regolare con il solo fluticasone, o meglio con la combinazione salmeterolo/fluticasone, nel raggiungere e mantenere il controllo.

Recentemente, accanto a tale strategia "tradizionale" recepita dalle più recenti linee guida internazionali è stato proposto un nuovo approccio per il controllo dell'asma, rappresentato dalla combinazione di basse dosi di budesonide associate a formoterolo in una unica formulazione da usarsi sia per la terapia di mantenimento che per la terapia al bisogno, rispetto a dosi più elevate di budesonide o di combinazioni tra corticosteroidi inalatori e beta²-agonisti a lunga durata d'azione per uso regolare associate a terbutalina al bisogno.^{12,13,14} Tale strategia ha dimostrato di essere efficace nel ridurre la frequenza e gravità delle riacutizzazioni, con il potenziale vantaggio di utilizzare una dose media di corticosteroidi inalatorio inferiore.

L'utilizzo al bisogno di associazioni steroidi-beta² agonisti a lunga durata d'azione, in associazione o meno a terapia continuativa, rappresenta tuttavia ancora un argomento di ampio dibattito sia nell'asma lieve che nell'asma moderato-grave.¹⁴

Recentemente due studi¹⁵⁻¹⁶ hanno posto in evidenza che anche nella "real life" l'impiego di steroidi topici e LABA (Salmeterolo-Fluticasone, Fluticasone o Salmeterolo) è in grado di indurre un ottimo controllo dell'asma con un progressivo miglioramento della funzione respiratoria nei tre anni di osservazione (rispettivamente nel 74, 21 e 5% dei casi).

Nei pazienti affetti da asma moderato e severo, l'aggiunta di antileucotrieni alla terapia di base è in grado di ridurre la dose di steroidi per via inalatoria e può migliorare il controllo l'asma nei pazienti in cui l'asma non è controllato da basse o alte dosi di steroidi inalatori, sebbene essi siano meno efficaci dei beta² agonisti a lunga durata d'azione nel prevenire le riacutizzazioni.⁸ Gli antileucotrieni possono essere particolarmente indicati in particolari fenotipi di asma, come l'asma da esercizio fisico, l'asma associato a rinite, l'asma indotto da infezioni virali specie nel bambino.

In soggetti con asma allergico grave persistente, scarsamente controllato da alte dosi di steroidi inalatori o orali e da beta² agonisti long-acting⁸, può essere indicata l'aggiunta della terapia con anticorpi monoclonali anti-IgE.^{17,18}

Omalizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato che si lega al frammento Cy3 dell'Fc delle IgE circolanti bloccandone la possibilità di legarsi al recettore specifico ad alta affinità posto su mastociti e basofili. La somministrazione sottocutanea di omalizumab (ogni 2-4 settimane) è in grado di ridurre significativamente i livelli sierici di IgE già dopo 24 ore dalla somministrazione. I complessi IgE-omalizumab sono di piccole dimensioni e biologicamente inerti. I numerosi studi clinici controllati¹⁸, recentemente oggetto di rassegna sistematica¹⁹, hanno posto in evidenza che omalizumab consente di ottenere una significativa riduzione dei sintomi diurni e notturni, una riduzione del numero di riacutizzazioni, ed una significativa riduzione della dose di steroide inalatorio necessaria per mantenere il controllo dell'asma. Attualmente omalizumab è indicato "per migliorare il controllo dell'asma quando somministrato come terapia aggiuntiva in pazienti adulti e adolescenti (dai 12 anni di età in poi) con asma allergico grave persistente, con test cutanei o reattività in vitro positiva ad un aeroallergene perenne, e che hanno ridotta funzionalità polmonare (FEV¹ <80%) nonché frequenti sintomi diurni e risvegli notturni, e con documentazione di ripetute riacutizzazioni asmatiche gravi nonostante l'assunzione quotidiana di alte dosi di steroidi per via inalatoria più un β²-agonista a lunga durata d'azione per via inalatoria" (Determinazione AIFA, G.U. n. 279 del 30-11-06). Alcuni aspetti interpretativi di tale determinazione sono stati presi in considerazione dal board italiano per la diffusione delle linee-guida sull'asma (www.progettolibra.it).

Riferimenti bibliografici

1. **Gene-environment interactions in asthma: with apologies to William of Ockham**
Martinez FD
Proc Am Thorac Soc. 2007; 4: 26-31
2. **Nerve Growth Factor and the Immune System: old and new concepts in the cross-talk between immune and resident cells during pathophysiological conditions**
Lambiasi A, Micera A, Sgrulletta R, Bonini S, Bonini S
Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2004; 5:425-30
3. **Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances Th2-mediated sensitization and inflammation in the lung**
Lee CG, Link H, Baluk P, Homer RJ, Chapoval S, Bhandari V, Kang MJ, Cohn L, Kim YK, McDonald DM, Elias JA
Nat Med. 2004; 10: 1095-103

4. **Allergen-induced airway remodelling**
Lloyd CM, Robinson DS
Eur Respir J 2007; 29: 1020-32
5. **Synthetic responses in airway smooth muscle**
Howarth PH, Knox AJ, Amrani Y, Tliba O, Panettieri RA Jr, Johnson M
J Allergy Clin Immunol. 2004; 114: S32-50
6. **Epithelium dysfunction in asthma**
Holgate ST
J Allergy Clin Immunol. 2007; 120: 1233-44
7. **Pollen proteolytic enzymes degrade tight junctions**
Runswick S, Mitchell T, Davies P, Robinson C, Garrod DR
Respirology. 2007 Nov;12(6):834-42
8. **Pen ch 13 allergen induces secretion of mediators and degradation of occludin protein of human lung epithelial cells**
Tai HY, Tam MF, Chou H, Peng HJ, Su SN, Perng DW, Shen HD
Allergy. 2006; 61: 382-8
9. **History of serious asthma exacerbations should be included in guidelines of asthma severity**
Federico MJ, Wamboldt FS, Carter R, Mansell A, Wamboldt MZ
J Allergy Clin Immunol. 2007; 119: 50-6
10. **Exacerbations and progression of disease in asthma and chronic obstructive pulmonary disease**
Rennard SI, Farmer SG
Proc Am Thorac Soc. 2004;1: 88-92
11. **Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study**
Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J, et al; GOAL Investigators Group
Am J Respir Crit Care Med. 2004;170: 836-44
12. **Budesonide/formoterol combination therapy as both maintenance and reliever medication in asthma**
O'Byrne PM, Bisgaard H, Godard PP, Pistolesi M, Palmqvist M, Zhu Y, Ekström T, Bateman ED
Am J Respir Crit Care Med. 2005; 171: 129-36
13. **Effect of budesonide in combination with formoterol for reliever therapy in asthma exacerbations: a randomised controlled, double-blind study**
Rabe KF, Atienza T, Magyar P, et al
Lancet. 2006; 368: 744-53
14. **Treatment of mild persistent asthma**
Editorial
New Engl J Med. 2007; 356: 2096-2100
15. **Asthma control over 3 years in a real-life study**
Lundback B, Ronmark E, Lindberg A et al
Respir Med 2009; 103: 348-55
16. **Assessment of asthma control and its impact on optimal treatment strategy**
Lundback B, Dahl R
Allergy 2007; 62: 611-9
17. **Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE**
Humbert M, Beasley R, Ayres J, et al
Allergy 2005; 60: 309-316
18. **The effect of treatment with omalizumab, an anti-IgE antibody, on asthma exacerbations and emergency medical visits in patients with severe persistent asthma**
Bousquet J, Cabrera P, Berkman N, et al
Allergy 2005; 60: 302-308
19. **Efficacy and safety of a recombinant anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) in severe allergic asthma**
Holgate ST, Chuchalin AG, Hebert J et al
Clin Exp Allergy. 2004; 34: 632-8

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

1. Epidemiologia e Storia Naturale

*** Asthma: Factors underlying inception, exacerbation, and disease progression**

Robert F. Lemanske Jr., MDab William W. Busse,
Mini Primer 2006. February 2006 (Vol 117, Issue 2, Supplement Pages S456-S461)

The natural history of asthma

Charles E. Reed, MD
September 2006 (Vol 118, Issue 3, Pages 543-548)

Epidemiology of asthma exacerbations

Malcolm R. Sears
October 2008 (Vol. 122, Issue 4, Pages 662-668)

2. Meccanismi

Inflammatory cells in asthma: Mechanisms and implications for therapy

Qutayba Hamid, Meri K. Tulic', Mark C. Liu, Redwan Moqbel
January 2003 (Vol. 111, Issue 1, Pages S5-S17)

Mechanisms of asthma

William W. Busse, Lanny J. Rosenwasser
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Pages S799-S804)

The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma

Mark Larché, Douglas S. Robinson, A. Barry Kay
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Pages 450-463)

Perspectives on the past decade of asthma genetics

Carole Ober
August 2005 (Vol. 116, Issue 2, Pages 274-278)

Epithelium dysfunction in asthma

Stephen T. Holgate
December 2007 (Vol. 120, Issue 6, Pages 1233-1244)

3. Eziologia e fattori scatenanti

Viral infections and asthma inception

Robert F. Lemanske
November 2004 (Vol. 114, Issue 5, Pages 1023-1026)

The epidemiology and genetics of asthma risk associated with air pollution

David B. Peden
February 2005 (Volume 115, Issue 2, Pages 213-219)

Physical activity and exercise in asthma: Relevance to etiology and treatment

Sean R. Lucas, Thomas A.E. Platts-Mills
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 928-934)

Allergy and asthma

Bruce S. Bochner, William W. Busse
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 953-959)

Mechanisms of airway hyperresponsiveness

Donald W. Cockcroft, MD, FRPC(C), Beth E. Davis, BSc
September 2006 (Vol 118, Issue 3, Pages 551-559)

4. Aspetti clinici e fenotipi

Clinical advances in adult asthma

Andrea J. Apter
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Pages S780-S784)

Advances in childhood asthma: Hygiene hypothesis, natural history, and management

Andrew H. Liu, Stanley J. Szefler
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Pages S785-S792)

Aspirin-induced asthma: Advances in pathogenesis, diagnosis, and management

Harold S. Nelson, Andrew Szczeklik, Donald D. Stevenson
May 2003 (Vol. 111, Issue 5, Pages 913-921)

Rhinitis and asthma: Evidence for respiratory system integration

Alkis Togias
June 2003 (Vol. 111, Issue 6, Pages 1171-1183)

Airway smooth muscle function in asthma and COPD

August 2004 (Vol. 114, Issue 2, Pages S1-S50)

The epidemiology of obesity and asthma

Earl S. Ford
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 897-909)

Adipose tissue, adipokines, and inflammation

Giamila Fantuzzi
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 911-919)

Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness

Stephanie A. Shore, Jeffrey J. Fredberg
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 925-927)

The asthma and obesity epidemics: The role played by the built environment—a public health perspective

Nancy Brisbon, James Plumb, Rickie Brawer, Dalton Paxman
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 1024-1028)

Obesity and pulmonary function testing

David A. Beuther, E. Rand Sutherland
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 1100-1110)

Obesity, allergy and immunology

Celine Bergeron, Louis-Philippe Boulet, Qutayba Hamid
May 2005 (Vol. 115, Issue 5, Pages 1102-1104)

Clinical and pathologic perspectives on aspirin sensitivity and asthma

Donald D. Stevenson, MDa, Andrew Szczeklik, MDb
October 2006 (Vol 118, Issue 4, Pages 773-786)

5. Diagnosi

Asthma end points and outcomes: What have we learned?

Don Bukstein, Monica Kraft, Andrew H. Liu, Stephen P. Peters
October 2006 (Vol. 118, Issue 4, Pages S1-S15)

Nitric oxide as a clinical guide for asthma management

D. Robin Taylor
February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Pages 259-262)

Severe asthma: An overview

Wendy C. Moore, MD, Stephen P. Peters, MD, PhD
March 2006(Vol 117, Issue 3, Pages 487-494)

Advances in adult and pediatric asthma

Andrea J. Apter, Stanley J. Szefer
March 2006 (Vol. 117, Issue 3, Pages 512-518)

Indoor allergens: Relevance of major allergen measurements and standardization

Ronald van Ree, PhD
February 2007 (Vol 119, Issue 2, Pages 270-277)

The role of indoor allergens in chronic allergic disease

Thomas A.E. Platts-Mills,
February 2007 (Vol 119, Issue 2, Pages 270-277)
February 2007 (Vol 119, Issue 2, Pages 297-302)

Noneosinophilic asthma: A distinct clinical and pathologic phenotype

Pranab Halder, Ian D. Pavord
May 2007 (Vol. 119, Issue 5, Pages 1043-1052)

Asthma and obesity: Common early-life influences in the inception of disease

Augusto A. Litonjua, Diane R. Gold
May 2008 (Vol. 121, Issue 5, Pages 1075-1084)

Clinical assessment of asthma progression in children and adults

Joseph D. Spahn, Ronina Covar
March 2008 (Vol. 121, Issue 3, Pages 548-557)

6. *Terapia*

NAEPP Expert Panel Report: Managing Asthma During Pregnancy: Recommendations for Pharmacologic Treatment—2004 Update

William W. Busse
January 2005 (Vol.115, Issue 1, Pages 34-46)

Challenges in asthma patient education

Michael D. Cabana, Tao T. Le
June 2005 (Volume 115, Issue 6, Pages 1225-1227)

Primary prevention of asthma and allergy

Syed Hasan Arshad
July 2005 (Vol.116, Issue 1, Pages 3-14)

Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: Implications for development of asthma prevention strategies

Patrick G. Holt, John W. Upham, Peter D. Sly
July 2005 (Vol.116, Issue 1, Pages 16-24)

Allergen avoidance in asthma: What do we do now?

George T. O'Connor
July 2005 (Vol. 116, Issue 1, Pages 26-30)

ARIA update: I—Systematic review of complementary and alternative medicine for rhinitis and asthma

Giovanni Passalacqua, Philippe J. Bousquet, Kai-Hakon Carlsen, James Kemp, Richard F. Lockey, Bodo Niggemann,
Ruby Pawankar, David Price, Jean Bousquet
May 2006 (Vol. 117, Issue 5, Pages 1054-1062)

Understanding the pathophysiology of severe asthma to generate new therapeutic opportunities

Stephen T. Holgate, John Holloway, Susan Wilson, Peter H. Howarth, Hans Michael Haitchi, Suresh Babu, Donna E. Davies
March 2006 (Vol. 117, Issue 3, Pages 496-506)

Anti-IgE: Lessons learned from effects on airway inflammation and asthma exacerbation

John V. Fahy
June 2006 (Vol. 117, Issue 6, Pages 1230-1232)

Macrolide antibiotics and asthma treatment

Sebastian L. Johnston
June 2006 (Vol. 117, Issue 6, Pages 1233-1236)

Mild persistent asthma: Is any treatment needed?

Stephen C. Lazarus
October 2006 (Vol. 118, Issue 4, Pages 805-808)

Asthma, influenza, and vaccination

W. Paul Glezen
December 2006 (Vol. 118, Issue 6, Pages 1199-1206)

Guideline-defining asthma clinical trials of the National Heart, Lung, and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network and Childhood Asthma Research and Education Network

Loren C. Denlinger, Christine A. Sorkness, Vernon M. Chinchilli, Robert F. Lemanske
January 2007 (Vol. 119, Issue 1, Pages 3-11)

Rationale for the major changes in the pharmacotherapy section of the National Asthma Education and Prevention Program guidelines

H. William Kelly
November 2007 (Vol. 120, Issue 5, Pages 989-994)

Asthma therapy and airway remodeling

Thais Mauad, Elisabeth H. Bel, Peter J. Sterk
November 2007 (Vol. 120, Issue 5, Pages 997-1009)

Targeting TNF- α : A novel therapeutic approach for asthma

Brightling C, Berry M, Amrani Y
January 2008 (Vol. 121, Issue 1, Pages 11-12)

7. Rinite e Sinusite

Rinite e sinusite rappresentano condizioni cliniche spesso associate che possono comportare una significativa morbosità e costi sanitari elevati. Possono infatti determinare sintomi sistemici e compromissione della qualità della vita e tradursi in riduzione della produttività sul lavoro e perdita di giorni di scuola. Un trattamento appropriato delle riniti e delle sinusiti può rappresentare una componente importante nella gestione di patologie coesistenti o complicanze, quali asma, congiuntivite allergica o otite media cronica. La rinite può essere causata da fattori allergici e non allergici, infettivi, ormonali, occupazionali e altri. L'individuazione dei fattori responsabili della flogosi rino-sinusale risulta indispensabile nella scelta delle opzioni terapeutiche. Rinite e sinusite possono risultare difficili da distinguere l'una dall'altra sulla base della sola anamnesi. Tuttavia, sebbene la maggior parte delle infezioni acute delle vie respiratorie superiori siano virali e non richiedano trattamento antibiotico, la persistenza dei sintomi per sette giorni o più rende più probabile una diagnosi di sinusite acuta batterica, per la quale gli antibiotici rappresentano una scelta appropriata. La diagnostica per immagini con Rx standard non è necessaria per la diagnosi di sinusite acuta non complicata; al contrario la TC risulta indicata nella valutazione di una sinusite cronica o in caso di fallimento terapeutico. Le sinusiti croniche possono riconoscere una base infettiva o non infettiva; patologie o condizioni nasali sottostanti che possono predisporre ad una sinusite cronica devono essere individuati e trattati come parte integrante della gestione terapeutica della sinusite cronica.

Riniti e sinusiti rappresentano condizioni mediche diffuse che possono comportare una significativa morbosità e costi elevati. Possono inoltre interferire sulla qualità di vita e tradursi in riduzione della produttività sul lavoro e perdita di giorni di scuola.^{1,2} Un trattamento appropriato di riniti e sinusiti può essere una componente importante nella gestione di patologie coesistenti o complicanze, quali asma, congiuntivite allergica o otite media cronica.^{1,3}

RINITE

Introduzione

Sebbene il termine "rinite" si riferisca in senso stretto ad una infiammazione della mucosa nasale, non tutte le con-

Abbreviazioni utilizzate:

ACE:	Angiotensin Converting Enzyme/Enzima che converte l'angiotensina
BID:	Due volte al dì
CD:	Cluster of differentiation/Cluster di differenziazione
CT/TAC:	Computerized Tomography/Tomografia Assiale Computerizzata:
FESS:	Functional endoscopic sinus surgery/Chirurgia endoscopica funzionale dei seni
HPA:	Hypothalamic-pituitary-adrenal axis/Asse ipotalamo-ipofisario
IgA:	Immunoglobulina A
IgE:	Immunoglobulina E
IL:	Interleukin/Interleuchina
LT:	Leukotriene/Leucotriene
MRI/RMN:	Magnetic resonance imaging/Risonanza magnetica nucleare
NANC:	Non-adrenergic, non-cholinergic system/Sistema non-adrenergico, non-colinergico
NARES:	Non-Allergic rhinitis with eosinophilia syndrome/Rinite non allergica eosinofila
NSAID/FANS:	Non-Steroidal Anti-Inflammatory drug/Farmaci antinfiammatori Non Steroidei
PGD:	Prostaglandina
QD:	Ogni giorno
TH:	T-lymphocyte helper/Linfociti T helper
VCAM:	Molecole di adesione sull'endotelio vascolare

dizioni definite come "riniti" sono caratterizzate da un'infiltrazione di cellule infiammatorie.

Più didatticamente possiamo affermare che le riniti devono considerarsi come un gruppo eterogeneo di disordini caratterizzati da uno o più dei seguenti sintomi nasali: crisi di starnuti, prurito, rinorrea e congestione nasale.

La rinite può essere causata da fattori allergici e non allergici, infettivi, ormonali, occupazionali e da altri fattori.^{1,3} La rinite allergica rappresenta la forma più comune di rinite cronica, tuttavia nel 30%- 50% dei casi la rinite non riconosce una patogenesi allergica.⁴

Traduzione italiana del testo di:

Mark S. Dykewicz

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S520-29

PATOGENESI

Anatomia e fisiologia nasale

La cavità nasale è divisa in 2 parti dal setto nasale che è composto da cartilagine più distalmente e da tessuto osseo più prossimamente. Nella cavità nasale i turbinati inferiori, medi e superiori promuovono la filtrazione dell'aria, l'umidificazione e la regolazione della temperatura. La cavità nasale e i turbinati sono rivestiti da una mucosa composta da un epitelio colonnare pseudostratificato ciliato che ricopre la membrana basale e la sottomucosa (lamina propria). In quest'ultima abbondano ghiandole sierose e sieromucose, nervi, vasi ed elementi cellulari.

L'epitelio nasale è ricoperto da un sottile strato di muco che promuove il movimento ciliare verso il nasofaringe posteriore. Le infezioni (virali o batteriche) e l'infiammazione allergica compromettendo la clearance muco-ciliare.⁵ A causa della spiccata vascolarizzazione dei tessuti nasali, modificazioni vascolari possono indurre una ostruzione nasale significativa.⁶ La vasocostrizione e la conseguente diminuzione della resistenza delle vie nasali è il risultato della stimolazione simpatica; la stimolazione parasimpatica promuove, al contrario, la secrezione ghiandolare e la congestione nasale. La mucosa nasale contiene anche nervi del sistema non adrenergico non colinergico (NANC). I neuropeptidi (quali sostanza P, neurochinine A e K e peptide correlato al gene della calcitonina) sembrano giocare un ruolo nella vasodilatazione, nella secrezione di muco e nell'essudazione di plasma, nell'infiammazione neurogena e anche nell'interazione tra fibre nervose e mast cellule, anche se l'entità del loro ruolo è incerta.^{3,7}

FORME CLINICHE

Rinite allergica

Fisiopatologia. Gli allergeni che più frequentemente causano rinite allergica sono rappresentati da proteine e glicoproteine delle particelle fecali di acari, di residui di scarafaggi, derivati epidermici, di animali, muffe. Con l'inalazione gli allergeni si depositano sulla mucosa nasale e diffondono nei tessuti.

Inoltre, le reazioni allergiche possono essere causate da sostanze chimiche a basso peso molecolare come agenti legati agli ambienti professionali o farmaci che agiscono come apteni e che, reagendo con proteine self nelle vie respiratorie, formando allergeni completi.³

Nel naso, il processo di sensibilizzazione inizia quando le cellule che presentano l'antigene (cellule dendritiche, specialmente cellule CD1+ simil-Langerhans e macrofagi) presentano gli allergeni ai linfociti T CD4+.⁸ Le cellule Th2 CD4+ così stimulate rilasciano IL-3, IL-4, IL -5, IL-13 e altre citochine che, a loro volta, inducono una cascata di eventi che promuove la produzione locale e sistemica di IgE da parte delle plasmacellule così come la chemiotassi e il reclutamento di cellule infiammatorie, la loro localizzazione, proliferazione e l'aumentata sopravvivenza nella mucosa delle vie aeree.³

Risposta allergica immediata/precoce. Entro qualche minuto dall'inalazione in individui sensibilizzati, gli allergeni sono riconosciuti dalle immunoglobuline E fissate alle mast cellule e ai basofili, con degranulazione e rilascio di mediatori preformati come istamina e triptasi e rapida generazione "de novo" di mediatori, tra cui i cisteinil-leucotrieni (LTC4, LTD4, LTE4) e la prostaglandina D2 (PGD2). I mediatori determinano essudazione di plasma dai vasi sanguigni e dilatazione capillare delle anastomosi artero-venose con conseguente edema, ristagno di sangue nei sinusoidi (principale causa di congestione nella rinite allergica) e ostruzione delle vie aeree nasali. I mediatori, inoltre, stimolano una attiva secrezione di muco da parte delle ghiandole della lamina propria e delle cellule calciformi dell'epitelio. L'istamina provoca prurito, rinorrea e starnuti, mentre altri mediatori come i leucotrieni e PDG2 hanno probabilmente il loro ruolo più importante nello sviluppo della congestione nasale.^{3,9} La stimolazione delle terminazioni nervose sensitive induce la percezione del prurito e dell'ostruzione nasale e innesca i riflessi sistemici che causano gli starnuti parossistici.¹⁰

Risposta allergica ritardata. I mediatori e le citochine rilasciate durante la fase precoce scatenano una cascata di eventi nelle successive 4-8 ore con una risposta infiammatoria chiamata tardiva. Anche se questa reazione può sembrare clinicamente simile a quella immediata, la congestione nasale rappresenta il sintomo prevalente.⁹ I mediatori e le citochine rilasciati nella fase precoce agiscono sulle cellule endoteliali post-capillari promuovendo l'espressione delle molecole di adesione sull'endotelio vascolare (VCAM) e della selectina E, che, a sua volta, promuove l'adesione di leucociti circolanti, in particolar modo eosinofili, alle cellule endoteliali. Fattori chemotattici, come l'IL-5 per gli eosinofili, promuovono l'infiltrazione superficiale della lamina propria prevalentemente da parte degli eosinofili, ma anche di qualche neutrofilo e basofilo e rari linfociti CD4+ (Th2) e macrofagi.^{3,9}

Queste cellule si attivano, rilasciano a loro volta ulteriori mediatori, che perpetuano le reazioni pro-infiammatorie della risposta immediata. Gli eosinofili predominano nelle secrezioni nasali, i linfociti CD4+ (TH) nei prelievi di biopsia nasale.¹¹

I disturbi del sonno causati dalla congestione nasale e le citochine pro-infiammatorie rilasciate dalle cellule che circolando nel sistema nervoso centrale possono provocare malessere, fatica, irritabilità, deficit neurocognitivi che spesso accompagnano la rinite allergica.¹²

Effetto "priming". La quantità di allergene necessaria a provocare una risposta immediata diventa minore quando il soggetto è sottoposto ad esposizioni ripetute, un fenomeno chiamato effetto "priming"^{1,3,13} Si pensa che l'esposizione prolungata all'allergene e le ripetute risposte infiammatorie di fase tardiva rendano la mucosa nasale progressivamente più infiammata e reattiva. Clinicamente questo può spiegare perché i pazienti possono avere un peggioramento dei sintomi quando, passata la stagione, il livello di allergeni nell'aria è diminuito. In più l'effetto "priming" degli allergeni è associato ad una iperresponsi-

vità mucosa a fattori non antigenici quali forti odori e fumo di sigaretta.

Altre forme cliniche

I sintomi classici della *rinite allergica* (starnuti, aumentata secrezione, congestione nasale, prurito) si sovrappongono frequentemente ai sintomi associati ad altre forme di rinite e a quelli conseguenti ad alterazioni anatomiche delle vie aeree superiori. Uno scolo retronasale è frequente, come frequenti possono essere anche segni e sintomi di un coinvolgimento dell'orecchio, degli occhi e della gola.

Rinite non allergica con eosinofilia

La rinite non allergica con eosinofilia (NARES) è caratterizzata da sintomi nasali perenni (in particolare congestione nasale), starnuti parossistici, profusa secrezione acquosa, prurito nasale e occasionale perdita dell'olfatto.^{1,3} Le secrezioni nasali dimostrano la presenza di eosinofili, ma i pazienti non risultano positivi ai test cutanei o alla ricerca di IgE specifiche nel siero nei confronti di allergeni inalanti. I pazienti sono tipicamente di mezza età. È stato proposto che la sindrome possa rappresentare uno stadio precoce di sensibilità all'aspirina.¹⁴

Riniti idiopatica e vasomotoria

Le *riniti non allergiche senza eosinofilia*, a volte chiamate riniti idiopatiche, si manifestano con sintomi nasali cronici non causati da processi infettivi né allergici. I sintomi sono comunque l'ostruzione nasale e/o l'aumentata secrezione, mentre gli starnuti e il prurito sono meno frequenti. Questa presentazione clinica è verosimilmente l'espressione di un gruppo eterogeneo di disordini la cui patogenesi non è completamente chiarita. Nella rinite vasomotoria i sintomi si sviluppano a seguito di condizioni ambientali quali cambi di temperatura o umidità relativa, odori intensi di profumi o detersivi, fumo passivo di sigaretta, alcool, eccitazione sessuale e stati emotivi. Questa iperreattività a stimoli non allergici si può verificare anche nella rinite allergica. Poiché non vi sono evidenze sperimentali che la rinite vasomotoria sia causata da un aumento del traffico neuronale efferente ai vasi che irrora la mucosa nasale^{1,3}, alcuni autori hanno suggerito di sostituire il termine vasomotoria con idiopatica.

Riniti ormonali

Le *riniti ormonali* possono essere causate da variazioni ormonali in gravidanza o in pubertà o dall'uso di contraccettivi o estrogeni coniugati, o da disordini tiroidei. Durante la gravidanza, congestione ed altri sintomi rinici possono frequentemente verificarsi durante il secondo mese e persistere fino al termine della gravidanza, ma generalmente scompaiono rapidamente dopo il parto. La patogenesi verosimilmente implica un ingorgo vascolare intranasale indotto dagli ormoni e una ipersecrezione mucosale. Nelle donne già sofferenti di rinite, durante la gravidanza i sintomi possono peggiorare, migliorare o rimanere invariati.^{1,3,15}

Riniti da farmaci

Le *riniti indotte da farmaci* possono essere causate sia da farmaci orali che topici. Tra quelli orali vi sono gli ACE inibitori, i beta bloccanti, vari altri agenti antiipertensivi, clorpromazina, aspirina, altri anti-infiammatori non steroidei e contraccettivi orali. L'uso di spray nasali decongestionanti alfa-adrenergici per periodi superiori a 5-7 giorni può indurre congestione nasale di rimbalzo alla sospensione.¹ Anche l'abuso di cocaina intranasale e metanfetamine può risultare in una congestione di rimbalzo e all'occasione in erosione settale e perforazione.^{1,16}

Rinite da alimenti

Gli allergeni alimentari raramente sono responsabili di rinite IgE mediata con sintomatologia esclusivamente nasale senza coinvolgimento di altri organi.^{1,17} L'etanolo nella birra, nel vino e in altre bevande alcoliche può provocare sintomi che si ritiene siano dovuti ad una vasodilatazione farmacologica.¹ La rinite gustatoria è una sindrome mediata dal sistema colinergico con abbondante secrezione acquosa che si verifica immediatamente dopo l'ingestione di cibo particolarmente caldo e speziato.¹⁸ Può verificarsi come evento distinto o accompagnarsi ad altri tipi di rinite.

Rinite atrofica. La *rinite atrofica* primaria è osservabile nei pazienti anziani che riferiscono congestione nasale e un costante cattivo odore (ozena) nel naso.^{1,19} Va comunque sottolineato che la maggior parte dei pazienti anziani è affetta da forme molto più comuni di rinite. La rinite atrofica primaria è associata ad progressiva atrofia della mucosa nasale e del periostio sottostante con allargamento delle cavità nasali che si riempiono di croste maleodoranti. È stata teorizzata una base infettiva da parte di germi anaerobi o comunque resistenti ai normali cicli antibiotici.²⁰ Riniti atrofiche secondarie possono svilupparsi da infezioni nasali croniche granulomatoose, da sinusiti croniche, a seguito di interventi chirurgici radicali o di traumi, o quale conseguenza di radioterapia.

Rinosinusiti infettive. Sono infezioni acute virali delle vie respiratorie superiori che si presentano con sintomi nasali e sistemici (febbre, mialgie, malessere). Il prurito è tipicamente assente e i sintomi risolvono entro 7-10 giorni. La diagnosi clinica differenziale con le sinusiti batteriche acute e croniche è sempre difficile (vedi la trattazione successiva sulla sinusite).

Anomalie anatomiche

Le *anomalie anatomiche* di solito si presentano con sintomatologia prevalentemente ostruttiva e con rinorrea meno evidente.

La deviazione del setto, sebbene sia per lo più asintomatica, può causare sintomi di ostruzione uni o bilaterale o favorire la comparsa di rinosinusiti ricorrenti.

Le deviazioni settali possono spesso essere diagnosticate solo sulla base di una deviazione della piramide nasale rilevata all'ispezione o in rinoscopia anteriore; per la dia-

gnosi può essere necessario l'impiego dell'endoscopia a fibre ottiche o di un'indagine TC.

Poliposi nasale

La poliposi nasale è una condizione benigna infiammatoria cronica che interessa la mucosa nasale e dei seni paranasali. Tali formazioni si rendono responsabili di ostruzione nasale indifferentemente uni o bilaterale, perdita dell'olfatto e rinorrea sieromucosa. I polipi sono infrequenti nei bambini, eccetto per quelli affetti da fibrosi cistica. I neutrofili rappresentano l'infiltrato cellulare caratteristico dei polipi, associati a fibrosi cistica.²¹ Al contrario la maggior parte dei polipi inclusi quelli associati ad asma ed ipersensibilità all'aspirina,^{3,22} è caratterizzata da ricca infiltrazione di eosinofili, dato istopatologico che spiega perché la poliposi nasale sia così sensibile al trattamento corticosteroidico. I polipi nasali sono frequentemente associati a sinusite cronica. Una poliposi nasale unilaterale può far sorgere il sospetto di una possibile neoplasia. La prevalenza di poliposi nasale nei pazienti allergici è tipicamente inferiore al 5%.^{3,23} Anche se è assunto tradizionalmente che l'allergia sia una causa di poliposi nasale, la prevalenza di allergie documentate non è aumentata nei pazienti affetti da poliposi.²⁴ La sensibilità all'aspirina e l'asma sono, al contrario, associati ad un aumentato rischio di poliposi ricorrente che richiede ripetuti approcci chirurgici, ma non all'allergia.^{3,25}

Neoplasie nasali

Altre quadri clinici con sintomatologia nasale che impongono una diagnosi differenziale sono le *neoplasie delle cavità nasali* che possono essere benigne o maligne e possono interessare qualsiasi struttura. L'angiofibroma giovanile spesso si presenta con epistassi nei maschi adolescenti, ma nella maggior parte dei tumori il sintomo prevalente è l'ostruzione. Il carcinoma naso-sinusale usualmente può presentarsi con epistassi unilaterale e dolore nasale.

Altre forme di ostruzione nasale

I bambini possono introdurre *corpi estranei* nel naso (ad esempio piccole parti di giocattoli) provocando la sensazione di cattivo odore, secrezione mucopurulenta e ostruzione nasale unilaterale con predisposizione alla sinusite. L'*ipertrofia adenoidica* nei bambini è causa di ostruzione nasale bilaterale ed è spesso associata a respirazione orale notturna e roncopatia. La *granulomatosi di Wegener* può presentarsi con disturbi naso-sinusali come rinorrea purulenta e talora erosione e perforazione settale. La sindrome di Sjogren è causa di secchezza nasale, congestione e formazione di croste. Anche la sarcoidosi può presentarsi con sintomatologia ostruttiva nasale.

DIAGNOSI

Diagnosi clinica

La completa valutazione di un paziente con rinopatia dovrebbe includere la raccolta di sintomi specifici che

infastidiscono il paziente (per esempio congestione nasale, prurito, rinorrea, starnuti), il loro pattern (intermittente, stagionale, perenne), l'identificazione dei fattori scatenanti, la risposta alla terapia, eventuali patologie coesistenti e una dettagliata anamnesi che includa le esposizioni in casa e al lavoro.¹ Il prurito nasale è suggestivo di una forma allergica. Poiché la rinite allergica è frequentemente associata alla congiuntivite, la presenza di prurito agli occhi e lacrimazione è indicativa per una rinite su base allergica. Nella maggior parte delle regioni degli Stati Uniti, gli alberi impollinano in primavera, le graminacee nella tarda primavera e nella prima estate, le erbe nella tarda estate e in autunno. Comunque in molte regioni, per esempio in alcune parti della California, il polline può causare sintomi perenni.

Allergeni perenni come acari della polvere, scarafaggi e animali domestici causano sintomi che possono variare poco da stagione a stagione, rendendo difficile distinguere una rinite allergica da una non allergica sulla base dei soli dati anamnestici.

A tale scopo nei bambini può essere importante il rilevamento di una positività all'anamnesi familiare. L'osservazione in rinoscopia anteriore con l'ausilio di uno speculo nasale o di un otoscopio consente di visualizzare il terzo anteriore delle fosse nasali, la testa dei turbinati inferiori (e talora del turbinato medio) e la porzione anteriore del setto. La somministrazione topica di un vasocostrittore agevola la visualizzazione delle fosse nasali. Tuttavia deviazioni settali, polipi e neoformazioni possono non essere evidenziate mediante tali metodiche a causa della loro mancata visualizzazione della zona posteriore e superiore delle cavità nasali. Tipicamente i pazienti affetti da rinite allergica hanno una secrezione sierosa chiara, ipertrofia dei turbinati con mucosa pallida o bluastrea. Una mucosa pallida o eritematosa può anche essere osservata in altre forme di rinite non allergica. Sia la rinite allergica che la rinite non allergica possono essere associate a "occhi lucidi", "occhiaie scure" dovute al ristagno cronico nei vasi dell'orbita e al cosiddetto "saluto allergico" caratteristico dei bambini che si sfregano il naso in su per il prurito nasale, provocando una piega orizzontale persistente sul dorso del naso.

Assieme alla rinite, il riscontro di una congiuntivite bilaterale (lieve iperemia con secrezione non purulenta) è suggestivo per allergia. I pazienti con disturbi nasali richiedono esami appropriati per patologie associate, quali sinusiti, otite media e asma.

TEST DIAGNOSTICI

La *determinazione di IgE specifiche* verso allergeni noti mediante test cutanei o test in vitro è importante per individuare specifici allergeni verso cui è possibile attuare misure di profilassi o un trattamento di immunoterapia.¹ Nelle forme perenni l'anamnesi di solito non è sufficiente per distinguere la rinite allergica da quella non allergica e i test cutanei o il dosaggio delle IgE specifiche nel siero acquistano un'importanza fondamentale.

Il *dosaggio delle IgE sieriche totale*, la *conta degli eosinofili circolanti* seppur di qualche utilità non sono indi-

cati di routine nella diagnosi di rinite dal momento che non sono né sensibili né specifici per la diagnosi di rinite allergica.¹

La *citologia nasale* è di qualche aiuto nella diagnosi differenziale tra riniti allergiche e NARES e le altre forme di rinite, quali le riniti vasomotorie o infettive, sempre che sia seguita una procedura corretta e siano utilizzati coloranti appropriati. Non esiste comunque tra gli esperti consenso unanime per l'impiego routinario della citologia nasale nella diagnosi di rinite.¹

In casi selezionati, tecniche particolari come l'*endoscopia a fibre ottiche*, la misurazione del picco di flusso inspiratorio, la *rinometria acustica* o la *rinomanometrica* possono essere di aiuto nel valutare la funzione delle vie aeree in pazienti con sintomatologia rinitica.

TERAPIA

Misure di profilassi

La prima linea di difesa è quella di evitare i fattori scatenanti, ovvero gli allergeni (polvere di casa, muffe, animali domestici, pollini, scarafaggi), gli agenti irritanti e i farmaci, misura preventiva che può effettivamente ridurre i sintomi della rinite. In particolare, i pazienti allergici alla polvere di casa dovrebbero usare dispositivi che comportano un effetto barriera all'allergene sul letto e su tutti i cuscini. L'esposizione al polline può essere ridotta tenendo chiuse le finestre, usando un condizionatore d'aria e limitando le uscite durante i periodi di maggiore pollinazione.

Terapia Farmacologica

I farmaci dovrebbero essere scelti sulla base dei sintomi del paziente e del tipo di rinite, perché i diversi farmaci hanno effetti diversi sui vari tipi di rinite e di sintomi. Nelle forme più severe può essere richiesto l'impiego di più farmaci. È raccomandato un approccio graduale fatto di step-up e step-down, dando importanza non solo al tipo di sintomi ma anche alla loro gravità e durata, considerando l'efficacia e il costo dei farmaci.¹

La mancata risposta alla terapia deve indurre al rapido ricorso ad uno specialista Allergologo/Immunologo o Otorinolaringoiatra.

Gli **antistaminici** sono particolarmente efficaci nel controllo degli starnuti, della rinorrea e del prurito nasale e oculare caratteristici della rinite allergica, ma hanno effetti meno evidenti sulla congestione nasale.^{1,3} Sono efficaci anche se assunti occasionalmente "al bisogno" per sintomi episodici, ma funzionano meglio quando somministrati regolarmente. Possono essere considerati farmaci di prima linea nel trattamento delle forme più lievi,¹ ma il loro ruolo è ridotto nel trattamento delle sindromi rinitiche non allergiche. Riducono i sintomi delle congiuntivite allergiche, che sono spesso associate alla rinite, anche se i corticosteroidi topici intranasali sono ugualmente efficaci. Gli antistaminici più vecchi di prima generazione (difendramina e clorfenidramina) possono causare sonnolenza quale effetto collaterale frequentemen-

te riferito o anche riduzione inconscia delle funzioni mentali, effetti che possono essere potenziati da altre sostanze attive sul sistema nervoso centrale quali alcool, sedativi e antidepressivi.²⁶ Per questo motivo sono stati considerati causa di incidenti d'auto mortali, della diminuzione delle prestazioni e della produttività sul lavoro e della riduzione dell'apprendimento e della performance scolastica nei bambini e nei giovani.^{1,27-29} Le molecole di prima generazione possono anche causare effetti anticolinergici come secchezza delle fauci, problemi di accomodazione visiva e ritenzione urinaria. Gli antistaminici di seconda generazione che sono associati a rischi minori (cetirizina) o a nessun rischio di effetti collaterali comparati al placebo (desloratadina, loratadina, fexofenadina), dovrebbero essere preferiti alle molecole con effetto sedativo nel trattamento della rinite allergica.¹

I **decongestionanti orali** (per es. pseudoefedrina, fenilefrina) possono ridurre in modo efficace la congestione nasale provocata dalle forme di rinite allergica e vasomotoria non allergiche.^{1,30} Possono tuttavia causare insonnia, nervosismo, perdita di appetito, ritenzione urinaria nei maschi e dovrebbero essere usati con cautela nei pazienti con patologie cardiache quali aritmie, ipertensione e nell'ipertiroidismo.

Gli **spray topici decongestionanti** (oximetazolina e fenilefrina) riducono la congestione sia nella rinite allergica che non, ma il loro uso dovrebbe limitarsi a 3-5 giorni per evitare una congestione nasale di rimbalzo (rinite medicamentosa). Nelle forme più severe, con edema nasale che impedisce la somministrazione di altri spray (es. corticosteroidi) nei meati medio e superiore, spray a base di decongestionanti possono essere usati nei primi giorni di trattamento per migliorarne la distribuzione e quindi l'efficacia. Gli effetti collaterali sistemici non sono in genere rilevanti in caso di somministrazione topica, anche se nei bambini è preferibile evitarne l'utilizzo.

I **corticosteroidi intranasali** sono la classe di farmaci più efficace per il trattamento della rinite allergica e sono particolarmente utili nelle forme più severe.¹ La loro efficacia si estende anche ad alcune forme di rinite non allergica. Gli effetti sistemici nell'adulto sono in genere trascurabili con le preparazioni attualmente in commercio.³¹ Una riduzione della crescita in altezza è stata segnalata per somministrazione prolungata fino ad un anno di beclometasone,³² ma non per numerosi altri cortisonici topici nei bambini.³³⁻³⁵ I pazienti dovrebbero essere istruiti a direzionare lo spray all'interno delle fosse nasali perpendicolarmente al setto. Comunque, anche se il paziente è correttamente istruito, possono verificarsi effetti collaterali locali quali irritazione nasale e raramente sanguinamento. Il setto nasale dovrebbe essere periodicamente esaminato allo scopo di escludere eventuali erosioni della mucosa che possono precedere la perforazione del setto nasale, evento tuttavia raramente associato all'utilizzo di steroidi per via nasale.¹

Anche se i cortisonici sono più efficaci se somministrati seguendo uno schema regolare di trattamento, alcuni studi hanno dimostrato per qualche molecola un'efficacia che si manifesta nell'arco di alcune ore; il fluticasone ad esempio, si è dimostrato efficace nel trattamento della rinite allergica anche se somministrato "al bisogno".³⁶

L'azelastina spray nasale è un **antistaminico topico** effi-

cace nel trattamento della rinite vasomotoria e allergica;^{37,38} nella rinite allergica può considerarsi quale trattamento di prima linea.¹ È efficace al pari degli antistaminici orali, ma meno dei cortisonici nasali,³⁹ in particolar modo sul sintomo ostruzione.⁴⁰ Gli effetti collaterali includono una sensazione di amaro in bocca e raramente sonnolenza.

Il **sodio nedocromile** per spray nasale è efficace sui sintomi della rinite allergica, ma non su quelli della rinite non allergica; è inoltre meno efficace degli antistaminici orali, di quelli nasali o dei corticosteroidi.^{3,41} La somministrazione ideale, 4-6 volte al giorno, dovrebbe iniziare prima dell'insorgenza dei sintomi, dal momento che possono trascorrere diverse settimane prima che si dimostri efficace nel controllo di una sintomatologia severa. È dotato di un eccellente profilo di sicurezza.

L'**ipratropium bromuro** intranasale è un agente anticolinergico efficace nel ridurre la secrezione acquosa nasale nella rinite allergica e non allergica e nelle infezioni virali delle vie aeree superiori.^{1,3} Tuttavia non svolge effetti significativi su altri sintomi nasali, così come non causa significativi effetti sistemici anticolinergici. Se la rinorrea di un paziente è provocata in maniera acuta da stimoli noti (quali cibo speziato), deve essere somministrato per la profilassi almeno 15 minuti prima dell'esposizione.

I **corticosteroidi orali** a breve azione (prednisone, metilprednisolone) sono usati per brevi cicli (es. prednisone 30 mg per 3-7 giorni negli adulti) per il trattamento di sintomi nasali molto severi o intrattabili. L'uso dei corticosteroidi parenterali non viene incoraggiato per l'elevato rischio di effetto soppressivo sull'asse ipotalamo ipofisario e per gli effetti collaterali a lungo termine.¹

Per quanto riguarda gli **antagonisti dei recettori dei leucotrieni**, è stato dimostrato che questi agenti hanno effetti benefici nelle riniti allergiche stagionali, ma i dati tutt'oggi a disposizione sono inadeguati a definirne il ruolo nella terapia.^{3,42}

È stato dimostrato che l'anticorpo monoclonale Omalizumab presenta una qualche efficacia nel trattamento della rinite allergica,⁴³ ma sono necessari ulteriori studi per confrontare la sua efficacia con altre terapie a nostra disposizione. Diversamente dalla immunoterapia allergene specifica, non ci si aspetta che l'evoluzione a lungo termine della rinite allergica sia modificata da questo tipo di trattamento.

Immunoterapia Specifica

L'immunoterapia specifica può essere altamente efficace nel controllare i sintomi della rinite allergica ed è l'unica terapia per la quale è stata dimostrata la capacità di interferire favorevolmente con la storia naturale della malattia.⁴⁴ I pazienti con rinite allergica dovrebbero essere considerati candidati per l'immunoterapia sulla base della severità dei sintomi, del fallimento o dell'inaccettabilità di altre modalità di trattamento, della presenza di condizioni di comorbidità e possibilmente con l'obiettivo di prevenire il peggioramento dei sintomi o lo sviluppo di complicanze quali rinosinusiti e asma.¹ Un miglioramento dei sintomi è riferito da circa l'80% dei pazienti

già dopo 1-2 anni di trattamento, ma le linee guida suggeriscono di continuarla per 4-5 anni. In molti pazienti gli effetti positivi perdurano per diversi anni dalla sospensione della somministrazione.

Considerazioni in Gruppi Selezionati di Pazienti

Bambini. Poiché alcune preparazioni a base di corticosteroidi possono influire, almeno temporaneamente, sulla crescita in altezza, tale parametro dovrebbe essere monitorato nei bambini trattati.

Anziani. L'allergia è causa non comune di rinite perenne in soggetti al di sopra dei 65 anni di età. Nei soggetti anziani le riniti sono dovute più frequentemente ad iperreattività colinergica che si manifesta con rinorrea profusa e acquosa che può aggravarsi con l'assunzione dei pasti (rinite gustatoria) o ad iperreattività alfa adrenergica (congestione nasale associata all'assunzione di terapia antiipertensiva) oppure a sinusite.¹ Dal momento che nelle persone anziane può essere presente un'aumentata suscettibilità agli effetti anticolinergici e a quelli sul SNC propri degli antistaminici, si raccomanda in tali pazienti l'impiego di molecole di seconda generazione prive di effetti sedativi. Anche i decongestionanti orali dovrebbero essere usati con cautela in questi pazienti a causa dei loro effetti sul SNC, sul cuore e sulla vescica.

Gravidanza. Il nedocromile sodico ha il profilo più sicuro in gravidanza. Cetirizina, clorfeniramina, loratadina sono state classificate dalla FDA nella categoria B, più favorevole della C nella quale rientrano gli altri antistaminici. La budesonide per spray nasale è in categoria B, tutti gli altri cortisonici nella C, sebbene il beclometasone dipropionato abbia l'esperienza più lunga di impiego in gravidanza. I decongestionanti orali sono da evitare nel primo trimestre a causa del rischio di gastroschisi nel neonato.⁴⁵ L'immunoterapia non dovrebbe essere iniziata né aumentata di dosaggio in gravidanza, ma può essere continuata, a dosaggio costante.

SINUSITE

Introduzione

La sinusite è definita come l'infiammazione di uno o più seni paranasali, cavità pneumatiche contenute nelle ossa dello splancnocranio rivestite da epitelio colonnare pseudostratificato ciliato e da cellule caliciformi mucipare.

La rinosinusite può essere classificata in relazione alla durata della sintomatologia in acuta (con durata inferiore alle quattro settimane), subacuta (con durata compresa tra le 4 e le 12 settimane) e cronica che per definizione dura più di 12 settimane (cui devono associarsi, secondo alcune linee guida, il fallimento del trattamento medico e la positività alla diagnostica per immagini). Può essere di origine batterica, ma frequentemente possono essere presenti altri processi a sostenerne la cronicizzazione. La rinosinusite cronica è una delle patologie croniche più comuni negli Stati Uniti.

La sinusite ricorrente è definita dal ripetersi di episodi di

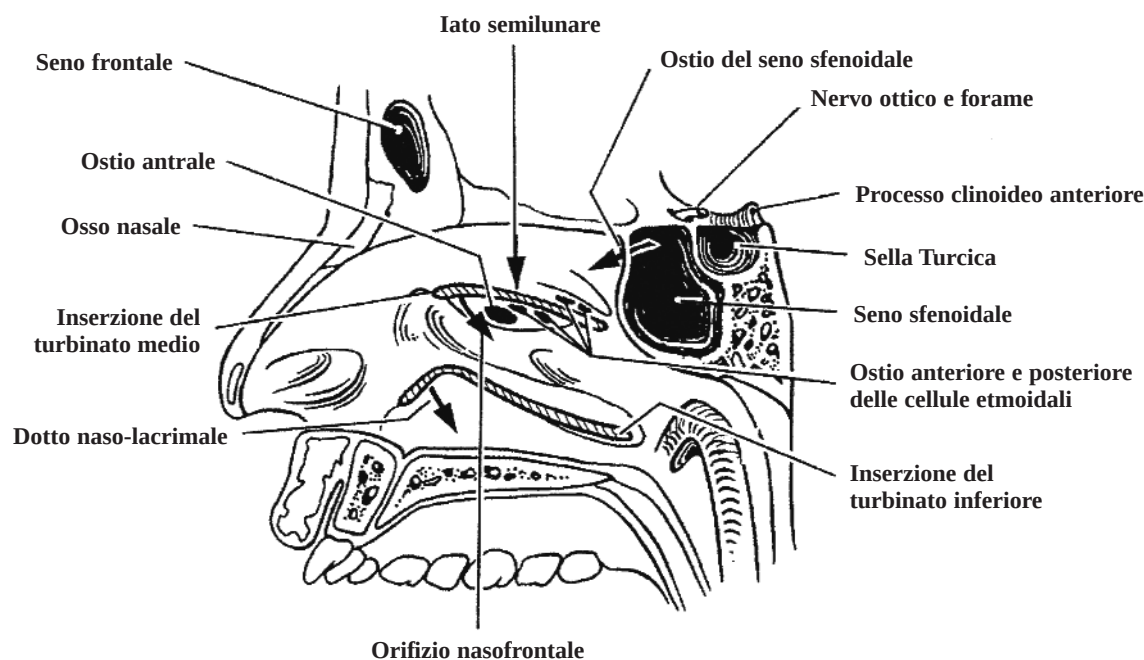


FIG 2. Parete nasale laterale e posizione dei seni e dei loro osti, in particolare dell'etmoide anteriore (da Montgomery WW. *Surgery of the Upper Respiratory System*. Philadelphia, Lea and Febiger, 1979. Con permesso di Lippincott Williams and Wilkins.)

sinusite acuta, generalmente 3 o più volte all'anno; la sinusite acuta ricorrente è spesso definita sulla base di quattro o più episodi all'anno, con una loro durata uguale o superiore a 7-10 giorni ciascuno, in assenza di segni e sintomi di rinosinusite cronica.

PATOGENESI

Anatomia e fisiologia

L'epitelio ciliato nei seni paranasali in condizioni di normalità spinge il muco verso l'ostio che comunica con la fossa nasale. Le cellule etmoidali anteriori, il seno mascellare e frontale drenano nel complesso osteo-meatale, localizzato nel meato medio (Fig. 1). I seni sfenoidali drenano nella parete posteriore del recesso sfenoetmoidale e le cellule etmoidali posteriori drenano nel meato superiore. In condizioni normali i seni paranasali hanno relativamente poche ghiandole, mentre la mucosa di un seno infiammato contiene nuove ghiandole mucose assieme a quelle patologiche.^{3,46}

Il muco visco-elastico contribuisce allo scolo retronasale.

Eziologia e fattori predisponenti

Lo sviluppo di una sinusite acuta è favorito da diversi fattori: ostruzione degli osti sinusali, alterata funzione delle ciglia, secrezioni viscosi, alterazioni del sistema immunitario dell'ospite (per esempio deficit selettivo di IgA).² L'edema mucosale, come può verificarsi nella rinite o in presenza di anomalie anatomiche (es. poliposi nasale, importante deviazione settale) che impedisce il drenaggio e la ventilazione dei seni, determina l'accumulo di

muco, la trasudazione di siero e la ridotta ossigenazione nei seni. Questi cambiamenti determinano una compromissione della clearance ciliare del muco favorendo la crescita batterica.

Il termine rinosinusite viene sempre più frequentemente utilizzato dal momento che la rinite (allergica e non) tipicamente precede il coinvolgimento della mucosa sinusale. Una sinusite senza rinite è rara, dal momento che la mucosa che riveste le fosse nasali si continua in quella dei seni paranasali e l'ostruzione nasale e la secrezione sono i sintomi più importanti nelle sinusiti. Se la sinusite acuta non si risolve, alterazioni anatomiche e funzionali persistenti dei seni possono portare allo sviluppo di una sinusite cronica.

Nelle sinusiti croniche, si verifica sviluppo di iperplasia della mucosa, solitamente accompagnato da infiltrati tessutali di eosinofili. Possono anche svilupparsi polipi. Le attuali evidenze indicano che i linfociti Th2 giocano un ruolo importante nel sostenere lo sviluppo di queste patologie. La comune associazione fra rinosinusite ed asma suggerisce che una patogenesi comune possa promuovere la formazione di infiltrati eosinofili nelle vie aeree superiori e inferiori.²

Microbiologia della sinusite acuta, ricorrente e cronica

La maggior parte dei casi di rinosinusite infettiva di durata inferiore a sette giorni è sostenuta da agenti virali.^{2,47,48} I batteri responsabili della maggior parte delle sovrainfezioni acute sono lo *Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae* e, soprattutto nei bambini, la *Moraxella Catarrhalis*.⁴⁹ Nelle forme croniche possono essere coinvolti gli stessi microrganismi e altri quali lo *Pseudomonas Aeruginosa*, *Streptococchi* di gruppo A, lo

Stafilococco Aureus. L'importanza degli anaerobi della specie *Bacteroides*, *Fusobacteria* e *P. acnes* è stata recentemente messa in discussione. Anche le infezioni fungine possono essere causa di sinusite cronica, tuttavia sembra che le più comuni infezioni responsabili di sinusite cronica siano quelle batteriche. Le infezioni fungine si verificano più spesso nei pazienti affetti da diabete mellito o immunocompromessi e in aree geografiche ad elevata umidità. Le infezioni fungine sinusali possono essere non invasive, invasive o determinare la presenza della cosiddetta "palla fungina". Un'entità nosologica a sé stante è rappresentata dalla sinusite allergica fungina che si verifica in pazienti non immunocompromessi ed è legata ad una reazione da ipersensibilità a funghi come l'*Aspergillus*, che colonizzano i seni paranasali.⁵⁰

DIAGNOSI

Le sinusiti si presentano clinicamente in maniera altamente variabile e spesso è difficile distinguerle dalla rinite. Nessun sintomo o segno è in grado di far porre la diagnosi se considerato isolatamente. Tuttavia, la presentazione globale dell'anamnesi e dei segni fisici è solitamente sufficiente per fare diagnosi di sinusite acuta non complicata. I test diagnostici diventano importanti quando la terapia iniziale fallisce o quando i sintomi diventano cronici o ricorrenti.

Anamnesi

Le sinusiti acute batteriche negli adulti si presentano clinicamente con persistenza per più di sette giorni di rinorrea purulenta, congestione nasale, scolo retro-nasale, dolore o sensazione di peso facciale o dentale, tosse più frequentemente notturna.^{2,47} I sintomi più comuni nei bambini sono la tosse e la rinorrea.^{2,48} Sintomi meno frequenti di sinusite acuta in tutti i gruppi di età possono includere febbre, nausea, fatica, anosmia, alitosi. La rinosinusite cronica può causare sintomi che persistono per mesi o anni e in genere sono meno intensi di quelli della rinosinusite acuta. L'ostruzione e lo scolo retronasale devono essere considerati sintomi maggiori di rinosinusite cronica. Anche la tosse cronica (specialmente durante la notte o al risveglio la mattina) è un sintomo comune di rinosinusite cronica. I segni clinici di sinusite possono essere subdoli eccetto che durante gli episodi acuti.

Segni fisici

I segni caratteristici della sinusite sono l'edema della mucosa nasale, la sensibilità del seno (sebbene questo riscontro non sia né sensibile, né specifico) e la presenza di secrezioni nasali purulente. Tra i segni fisici, la presenza di secrezione purulenta ha il più alto valore predittivo positivo. Il naso dovrebbe essere esaminato per verificare la presenza di un'eventuale deviazione settale, di polipi nasali, corpi estranei, tumori. La sensibilità dei denti dell'arcata mascellare è suggestiva per una sinusite mascellare. Orecchie e torace dovrebbero essere esaminate per ricercare eventuali segni di concomitanti otite media e asma.²

Segni clinici che suggeriscono il ricorso ad un esame immediato

Il gonfiore facciale localizzato in corrispondenza di un seno, la proptosi, anormali movimenti extraoculari, cambiamenti del visus, l'edema periorbitale, sintomi neurologici (es. cambiamenti dello stato mentale) possono indicare complicanze intracraniche di sinusiti acute (ascesso cerebrale, periorbitale, meningite) e dovrebbero sollecitare un rapido consulto chirurgico.² Cefalea ed iperpiressia sono altri fenomeni che possono richiedere esami immediati.

Studi di imaging

Studi radiologici effettuati nei primi giorni d'esordio dei sintomi di rinosinusite acuta possono indurre alla conclusione errata di infezione batterica. Più del 40% delle radiografie dei seni e più dell'80% delle TC può essere anormale nelle rinosinusiti virali se effettuate nei sette giorni iniziali di malattia.⁵¹ Pertanto in caso di sospetta sinusite acuta batterica, la diagnostica per immagini non è richiesta di routine.^{2,47,48} Essa diventa appropriata quando i sintomi persistono come nella sinusite cronica o in caso di risposta incompleta al trattamento iniziale. I segni radiologici di sinusite acuta sono rappresentati da opacizzazione/presenza di livelli idroaerei in un qualsiasi seno, ispessimento della mucosa dei seni mascellari > 6 mm, una perdita del volume d'aria dei seni mascellari maggiore del 33%.² Anche se la proiezione di Caldwell (antero-posteriore) è utile nell'identificazione di sinusite frontale e quella di Waters è di moderata sensibilità per l'identificazione di sinusiti mascellari, esse sono meno utili per identificare le patologie di altri seni e hanno uno scarso valore nell'identificare le sinusiti etmoidali che sono di importanza fondamentale in molti casi di sinusite cronica.

La TC può individuare una patologia non dimostrata da radiografie standard ed è di particolare valore nello stimare l'ostruzione degli osti dei seni. È appropriata quando la terapia medica fallisce, per stabilire la diagnosi in casi equivoci di sinusite cronica prima di iniziare la terapia antibiotica a lungo termine. In alcuni centri una TC coronale limitata a 4-5 immagini può essere effettuata a un costo solo marginalmente più alto delle radiografie standard. Una scansione TC completa dei seni paranasali ne definisce compiutamente l'anatomia ed è prerequisito indispensabile per la chirurgia. Un sospetto coinvolgimento orbitale viene meglio identificato da una proiezione assiale.

Qualora si sospettino sinusiti fungine o tumori, è preferibile eseguire una risonanza magnetica, la quale non è in grado di distinguere l'aria dall'osso. Poiché l'esame dell'interfaccia aria-osso è importante per la valutazione di difetti anatomici, la risonanza magnetica non è usata di routine nella valutazione di sospetta sinusite.

Altri test diagnostici

L'identificazione di un grande numero di neutrofili nelle secrezioni nasali tramite citologia nasale può aiutare a differenziare una rinite da una sinusite infettiva.² La transilluminazione non è attendibile nella diagnosi di sinusite.

Considerazioni di diagnosi differenziale

Distinguere la rinite dalla sinusite può essere un dilemma, sebbene altre patologie si associno o predispongano alla sinusite (Tabella 1).

Cefalea migrante e fibromialgia sono condizioni relativamente comuni da tenere in considerazione nella diagnosi differenziale con la sinusite cronica. In presenza di infezioni ricorrenti o croniche sia delle vie aeree superiori che inferiori, si deve infine verificare l'esistenza di una immunodeficienza.

TERAPIA

Trattamento iniziale della sinusite

Quando i sintomi suggestivi di rinosinusite persistono da circa sette giorni, l'ipotesi di una rinosinusite batterica diventa più probabile. L'uso di antibiotici è appropriato quando sono presenti sintomi da moderati a severi, anche se la maggior parte dei casi di rinosinusite acuta batterica lieve si risolve senza la necessità di prescrivere antibiotici. In uno studio che confronta la terapia antibiotica con il placebo nel trattamento di bambini con diagnosi clinica e radiografica di sinusite batterica acuta, i bambini trattati guarivano più rapidamente e più spesso di quelli a cui era stato somministrato il placebo.⁵² Al terzo giorno di trattamento, l'83% dei bambini che avevano ricevuto gli antibiotici erano guariti o erano migliorati rispetto al 51% dei bambini del gruppo placebo. Al decimo giorno di trattamento, il 79% dei bambini trattati con antibiotici erano guariti o migliorati rispetto al 60% dei bambini che avevano ricevuto il placebo.

Antibiotici

Quando gli antibiotici sono usati per la sinusite acuta, viene tipicamente prescritto un trattamento di 10-14 giorni. La scelta degli antibiotici dovrebbe tenere in considerazione i costi, gli effetti collaterali e il pattern di resistenza locale del batterio.

In molte aree geografiche l'amoxicillina è l'antibiotico di prima linea. Anche se il trimethoprim-sulfametossazolo e, nei bambini, l'eritromicina-sulfisoxazolo sono stati tradizionalmente usati come antibiotici di prima linea nelle sinusiti batteriche acute, studi di sorveglianza indicano lo sviluppo di una significativa resistenza dello pneumococco per alterazioni delle proteine che legano la penicillina.^{53,54} Attualmente circa il 50% di *Haemophilus* e il 100% di *M. Catarrhalis* sono produttori di beta-lattamasi in tutti gli Stati Uniti.^{55,56} In qualche area è stata riscontrata una resistenza di più del 20-30% dei batteri isolati. L'eritromicina da sola provvede a coprire in maniera insoddisfacente la sinusite, anche se i macrolidi come claritromicina e azitromicina hanno aumentato la copertura e sono efficaci contro gli organismi che producono beta-lattamasi. Quando gli agenti di prima linea hanno fallito o c'è un'alta prevalenza di resistenza, l'amoxicillina con acido clavulanico o le cefalosporine di seconda o terza generazione (cefuroxima, cefpodoxime, cefprozil) forniscono

TABELLA I. Condizioni associate o predisponenti alla sinusite

Rinite (allergica e non allergica)
Infezioni virali delle alte vie respiratorie
Asma
Trauma fisico o chimico, barotrauma
Ostruzione anatomica: poliposi nasale, deviazione settale, iperplasia adenoidea, concha bullosa (turbinato medio areato), corpo estraneo
Labbro leporino
Infezione dentaria
Patologia sistemica (rara): fibrosi cistica, discinesia ciliare, granulomatosi di Wegener, deficienza anticorpale

una copertura più ampia. Queste molecole sono disponibili come sospensioni che possono essere facilmente impiegate nei bambini. Le linee guida dell'Accademia Americana di Pediatria⁴⁸ raccomandano per le sinusiti moderate e severe di iniziare la terapia con una dose alta di amoxicillina/acido clavulanico (80-90 mg /Kg/die di amoxicillina con 6,4 mg/Kg/die di acido clavulanico diviso in 2 dosi), se il bambino è stato recentemente trattato con un altro antibiotico o frequenta l'asilo nido.

Le cefalosporine di prima generazione (es. cefalexina) sono poco efficaci nei confronti dell'*Haemophilus influenzae*, e, sebbene quelle di seconda generazione (es. cefaclor) risultano più efficaci, non va dimenticato che la resistenza di *Haemophilus* e *Moraxella catarrhalis* è in continuo aumento.

Negli adulti, molti chinolonici (es. ciprofloxacina, gatifloxacina, levofloxacina, moxifloxacina) hanno specifiche indicazioni per il trattamento della sinusite, ma dovrebbero essere impiegati quali farmaci di seconda e terza linea oppure per infezioni gravi.²

Il parere degli esperti è che la sinusite cronica debba essere trattata con antibiotici per 3 o più settimane, sebbene siano stati al momento pubblicati pochi studi controllati.²

Altri farmaci

Il trattamento completo della rinosinusite batterica può richiedere l'uso di antibiotici, analgesici, una idratazione adeguata, inalazioni di vapori e altre misure farmacologiche intese a trattare le patologie sottostanti, quali la rinite allergica, e a ripristinare la pervietà degli osti.

A breve termine (3-5 giorni) possono essere utilizzati decongestionanti topici e per via orale nella sinusite acuta e cronica per ridurre l'edema dei turbinati e della mucosa che può compromettere la pervietà. Anche se ci sono pochi studi controllati, gli antistaminici di seconda generazione sono d'aiuto nella terapia quando è presente una concomitante rinite allergica.

Si suggerisce di evitare antistaminici di prima generazione a causa dei loro potenziali effetti anticolinergici e sulla clearance del muco, anche se non ci sono studi controllati che abbiano dimostrato risultati clinici meno favorevoli derivanti dal loro uso.

Si ritiene che i glucocorticosteroidi per via nasale siano potenzialmente efficaci aggiunti all'antibioticoterapia, sebbene i dati disponibili non abbiano dimostrato inequivocabilmente la loro efficacia.⁵⁷⁻⁶⁰ L'uso a breve termi-

ne di corticosteroidi orali come aggiunta nel trattamento delle sinusiti acute è considerato ragionevole quando il paziente abbia polipi nasali o un edema severo della mucosa, anche se l'efficacia non è stata ancora provata in studi controllati. L'utilizzo di soluzione salina o di irrigazione è raccomandabile per sciogliere le secrezioni. Anche se non ci sono studi controllati che ne dimostrino l'efficacia, un'elevata dose di guaifenesina (1200 mg BID) è stata usata empiricamente nel tentativo di diluire le secrezioni respiratorie più resistenti e di promuovere il drenaggio del muco dai seni.

Quando la terapia iniziale fallisce

Se la sinusite acuta non migliora dopo alcuni giorni di trattamento, dovrebbe essere considerata la prescrizione di un antibiotico alternativo per altre settimane.² Se la sinusite è ancora refrattaria al trattamento, è indicata l'effettuazione di una TC per confermarne la presenza e determinare se vi siano alterazioni anatomiche predisponenti. La valutazione specialistica è appropriata in caso di sinusite refrattaria al trattamento o ricorrente. Poiché la sinusite cronica è associata alla rinite allergica nel 40-80% degli adulti e nel 30-60% dei bambini, i pazienti con sinusite cronica dovrebbero essere sottoposti a test allergologici in modo da adottare misure appropriate di prevenzione e trattamento.²

Una visita specialistica è importante anche per identificare altre patologie che possono complicare la valutazione e la gestione, quali asma, poliposi nasale, sinusite allergica fungina, otite media cronica, immunodeficienze, sensibilità multiple agli antibiotici.

Nei pazienti con ipersensibilità all'aspirina e con disturbi iperplastici dei seni, è stato dimostrato che la desensibilizzazione all'aspirina migliora i risultati a lungo termine.

L'endoscopia a fibre ottiche può rilevare la presenza e l'estensione di polipi nasali, deviazioni settali o secrezioni mucopurulente.

Nelle sinusiti refrattarie rivolgersi ad un otorinolaringoiatra per una coltura tramite aspirazione dal seno può essere utile per una scelta mirata dell'antibiotico. Nei bambini non ci sono dati che hanno correlato il risultato di colture di aspirati dal meato medio con quelli di colture del seno mascellare.⁶¹ Se la sinusite non risponde al trattamento medico dovrebbe essere preso in considerazione l'intervento chirurgico. La chirurgia endoscopica funzionale del seno (FESS) ha soppiantato le tecniche chirurgiche più vecchie.⁶² La FESS è tipicamente diretta a rimuovere la mucosa etmoidale patologica (importante nello sviluppo di sinusiti frontali e mascellari) per aumentare la ventilazione e il drenaggio dei seni più ampi.

BIBLIOGRAFIA

1. Dykewicz, MS, Fineman S, Skoner DP, Nicklas R, Lee R, Blessing-Moore J, et al. Diagnosis and management of rhinitis: Complete guidelines of the Joint Task Force on Practice Parameters in Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:478-518.
2. Spector SL, Bernstein IL, Li JT, Berger WE, Kaliner MA, Schuller DE, et al. Parameters for the diagnosis and management of sinusitis: IV complete guidelines and references. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:S117-44.
3. Bousquet J, van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on Asthma: ARIA workshop report. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:S147-334.
4. Settipane RA, Lieberman P. Update on nonallergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;86:494-507.
5. Eccles R. Rhinitis as a mechanism of respiratory defense. *Eur Arch Otorhinolaryngol Suppl* 1995;1:S2-7.
6. Holmberg K, Bake B, Pipkorn U. Nasal mucosal blood flow after intranasal allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:541-7.
7. Bertrand C, Geppetti P. Tachykinin and kinin receptor antagonists: therapeutic perspectives in allergic airway disease. *Trends Pharmacol Sci* 1996;17:255-9.
8. Godthelp T, Fokkens WJ, Kleinjan A, Holm AF, Mulder PG, Prens EP, et al. Antigen presenting cells in the nasal mucosa of patients with allergic rhinitis during allergen provocation. *Clin Exp Allergy* 1996;26:677-88.
9. Naclerio RM. Allergic rhinitis. *N Engl J Med* 1991;325:860-9.
10. Gerth-van-Wijk R. Nasal hyperreactivity: its pathogenesis and clinical significance. *Clin Exp Allergy* 1991;21:661-7.
11. Lim MC, Taylor RM, Naclerio RM. The histology of allergic rhinitis and its comparison to nasal lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:136-44.
12. Craig TJ, Teets S, Lehman EB, Chinchilli VM, Zwillich C. Nasal congestion secondary to allergic rhinitis as a cause for sleep disturbance and daytime fatigue and the response to topical nasal corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:633-7.
13. Connell J. Quantitative intranasal pollen challenges. II. Effect of daily pollen challenge, environmental pollen exposure and placebo challenge on the nasal membrane. *J Allergy* 1968;41:123-9.
14. Moneret-Vautrin DA, Shieh V, Wayoff M. Non-allergic rhinitis with eosinophilia syndrome (NARES): a precursor of the triad. *Ann Allergy* 1990;64:513-8.
15. Incaudo GA, Schatz M. Rhinosinusitis associated with endocrine conditions: hypothyroidism and pregnancy. In: Schatz M, Zeigler RS, Settipane GA, editors. *Nasal manifestations of systemic diseases*. Providence (RI): Oceanside; 1991.
16. Dax EM. Drug dependence in the differential diagnosis of allergic respiratory disease. *Ann Allergy* 1990;64:261-3.
17. Bousquet J, Metcalfe D, Warner J. Food allergy. Report of the Codex Alimentarius. *ACI International* 1997;9:10-21.
18. Raphael GD, Hauptschein-Raphael M, Kaliner M. Gustatory rhinitis: a syndrome of food-induced rhinorrhea. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:110-5.
19. Zohar Y, Talmi YP, Strauss M, Finkelstein Y, Shvilli Y. Ozaena revisited. *J Otolaryngol* 1990;345-9.
20. Goodman WS, De Souza FM. Atrophic rhinitis. *Otolaryngol Clin North Am* 1973;6:773-82.
21. Rowe-Jones JM, Shembekar M, Trendell-Smith N, Mackay IS. Polypoidal rhinosinusitis in cystic fibrosis: a clinical and histopathological study. *Clin Otolaryngol* 1997;22:167-71.
22. Moloney JR. Nasal polyps, nasal polypectomy, asthma, and aspirin sensitivity. Their association in 445 cases of nasal polyps. *J Laryngol Otol* 1977;91:837-46.
23. Settipane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1977;59:17-21.

24. Wong D, Dolovich J. Blood eosinophilia and nasal polyps. *Am J Rhinol* 1992;6:195-8.
25. Drake-Lee A. Nasal polyps. In: Mackay I, editor. *Rhinitis: mechanisms and management*. London: Royal Society of Medicine; 1989. p. 141-52.
26. Burns M, Moskowitz H. Effects of diphenhydramine and alcohol on skills performance. *Eur J Clin Pharmacol* 1980;17:259-66.
27. Cimbura G, Lucas DM, Bennett RC, Warren RA, Simpson HM. Incidence and toxicological aspects of drugs detected in 484 fatally injured drivers and pedestrians in Ontario. *J Forensic Sci* 1982;27:855-67.
28. Walsh JK, Muehlbach MJ, Schweitzer PK. Simulated assembly line performance following ingestion of cetirizine or hydroxyzine. *Ann Allergy* 1992;69:195-200.
29. Simons FER, Reggin JD, Roberts JR, Simons KJ. Benefit/risk ratio of the antihistamines (H1 receptor antagonists) terfenadine and chlorpheniramine in children. *J Pediatr* 1994;124:979-83.
30. Malm L. Pharmacological background to decongesting and anti-inflammatory treatment of rhinitis and sinusitis. *Acta Otolaryngol Suppl* 1994;515:53-5; discussion 55-6.
31. Wilson AM, Sims EJ, McFarlane LC, Lipworth BJ. Effects of intranasal corticosteroids on adrenal, bone, and blood markers of systemic activity in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:598-604.
32. Skoner D, Rachelefsky G, Meltzer E, Chervinsky P, Morris R, Seltzer J, et al. Detection of growth suppression in children during treatment with intranasal bclomethasone dipropionate. *Pediatrics* 2000;105:E23.
33. Agertoft L, Pedersen S. Short-term lower leg growth rate in children with rhinitis treated with intranasal mometasone furoate and budesonide. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:948-52.
34. Schenkel E, Skoner D, Bronsky E, Miller S, Pearlman D, Rooklin A, et al. Absence of growth retardation in children with perennial allergic rhinitis following 1 year treatment with mometasone furoate aqueous nasal spray. *Pediatrics* 2000;101:E22.
35. Grossman J, Banov C, Bronsky EA, Nathan RA, Pearlman D, Winder JA, et al. Fluticasone propionate aqueous nasal spray is safe and effective for children with seasonal allergic rhinitis. *Pediatrics* 1993;92:594-9.
36. Jen A, Baroody F, de Tineo M, Haney L, Blair C, Naclerio R. As-needed use of fluticasone propionate nasal spray reduced symptoms of seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:732-8.
37. Storms WW, Pearlman DS, Chervinsky P, Grossman J, Halverson PC, Freitag JJ, et al. Effectiveness of azelastine nasal solution in seasonal allergic rhinitis. *Ear Nose Throat J* 1994;73:382-6.
38. Banov CH, Lieberman P. Vasomotor Rhinitis Study Groups. Efficacy of azelastine nasal spray in the treatment of vasomotor (perennial nonallergic) rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;86:28-35.
39. Newson-Smith G, Powell M, Baehre M, Garnham SP, MacMahon MT. A placebo controlled study comparing the efficacy of intranasal azelastine and bclomethasone in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254:236-41.
40. Stern MA, Wade AG, Ridout SM, Cambell LM. Nasal budesonide offers superior symptom relief in perennial allergic rhinitis in comparison to nasal azelastine. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:354-8.
41. Bousquet J, Chanal I, Alquie MC, Charpin D, Didier A, Germouty J, et al. Prevention of pollen rhinitis symptoms: comparison of fluticasone propionate aqueous nasal spray and disodium cromoglycate aqueous nasal spray. A multicenter, double-blind, double-dummy, parallel-group study. *Allergy* 1993;48:327-33.
42. Meltzer E, Malmstrom K, Lu S, Brenner B, Wei L, Weinstein S, et al. Concomitant montelukast and loratadine as treatment for seasonal allergic rhinitis: placebo-controlled clinical trial. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:917-22.
43. Casale TB, Bernstein IL, Busse WW, LaForce CF, Tinkelman DG, Stoltz RR, et al. Use of an anti-IgE humanized monoclonal antibody in ragweed-induced allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:110-21.
44. Ross RN, Nelson HS, Finegold I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis: an analysis of randomized, prospective, single- or double-blind, placebo-controlled studies. *Clin Ther* 2000;22:342-50.
45. Torfs CP, Katz EA, Bateson TF, Lam PK, Curry CJ. Maternal medications and environmental exposures as risk factors for gastroschisis. *Teratology* 1996;54:84-92.
46. Tos M. Distribution of mucus producing elements in the respiratory tract. Differences between upper and lower airway. *Eur J Respir Dis Suppl* 1983;128:269-79.
47. American College of Physicians-American Society of Internal Medicine. Principles of appropriate antibiotic use for acute sinusitis in adults. *Ann Intern Med* 2001;134:495-7.
48. Subcommittee on Management of Sinusitis, Committee on Quality Improvement, American Academy of Pediatrics. Clinical practice guideline: Management of sinusitis. *Pediatrics* 2001;108:798-808.
49. Author. The microbiology and management of acute and chronic rhinosinusitis. *Curr Infect Dis Rep* 2001;3:209-16.
50. deShazo RD, Swain RE. Diagnostic criteria for allergic fungal sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:24-35.
51. Gwaltney JM Jr, Philips CD, Miller RD, Riker DK. Computed tomographic study of the common cold. *N Engl J Med* 1994;330:25-30.
52. Wald ER, Chiponis D, Ledesma-Medina J. Comparative effectiveness of amoxicillin and amoxicillin-clavulanate potassium in acute paranasal sinus infections in children: a double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics* 1986;77:795-800.
53. Jacobs MR, Bajaksouzian S, Zilles A, Lin G, Pankuch GA, Appelbaum PC. Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to 10 oral antimicrobial agents based on pharmacodynamic parameters: 1997 US Surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1901-8.
54. Doern GV, Pfaller MA, Kugler K, Freeman J, Jones RN. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North American: 1997 results from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Clin Infect Dis* 1998;27:764-70.
55. Doern GV, Brueggemann AB, Pierce G, Holley HP, Rauch A. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Haemophilus influenzae* in the United States in 1994 and 1995 and detection of beta-lactamase-positive strains resistant to amoxicillin-clavulanate; results of a national multicenter surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:292-7.
56. Doern GV, Jones RN, Pfaller MA, Kugler K. *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* from patients with community-acquired respiratory tract infections: antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:385-9.

57. Barlan IB, Erkan E, Bakir M, Berrak S, Basaran MM. Intranasal budesonide spray as an adjunct to oral antibiotic therapy for acute sinusitis in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:598-601.
58. Meltzer EO, Orgel HA, Backhaus JW, Busse WW, Druce HM, Metzger WJ, et al. Intranasal flunisolide spray as an adjunct to oral antibiotic therapy for sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:812-23.
59. Dolor RJ, Witsell DL, Hellkamp AS, Williams JW Jr, Califf RM, Simel DL, et al. Comparison of cefuroxime with or without intranasal fluticasone for the treatment of rhinosinusitis. The CAFFS Trial: a randomised controlled trial. *JAMA* 2001;286:3097-105.
60. Starke PR, Chowdhury BA. Efficacy of intranasal corticosteroids for acute sinusitis [letter]. *JAMA* 2002;287:1261-2.
61. Gordts F, Abu Nasser I, Clement PA, Pierard D, Kaufman L. Bacteriology of the middle meatus in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999;48:163-7.
62. Kennedy DW, Zinreich SJ, Rosenbaum AE, Johns ME. Functional endoscopic sinus surgery; theory and diagnostic evaluation. *Arch Otolaryngol* 1985;111:576-82.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

L'acquisizione più significativa emersa in questi ultimi anni sulla rinite allergica riguarda la pubblicazione di linee guida internazionali ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) e diffuse in Italia dal progetto LIBRA (www.whiar.org; www.progettolibra.org). Tale documento, basato sull'evidenza, sottolinea in particolare i seguenti aspetti innovativi:

- sostituisce la precedente distinzione in forme stagionali e perenni con una nuova classificazione in forme intermittenti e persistenti (Fig. 1);
- sulla base di dati epidemiologici, immunologici e funzionali, sottolinea la stretta correlazione tra vie aree superiori e inferiori, configurando un nuovo approccio terapeutico integrato nella rinite e nell'asma;
- sulla base di numerosi studi clinici controllati introduce, come per l'asma, una gradualità nell'intervento terapeutico in relazione alla gravità della sintomatologia rinica (Fig. 2).

Studi recenti eseguiti con un'analoga metodologia in Europa e negli Stati Uniti documentano percentuali di prevalenza ugualmente elevate e un costante aumento sia per le forme intermittenti sia per quelle persistenti. Esiste tuttavia una differente prevalenza relativa dei singoli allergeni in relazione al differente quadro aerobiologico sia tra Stati Uniti e Europa sia tra i vari paesi europei.

Per quanto riguarda la terapia, le linee guida ARIA documentano una sicura evidenza sperimentale sia nell'adulto che nel bambino per tutte le classi farmacologiche utilizzabili nel trattamento della rinite (Fig. 2).

Può essere peraltro rilevato che:

- nell'ambito degli antistaminici devono essere privilegiati, per la maggiore sicurezza, quelli di ultima generazione già citati nel capitolo (Cetirizina, Loradatina, Desloradatina e Fexofenadina); a questi si sono aggiunte nuove molecole quali Levocetizina ed Ebastina. È tutt'ora oggetto di studio se la somministrazione di tipo continuo possa rappresentare un'opzione terapeutica preferibile rispetto alla somministrazione al bisogno;
- gli antileucotrieni possono essere particolarmente indicati nelle forme, molto frequenti, di associazione tra rinite e asma allergico;
- gli steroidi nasali possono agire nelle forme di rinocongintivite allergica senza interessamento corneale, anche sui sintomi oculari senza effetti collaterali di tipo sistemico o

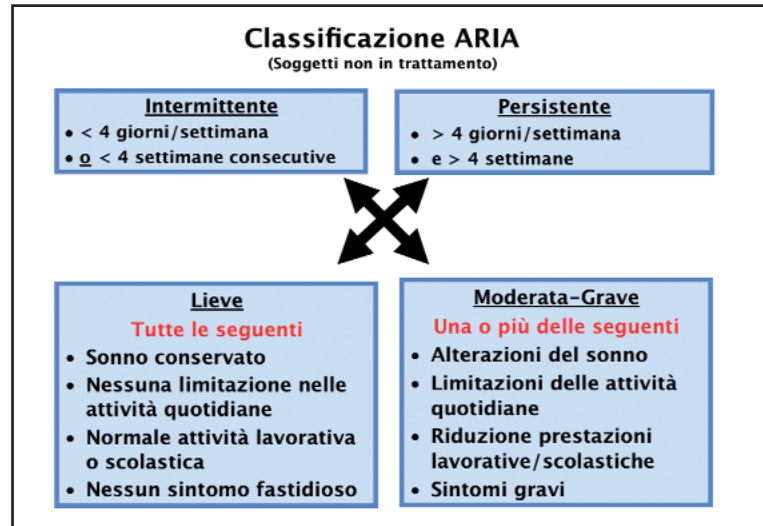


FIG. 1

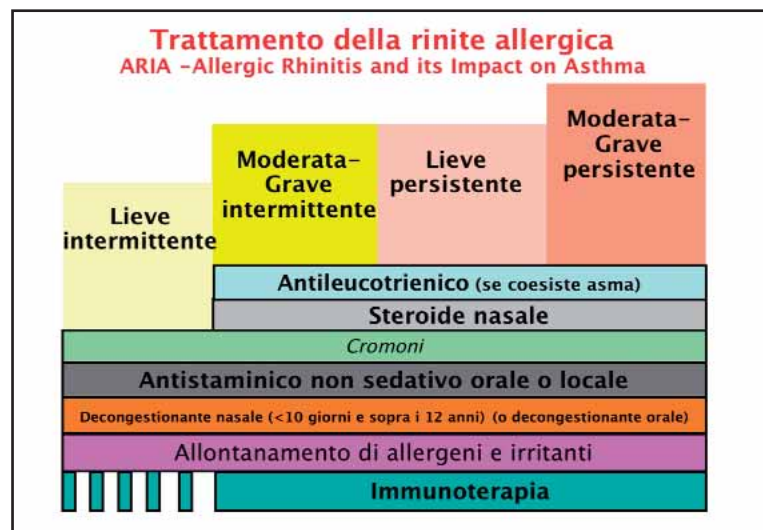


FIG. 2

ARIA: Gli aggiornamenti disponibili

ARGOMENTO	RESPONSABILE	PUBBLICAZIONE
- Farmacoterapia	J. Bousquet	Allergy, 2006; 61: 1086
- Controllo ambientale	A. Custovic	Allergy 2005; 60: 524
- Medicine alternative	G. Passalacqua	JACI 2006; 117: 1054
- Ruolo delle IgE	J. Bousquet	Allergy 2006; 61: 1086
- ARIA in athletes	S. Bonini	Allergy 2006; 61: 681
- Immunoterapia	G. Passalacqua S. Durham	JACI 2007; 119: 881
- Asma e rinite	A. Cruz	Allergy, 2007; 62: 1
- Documento ARIA 08	J. Bousquet	Allergy 2008; 63 (suppl 83)

FIG. 3

oculare, in relazione alla scarsa biodisponibilità soprattutto delle molecole di più recente introduzione (Fluticasone furoato e mometasone furoato);

- l'immunoterapia specifica, oltre alla documentata efficacia clinica sulla sintomatologia rinocongiuntivale sembra in grado di interferire sulla storia naturale della malattia, prevenendo l'insorgenza di asma.

Sono peraltro auspicabili ulteriori studi controllati randomizzati di tipo prospettico sia per l'immunoterapia sottocutanea sia per quella sublinguale.

Le linee Guida ARIA, successivamente integrate da documenti su aspetti specifici (Fig. 3), sono state di recente aggiornate anche sulla base di nuovi criteri per la valutazione dell'evidenza scientifica e della forza delle raccomandazioni conseguenti.

La correlazione etiopatogenetica esistente tra le patologie del naso e quelle dei seni paranasali che coinvolgono le fosse nasali ha comportato la necessità di una definizione più corretta per indicare queste forme infiammatorie che coinvolgono contemporaneamente naso e seni paranasali. Il termine sinusite è oggi pertanto sostituito dal termine rino-sinusite indicando così il contemporaneo coinvolgimento di naso e seni paranasali. Fanno eccezione le forme secondarie a patologia odontogena con interessamento esclusivo di uno o entrambe i seni mascellari, le forme post-traumatiche nelle quali l'episodio infettivo è secondario e limitato alla area traumatizzata, e le forme infettive secondarie a patologia neoplastica di un seno paranasale.

La classificazione in forme acute, acute ricorrenti, croniche e esacerbazioni acute di rinosinusite cronica, non considera la severità della patologia; inoltre il lungo intervallo temporale di 12 settimane che definisce la rinosinusite cronica, non consente di discriminare tra rinosinusiti ricorrenti e forme croniche con o senza esacerbazioni. Recentemente si è pertanto pensato di definire temporalmente la rinosinusite in forme acute (<12 settimane) con completa risoluzione dei sintomi e croniche (>12 settimane) in assenza di completa risoluzione dei sintomi.

Sulla base degli ultimi studi la sinusite cronica è considerata attualmente una sindrome cioè una malattia complessa multifattoriale con componenti genetiche, infettive, immunologiche, anatomiche, allergiche, infiammatorie.

In generale la sinusite cronica senza poliposi nasale appare come il sottogruppo più eterogeneo con pazienti che presentano più frequentemente dolore facciale, mal di testa, infezioni ricorrenti, difetti nel sistema immunologico locale e spesso sperimentano complicazioni infettive a tipo osteomielite.

Al contrario la sinusite cronica con poliposi nasale è in genere di sesso maschile e presentano come sintomo principale anosmia-iposmia, una storia di pregressi interventi chirurgici, asma, sensibilizzazione all'aspirina, allergia agli acari della polvere, spesso concomita sinusite fungina allergica.

Per quello che riguarda il ruolo dell'atopia, IgE specifiche verso i più comuni allergeni da inalazione sono con eguale frequenza rilevabili sia in pazienti con sinusite cronica e poliposi nasale sia in quelli senza.

Emerge la necessità che tutti i pazienti con sinusite cronica debbano avere una valutazione allergologia.

Asma e sensibilizzazione all'aspirina sono più comuni nei pazienti con sinusite cronica con poliposi nasale.

Il ruolo del superantigene dello stafilococco dello streptococco nel provocare una stimolazione policlonale delle IgE e condizionare lo sviluppo di poliposi nasale è attualmente oggetto di numerose osservazioni al pari di un possibile ruolo etiopatogenetico dei micofiti anche con meccanismo IgE indipendente.

Particolare attenzione viene anche rivolta al ruolo dell'IL-5 e l'IL-13 nello sviluppo della sinusite cronica e della poliposi nasale.

La riduzione del ruolo dell'infezione batterica e l'incrementata valutazione del ruolo dell'immunoflogosi in oltre l'80% dei casi di sinusite cronica con poliposi nasale ha portato ad una rivalutazione di quelle che sono anche le implicazioni terapeutiche privilegiando come farmaci di prima scelta gli steroidi topici nasali.

Per tutte le sinusiti croniche con associata atopia sono raccomandati l'utilizzo di antiasmatici e antileucotrienici.

Riferimenti bibliografici

1. **Adult chronic rhinosinusitis, definitions, diagnosis, epidemiology and pathophysiology**
Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA et al
Otolaryngol Head Neck Surg 2003; 129 (3): S1-S32
2. **Striking deposition of toxic eosinophil major basic protein in mucus: implications for chronic rhinosinusitis**
Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM et al
J Allergy Clin Immunol 2005; 116 (2): 362-69
3. **Non-pathogenetic, environmental fungi induce activation and degranulation of human eosinophils**
Inoue Y, Matsuzaki Y, Shin S-H et al
J Immunol 2005; 175: 5439-447

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

The Antihistamine Impairment Roundtable First do no harm: Managing antihistamine impairment in patients with allergic rhinitis

Thomas B. Casale, Michael S. Blaiss, Erwin Gelfand, Timothy Gilmore, Philip D. Harvey, Ian Hindmarch, F. Estelle R. Simons, Dennis L. Spangler, Stanley J. Szeffler, Thomas E. Terndrup, Scott A. Waldman, John Weiler, Dean F. Wong
May 2003 (Vol.111, Issue 5, Pages S835-S842)

Rhinitis and asthma: Evidence for respiratory system integration

Alkis Togias
June 2003 (Vol. 111, Issue 6, Pages 1171-1183)

Features of airway remodelling and eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis: Is the histopathology similar to asthma?

Jens U. Ponikau, David A. Sherris, Gail M. Kephart, Eugene B. Kern, Thomas A. Gaffey, James E. Tarara, Hirohito Kita.
November 2003 (Vol. 112 Issue 5, Pages 877-882)

Allergic rhinitis: Systemic inflammation and implications for management

Larry Borish
December 2003 (Vol. 112, Issue 6, Pages 1021-1031)

Allergic rhinitis: A disease remodeling the upper airways?

Jean Bousquet, William Jacquot, A.Maurizio Vignola, Claus Bachert, Paul Van Cauwenberge
January 2004 (Vol.113, Issue 1, Pages 43-49)

Allergic Rhinitis After Hours: The Relevance and Consequence of Nighttime Symptoms

November 2004 (Vol. 114, Issue 5, Supplement Pages S133-S153)

Rhinosinusitis: Establishing Definitions for Clinical Research and Patient Care

Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, Lanza DC, Marple BF, et al
December 2004 (Vol. 114, Issue 6, Supplement, Pages S155-S212)

Chronic rhinosinusitis: an enhanced immune response to ubiquitous airborne fungi

Seung-Heon Shin, Jens U. Ponikau, David A. Sherris, David Congdon, Evangelo Frigas, Henry A. Homburger, Mark C. Swanson, Gerald J. Gleich, Hirohito Kita.
December 2004 (Vol. 114, Issue 6, Pages 1369-1375)

Allergic conjunctivitis: Update on pathophysiology and prospects for future treatment

Santa Jeremy Ono, Mark B. Abelson
January 2005 (Vol.115, Issue 1, Pages 118-122)

The Disease Burden of Allergic Rhinitis and the Evaluation of Objective Monitoring of Disease Activity

March 2005 (Vol.115, Issue 3, Supplement Pages S387-482)

Advances in upper airway diseases and allergen immunotherapy

Harold S. Nelson
April 2005 (Vol.115, Issue 4, Pages 676-684)

The Diagnosis and Management of Sinusitis: A Practice Parameter Update

Raymond G. Slavin MD, Sheldon L. Spector MD, I. Leonard Bernstein MD
December 2005 (Vol. 116, Issue 6, Supplement)

Expanding the evidence base for the medical treatment of the nasal polyposis.

Michael S. Blais
December 2005 (Vol. 116, Issue 6, Pages 1272-1274)

ARIA update: I—Systematic review of complementary and alternative medicine for rhinitis and asthma

Giovanni Passalacqua, Philippe J. Bousquet, Kai-Hakon Carlsen, James Kemp, Richard F. Lockey, Bodo Niggemann, Ruby Pawankar, David Price, Jean Bousquet
May 2006 (Vol. 117, Issue 5, Pages 1054-1062)

Pharmacologic rationale for treating allergic and nonallergic rhinitis

Alexander N. Greiner, MD Eli O. Meltzer, MD
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages 985-996)

The role of the nervous system in rhinitis

Seema Sarin, MDa, Bradley Udem, PhDab, Alvin Sanico, MDabd, Alkis Togias, MD
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages 999-1014)

Rhinitis medicamentosa and the stuffy nose

Richard F. Lockey.
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages 1017-1018)

Rhinosinusitis: Developing guidance for clinical trials

Eli O. Meltzer, Daniel L. Hamilos, James A. Hadley, Donald C. Lanza, Bradley F. Marple, et al
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages S17-S61)

The lower airway pathology of rhinitis

Giorgio Ciprandi, Ignazio Cirillo
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages 1105-1109)

Efficacy and safety of ciclesonide nasal spray for the treatment of seasonal allergic rhinitis

Paul H. Ratner, Marc A. Vingert Zahn, Julius Van Babel, Frank Hampel, Patrick Dartken, Tushar Shah
November 2006 (Vol. 118, Issue 5, Pages 1142-1148)

Sublingual immunotherapy: The optimism and the issues

Giovanni B. Pajno
April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 796-801)

Advances in upper airway diseases and allergen immunotherapy

Harold S. Nelson
April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 872-880)

Allergen immunotherapy: A practice parameter second update

Linda Cox, James T. Li, Harold Nelson, Richard Lockey
September 2007 (Vol. 120, Issue 3, Pages S25-S85)

Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma update: Allergen immunotherapy

Giovanni Passalacqua, Stephen R. Durham, in cooperation with the Global Allergy and Asthma European Network (GA2 LEN) April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 881-891)

Advances in upper airway diseases and allergen immunotherapy in 2007

Carol Saltoun, Pedro C. Avila
September 2008 (Vol. 122, Issue 3, Pages 481-487)

Is Pharmacy Care or Self-medication Sufficient for Rhinitis Patients?

A.E. Williams, A. Roughley, G. Scadding
February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Page S55)

The diagnosis and management of rhinitis: An updated practice parameter

Dana V. Wallace, Mark S. Dykewicz, David I. Bernstein, Joann Blessing-Moore, Linda Cox, et al
August 2008 (Vol. 122, Issue 2, Pages S1-S84)

Altri articoli di interesse (2003/2008)

American Academy of Allergy, Asthma and Immunology; American Academy of Allergy; American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery; American College of Allergy, Asthma and Immunology; American Rhinologic Society. Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care.

Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, et al,
Otolaryngol Head Neck Surg. 2004;131(6 Suppl):S1-62

European Position Paper on Rhinosinusitis and nasal Polyps (EP3OS)

Rhinology 2005; 60 (Suppl. 18)

Rhinosinusitis in immunocompromised hosts.

Passali D, Lauriello M, Passali GC., Passali FM., Bellussi L. in: Levine HL., Pais Clemente M. (eds): Sinus surgery- endoscopic and microscopic approaches. pp113-120
Thieme Med. Publ. New York, 2005

New paradigm for the roles of fungi and eosinophils in chronic rhinosinusitis

Sasama J, Sherris DA, Shin SH, Kephart GM, Kern EB, Ponikau JU
Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2005;13:2-8

Association between response to decongestion testing and sensitizations and allergic inflammation.

Ciprandi G, Cirillo I. Klersy C, Vizzacaro A, Tosca M., Marseglia GL
Am Allergy Asthma Immunol. 2006; 96(3):431-6

Airborne pollen concentrations and the incidence of allergic asthma and rhinoconjunctivitis in northern Italy from 1992 to 2003

Ridolo E, Albertini R, Giordano D, Soliani L, Usberti I, Dall'Aglia PP
Int Arch Allergy Immunol. 2007;142:151-7

Effects of sublingual immunotherapy for multiple or single allergens in polysensitized patients

Marogna M, Spadolini I, Massolo A, Zanon P, Berra D, Chiodini E, Canonica WG, Passalacqua G
Ann Allergy Asthma Immunol. 2007;98:274-80

Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen)

Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, et al
Allergy 2008 Apr;63 Suppl 86:8-160

8. Asma ed allergia professionali

L'esposizione nel luogo di lavoro ad una varietà di polveri, gas, fumi e vapori può causare nei soggetti esposti la comparsa di sintomi correlati all'intensità dell'esposizione. Più di 250 sostanze chimiche sono state chiamate in causa come agenti causali di asma professionale (AP). La prevalenza di asma professionale è compresa nel range 2-6% della popolazione asmatica. I fattori predisponenti per lo sviluppo di AP includono l'ambiente di lavoro, le condizioni climatiche, fattori di suscettibilità individuale, il fumo, l'uso ricreativo di droghe, le infezioni respiratorie, e l'iperresponsività bronchiale aspecifica. Il meccanismo patogenetico dell'AP può essere immunologico o non immunologico. Il meccanismo immunologico è in gioco nell'AP indotto dall'esposizione ad allergeni ad alto peso molecolare quali le polveri di grano, le proteine animali e quelle di pesce. L'insorgenza dei sintomi compare dopo un periodo di latenza di mesi o di anni. L'AP non immunologico può insorgere dopo un'esposizione breve ma intensa ad una sostanza fortemente irritante. I sintomi compaiono immediatamente o entro poche ore dall'esposizione. In ogni caso, una volta stabilita la diagnosi di AP, il soggetto affetto dovrebbe essere allontanato dall'ambiente di lavoro. Se la diagnosi è precoce, la maggior parte dei soggetti con AP migliora. La prevenzione rimane il miglior intervento terapeutico

Dopo la cute, il tratto respiratorio è l'organo più frequentemente esposto nei luoghi di lavoro,¹ rappresentando la porta di ingresso per una varietà di polveri presenti nell'aria, gas, fumi e vapori che possono causare sintomi di gravità dose-correlata. Ad un'estremità dello spettro, possono presentarsi disturbi passeggeri per esposizioni a basse concentrazioni di agenti modicamente irritanti o ad odori sgradevoli. Si verifica irritazione della mucosa respiratoria quando ci si imbatte in una modesta quantità di inalanti solubili. In altri casi, ci sono elementi chimici corrosivi capaci di causare ustioni della pelle, danni oculari ed infiammazione acuta del nasofaringe, laringe e bronchi. Infine, ci sono agenti chimici industriali in grado di provocare sensibilizzazione.² Numerosi composti chimici e polveri organiche sono stati chiamati in causa come potenziali agenti causali di nuovi casi di asma professionale, di rinite e altri disordini polmonari da ipersensibilità.

DEFINIZIONE

L'AP è caratterizzato da ostruzione variabile al flusso delle vie aeree associata ad iperreattività bronchiale

Abbreviazioni utilizzate:

ATS:	American Thoracic Society/ Società Americana Toracica
BHR:	Bronchial hyperresponsiveness/ Iperreattività bronchiale
HMW:	High-molecular weight/Alto peso molecolare
LMW:	Low-molecular weight/Basso peso molecolare
OA /AP:	Occupational asthma/ Asma professionale
RADS:	Reactive airways dysfunction syndrome/ Sindrome disfunzionale delle vie aeree

aspecifica (BHR). È causato da infiammazione bronchiale secondaria all'inalazione di polveri ambientali, gas, fumi o vapori che sono prodotti o che sono accidentalmente presenti nei luoghi di lavoro.³ L'AP può essere anche definito come limitazione variabile del flusso aereo causata da uno specifico agente nel luogo di lavoro.⁴ La definizione di AP assume una importanza legale significativa nel contesto delle norme stabilite per compensare la malattia professionale nei differenti paesi.^{5,6} Un asma preesistente non preclude lo sviluppo di un disturbo respiratorio indotto dal lavoro. Il medico deve comunque stabilire se una data esposizione lavorativa abbia causato la trasformazione dell'asma preesistente in una forma transitoriamente sintomatica o abbia causato un peggioramento permanente dell'asma preesistente in virtù o di una esposizione intensa ad irritanti o di un'unica sensibilizzazione che abbia peggiorato l'asma preesistente.

EPIDEMIOLOGIA

Nonostante i significativi progressi verificatisi negli ultimi decenni, c'è scarsità di dati attendibili sulla prevalenza delle malattie polmonari professionali. Molto di quanto è stato pubblicato rappresenta la descrizione di casi aneddotici, di piccoli gruppi di casi o studi retrospettivi di prevalenza con alcune eccezioni degne di nota.^{7,8} Non ci sono essenzialmente studi a lungo termine, prospettici, longitudinali. Inoltre, quasi tutti gli studi epidemiologici si sono basati su dati soggettivi per identificare l'asma bronchiale. La definizione dei casi è risultata differente nelle diverse parti del mondo. In molte situazioni non è possibile accertare se un asma, pressoché asintomatico, non diagnosticato, non di natura professionale, sia presente prima di qualsiasi esposizione lavorativa sospetta. Ugualmente problematico è stabilire se una BHR preesistente, asintomatica, non riconosciuta, predi-

Traduzione italiana del testo di:

Emil J. Bardana, Jr

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S530-9

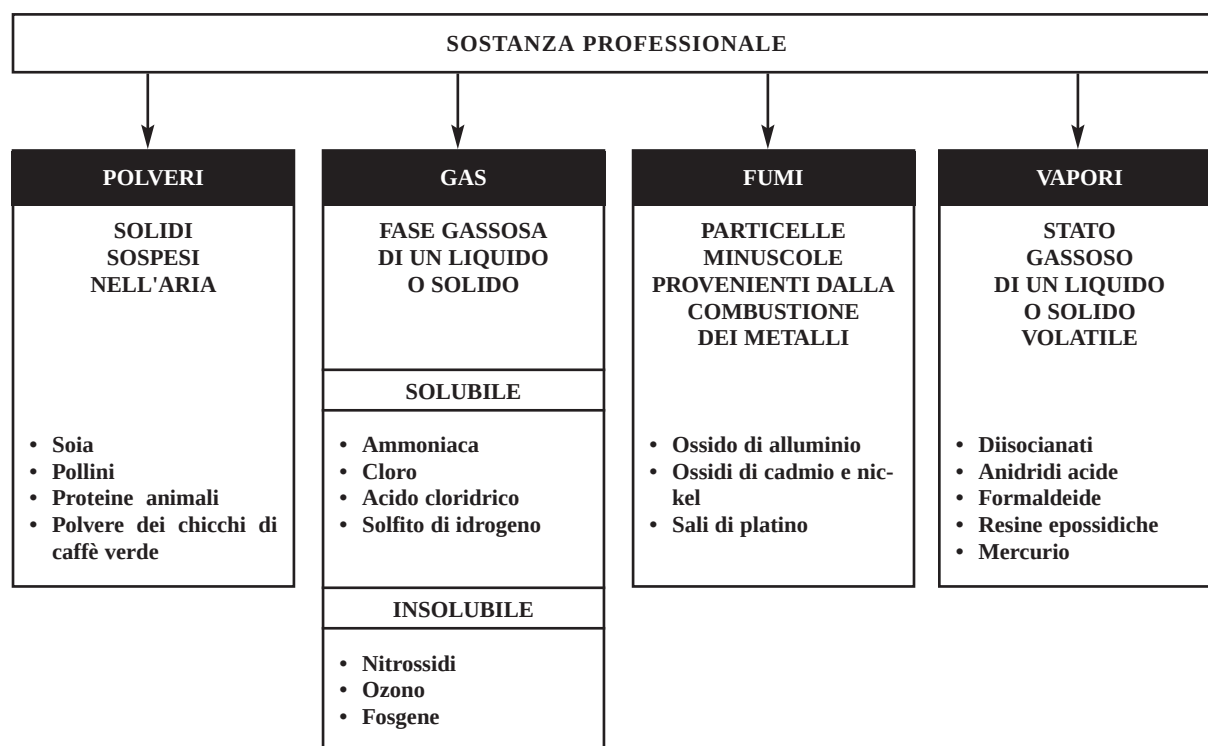


FIG 1. Caratteristiche delle sostanze professionali inalate. Queste sostanze, in base alle caratteristiche biochimiche, alla concentrazione e durata dell'esposizione, possono causare un continuum di sintomi che cominciano col fastidio, l'irritazione o la corrosione. Alcune polveri o vapori possiedono la capacità di dare luogo a sensibilizzazione (Adattato⁴⁸ con autorizzazione). *HCl*, Acido idrocloridrico.

sponga allo sviluppo di asma nell'età adulta, secondario ad un'infezione respiratoria virale, o all'esposizione ad un allergene non professionale, ad un agente farmacologico o ad un irritante aspecifico presente nell'aria, quale l'anidride solforosa o l'ozono. Molti pazienti riferiscono di aver avuto asma nell'infanzia che è scomparso nella tarda adolescenza. Osservazioni recenti indicano che la BHR asintomatica persiste durante l'adolescenza e la giovane età e che non può essere modificata dai glucocorticoidi per via inalatoria.⁹ Non è noto se la BHR predisponga allo sviluppo successivo di AP, sebbene qualcuno la consideri un fenomeno acquisito piuttosto che un fattore predisponente.¹⁰ Vi è anche un certo numero di individui asmatici, nei quali l'asma non viene diagnosticato nell'adolescenza, ma che viene diagnosticato successivamente.¹¹

Negli Stati Uniti si stima che 18 milioni di persone soffrano di asma.^{12,13} Si ritiene che la prevalenza dell'AP oscilli tra il 2% ed il 6% della popolazione asmatica.¹⁴ In accordo a questa stima, uno studio recente sull'AP condotto in un'ampia popolazione ha stimato che tra il 5% ed il 10% dei casi di asma ad insorgenza in età adulta in Europa ed in altri paesi industrializzati siano secondari ad esposizioni professionali.¹⁵ Sfortunatamente, tale studio non ha fatto distinzione tra AP di nuovo esordio ed asma preesistente aggravato in seguito all'esposizione lavorativa.

La letteratura non recente riporta tassi di prevalenza del 20% o maggiori in alcune industrie. Molte di queste osservazioni sono state fatte prima che venissero imposte norme igieniche moderne di igiene industriale e non

sono più applicabili ai moderni impianti industriali dove sono fatte rispettare le norme di sicurezza. Analogamente, ci sono differenze marcate nelle potenziali esposizioni nella stessa industria in parti differenti del mondo. I panifici a gestione familiare in Europa comportano una esposizione altamente variabile alla polvere di farina presente nell'aria rispetto ai grandi impianti per la produzione di pane negli Stati Uniti.

Molti ricercatori ritengono che la prevalenza del 5% per l'AP rappresenti una sottostima del problema. Alcuni lavoratori che sviluppano AP, si licenziano senza aver denunciato la malattia, creando in tal modo una residua "popolazione di sopravvissuti". Altri ribattono che alcuni lavoratori rimangono al lavoro pur avendo AP e non comunicano la presenza di malattia per paura di perdere il posto o la pensione. Altri, affetti da AP, vengono diagnosticati come asmatici non professionali. Questo scenario deve essere bilanciato con realismo. Se in un ambiente di lavoro i lavoratori sono protetti dal sindacato e dalle norme previste per la compensazione di malattia professionale previste in quel particolare stato, è poco probabile che un lavoratore non comunichi la sua malattia anche solo per una semplice minima probabilità di un danno legato all'attività lavorativa. Inoltre, in una popolazione in cui circa 40 milioni di individui non sono assicurati ed ancora di più sono "sotto-assicurati" c'è la tendenza a chiedere il riconoscimento di malattia professionale o di infortunio come meccanismo di compensazione. Infine, esiste la possibilità che un lavoratore occasionale abusi del sistema per interesse personale.

FATTORI PREDISPONENTI

Lo sviluppo di AP è influenzato da una varietà di fattori, lavorativi, climatici, genetici, sociali e medici.

Fattori relativi al luogo di lavoro

La risposta di un lavoratore ad un'esposizione lavorativa dipende dalla natura fisicochimica dell'agente (Fig. 1), e dalle politiche ed attitudini del datore di lavoro che riguardano i programmi di sicurezza sul lavoro. Queste politiche includono un facile accesso ai documenti sulla sicurezza dei materiali impiegati, la disponibilità di attrezzature protettive funzionali, la formazione e l'addestramento all'uso ed alla manutenzione dei dispositivi di sicurezza (ad esempio l'uso del respiratore, test di adattamento), il potenziamento e l'aderenza alle politiche di sicurezza e l'attuazione di misure di igiene industriale.¹⁶

Condizioni climatiche

Le condizioni meteorologiche possono modificare la risposta del lavoratore all'inalazione di un antigene o di una sostanza irritante. I venti prevalenti determinano la direzione delle emissioni di una gran parte delle sostanze irritanti. Diverse epidemie di asma a Barcellona, in Spagna tra il 1981 e il 1987 sono state attribuite a grandi quantità di polvere di soia rilasciate nell'atmosfera.¹⁷ La presenza di allergeni stagionali od inquinanti ambientali (per esempio, particelle di gas di scarico dei motori diesel) può aumentare la risposta agli allergeni presenti in ambiente lavorativo.¹⁸

Influenze genetiche

Lo sviluppo di atopia, asma e BHR è determinato dall'interazione di molteplici influenze genetiche ed ambientali.¹⁹ Gli individui atopici sono predisposti allo sviluppo di AP se esposti ad allergeni ad alto peso molecolare, e ad alcuni agenti a basso peso molecolare, che agiscono con risposta IgE-mediata, con l'intervento di citochine T helper 2 (Tabella 1). Lo sviluppo di AP e la sensibilizzazione ad agenti a basso peso molecolare è influenzato da polimorfismi genetici del sistema HLA.²⁰ Questo è stato dimostrato in modo convincente per la sensibilizzazione ai sali di platino, all'anidride trimellitica ed al toluene diisocianato.²⁰⁻²²

Tabacco ed uso ricreativo di droghe

Ci sono circa 50 milioni di fumatori negli Stati Uniti ed anche una prevalenza più elevata in altri paesi del mondo.²³⁻²⁵ Il fumo è un potenziale fattore predisponente ed aggravante per lo sviluppo di AP.^{26,27} Diversi studi condotti su allergie IgE-mediate nell'ambiente di lavoro hanno dimostrato un rischio per i fumatori da quattro a sei volte maggiore rispetto ai non fumatori.^{17,28,29} C'è anche una associazione tra abitudine al fumo di sigaretta e maggiore incidenza e morbidità da infezioni del tratto respiratorio.³⁰ La marijuana è usata da una sostanziale

TABELLA I. Agenti asmogeni selezionati in base al peso molecolare

ALTO	BASSO
Parti di insetti	Penicilline
Proteine di mammifero	Cefalosporine
Proteine di volatili	Sulfonamidi
Allergeni di derivazione ittica	Sali di platino
Semi di lino	Nickel
Polveri di cereale	Vanadio
Polveri di caffè verde	Diisocianati
Polveri dei semi di ricino	Anidridi acide
Lattice naturale	Resine epossidiche
Gomme vegetali	Coloranti azidici
Psillium	Colofonia
Enzimi	Cedro rosso occidentale (acido plicatico)

minoranza di giovani adulti, anche se l'uso è proibito dalla legge.³¹ Fumare cronicamente la marijuana si associa con aumento di sintomi di bronchite cronica e con diminuzione della funzione polmonare. C'è anche un effetto additivo per l'abuso di fumo di sigaretta e marijuana.^{32,33}

Infezioni respiratorie

Le infezioni virali sono riconosciute come un'importante fattore di riattivazione dell'asma.³⁴ Questo deve essere sempre considerato nel contesto di un qualunque lavoratore con sospetto di AP. I progressi nelle conoscenze sui meccanismi dell'asma indotto da virus sono stati notevolmente accentuati dall'uso di tecniche molecolari, quali la "reazione polimerasica a catena". Verso la fine degli anni '70 si riteneva che le infezioni virali fossero coinvolte nel 25% dei casi di riattivazione asmatica,³⁵ mentre applicazioni recenti della PCR hanno riscontrato la presenza di virus nell'85% degli episodi riferiti di tosse, respiro sibilante e riduzione del picco di flusso.^{36,37} Uno studio recente ha osservato che, in un soggetto asmatico, il respiro sibilante conseguente ad un'infezione da rinovirus può essere scatenato in assenza di evidenti sintomi o segni di corizza virale.³⁴ Infezioni batteriche dei seni paranasali sono spesso associate con il peggioramento dell'asma.³⁸ Anche infezioni dai patogeni quali il *Mycoplasma pneumoniae* e la *Chlamydia pneumoniae* sono state messe in relazione con riattivazioni asmatiche.^{39,40}

Iperreattività bronchiale (BHR)

È considerata la caratteristica fondamentale sia dell'asma professionale che di quello non professionale.⁴¹ La BHR rappresenta una via fisiologica comune di molti meccanismi con il risultato di un abbassamento della soglia di costrizione delle vie aeree in risposta a stimoli broncocostrittori. La BHR riflette ed è probabilmente in parte causata dall'infiammazione delle vie aeree. Sebbene la misura della BHR fornisca informazioni quantitative sull'ostruzione variabile al flusso delle vie aeree, la relazione tra BHR e presenza di sintomi respiratori è debole. Approssimativamente il 50% dei sogget-

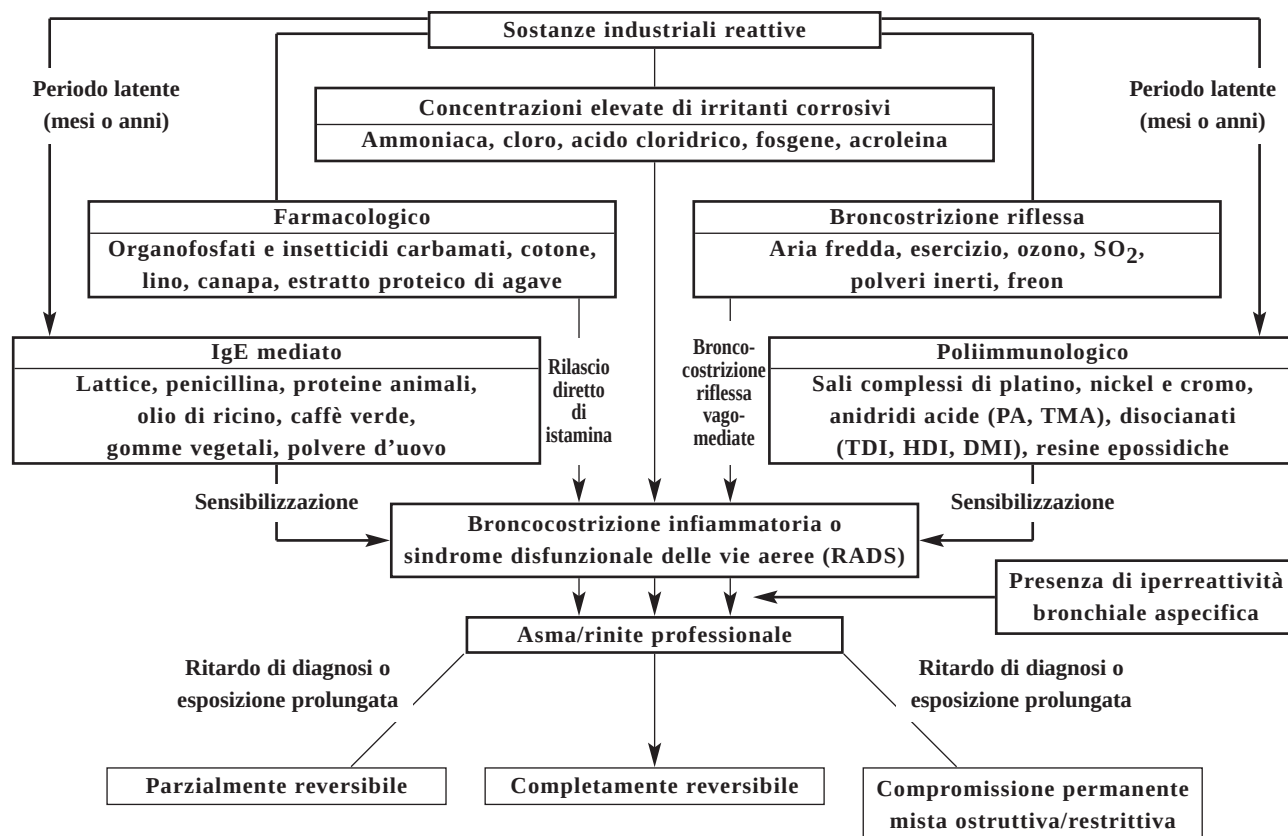


FIG 2. Concettualizzazione schematica dei diversi meccanismi patogenetici dell'ostruzione delle vie aeree professionalmente indotta (Adattata⁴⁸ con permesso). PA, anidride ptialica; TMA, anidride trimellitica; TDI, toluene diisocianato; HDI, esametilenediisocianato; MDI, metilene difenil diisocianato.

ti con BHR non presenta sintomi respiratori.⁴² La BHR segue una distribuzione normale nella popolazione generale, con il 20% circa di individui che pur avendo una BHR di grado lieve, non sono asmatici e non hanno altre malattie respiratorie.⁴³

Le implicazioni diagnostiche di un test di provocazione con metacolina positivo nella definizione di presunto AP continuano a creare confusione ed occasionalmente, a portare fuori strada molti medici. Anche se la BHR è una caratteristica dell'AP, non è un test diagnostico. La BHR si associa con molti altri disordini respiratori, inclusi le infezioni respiratorie virali, l'abuso cronico di tabacco, la bronchite cronica, la rinite allergica in assenza di asma e le polmoniti da ipersensibilità.^{2,44} Il valore predittivo positivo di un test alla metacolina positivo nel determinare la presenza di asma è solo del 10% circa, mentre il suo valore predittivo negativo è del 99%.⁴⁵

Altri fattori

Considerazioni diagnostiche che potrebbero essere confuse con l'AP comprendono l'asma indotto da aspirina, il reflusso gastroesofageo e una varietà di farmaci noti per il fatto di avere un impatto sfavorevole sul corso dell'asma, per esempio agenti bloccanti beta-adrenergici ed inibitori dell'enzima convertente l'angiotensina.

CARATTERISTICHE CLINICHE E PATOGENETICHE

Da un punto di vista clinico e patologico l'AP di nuova insorgenza può essere suddiviso in immunologico e non immunologico. Il tipo immunologico può essere ulteriormente suddiviso nel tipo classico IgE-mediato e nel tipo poli-immunologico. Il tipo non immunologico può essere differenziato nella sindrome disfunzionale reattiva delle vie aeree (RADS), nella broncocostrizione riflessa e nella broncocostrizione farmacologica (Fig. 2). Queste considerazioni ci permettono di comprendere in parte perché un'esposizione acuta e massiva a particolari irritanti industriali, come il toluene diisocianato, possa provocare una broncocostrizione infiammatoria acuta in un caso, mentre un'esposizione cronica a basse dosi può indurre AP immunologico o farmacologico in un altro caso (Fig.2).^{46,47}

Asma professionale allergico

L'AP allergico di nuovo esordio può essere causato da un grande numero di allergeni ad alto peso molecolare, soprattutto proteine derivate da animali, piante, alimenti ed enzimi (Tabella 1).⁴⁸ Nella maggior parte dei casi, l'AP indotto da questi agenti si associa ad una risposta linfocitaria specifica T helper di tipo 2 ed alla produzione di anticorpi specifici di classe IgE. La prima fase nel-

l'induzione di una reazione allergica è rappresentata dalla interazione di allergeni specifici presenti nell'ambiente di lavoro con mastociti, basofili e con altre cellule presenti nelle vie aeree. I mastociti sensibilizzati dalle IgE secernono e generano mediatori bioattivi che facilitano lo sviluppo dell'infiammazione allergica. C'è un gruppo di agenti a basso peso molecolare che include gli isocianati, le anidridi acide e l'acido plicatico, in grado di indurre AP, anche se la patogenesi rimane solo parzialmente chiarita.⁴⁷ IgE e IgG specifiche sono presenti solo in una minoranza di casi ed il loro ruolo patogenetico non è chiaro.⁴⁹ La biopsia bronchiale mostra un numero significativo di linfociti T attivati nelle vicinanze dei bronchi, indicando un loro ruolo attivo nell'indurre l'infiammazione allergica. La maggioranza di queste cellule esprime il fenotipo CD8 capace di produrre IFN-gamma ed IL-5, ma poca IL-4.^{50,51} Alcuni studi hanno dimostrato che i linfociti T giocano un ruolo attivo anche nell'induzione dell'AP, con meccanismo poli-immunologico.⁵² Evidenze recenti implicano il trasporto reattivo di proteine di cellule epiteliali e di altre componenti intracellulari/extracellulari.⁵³ È possibile che il glutatione, un *carrier* ubiquitario, intra- ed extracellulare, giochi un ruolo nel trasporto e nella formazione di agenti chimici reattivi ad una varietà di macromolecole biologicamente importanti.⁵⁴ Vi è, poi, un certo numero di agenti industriali per i quali la patogenesi rimane largamente sconosciuta. I due gruppi più ampi di sostanze chimiche in questa categoria includono alcune polveri di legno ed una varietà di composti co-polimerizzanti o agenti indurenti usati nella manifattura di resine o plastiche (Tabella 1). Lo sviluppo di modelli murini che ricordano le caratteristiche della malattia nell'uomo può facilitare una migliore comprensione dell'immunopatogenesi dell'AP indotto da questi agenti.⁵⁵

La presentazione clinica del paziente tipico con AP allergico di nuova insorgenza rispecchia frequentemente i sintomi dei pazienti con malattie allergiche classiche. Dopo un periodo di latenza di mesi o di anni, molti sviluppano sintomi a carico delle prime vie aeree e sintomi oculari di rinite professionale.^{48,49} Successivamente, essi sviluppano sintomi delle basse vie aeree. Si verifica ostruzione al flusso delle vie aeree in relazione all'esposizione lavorativa, caratterizzata da senso di costrizione toracica, tosse e dispnea, sintomi che spesso si intensificano durante il lavoro. L'esordio dei sintomi può essere immediato, ritardato o bifasico (duale), riflettendo una risposta allergica precoce e tardiva.

Asma professionale non allergico

L'AP non allergico è di solito il risultato di un'esposizione nel luogo di lavoro ad alti livelli di una sostanza fortemente irritante per l'apparato respiratorio (Tabella 2). Contrariamente alla forma allergica, l'inizio è improvviso, senza un periodo di latenza. Le sequele cliniche di una qualunque esposizione acuta dipendono dalle proprietà fisico-chimiche della polvere, del gas, del fumo o dei vapori coinvolti (Fig. 1), così come da fattori intrinseci dell'ospite. Gas altamente solubili sono probabilmente causa di lesioni faringee e laringee associate ad edema laringeo.⁵⁶ Tali esposizioni si associano di solito

TABELLA II. Sostanze industriali frequentemente incriminate di essere causa di RADS

Cloro	Acido fosforico
Toluene diisocianato	Acido cloridrico
Fosgene	Solfato di idrogeno
Acido solforico	Ammoniaca anidra
Fumo inalato	Dietilendiamina

TABELLA III. Criteri proposti per la diagnosi di RADS

Criteri maggiori (come proposto dall'American College of Chest Physicians)⁶³

- Assenza di precedenti problemi respiratori
- Inizio dei sintomi dopo una singola esposizione
- Concentrazione estremamente elevata di esposizione ad una sostanza industriale irritante
- Inizio dei sintomi nell'arco di 24 ore dall'esposizione, con loro persistenza per almeno 3 mesi
- Sintomi che mimano asma
- Presenza di ostruzione del flusso nei test di funzionalità respiratoria e/o presenza di iperreattività bronchiale aspecifica
- Esclusione di tutte le altre patologie respiratorie

Criteri minori ⁶⁴

- Assenza di atopia
- Assenza di eosinofilia periferica o polmonare
- Astinenza dal fumo di sigaretta da almeno 10 anni
- BHR con PC20 ≤ 8 mg/mL di metacolina
- Quadro istopatologico e/o lavaggio broncoalveolare con minima infiammazione linfocitaria

PC, Concentrazione di provocazione

ad irritazione della pelle, congiuntivite, eritema nasale e, se gravi, ad ulcerazioni della mucosa con edema. I gas solubili sono assorbiti in maniera significativa dalle membrane mucose delle vie aeree superiori, minimizzando così il danno alle vie aeree inferiori. Quest'ultimo dipende dalla natura e dall'entità dell'esposizione e dalla attività svolta dal lavoratore, se sotto sforzo con respirazione attraverso la bocca o se a riposo con respirazione attraverso il naso. Al contrario, i gas insolubili non causano irritazione delle vie superiori o danno tessutale, o causano lievi alterazioni, ed è molto più probabile che causino dopo un periodo di tempo variabile edema polmonare di grado importante, bronchiolite ed alveolite.⁵⁶ Ci sono diverse varianti di AP non allergico, ma di gran lunga la più comune è stata descritta originariamente da Gandevia⁵⁷ nel 1970 e riferita come una "broncocostrizione infiammatoria acuta". L'esordio dell'asma si verificava a seguito di un'esposizione acuta, accidentale ad alte concentrazioni di un potente irritante, quale cloro, acido solfidrico e fosgene. Entro ore dall'esposizione si sviluppava ostruzione delle vie aeree, secondaria ad una bronchite o broncopolmonite chimica. I sintomi di solito raggiungevano un picco in una settimana e cominciavano a regredire nei mesi seguenti.^{58,59} Molti lavoratori affetti continuavano a manifestare asma cronico o BHR asintomatica, a seconda delle proprietà corrosive dell'agente scatenante.

Nel 1981, Brooks e Lockey⁶⁰ coniarono il termine "RADS" per descrivere 13 lavoratori esposti acutamente

ad irritanti respiratori. Negli anni successivi, il termine RADS sostituiva quello di "broncocostrizione infiammatoria" ed è diventato il termine per definire tale condizione. La diagnosi richiede il presupposto di una fisiologia polmonare normale e l'assenza di BHR preesistente. Questo presupposto è ovviamente il punto debole nello stabilire la diagnosi e ha quindi suscitato molte discussioni. Sono state pubblicate diverse versioni dei criteri diagnostici.⁶¹⁻⁶³ Alberts e DoPico⁶³ hanno analizzato criticamente la letteratura relativa alla RADS ed hanno presentato il loro razionale nel documento per l'American College of Chest Physicians Consensus Criteria (Tabella 3). L'autore ha proposto che questi criteri fossero considerati "criteri maggiori". Poiché il fumo, sia quello del passato che quello in atto, e l'atopia si associano indipendentemente con la BHR (l'unico criterio oggettivo), sono stati proposti cinque "criteri minori" per rafforzare la diagnosi in maniera importante se di questi se ne riscontrano almeno quattro (Tabella 3).⁶⁴ C'è un accordo crescente a scegliere la concentrazione di metacolina di 8 mg/ml come limite superiore per considerare il test positivo.^{65,66}

La patogenesi della RADS si ritiene sia il risultato di una desquamazione estesa dell'epitelio bronchiale che porta ad un processo infiammatorio delle vie aeree.^{67,68} Questa desquamazione attiva, attraverso riflessi assonici, vie nervose non adrenergiche, non colinergiche, con sviluppo di infiammazione neurogena. L'attivazione non specifica dei macrofagi e la degranolazione dei mastociti si traduce nel rilascio di mediatori pro-infiammatori chemotattici e tossici. Un numero limitato di biopsie bronchiali mostra la sostituzione dell'epitelio con un essudato fibrino-emorragico. C'è una successiva desquamazione dell'epitelio con un essudato linfocitico che può persistere per mesi.^{67,68}

L'AP non allergico può anche essere causato da agenti che producono un'azione farmacologica diretta sulla mucosa respiratoria (Fig. 2) come, ad esempio, gli insetticidi organofosforici ed i carbamati. In dosi sufficienti, questi agenti inibiscono l'acetilcolinesterasi, con conseguente potenziamento dell'effetto dell'acetilcolina rilasciata dalle fibre vagali che innervano il muscolo liscio bronchiale e producono una broncocostrizione transitoria.

La broncocostrizione riflessa è la terza variante dell'AP non allergico. Si distingue dalla RADS per intensità e natura dell'esposizione; è infatti un AP indotto da esposizione cronica a dosi basse-moderate di un irritante. Si ritiene che alcune sostanze chimiche ed alcuni gas inerti abbiano la capacità di causare broncospasmo riflesso interferendo nel delicato equilibrio del controllo adrenergico, coinvolto nel mantenimento del tono bronchiale. Tuttavia, è improbabile che questo meccanismo possa indurre un AP di nuova insorgenza. È più probabile che sia in causa in pazienti con asma subclinico preesistente, BHR asintomatica o atopia. Brooks e collaboratori^{66,69} hanno studiato recentemente un gruppo di soggetti con tali caratteristiche e sono arrivati a conclusioni simili.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Nel valutare pazienti con sospetto AP, è importante capire i criteri diagnostici che lo distinguono da una varietà di condizioni strettamente associate.

Il passo iniziale più importante è quello di stabilire che l'asma esista realmente, cioè ci deve essere una dimostrazione attendibile con test fisiologici affidabili dell'ostruzione variabile al flusso delle vie aeree.⁶⁵ L'asma, spesso, non è diagnosticato anche in centri di terzo livello per la cura della malattia.⁷⁰

In secondo luogo, dal momento che l'AP è collegato a cause e condizioni attribuibili ad un particolare ambiente di lavoro, il medico deve escludere la possibilità che l'asma sia dovuto a fattori scatenanti di natura non professionale. A questo proposito, è una sfida il caso di un lavoratore atopico con preesistente rinite allergica, nel quale poteva essere presente un asma subclinico, non diagnosticato fino a che un incidente sul lavoro non ha focalizzato l'attenzione sulle vie aeree inferiori. Anche se c'è una diffusa convinzione che i bambini con asma superino la loro malattia con la crescita, osservazioni recenti hanno rivelato anomalie della funzione polmonare e BHR in tali pazienti.^{11,71,72} Una riacutizzazione transitoria di un preesistente asma subclinico dovuta a stimoli irritanti presenti nel luogo di lavoro è un evento comune nella diagnosi differenziale di AP di nuova insorgenza. In questo caso, possono insorgere sintomi transitori senza un peggioramento permanente dell'infiammazione bronchiale di base e/o della BHR.⁷³

In terzo luogo, devono essere escluse altre varianti di asma come l'aspergillosi broncopulmonare allergica, la sindrome da sensibilità all'aspirina e la granulomatosi allergica di Churg-Strauss. Infine devono essere escluse sindromi non correlate che mimano l'asma, come, per esempio, la bronchite professionale, lo scompenso cardiaco congestizio, la disfunzione delle corde vocali e la polmonite da ipersensibilità.

DIAGNOSI

Anamnesi ed esame obiettivo

L'anamnesi rappresenta l'elemento chiave nella valutazione dell'AP. Essa fornisce al medico le caratteristiche cliniche della malattia delle vie aeree correlata al lavoro ed è utile a confermare il legame con una o più eventuali esposizioni lavorative. La rinite può precedere lo sviluppo dei sintomi delle vie aeree inferiori o può affiancare i sintomi asmatici specialmente quando sono in causa agenti ad alto peso molecolare.⁷⁴ Molti pazienti hanno sintomi continui scatenati da altri fattori concomitanti non professionali o come risultato di risposte immunologiche ritardate ad allergeni professionali.

A causa dei limiti posti dal fattore tempo, potrebbe essere utile un questionario come strumento per ampliare il momento dell'intervista.⁷⁵ L'anamnesi dovrebbe includere la cronologia dell'esordio dei sintomi correlati ad una sospetta esposizione lavorativa. Dovrebbe riguardare

FOGLIO RACCOLTA DATI SULLA SICUREZZA DEI MATERIALI		
I. IDENTIFICAZIONE DEL PRODOTTO		
NOME DEL PRODUTTORE	N° DI TELEFONO N° TELEFONO PER EMERGENZE	
INDIRIZZO		
NOME COMMERCIALE		
SINONIMI		
II. INGREDIENTI PERICOLOSI		
MATERIALE O COMPONENTE		DATI SULLA PERICOLOSITÀ
III. DATI FISICI		
PUNTO DI EBOLLIZIONE A 760 MMHG		PUNTO DI FUSIONE
GRAVITÀ SPECIFICA (H2O*1)		PRESSIONE DI VAPORE
DENSITÀ DEL VAPORE (AIR*1)		SOLUBILTÀ IN ACQUA %
% VOLATILE PER VOL		TASSO DI EVAPORAZIONE ISOBUTILACETATO II
APPARENZA E ODORE		

FIG 3. Formato di un foglio raccolta dati sulla sicurezza dei materiali. (Riprodotta⁷⁵ con permesso).

tutte le precedenti attività lavorative e le relative esposizioni, con una dettagliata conoscenza delle attrezzature protettive usate dal lavoratore, in particolare l'inizio del loro uso e l'aderenza all'uso. Il lavoratore dovrebbe fornire la documentazione riguardante la sicurezza sui materiali usati relativamente a tutte le esposizioni rilevanti (Fig. 3). L'esaminatore dovrebbe esaminare tutte cartelle cliniche precedenti per verificare i punti chiave nella storia clinica e scoprire informazioni che il lavoratore potrebbe aver dimenticato. Comunque, la diagnosi di asma professionale basata solo sulla storia clinica è totalmente inaccettabile.⁴⁹ Pur dotata di sensibilità elevata, ovvero dell'87%, l'anamnesi ha una bassa specificità (22%) per la diagnosi di AP.^{76,77} Ricordare sintomi passati, malattie e cure mediche è spesso inattendibile e contraddittorio.⁷⁸ L'esame fisico dovrebbe essere accurato per registrare la presenza di anomalie oculari, nasali, orofaringee e polmonari. Non è raro per un paziente con AP di recente esordio avere un esame obiettivo normale. In questi casi, quando la storia clinica è molto suggestiva, in presenza di un'obiettività normale, e di una normale funzionalità polmonare, la valutazione della BHR può essere utile.

Dimostrazione del nesso causa-effetto

È cruciale confermare l'AP mediante test oggettivi. Questo può essere fatto in modo sequenziale iniziando con procedure semplici e progredendo con test più sofisticati man mano che il sospetto è confermato.

Studi di funzionalità polmonare

I test sulla funzionalità polmonare sono essenziali sia nella diagnosi che nella valutazione della gravità dell'AP. La diagnosi di AP richiede una dimostrazione inconfutabile di ostruzione reversibile delle vie aeree.^{65,70} I criteri dell'American Thoracic Society (ATS) richiedono un aumento di almeno il 12% del volume espiratorio forzato in 1 secondo (VEMS) dopo broncodilatatore. Quando si valutano dati spirometrici provenienti da strutture assistenziali di primo livello, l'esaminatore deve saper riconoscere possibili inesattezze nei dati, visto che meno del 20% delle spirometrie effettuate in tali strutture rispetta i criteri ATS.⁷⁹ Un nesso causa-effetto provvisorio con un agente presente nell'ambiente di lavoro può essere stabilito mediante la misura del picco di flusso (PEF) durante un periodo di allontanamento dal lavoro seguito da un ritorno al lavoro (Fig. 4). Tale test deve essere interpretato con cautela, dato che la manovra è sforzo-dipendente e richiede la collaborazione del lavoratore. In caso di simulazione da parte del lavoratore, non si possono raccogliere dati certi. A tale proposito, due studi che hanno usato chip nascosti nei computer per raccogliere i dati relativi al PEF, hanno dimostrato che approssimativamente il 50% dei valori venivano riportati in modo non accurato sul diario clinico.^{80,81} Un approccio diagnostico più sicuro è quello di valutare il grado di BHR prima e dopo il ritorno al lavoro, dopo un periodo di tre o quattro settimane di assenza dal lavoro. Ammesso che non si siano verificate variazioni significative nella terapia farmacologica né siano intercorse

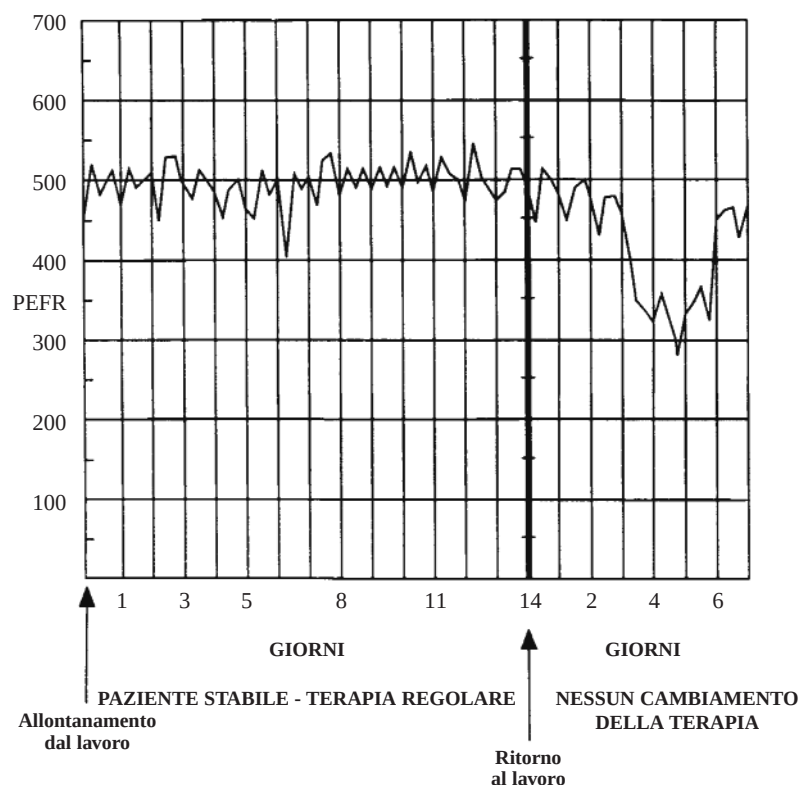


FIG 4. Rappresentazione schematica del PEF seriale registrato durante un periodo di allontanamento dal lavoro e dopo il ritorno al lavoro. Si noti la caduta del 40% del picco di flusso al quarto giorno del rientro al lavoro (Adattato⁴⁶ con permesso). PEF, picco di flusso espiratorio.

infezioni respiratorie, un cambiamento nella BHR superiore a due doppie concentrazioni (o dosi) è considerato significativo.^{75,82}

Un terzo approccio si basa sulla valutazione dei dati di VEMS misurati prima e dopo il turno di lavoro per almeno una settimana per verificare un peggioramento della funzionalità polmonare associato all'attività lavorativa.⁸² In sostanza, questa procedura rappresenta un test di provocazione sul "lavoro".

Studi di provocazione bronchiale

Questi test sono ancora considerati come il "gold standard" per confermare la diagnosi di AP.^{2,49,75,82-85} Ci sono due approcci alla provocazione bronchiale con sospetti agenti lavorativi sensibilizzanti. Agli inizi, i metodi erano disegnati allo scopo di ricreare le condizioni di lavoro (luogo ed agente sospetto) ("test di provocazione che simula l'ambiente lavorativo"). Questi test nella pratica sono stati eseguiti con polveri chimiche, polveri di legno, farine, vapori di vernice, eccetera. Come controllo veniva usata la polvere di lattosio e, malgrado le imprecisioni delle effettive concentrazioni usate nel challenge, sono stati ottenuti dati importanti e riproducibili.⁸⁶ Più recentemente, i test di provocazione specifica vengono condotti solo in centri specializzati dotati di personale altamente qualificato.^{10,82} Sono disponibili diversi protocolli per la provocazione bronchiale controllata con concentrazioni inferiori a quelle irritanti dell'agente sen-

sibilizzante sospettato.⁸⁷ Questi test presentano qualche rischio e richiedono il consenso informato per l'esecuzione del test. Il paziente può richiedere il ricovero in ospedale ai fini di una più stretta sorveglianza.⁸²

Test immunologici

L'applicazione di test immunologici nella diagnosi dell'AP allergico è limitata. La dimostrazione di reazioni cutanee o la presenza di anticorpi IgE o IgG specifici in vitro riflette l'esposizione e la sensibilizzazione, ma non implica che vi sia un organo bersaglio specifico. La dimostrazione della presenza di IgE può essere utile nel caso di antigeni ad alto peso molecolare, come per esempio proteine animali, farine di granchio, psyllium. Un test negativo non esclude necessariamente la diagnosi, ma la rende meno probabile. Comunque, la presenza di anticorpi nel siero o di sensibilizzazione cutanea da sole non possono essere poste sullo stesso piano della presenza di "sintomatologia". Il medico deve differenziare lo stato di sensibilizzazione sub-clinica da un "complesso di sintomi allergici".⁸⁸

PREVENZIONE E GESTIONE

La maniera più efficace di prevenire l'AP è proteggere i lavoratori a rischio da agenti potenzialmente nocivi. Questo richiede che il datore di lavoro adatti e rinforzi le

misure di igiene industriale atte a ridurre o eliminare i livelli ambientali di irritanti ed agenti sensibilizzanti noti. Questo può essere fatto tramite l'utilizzo respiratori omologati che siano stati testati correttamente con dispositivi molto efficaci per le emissioni o con l'installazione di procedimenti a ciclo chiuso quali i robot. Molti datori di lavoro effettuano controlli dei processi industriali, misurando regolarmente i livelli ambientali delle sostanze chimiche potenzialmente dannose, ed attuando programmi obbligatori per monitorare la funzionalità polmonare dei dipendenti con l'inclusione di esami spirometrici annuali.

La gestione dell'AP è identica a quella dell'asma non professionale con in più l'avvertimento che il paziente deve essere allontanato dall'esposizione all'agente causale. La terapia si basa sulla combinazione di farmaci anti-infiammatori e broncodilatatori. La terapia farmacologica non può sostituire la rimozione del soggetto sensibilizzato dall'ambiente di lavoro. Ci sono crescenti evidenze a supporto di una relazione dose-risposta ad allergeni professionali, quali piante, animali, microbi o sostanze create dall'uomo. Si potrebbe prevedere il giorno in cui ci saranno linee guida rigorose per i valori soglia di allergene al di sotto delle quali la sensibilizzazione non avverrà.^{89,90}

PROGNOSI

I fattori principali che influiscono sulla prognosi del soggetto una volta rimosso dall'esposizione all'agente causale comprendono la durata totale dell'esposizione, la gravità dell'asma al momento della diagnosi ed i meccanismi patogenetici che inducono lo sviluppo di AP.⁹¹ Inoltre, fattori coesistenti come il fumo di sigaretta, la sinusite cronica ed il reflusso gastroesofageo possono giocare un ruolo importante nel modificare la prognosi.⁹² L'allontanamento del paziente con asma professionale dall'agente sensibilizzante o dalla sostanza irritante dovrebbe portare al miglioramento clinico (Fig. 2). Chan-Yeung⁹³ ha studiato 75 pazienti con asma da cedro rosso occidentale ed ha trovato che metà dei soggetti guariva completamente. Uno studio successivo di follow-up condotto su 232 pazienti dallo stesso gruppo di ricercatori ha rivelato che il 60% non era guarito completamente durante un periodo di osservazione di quattro anni.⁹⁴ La maggior parte dei pazienti motivati raggiungeva un controllo soddisfacente ed era capace di riprendere il lavoro a tempo pieno in un tipo alternativo di lavoro. Nei casi in cui la diagnosi di AP veniva fatta con ritardo, o nei casi in cui il lavoratore non veniva avvertito di evitare l'esposizione, i sintomi cronici diventavano permanenti, con un concomitante peggioramento della funzionalità polmonare. Cote e collaboratori⁹⁵ hanno studiato 48 pazienti con asma da cedro rosso occidentale che erano stati esposti in modo continuo, in media per 6.5 anni dopo la diagnosi iniziale. Nessuno di questi pazienti guariva e la metà mostrava un peggioramento della funzione polmonare nonostante la terapia.⁹⁵ La BHR specifica verso un agente in grado di indurre AP può persistere dopo l'allontanamento dall'esposizione in

soggetti che non mostrano più sintomi di asma, che non usano farmaci antiasmatici, e che non dimostrano la presenza di BHR.⁹⁶

BIBLIOGRAFIA

1. Blanc PD, Eisner MD, Israel L, Yelin EH. The association between occupation and asthma in general practice. *Chest* 1999;115:1259-64.
2. Bardana EJ, Montanaro A. Occupational asthma and related disorders (chapter 57). In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW, editors. *Clinical immunology, principles and practice*. 2nd ed. London: Mosby; 2001. p. 1-14.
3. Alberts, WM, Brooks, SM. Advances in occupational asthma. *Clin Chest Med* 1992;13:281-302.
4. Chan-Yeung M, Malo JL. Occupational asthma. *N Engl J Med* 1995;333:107-12.
5. Smith DD. Medical-legal definition of occupational asthma. *Chest* 1990;98:1007-11.
6. Rischitelli DG. A workers' compensation primer. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:614-7.
7. Diem JE, Jones RN, Hendrick DJ, Glindmeyer HW, Dharmarajan V, Butcher BT, et al. Five-year longitudinal study of workers employed in a new toluene diisocyanate manufacturing plant. *Am Rev Respir Dis* 1982;126:420-6.
8. Chan-Yeung M, Desjardins A. Bronchial hyperresponsiveness and level of exposure in occupational asthma due to western red cedar (*Thuja plicata*). *Am Rev Respir Dis* 1992;146:1606-7.
9. Koh YY, Sun YH, Lim HS, Kim CK, Hong SJ. Effect of inhaled budesonide on bronchial hyperresponsiveness in adolescents with clinical remission of asthma. *Chest* 2001;120:1140-6.
10. Cartier A. Occupational asthma: What have we learned? *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:S90-5.
11. Nish WA, Schwietz LA. Underdiagnosis of asthma in young adults presenting for USAF basic training. *Ann Allergy* 1992;69:239-44.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for asthma US, 1960-1995 (CDC Surveillance Summaries). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47:1022-5.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for asthma US, 1960-1995 (CDC Surveillance Summaries) *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47(SS-1):1-26.
14. Meredith S, Nordman H. Occupational asthma: measures of frequency from four countries. *Thorax* 1996;51:435-40.
15. Kogevinas M, Anto JM, Sunyer J, Tobias, A, Kromhout H, Bumey P. Occupational asthma in Europe and other industrialized areas: a population based study. *Lancet* 1999;359:50-4.
16. Sarlo K, Kirchner DB. Occupational asthma and allergy in the detergent industry: new developments. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2:97-101.
17. Sunyer J, Anto JM, Sabria J, Rodrigo MJ, Rocca J, Morell F, et al. Risk factors of soybean epidemic asthma: the role of smoking and atopy. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1098-102.
18. Parnia S, Frew AJ. Is diesel the cause for the increase in allergic disease? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;87:18-23.
19. Ruffilli A, Bonini S. Susceptibility genes for allergy and asthma. *Allergy* 1997;52:256-73.
20. Newman Taylor AJ. Role of human leukocyte antigen phenotype and exposure in development of occupational asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:157-61.

21. Newman Taylor AJ, Cullinan P, Lympang PA, Harris JM, Dowdeswell RJ, duBois RM. Interaction of HLA phenotype and exposure intensity in sensitization to complex platinum salts. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:435-8.
22. Bignon JS, Aron Y, Ju LY, Kopferschmitt MC, Garnier R, Mapp C, et al. HLA Class II alleles in isocyanate-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:71-5.
23. US Department of Health and Human Service. Reducing the health consequences of smoking: 25 years of progress. A report of the Surgeon General. Washington, DC: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, Department of Health and Human Service, Publication No. (CDC) 89-8411; 1989.
24. Scientific Committee on Tobacco and Health. Report of the Scientific Committee on Tobacco and Health; 1998 [retrieved January 2002]. Available at <http://www.Officialdocuments.co.uk/document/doh/tobacco/contents.htm>.
25. Coultas DB. Health effects of passive smoking. 8. passive smoking and risk of adult asthma and COPD: an update. *Thorax* 1998;53:381-7.
26. Zetterstrom O, Osterman K, Machado L, Johansson SOG. Another smoking hazard: raised serum IgE concentration and increased risk of occupational allergy. *Br Med J* 1981;283:1215-7.
27. Beckett WS. The epidemiology of occupational asthma. *Eur Respir J* 1994;7:161-4.
28. Venables KM, Dolly MD, Nunn AJ, Stevens JF, Stephens R, Farrer N, et al. Smoking and occupational allergy in workers in a platinum refinery. *Br Med J* 1989;299:939-42.
29. Moscato G, Dellabianca A, Maestrelli P, Paggiaro C, Dezotti R, Marabini A, et al. Features and severity of occupational asthma upon diagnosis: an Italian multicentric case review. *Allergy* 2002;57:236-42.
30. Blake GH, Abele TD, Stanley WG. Cigarette smoking and upper respiratory infection among recruits in basic combat training. *Ann Intern Med* 1988;109:198-204.
31. Hall W, Johnston L, Donnelly N. The epidemiology of cannabis use and its consequences. In: Kalant H, Corrigal W, Hall W, Smart R, editors. *The health effects of cannabis*. Toronto: Addiction Research Foundation; 1998.
32. Fligiel SE, Roth MD, Kleerup EC, Barsky SH, Simmons MS, Tashkin DP. Tracheobronchial histopathology in habitual smokers of cocaine, marijuana and/or tobacco. *Chest* 1997;112:319-26.
33. Hall W, Solowij N. Adverse effects of cannabis. *Lancet* 1998;352:1611-6.
34. Grunstein MM, Hakonarson H, Whelan R, Yu Z, Grunstein JS, Chuang S. Rhinovirus elicits proasthmatic changes in airway responsiveness independently of viral infection. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:997-1004.
35. Hudgel DW, Langston L Jr, Selner JC, McIntosh K. Viral and bacterial infections in adults with chronic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:393-7.
36. Johnston SL, Pattemore PK, Sanderson G, Smith S, Lampe F, Josephs L, et al. Community study of role of viral infections in exacerbation of asthma in 9-11 year old children. *Br Med J* 1995;310:1225-9.
37. Gern JE. Rhinovirus respiratory infections and asthma. *Am J Med* 2002;112:19S-27S.
38. Rolla G, Cologrand P, Scappaticci E, Bottomicca F, Magnano M, Brussino L, et al. Damage of the pharyngeal mucosa and hyperresponsiveness of the airway in sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:52-7.
39. Planter RC, Smith TF. Respiratory infections, wheezing and asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 1993;13:141-7.
40. Hahn DL, McDonald BS. Can acute Chlamydia pneumoniae respiratory tract infection initiate chronic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:339-44.
41. Tilles SA, Bardana EJ. Seasonal variation in bronchial hyperreactivity in allergic patients. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997;15:169-85.
42. Woolcock AJ. What is bronchial hyperresponsiveness from the clinical standpoint? (Chapter 1.) In: Page CP, Gardiner PJ, editors. *Airway hyperresponsiveness: is it really important for asthma?* Oxford: Blackwell Scientific; 1993.
43. Yan K, Salmone C, Woolcock AJ. Rapid method for measurement of bronchial hyperresponsiveness. *Thorax* 1983;38:760-5.
44. Montanaro A. Chemically-induced nonspecific bronchial hyperresponsiveness. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997;15:187-203.
45. Enarson DA, Vedral S, Schulzer M, Dybuncio A, Chan-Yeung M. Asthma, asthma-like symptoms, chronic bronchitis and the degree of bronchial hyperresponsiveness in epidemiological surveys. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:612-7.
46. Malo J-L, Ghezzo H, Elie R. Occupational asthma caused by isocyanates: patterns of asthmatic reactions to increasing day-to-day doses. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1879-83.
47. Wisniewski AV, Redlich CA. Recent developments in diisocyanate asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:169-75.
48. Bardana EJ. Occupational asthma and related respiratory disorders. *Dis Mon* 1995;61:141-200.
49. Malo J-L, Chan-Yeung M. Occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:317-28.
50. Maestrelli P, Del Prete GF, DeCarli M, D'Elios MM, Saetta M, Di Stefano A, et al. CD8 T-cell clones producing interleukin-5 and interferon gamma in bronchial mucosa of patients with asthma induced by toluene diisocyanate. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:376-81.
51. Finotto S, Fabbri LM, Rado V, Mapp CE, Maestrelli P. Increase in numbers of CD8 positive lymphocytes and eosinophils in peripheral blood of subjects with late asthmatic reactions induced by toluene diisocyanate. *Br J Ind Med* 1991;48:116-21.
52. Frew A, Chang JH, Chan H, Quirce S, Noertjojo K, Keown P, et al. T lymphocyte responses to plicatic acid-human serum albumin conjugate in occupational asthma caused by western red cedar. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:841-7.
53. Griffin P, Allan L, Beckett P, Elms J, Curran AD. The development of antibody to trimellitic anhydride. *Clin Exp Allergy* 2001;31:453-7.
54. Karol MH. Bonding and transfer: do epithelial conjugates have a role in chemical asthma? *Clin Exp Allergy* 2001;31:357-60.
55. Herrick CA, Xu L, Wisniewski AV, Das J, Redlich CA, Bottomly K. A novel mouse model of diisocyanate-induced asthma showing allergic-type inflammation in the lung after inhaled antigen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:873-8.
56. Smith DD. Acute inhalational injury: how to assess, how to treat. *J Respir Dis* 1999;20:405-14.
57. Gandevia B. Occupational asthma. *Med J Aust* 1970;2:332-3.
58. Murphy D, Fairman R, Lapp NL, Morgan WK. Severe airways disease due to the inhalation of fumes from cleaning agents. *Chest* 1976;69:372-6.

59. Charan NB, Myers CG, Lakshminarayan S, Spencer TM. Pulmonary injuries associated with acute sulfur dioxide inhalation. *Am Rev Respir Dis* 1979;119:555-60.
60. Brooks SM, Lockey J. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS): a newly defined occupational disease (Abst). *Am Rev Respir Dis* 1981;123(suppl):A133.
61. Brooks SM, Weiss MA, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS): persistent airways hyper-reactivity after high-level irritant exposure. *Chest* 1985;88:376-84.
62. Brooks SM, Bernstein IL. Reactive airways dysfunction syndrome or irritant-induced asthma. In: Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo J-L, Bernstein DI, editors. *Asthma in the workplace*. New York: Marcel Dekker; 1993. p. 533-49.
63. Alberts WM, doPico G. Reactive airways dysfunction syndrome. *Chest* 1996;104:1618-26.
64. Bardana EJ. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS): guidelines for diagnosis and treatment and insight into likely prognosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:S83-6.
65. American Thoracic Society Board of Directors. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309-29.
66. Brooks SM, McCluskey JD. When to suspect reactive airways dysfunction syndrome. *J Respir Dis* 2002;23:506-14.
67. Lemiere C, Malo J-L, Boutet M. Reactive airways dysfunction syndrome due to chlorine: sequential bronchial biopsies and functional assessment. *Eur Respir J* 1997;10:241-4.
68. Lemiere C, Malo J-L, Boulet L-P, Boutet M. Reactive airways dysfunction syndrome induced by exposure to a mixture containing isocyanate: functional and histopathologic behavior. *Allergy* 1996;57:262-5.
69. Brooks SM, Hammad Y, Richards I, Giovinco-Barbas J, Jenkins K. The spectrum of irritant-induced asthma. *Chest* 1998;113:42-9.
70. Joyce DP, Chapman KR, Kesten S. Prior diagnosis and treatment of patients with normal results of methacholine challenge and unexplained respiratory symptoms. *Chest* 1996;109:697-701.
71. Xuan W, Marks GB, Toelle BG, Belousova E, Peat JK, Berry J, et al. Risk factors for onset and remission of atopy, wheeze and airway hyperresponsiveness. *Thorax* 2002;57:104-9.
72. Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, Ennis M, et al. Outgrown asthma does not mean no airways inflammation. *Eur Respir J* 2002;19:284-7.
73. Tarlo SM, Boulet LP, Cartier A, Cockcroft D, Cote J, Hargreave FE, et al. Canadian Thoracic Society Guidelines for occupational asthma. *Can Respir J* 1998;5:289-300.
74. Lemiere C, Malo J-L, Desjardins A, Cartier A. Symptoms of rhinoconjunctivitis are often associated with occupational asthma, are generally milder and do not precede onset in the case of low-molecular-weight agents. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99(suppl):S80.
75. O'Hollaren MT, Montanaro A, Bardana EJ. Evaluation of the patient with occupational asthma (chapter 24). In: Bardana EJ, Montanaro A, O'Hollaren MT, editors. *Occupational asthma*. St Louis (MO): Mosby Year Book; 1992. p. 283-313.
76. Malo J-L, Ghezzo H, L'Archeveque J, Lagier F, Perrin B, Cartier A. Is the clinical history a satisfactory means of diagnosing occupational asthma? *Am Rev Respir Dis* 1991;143:528-32.
77. Vandenplas O, Binard-Van Cangh F, Brumagne A, Caroyer JM, Thimpont J, Sohy C, et al. Occupational asthma in symptomatic workers exposed to natural rubber latex: evaluation of diagnostic procedures. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:542-7.
78. Barsby AJ. Forgetting, fabricating, and telescoping: the instability of the medical history. *Arch Intern Med* 2002;162:981-4.
79. Eaton T, Withy S, Garrett JE. Spirometry in primary care practice: the importance of quality assurance and the impact of spirometry workshops. *Chest* 1999;116:416-21.
80. Malo J-L, Trudeau C, Ghezzo H, L'Archeveque J, Cartier A. Do subjects investigated for occupational asthma through serial peak expiratory flow measurements falsify their results. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:601-7.
81. Quirce S, Contreras G, Dybuncio A, Chan-Yeung M. Peak expiratory flow monitoring is not a reliable method for establishing the diagnosis of occupational asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1100-2.
82. Tan RA, Spector SL. Diagnostic testing in occupational asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:587-92.
83. Subcommittee on Occupational Allergy of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Guidelines for the diagnosis of occupational asthma. *Clin Exp Allergy* 1992;22:103-8.
84. Malo J-L. Application of provocative challenge studies in the diagnosis of occupational asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 1992;12:879-96.
85. McKay RT. Provocation challenge testing in occupational airways disorders. *Semin Respir Med* 1986;7:297-311.
86. Pepys J, Hutchcroft BJ. Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma (state-of-the-art). *Am Rev Respir Dis* 1975;112:829-59.
87. Vandenplas O, Malo J-L. Inhalation challenges with agents causing occupational asthma. *Eur Respir J* 1997;10:2612-29.
88. Redlich CA, Stowe MH, Wisniewski AV, Eisen EA, Karok MH, Lemus R, et al. Subclinical immunologic and physiologic responses in Hexamethylene diisocyanate-exposed autobody shop workers. *Am J Ind Med* 2001;39:587-97.
89. Baur X, Chen Z, Liebers V. Exposure-response relationships of occupational inhalative allergens. *Clin Exp Allergy* 1998;28:537-42.
90. Heederik D. Are we closer to developing threshold limit values for allergens in the workplace? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:185-9.
91. Paggiaro P, Vagaggini B, Bacci E, Bancalari L, Carrara M, DiFranco A, et al. Prognosis of occupational asthma. *Eur Respir J* 1994;7:761-7.
92. Montanaro A. Prognosis of occupational asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:593-6.
93. Chan-Yeung M. Immunologic and nonimmunologic mechanisms in asthma due to western red cedar (*Thuja plicata*). *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:32-7.
94. Chan-Yeung M, MacLean L, Paggiaro P. Follow-up study of 232 patients with occupational asthma caused by western red cedar (*Thuja plicata*). *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:792-6.
95. Cote J, Kennedy S, Chan-Yeung M. Outcome of patients with cedar asthma with continuous exposure. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:373-6.
96. Gautrin D, Lemiere C. Persistence of airway responsiveness to occupational agents: what does it matter? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:123-7.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Nonostante l'attenzione crescente posta sui rapporti tra esposizioni lavorative ed insorgenza di asma, l'asma professionale rimane spesso non diagnosticato.

Accanto ai due tipi principali di asma professionale, il primo e più comune, che insorge dopo un periodo di latenza asintomatico, in seguito a sensibilizzazione verso un agente presente nell'ambiente di lavoro; il secondo che insorge senza periodo di latenza in seguito ad esposizione, di solito accidentale, ad alte concentrazioni di una sostanza irritante, esiste una terza ed importante condizione descritta come asma aggravato ma non indotto dal lavoro. Questa condizione pur non essendo asma professionale vero, si associa ad un ampio uso di risorse mediche.

Le stime sull'incidenza di asma professionale derivano da studi su popolazioni, da statistiche medicolegali e da dati prodotti da sistemi di sorveglianza sanitaria. Questi approcci producono stime differenti. Va sottolineato che gli approcci tradizionali non tengono conto del fenomeno per il quale un lavoratore affetto da problemi legati al lavoro, sceglie luoghi di lavoro dove i livelli di esposizione sono bassi, può non essere assunto, o una volta assunto può lasciare il lavoro o cercare posti di lavoro più sicuri. Questo fenomeno è un bias, e può portare a sottostimare la reale incidenza di asma professionale. Dati recenti indicano comunque un'incidenza annuale sempre elevata di asma professionale in molti paesi, con gli isocianati che rimangono una causa frequente per l'insorgenza della malattia.

Nella pratica clinica, c'è un ritardo significativo nella diagnosi di asma professionale, ed esiste l'assoluta necessità di migliorare l'iter diagnostico. Il test di provocazione bronchiale specifico, pur essendo considerato un test importante, è raramente disponibile per la diagnosi di asma professionale. Tests alternativi possono essere lo sputo indotto ed il monitoraggio del picco di flusso. Rimangono molto problematiche alcune fasi del processo diagnostico, in particolare per gli agenti a basso peso molecolare, in quanto spesso non sono disponibili tests immunologici attendibili. Per gli isocianati ad esempio, l'utilità di ricercare IgE e IgG specifiche è limitata da molti fattori tra i quali la mancanza di una standardizzazione del metodo e di un'interpretazione chiara dei risultati. Inoltre questi tests immunologici non migliorano né la conoscenza sull'outcome della malattia né la conferma dell'esposizione rispetto ad altri indicatori.

È auspicabile una ricerca più approfondita sul ruolo della cute come via di esposizione e di sensibilizzazione per lo sviluppo di asma professionale. La rinite professionale è stata recentemente oggetto di ampia revisione da parte di una Task Force dell'Accademia Europea di Allergologia e Immunologia Clinica (EAACI).

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Advances in environmental and occupational disorders

Anthony J. Frew
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Supplement pages S824-S828)

Advances in environmental and occupational diseases 2004

Anthony J. Frew
June 2005 (Vol. 115, Issue 6, Pages 1197-1202)

Characteristics and medical resource use of asthmatic patients with and without work-related asthma

Lemiere C, Forget A, Dufour MH, Boulet LP, Blais L
December 2007 (Vol. 120, Issue 6, Pages 1354-1359)

*** Occupational asthma**

Emil J. Bardana
Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S408-S411)

From asthma in the workplace to occupational asthma

Malo J-L, Gautrin D
Lancet 2007; 370: 295-7

Structural changes and airway remodelling in occupational asthma at a mean interval of 14 years after cessation of exposure

Sumi Y, Foley S, Daigle S, et al
Clin Exp Allergy 2007; 37: 1781-7

Issues in diisocyanate antibody testing

Ott MG, Jolly AT, Burkert AL, Brown WE
Crit Rev Toxicol 2007; 37: 567-85

Cost-effectiveness of various diagnostic approaches for occupational asthma

Kennedy WA, Girard F, Chabouillez S, et al
Can Respir J 2007; 14: 276-80

Altri articoli di interesse (2003/2008)

Exposure to substances in the workplace and new-onset asthma: an international prospective population-based study (ECRHS-II)

Kogevinas M, Zock J-P, Jarvis D, et al
Lancet 2007; 370: 336-41

Respiratory symptoms, sensitization, and exposure response relationships in spray painters exposed to isocyanates

Pronk A, Preller L, Raulf-Helmssoth M, et al
Am J Respir Crit Care Med 2007; 176: 1090-7

Diagnosis and management of work-related asthma: American College Of Chest Physicians Consensus Statement

Tarlo SM, Balmes J, Balkissoon R, Beach J, Beckett W, Bernstein D, et al
Chest. 2008;134(3 Suppl):1S-41S. Review. Erratum in: Chest.
2008;134:892

Occupational rhinitis

EAACI Task Force on Occupational Rhinitis, Moscato G,
Vandenplas O, Gerth Van Wijk R, Malo JL, Quirce S, et al
Allergy. 2008;63:969-80

9. Allergia alimentare

Le allergie alimentari colpiscono fino al 6% dei bambini, molti dei quali, crescendo, perdono la sensibilità, e approssimativamente il 2% della popolazione generale. Sebbene qualsiasi alimento sia in grado di scatenare una reazione, relativamente pochi sono i cibi responsabili della maggioranza delle reazioni allergiche: latte, uova, noccioline, noci, crostacei, pesce. Molti di questi allergeni alimentari sono stati caratterizzati a livello molecolare, il che ha migliorato la nostra comprensione dell'immunopatogenesi di molte risposte e presto potrà condurci verso nuovi approcci immunoterapici. Le reazioni allergiche alimentari sono responsabili di una grande varietà di sintomi che coinvolgono la cute, il tratto gastrointestinale e respiratorio e possono essere causate da meccanismi IgE mediati e non IgE mediati. Un approccio sistematico che includa: anamnesi, esami di laboratorio, diete di eliminazione e spesso test di provocazione, conduce alla diagnosi corretta. Attualmente, il trattamento delle allergie alimentari consiste nell'istruire il paziente ad evitare di ingerire l'allergene responsabile ed attuare la terapia in caso di ingestione involontaria.

Una reazione avversa ad alimenti consiste in una qualsiasi reazione abnorme dopo l'ingestione di un cibo. Può essere dovuta ad una intolleranza alimentare, che è una reazione avversa fisiologica, oppure ad una allergia (ipersensibilità) alimentare che invece è una reazione avversa immunologicamente-mediata.¹

Le intolleranze alimentari possono essere causate da fattori intrinseci all'alimento, come contaminanti tossici (ad es. istamina nell'avvelenamento da pesci sgombridi), oppure da proprietà farmacologiche dell'alimento (ad es. tiramina in formaggi stagionati) o ancora dovute a particolari caratteristiche dell'ospite come i disordini metabolici (ad es. deficit di lattasi) o risposte idiosincrasiche.

Il rifiuto verso il cibo può mimare reazioni avverse alimentari ma non è riproducibile quando il paziente ingerisce l'alimento in cieco, senza saperlo.

Le ipersensibilità alimentari (allergie) sono molto frequenti nei bambini più piccoli e possono essere causate da meccanismi immunologici IgE mediati o non IgE mediati.

Le allergie alimentari sono più comuni durante i primi anni di vita, interessando circa il 6% dei bambini al di sotto dei 3 anni.² Circa il 2,5% dei neonati presenta reazioni da ipersensibilità al latte vaccino durante il 1° anno di vita, di questi però l'80% perde la sensibilizzazione

Abbreviazioni utilizzate:

DBPCFC: Double-blind, placebo-controlled food challenge/Test di provocazione alimentare in doppio cieco contro placebo

entro il 5°anno.¹ Reazioni IgE mediate sono responsabili del 60% circa delle reazioni allergiche al latte; circa il 25% di questi neonati conserva la sensibilità fino alla seconda decade di vita, e il 35% continua ad acquisire altre allergie alimentari.³

Circa l'1,5% dei bambini è allergico alle uova e lo 0,5% alle noccioline. Alcune evidenze suggeriscono che la prevalenza di allergie alle noccioline sia incrementata durante gli ultimi 20 anni.⁴ I bambini con malattie atopiche tendono ad avere una più alta prevalenza di allergia alimentare: circa il 35% di bambini con dermatite atopica da moderata a grave sviluppa allergie alimentari IgE mediate⁵ e circa il 6% dei bambini con asma ha attacchi d'asma indotti dal cibo.⁶ È stato dimostrato che reazioni avverse ad additivi alimentari interessano dallo 0,5% all'1% dei bambini.⁷ L'allergia alimentare sembra essere meno frequente tra gli adulti, sebbene siano carenti studi epidemiologici adeguati.

Una inchiesta negli Stati Uniti ha dimostrato che allergie a noccioline e noci colpiscono insieme l'1% degli adulti americani.⁸ Nel complesso, si stima che circa il 2% degli adulti negli USA sia affetto da allergie alimentari.⁹

PATOGENESI

Il tratto gastrointestinale forma un'estesa barriera all'ambiente esterno e fornisce una superficie per trasformare e assorbire gli alimenti ingeriti ed eliminare i prodotti di scarto. Il sistema immunitario associato a questa barriera, il tessuto linfoide associato all'intestino, è in grado di discriminare tra proteine estranee innocue o organismi commensali e patogeni pericolosi. Il sistema immune mucosale è costituito sia dal sistema immune innato che da quello adattativo. Diversamente dal sistema immune sistemico, il sistema immune acquisito mucosale è in grado di inibire specificamente risposte verso antigeni non pericolosi (tolleranza orale) ma anche di mettere in atto una rapida risposta verso i patogeni. L'immaturità dello sviluppo di varie componenti della barriera intestinale e del sistema immune riduce l'efficienza della barriera mucosale nell'infanzia e probabilmente gioca un

Traduzione italiana del testo di:

Hugh A. Sampson

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S540-7

ruolo importante nell'aumentata prevalenza di infezioni gastrointestinali e di allergie alimentari durante i primissimi anni di vita.¹

Nonostante l'evoluzione di un tale fine sistema di barriera, circa il 2% degli antigeni alimentari ingeriti è assorbito e trasportato attraverso l'organismo in una forma immunologicamente intatta, anche attraverso l'intestino maturo.⁹ In una classica serie di esperimenti, Brunner e Walzer usarono il siero di pazienti con allergie alimentari per sensibilizzare passivamente dei volontari, dimostrando la rapidità con cui gli antigeni alimentari sono assorbiti e trasportati ai mastociti cutanei o intestinali.¹⁰ Sebbene antigeni alimentari intatti penetrino il tratto gastrointestinale, in genere non causano sintomi clinici perché la maggior parte degli individui acquisisce una tolleranza. A livello delle mucose, antigeni solubili, come gli antigeni alimentari, sono scarsi immunogeni e inducono uno stato di non responsività conosciuto come tolleranza orale. Si ritiene che la non responsività delle cellule T verso proteine alimentari ingerite sia il risultato dell'anergia delle cellule T o dell'induzione di cellule T regolatorie. Cellule epiteliali intestinali giocano un ruolo principale nell'induzione della tolleranza verso antigeni alimentari, agendo come cellule presentanti l'antigene (APC non professionali).¹¹

In aggiunta, cellule dendritiche residenti all'interno dell'ambiente non infiammatorio delle placche del Peyer rilasciano IL10 e IL4, che favoriscono lo sviluppo della tolleranza.

Infine cellule T regolatorie (Th3 e Tr1), potenti fonti di *transforming growth factor beta*,¹² sono generate nel tessuto linfoide associato alle mucose, in risposta a basse dosi di antigene e mediano la tolleranza nel tratto gastrointestinale.

Anche la flora batterica intestinale gioca un ruolo significativo nell'induzione della tolleranza orale, in quanto animali allevati in un ambiente libero da germi dalla nascita non riescono ad acquisire la normale tolleranza.¹³ Per di più, alcuni studi indicano che l'allattamento esclusivo al seno può promuovere lo sviluppo della tolleranza orale e prevenire alcune allergie alimentari e la dermatite atopica.^{14,15}

Nonostante l'enorme varietà dell'alimentazione umana, relativamente pochi sono gli alimenti responsabili della maggior parte delle allergie alimentari. La sensibilizzazione agli allergeni alimentari può avvenire nel tratto gastrointestinale dopo l'ingestione di un alimento, definita una allergia di tipo tradizionale o di classe 1, oppure dopo l'inalazione di un aeroallergene che cross-reagisce con un alimento specifico, definita un'allergia alimentare di classe 2.¹⁶

I principali allergeni alimentari identificati come allergeni di classe 1 sono glicoproteine idrosolubili, da 10 a 70 kd e stabili al trattamento con calore, acidi e proteasi.¹ I principali allergeni di classe 2 sono proteine di origine vegetale labili al calore e difficili da isolare, con conseguente preparazione di estratti standardizzati spesso poco soddisfacenti dal punto di vista diagnostico.

Un numero limitato di allergeni alimentari di classe 1 e 2 è stato identificato, clonato, sequenziato ed espresso come proteine ricombinanti (tabelle IA e IB).

Molti degli allergeni vegetali sono omologhi di proteine correlate a patogeni, proteine di deposito dei semi, profiline, perossidasi o inibitori di proteasi comuni a molte piante.¹⁶

Allergeni di derivazione animale sembrano essere più limitati per numero e cross-reattività.

Nei bambini, latte di mucca, uova, noccioline, soia, grano e pesce sono responsabili di oltre l'85% delle allergie alimentari documentate, mentre negli adulti, noccioline, frutta secca, pesce e molluschi sono responsabili della maggior parte delle reazioni.¹

Le ipersensibilità alimentari si sviluppano in soggetti geneticamente predisposti quando la tolleranza orale non riesce a svilupparsi normalmente oppure si perde.

Reazioni IgE mediate si sviluppano quando anticorpi IgE alimento-specifici residenti su mastociti e basofili legano allergeni alimentari ingeriti circolanti e attivano le cellule a rilasciare una quantità di potenti mediatori e citochine, come discusso altrove in questo articolo. Come illustrato nella tabella II, sono stati descritti numerosi disturbi da ipersensibilità alimentare non IgE mediate.

Ci sono scarse prove dell'implicazione dell'ipersensibilità mediata da complessi antigene-anticorpo nelle malattie correlate ad alimenti. Probabilmente reazioni di ipersensibilità cellulo-mediata intervengono in un certo numero di disturbi gastrointestinali, come rilevato nella tabella II.

DIAGNOSI E DISTURBI DA IPERSENSIBILITÀ ALIMENTARE

L'approccio diagnostico per le allergie alimentari è simile a quello di altre patologie. La storia clinica mira a stabilire se sia avvenuta una reazione allergica a cibi e ad ottenere informazioni utili ad effettuare una prova diagnostica appropriata. Dovrebbero essere delineate e raccolte le seguenti informazioni:

- l'alimento responsabile della reazione;
- la quantità ingerita dell'alimento sospettato;
- il tempo intercorso tra l'ingestione e lo sviluppo dei sintomi;
- se sintomi simili si erano presentati ad una precedente ingestione dello stesso alimento;
- se altri fattori (ad es. esercizio fisico) sono necessari;
- quando è avvenuta l'ultima reazione al cibo.

Diari alimentari possono essere un'utile supporto alla storia, in quanto tali informazioni si possono ottenere in modo prospettico ed essere meno influenzate dalla memoria del paziente.

Diete di eliminazione sono frequentemente usate sia per la diagnosi che per il trattamento delle allergie alimentari. Il successo delle diete di eliminazione richiede che sia identificato l'allergene responsabile, che il paziente mantenga una dieta completamente priva di qualsiasi forma dell'allergene dannoso e che altri fattori non provochino sintomi simili durante il periodo di osservazione. Tali condizioni possono essere difficili da ottenere e le diete da eliminazione da sole raramente sono diagnostiche per allergie alimentari.

Tabella IA. Allergeni alimentari rappresentativi: Allergeni alimentari di classe 1

Frazione proteica	Proporzione approssimativa di proteina (%)	Peso Molecolare (kd)	Nomenclatura
Latte vaccino			
Caseine	76-86%	19-24	
Siero-albumina	14-24%		
Beta-Lattoglobulina	7-12%	36	Bos d 5
Albume			
Ovalbumina	54%	45	Gal d1
Ovomucoide	11%	28	Gal d2
Arachide			
Vicillina	—	63,5	Ara h 1
Conglutina	—	17/19	Ara h 2
Glicinina	—	64	Ara h 3
Pesce			
Parvalbumina	—	12,3	Gad c 1
Lipid-transfer proteins (proteine patogeno-correlate del gruppo 14)			
Mela	—	9	Mal d 3
Mais	—	9	Zea m 14

Tabella IB. Allergeni alimentari rappresentativi: Allergeni alimentari di classe 2

Frazione proteica	Peso Molecolare (kd)	Nomenclatura	Omologia
Reattività crociata lattice-frutta			
Proteine patogeno-correlate del gruppo 2			
Lattice	34/36	Hev b 2	1,3 gluconasi
Banana			
Kiwi			
Proteine patogeno-correlate del gruppo 3			
Lattice	5	Hev b 6.02	Chitinasi
Avocado	32	Pers a 1	Endochitinasi
Proteine patogeno-correlate del gruppo 5			
Mela	31	Mal d 2	Omologo della taumatina
Ciliegia	23,3	Pru av 2	Taumatina
Omologhi di Bet v 1 (Proteine patogeno-correlate del gruppo 10)			
Mela		Mal d 1	Omologo Bet v 1
Carota		Dau c 1	Omologo Bet v 1
Sedano	16	Api g 1	Omologo Bet v 1
Omologhi di Bet v 2 (Sindrome sedano-assenzio-spezie)			
Lattice	14	Hev b 8	Profilina
Sedano		Api g 4	Profilina
Patata			Profilina

Per i disturbi IgE mediati, i prick test cutanei sono spesso adoperati per eseguire uno screening dei pazienti per la sensibilità verso specifici alimenti. Gli allergeni che provocano un pomfo di almeno 3 mm maggiore rispetto al controllo negativo sono considerati positivi, indicando una possibilità che il paziente reagisca con manifestazioni cliniche allo specifico alimento (l'accuratezza predittiva positiva totale è <50%), mentre test cutanei negativi essenzialmente confermano l'assenza di reazioni IgE-mediate (accuratezza predittiva negativa >95%).¹⁷ Si ritiene che nei bambini al di sotto di 2 anni, prick test cutanei per latte, uovo o noccioline con pomfi di almeno 8 mm di diametro siano predittivi di reattività per oltre il 95%.¹⁸ In generale, prick test cutanei negativi sono estremamente utili per escludere allergie alimentari IgE-mediate, ma risultati positivi sono solo suggestivi della

presenza clinica di allergie alimentari. Per la valutazione di allergie a molti frutti e ortaggi (ad es. mele, banane, arance, patate, carote e sedano) gli estratti preparati commercialmente sono generalmente inadeguati a causa della instabilità dell'allergene responsabile, così che si possono usare alimenti freschi per la prova cutanea. Il Radioallergosorbent test (RAST) e analisi simili in vitro possono essere usati per identificare anticorpi IgE specifici per alimenti. Più recentemente è stato dimostrato che l'uso di una misurazione quantitativa di anticorpi IgE-specifici per i cibi è più predittivo di una allergia alimentare IgE-mediata sintomatica.¹⁹ Livelli di IgE specifiche che superano valori diagnostici indicano che c'è una probabilità maggiore del 95% che il paziente abbia una reazione allergica qualora ingerisca l'alimento specifico (Tabella II).

Il test di provocazione in doppio cieco controllato con il placebo (DBPCFC) è considerato il gold standard per la diagnosi delle allergie alimentari.¹⁷ Gli alimenti valutati con il DBPCFC sono decisi in base alla anamnesi o ai risultati dei test cutanei (o del RAST). I cibi che poco probabilmente sono causa di reazione allergica possono essere valutati in aperto o con test di provocazione in cieco singolo. I cibi sospetti dovrebbero essere eliminati da 7 a 14 giorni prima dello studio, più a lungo per alcuni disturbi gastrointestinali non IgE-mediati. Devono essere sospesi anche i farmaci che potrebbero interferire con l'interpretazione dei risultati (ad es. antiistaminici). Se i risultati del test di provocazione in cieco sono negativi, questo deve essere confermato da una somministrazione in aperto sotto osservazione per escludere il raro risultato di falso negativo.

In alcune allergie alimentari non IgE-mediate (ad es. enterocoliti indotte da proteine alimentari), la provocazione con allergene può richiedere da 0,3 a 0,6 grammi di proteine alimentari per kg di peso corporeo somministrati in 1 o 2 dosi.²⁰ In altri disturbi non IgE-mediati (ad es. gastroenterite eosinofila allergica) il paziente può avere bisogno di diverse somministrazioni nel corso di un periodo di 1-3 giorni per indurre i sintomi.

La durata del periodo di osservazione dipende dal tipo di reazione sospettata. Pazienti con storie di anafilassi con pericolo di vita dovrebbero sottoporsi a studi di provocazione solo quando la storia e i test di laboratorio non sono in grado di determinare in modo conclusivo l'antigene causa dell'allergia alimentare (questi tests dovrebbero essere eseguiti in un reparto di terapia intensiva), oppure quando ritiene che il si paziente abbia perso col tempo la sua sensibilizzazione.

Allergie alimentari multiple sono rare: se sospettate, devono essere confermate da DBPCFC.

Da un punto di vista clinico e diagnostico è utile classificare i disordini di ipersensibilità alimentare secondo l'organo maggiormente interessato e secondo il meccanismo di risposta. Le reazioni IgE-mediate tipicamente insorgono in modo rapido mentre quelle non IgE-mediate diventano evidenti ore o giorni dopo l'ingestione dell'allergene. Alcuni disturbi possono includere entrambi i meccanismi ed insorgere quindi in un tempo variabile.

Reazioni di ipersensibilità alimentare gastrointestinale

Nella tabella IV, sono state descritte numerose forme di ipersensibilità alimentari gastrointestinali. La sindrome allergica orale (o sindrome allergica a cibo e polline) è determinata da diverse proteine vegetali che cross-reagiscono con aeroallergeni, specialmente pollini di betulla, ambrosia, ed artemisia.¹⁶ Pazienti allergici all'ambrosia possono reagire ingerendo meloni e banane, mentre, quelli allergici al polline di betulla possono sviluppare sintomi dopo l'ingestione di patate, carote, sedano, mele, pere, nocciole e kiwi. L'immunoterapia per il trattamento della rinite da polline può eliminare i sintomi dell'allergia orale.²¹ L'anafilassi gastrointestinale si presenta tipicamente con manifestazioni allergiche in altri organi bersaglio.¹ Molte ipersensibilità gastrointestinali non IgE-mediate sono state descritte soprattutto in neonati e bambini.

TABELLA II. Patologie da ipersensibilità ad alimenti

Tipo	Patologie
<u>IgE mediate</u>	
Cutanee	Orticaria Angioedema Rash morbilliforme Eritema
Gastrointestinali	Sindrome orale allergica Anafilassi gastrointestinale
Respiratorie	Rinocongiuntivite acuta Broncospasmo (sibili)
Generalizzate	Shock anafilattico
<u>Miste IgE mediate e cellulo mediate</u>	
Cutanee	Dermatite atopica
Gastrointestinali	Esofagite eosinofila allergica Gastroenterite eosinofila allergica
Respiratorie	Asma
<u>Cellulo mediate</u>	
Cutanee	Dermatite da contatto Dermatite erpetiforme
Gastrointestinali	Enterocolite indotta da proteine alimentari Proctocolite indotta da proteine alimentari Sindromi enteropatiche indotte da proteine alimentari Celiachia
Respiratorie	Emosiderosi polmonare indotta da alimenti (Sindrome di Heiner)

La gastroenterite e l'esofagite eosinofila allergica sono caratterizzate da infiltrazione di esofago, stomaco o pareti intestinali da parte di eosinofili, da iperplasia della zona basale; da allungamento papillare, da assenza di vasculite, e da eosinofilia periferica in circa il 50% dei pazienti.²

L'esofagite eosinofila allergica si osserva più frequentemente durante l'infanzia e per tutta l'adolescenza e tipicamente associa ad un reflusso gastroesofageo cronico.²²⁻²⁴ Può essere necessario eliminare dalla dieta gli allergeni responsabili almeno per 8 settimane al fine di determinare la risoluzione dei sintomi e per almeno 12 settimane per promuovere la normalizzazione della condizione istologica intestinale.²⁵ La gastroenterite eosinofila allergica può colpire ogni età, compresi i neonati, in cui può presentarsi come una stenosi pilorica con ostruzione e vomito postprandiale a proiettile.²⁶ La perdita di peso e il rallentamento della crescita rappresentano un segno distintivo di questo disturbo.

La proctocolite indotta da proteine alimentari generalmente si osserva nei primissimi mesi di vita in risposta a proteine alimentari passate nel latte materno o a formulazioni sostitutive basate su latte o soia.^{27,28} Le lesioni sono localizzate alla parte distale del grosso intestino e consistono in edema della mucosa con infiltrazioni di eosinofili nell'epitelio e nella lamina propria. La sindrome enterocolitica indotta da proteine della dieta si manifesta molto più comunemente in neonati al di sotto dei tre mesi, ma può essere ritardata in bambini allattati al seno.²⁰ I sintomi sono più frequentemente provocati da latte di mucca o formulazioni derivate da proteine della soia, ma possono essere dovuti ad altri alimenti in bambini più grandi (ad es. vari cereali).²⁰

Tabella III. Concentrazioni di IgE alimento-specifiche predittive di reattività clinica

Allergene	Concentrazione soglia (kU _A /L)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	Valore predittivo positivo (%)	Valore predittivo negativo (%)
Uovo	7	61	95	98	38
Bambini ≤ 2 anni *	2			95	
Latte	15	57	94	95	53
Bambini ≤ 2 anni §	5			95	
Arachide	14	57	100	100	36
Pesce	20	25	100	100	89
Soia	30	44	94	73	82
Grano	26	61	92	74	87
Frutta secca #	circa 15	—	—	circa 95	

Adattata da Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. J Allergy Clin Immunol 2001;107:891-6. Usato con autorizzazione.

* Boyano MT, et al. Validity of specific IgE in children with egg allergy. Clin Exp Allergy 2001;31:1464-9. § Garcia-Ara C. et al. Specifici IgE levels in the diagnosis of immediate hypersensitivity to cow's milk protein in infants. J Allergy Clin Immunol 2001;107:185-90

#Valori probabili stimati

Tabella IV. Disturbi da ipersensibilità alimentari gastrointestinali

Disturbi	Meccanismo	Sintomi	Diagnosi
Sindrome allergica orale	IgE mediato	Lieve prurito, formicolio e/o angioedema delle labbra, palato, lingua o orofaringe; occasionale sensazione di costrizione in gola e raramente sintomi sistemici	Storia clinica e risposte positive ai prick test cutanei verso le proteine alimentari in causa (prick più prick by prick), provocazione orale positiva con cibi freschi, negativa con cibi cotti.
Anafilassi gastrointestinale	IgE mediato	Rapida insorgenza di nausea, dolore addominale, crampi, vomito, e/o diarrea; spesso coinvolte risposte di altri organi bersaglio (cute, tratto respiratorio)	Storia clinica e risultati positivi dei prick test cutanei o Rast, provocazioni orali positive o negative.
Esofagite eosinofila allergica	IgE mediato e/o cellulo mediato	RGE, eccessiva salivazione o vomito, disfagia, dolore addominale intermittente, irritabilità, disturbi del sonno, mancata risposta ai farmaci convenzionali per il reflusso	Storia clinica, prick test cutanei, endoscopia e biopsia, dieta di eliminazione e provocazione
Gastroenterite eosinofila allergica	IgE mediato e/o cellulo mediato	Dolore addominale ricorrente, irritabilità, sazietà precoce, vomito intermittente, rallentamento della crescita e perdita di peso	Storia clinica, prick test cutanei, endoscopia e biopsia, dieta di eliminazione e provocazione
Proctocolite indotta da proteine alimentari	cellulo mediato	Sangue evidente o occulto nelle feci, di solito si osserva nei primi 5 mesi di vita	Risultati negativi ai prick test cutanei, l'eliminazione di proteine alimentari porta a risolvere la maggior parte del sanguinamento in 72 ore, risultati positivi o negativi di endoscopia e biopsia, provocazione induce emorragia entro 72 ore
Enterocolite indotta da proteine alimentari	cellulo mediato	Vomito protratto e diarrea (può esserci sangue o meno) non di rado con disidratazione, distensione addominale, rallentamento della crescita, vomito tipicamente ritardato 1-3 ore dopo l'alimentazione	Prick test negativi, l'eliminazione di proteine alimentari porta alla scomparsa dei sintomi in 24-72 ore, la provocazione induce vomito ricorrente entro 1-2 ore, nel 15% circa si sviluppa ipotensione
Enteropatia indotta da proteine alimentari (glutine sensibile)	cellulo mediato	Diarrea o steatorrea, distensione addominale e flatulenza, perdita di peso o rallentamento della crescita, +/- nausea e vomito, ulcere orali	Endoscopia e biopsia mostrano IgA, dieta da eliminazione con risoluzione di sintomi e provocazioni alimentari, anticorpi celiaci IgA antigliadina e anti transglutaminasi

Negli adulti, l'ipersensibilità a crostacei (gamberetti, granchi, aragoste) può provocare una sindrome simile, con un attacco ritardato di grave nausea, crampi addominali e vomito protratto. L'enteropatia indotta da proteine alimentari (escludendo la malattia celiaca) generalmente si presenta nell'arco dei primi mesi di vita con diarrea (steatorrea da lieve a moderata in circa l'80% dei casi) e scarso aumento di peso.²⁹ La biopsia rivela un'irregolare

atrofia dei villi, un infiltrato di cellule rotonde mononucleari e pochi eosinofili.²⁹ La malattia celiaca, una enteropatia più estesa che comporta malassorbimento, è associata a sensibilità alla gliadina presente nel grano, segale e orzo. La malattia celiaca è altamente associata a HLA-DQ2 [$\alpha 1^*0501$, $\beta 1^*0201$], che è presente in più del 90% dei pazienti affetti da celiachia.³⁰ Non appena la diagnosi di celiachia è stabilita, è necessario eliminare alimenti

Tabella V. Manifestazioni cutanee da ipersensibilità alimentare

Disturbi	Meccanismo	Sintomi	Diagnosi
Orticaria e angioedema acuti	IgE mediato	Prurito, orticaria e/o edema	Storia clinica, prick test e Rast, provocazione positiva o negativa
Orticaria e angioedema cronici	IgE mediato	Prurito, orticaria e/o edema della durata >6 settimane	Storia clinica, prick test e Rast, dieta di eliminazione, provocazione
Dermatite atopica	IgE e cellulo mediato	Prurito marcato; rash eczematoso con distribuzione classica	Storia clinica, prick test; CAP-System FEIA (IgE quantitative), dieta di eliminazione, test di provocazioni
Dermatite da contatto	cellulo mediato	Prurito marcato; rash eczematoso	Storia clinica, patch test
Dermatite erpetiforme	cellulo mediato	Prurito marcato; rash papulovesiculare su superfici estensorie e natiche	Biopsia cutanea (deposizione di IgA), anticorpi IgA antigliadina e antitransglutaminasi, endoscopia positiva o negativa

Tabella VI. Manifestazioni respiratorie da ipersensibilità alimentare

Disturbi	Meccanismo	Sintomi	Diagnosi
Rinocongiuntivite allergica	IgE mediato	Prurito perioculare, lacrimazione, eritema congiuntivale, congestione nasale, rinorrea, starnutazione	Storia clinica, prick test dieta di eliminazione, test di provocazione
Asma	IgE e cellulo mediato	Tosse, dispnea, sibili	Storia clinica, prick test dieta di eliminazione, test di provocazione
Sindrome di Heiner	Incerta	Polmoniti ricorrenti, infiltrati polmonari, emosiderosi, anemia sideropenica, rallentamento della crescita	Storia clinica, eosinofilia periferica, precipitine verso il latte (se causata dal latte), biopsia polmonare positiva o negativa, dieta di eliminazione

contenenti glutine per tutta la vita sia, per tenere sotto controllo i sintomi sia per evitare il rischio maggiore di tumori.

La colica infantile, una mal definita sindrome di irritabilità parossistica caratterizzata da un pianto straziante e disperato, generalmente si manifesta nelle prime 2 o 4 settimane di vita e persiste fino al terzo o quarto mese³¹. La diagnosi può essere stabilita con l'attuazione di prove con diverse formule ipoallergeniche per brevi periodi.

Manifestazioni cutanee di ipersensibilità alimentare

Come delineato in tabella V, orticaria acuta e angioedema sono tra le più comuni manifestazioni di reazioni allergiche alimentari, sebbene non si conosca la loro esatta prevalenza. Anche l'orticaria acuta causata dal contatto con alimenti (carni, ortaggi, frutti) è molto comune. L'allergia alimentare è raramente causa di orticaria e angioedema cronici (sintomi che durano per più di 6 settimane). La dermatite atopica è una forma di eczema che di solito inizia nella prima infanzia ed è caratterizzata da una distribuzione tipica, prurito molto intenso e un decorso cronicamente recidivante.³² Anticorpi IgE allergene specifici legati alle cellule di Langerhans giocano un ruolo unico come recettori non tradizionali.³³ I DBPCFC, provocano generalmente un rash morbilliforme eritematoso e marcatamente pruriginoso. Raramente si vedono lesioni orticarioidi, ma spesso si sviluppano sintomi gastrointestinali e respiratori. La dermatite da contatto alimento-indotta si osserva fre-

quentemente in chi manipola alimenti, soprattutto pesce crudo, crostacei, carni e uova.³⁴ La dermatite erpetiforme è una malattia cutanea cronica vescicolosa associata ad una enteropatia da sensibilità al glutine e caratterizzata da un rash papulo vescicolare cronico, intensamente pruriginoso, simmetricamente distribuito sulle superfici estensorie e sulle natiche.³⁵

Manifestazioni respiratorie di ipersensibilità alimentare

Manifestazioni respiratorie acute secondarie ad allergie alimentari rappresentano reazioni IgE-mediate pure mentre sintomi respiratori cronici rappresentano un insieme di manifestazioni IgE-mediate (tabella IV). La rinocongiuntivite isolata è raramente una manifestazione di allergia alimentare sebbene accompagni comunemente altri sintomi. L'asma è una manifestazione poco frequente di allergia alimentare anche se un broncospasmo acuto si osserva di solito insieme ad altri sintomi alimentare-indotti.³⁶ Comunque, l'allergia alimentare può indurre iperreattività delle vie aeree e un peggioramento dell'asma.³⁷ Esalazioni o vapori emessi da cibi in cottura (ad es. pesce) possono indurre reazioni asmatiche.³⁸ Sintomi asmatici indotti dagli alimenti dovrebbero essere sospettati in pazienti con asma refrattario e una storia di dermatite atopica, RGE, allergia alimentare o problemi d'alimentazione in età infantile, oppure una storia di test cutanei positivi o reazioni ad un alimento. La sindrome di Heiner è una rara forma di emosiderosi polmonare alimento-indotta tipicamente causata da latte

di mucca.³⁹ L'anafilassi generalizzata dovuta ad allergie alimentari contribuisce almeno ad 1/3 di tutti i casi di anafilassi osservati nei dipartimenti di medicina d'urgenza.⁴⁰ Oltre all'espressione variabile di manifestazioni cutanee, respiratorie e gastrointestinali, i pazienti possono avere sintomi cardiovascolari, che includono ipotensione, collasso circolatorio e aritmie cardiache. Stranamente, la beta triptasi sierica è raramente (<10% delle volte) elevata nell'anafilassi indotta da cibo.^{41,42} In un recente studio di 32 casi fatali di anafilassi indotta da alimenti,⁴⁰ sono stati evidenziati diversi fattori di rischio: la maggior parte dei pazienti era rappresentata da adolescenti o giovani adulti, virtualmente tutti erano noti per avere allergie alimentari con una precedente storia di reazioni verso l'alimento implicato; quasi tutti soffrivano di asma, solo il 10% aveva adrenalina a disposizione da usare al momento della reazione, circa il 10% di coloro che avevano ricevuto l'adrenalina in maniera tempestiva non era sopravvissuto, noccioline o frutta secca erano responsabili della grande maggioranza (94%) delle morti negli Stati Uniti. La diagnosi si basa su una storia di sintomi tipici dopo l'ingestione isolata di uno specifico alimento e la dimostrazione di anticorpi IgE specifici. In mancanza di tale dimostrazione, una provocazione alimentare sotto sorveglianza medica è generalmente necessaria per accertarsi che l'alimento sospettato sia realmente responsabile della reazione anafilattica. Queste prove dovrebbero essere condotte in ambiente ospedaliero in presenza di un medico esperto nel trattamento delle reazioni anafilattiche.

L'anafilassi da esercizio fisico postprandiale è una forma insolita di anafilassi che si presenta solo quando il paziente pratica esercizio fisico entro 2-4 ore dall'ingestione di un alimento, sebbene in assenza di esercizio, il paziente possa assumere l'alimento senza alcuna reazione evidente.⁴³ È molto comune nelle donne di 15-35 anni. La diagnosi è basata sulla storia e sulla dimostrazione di anticorpi IgE alimento-specifici verso gli alimenti.

TERAPIA DELLE ALLERGIE ALIMENTARI

Una volta stabilita la diagnosi di ipersensibilità alimentare, l'unica terapia comprovata è la eliminazione rigorosa dell'allergene nocivo. I pazienti e le loro famiglie devono essere educati ad evitare l'ingestione accidentale di allergeni alimentari (ad es. mediante la lettura delle etichette sugli alimenti), e a riconoscere precocemente i sintomi di una reazione allergica e ad iniziare subito il trattamento di una reazione anafilattica.¹⁷ Una grande quantità di materiale educativo è disponibile attraverso organizzazioni come la Food Allergy and Anaphylaxis Network (Fairfax, Va, <http://www.foodallergy.org>).

La maggioranza delle reattività sintomatiche ad allergeni alimentari si perde con il tempo, eccetto quelle per noccioline, noci e frutti di mare.^{17,44} Bambini con bassi livelli di IgE specifiche per noccioline dovrebbero essere rivalutati per stabilire se hanno perso la loro allergia. La reattività sintomatica ad allergeni alimentari è in generale estremamente specifica; pazienti con allergie alimentari IgE-mediate raramente reagiscono a più di un componente di

una famiglia botanica o di una specie animale.⁴⁵

Gli antiistaminici possono attenuare parzialmente i sintomi di una sindrome allergica orale⁴⁶ e le manifestazioni cutanee IgE-mediate, ma non bloccano le reazioni sistemiche. I corticosteroidi orali sono in genere efficaci nel trattamento di disordini cronici IgE mediati (ad es. dermatite atopica o asma) o disordini gastrointestinali non IgE-mediate (ad es. esofagite eosinofila allergica o gastroenterite o enteropatia alimento-indotta) ma gli effetti collaterali dovuti all'uso protratto di corticosteroidi sono inaccettabili. Sono in fase di studio nuove forme di immunoterapia e di terapia con anti-IgE per il trattamento delle allergie alimentari IgE-mediate.^{47,48} Per più di 50 anni gli allergologi hanno discusso se fosse possibile prevenire le allergie alimentari. Meta-analisi degli studi esistenti suggeriscono questa possibilità^{49,50}, e l'Accademia Americana di Pediatria raccomanda che i neonati ad alto rischio siano allattati esclusivamente al seno, che le madri che allattano evitino noccioline e frutta secca (per evitare la sensibilizzazione attraverso il latte materno), che l'introduzione di cibi solidi sia rimandata fino al 6° mese di vita e che gli allergeni maggiori quali arachidi, frutta secca e ogni tipo di pesce siano introdotti dopo i 3 anni di età.

Riassumendo, le reazioni da ipersensibilità alimentare colpiscono fino al 6% dei bambini al di sotto dei 3 anni e approssimativamente il 2% della popolazione generale. Precedenti ricerche avevano caratterizzato abbastanza bene i disturbi da ipersensibilità alimentare, ma la nostra conoscenza dei meccanismi immunopatologici di base rimane incompleta. Studi odierni più recenti sulla caratterizzazione degli allergeni e metodi scientifici rigorosi che ora molti ricercatori stanno applicando a questo campo danno la speranza che saranno presto disponibili nuove informazioni relative alla immunopatogenesi di questi disturbi e nuove forme di terapia. saranno presto disponibili.

BIBLIOGRAFIA

1. Sampson HA. Food allergy. Part 1: immunopathogenesis and clinical disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:717-28.
2. Bock SA. Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics* 1987;79:683-8.
3. Host A, Halken S, Jacobsen HP, Eastmann A, Mortensen S, Mygil S. The natural course of cow's milk protein allergy/intolerance [abstract]. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:S490.
4. Grundy J, Matthews S, Bateman B, Dean T, Arshad SH. Rising prevalence of allergy to peanut in children: data from 2 sequential cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:784-9.
5. Eigenmann PA, Sicherer SH, Borkowski TA, Cohen BD, Sampson HA. Prevalence of IgE-mediated food allergy among children with atopic dermatitis. *Pediatrics* 1998;101:e8.
6. Novembre E, de Martino M, Vierucci A. Foods and respiratory allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81:1059-65.
7. Fuglsang G, Madsen C, Saval P, Osterballe O. Prevalence of intolerance to food additives among Danish school children. *Pediatr Allergy Immunol* 1993;4:123-9.
8. Sicherer SH, Munoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA.

- Prevalence of peanut and tree nut allergy in the United States of America. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:559-62.
9. Husby S, Foged N, Host A, Svehag SE. Passage of dietary antigens into the blood of children with coeliac disease: quantification and size distribution of absorbed antigens. *Gut* 1987;28:1062-72.
10. Brunner M, Walzer M. Absorption of undigested proteins in human beings: the absorption of unaltered fish protein in adults. *Arch Intern Med* 1928;42:173-9.
11. Mayer L. Mucosal immunity and gastrointestinal antigen processing. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl:S4-12.
12. Smith KM, Eaton AD, Finlayson LM, Garside P. Oral tolerance. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:S175-8.
13. Sudo N, Sawamura S, Tanaka K, Aiba Y, Kubo C, Koga Y. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol* 1997;159:1739-45.
14. Zeiger R. Breast-feeding and dietary avoidance. In: de Weck A, Sampson H, editors. *Intestinal immunology and food allergy*. New York: Raven Press; 1995. p. 203-22.
15. Jarvinen KM, Suomalainen H. Development of cow's milk allergy in breast-fed infants. *Clin Exp Allergy* 2001;31:978-87.
16. Breiteneder H, Ebner C. Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:27-36.
17. Sampson HA. Food allergy. Part 2: diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:981-99.
18. Hill DJ, Hosking CS, Reyes-Benito LV. Reducing the need for food allergen challenges in young children: a comparison of in vitro with in vivo tests. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1031-5.
19. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:891-6.
20. Sicherer SH, Eigenmann PA, Sampson HA. Clinical features of food protein-induced enterocolitis syndrome. *J Pediatr* 1998;214-9.
21. Asero R. Effects of birch pollen-specific immunotherapy on apple allergy in birch pollen-hypersensitive patients. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1368-73.
22. Sampson HA, Sicherer SH, Birnbaum AH. AGA technical review on the evaluation of food allergy in gastrointestinal disorders. *American Gastroenterological Association. Gastroenterol* 2001;120:1026-40.
23. Liacouras CA, Markowitz JE. Eosinophilic esophagitis: a subset of eosinophilic gastroenteritis. *Curr Gastroenterol Rep* 1999;1:253-8.
24. Ruchelli E, Wenner W, Voytek T, Brown K, Liacouras C. Severity of esophageal eosinophilia predicts response to conventional gastroesophageal reflux therapy. *Pediatr Dev Pathol* 1999;2:15-8.
25. Kelly KJ, Lazenby AJ, Rowe PC, Yardley JH, Perman JA, Sampson HA. Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino-acid based formula. *Gastroenterology* 1995; 109:1503-12.
26. Snyder JD, Rosenblum N, Wershil B, Goldman M, Winter HS. Pyloric stenosis and eosinophilic gastroenteritis in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987;6:543-7.
27. Machida H, Smith A, Gall D, Trevenen C, Scott RB. Allergic colitis in infancy: clinical and pathologic aspects. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;19:22-6.
28. Lake AM. Food-induced eosinophilic proctocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl:S58-60.
29. Savilahti E. Food-induced malabsorption syndromes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl:S61-6.
30. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993;105:910-22.
31. Hill DJ, Hosking CS. Infantile colic and food hypersensitivity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30 Suppl:S67-76.
32. Sampson HA, Sicherer SH. Eczema and food hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am* 1999;19:495-518.
33. Bieber T, Kraft S, Jugend M, Strobel I, Haberkost J, Tomov H, et al. New insights in the structure and biology of the high affinity receptor for IgE (Fc epsilon RI) on human epidermal Langerhans cells. *J Dermatol Sci* 1996;13:71-5.
34. Judd L. A descriptive study of occupational skin disease. *N Z Med J* 1994;107:147-9.
35. Hall RP. Dermatitis herpetiformis. *J Invest Dermatol* 1992;99:873-81.
36. James JM, Bernhisel-Broadbent J, Sampson HA. Respiratory reactions provoked by double-blind food challenges in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:59-64.
37. James JM, Eigenmann PA, Eggleston PA, Sampson HA. Airway reactivity changes in food-allergic, asthmatic children undergoing double-blind placebo-controlled food challenges. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:597-603.
38. Crespo JF, Pascual C, Dominguez C, Ojeda I, Munoz FM, Estaban MM. Allergic reactions associated with airborne fish particles in IgE-mediated fish hypersensitive patients. *Allergy* 1995;50:257-61.
39. Lee SK, Kniker WT, Cook CD, Heiner DC. Cow's milk-induced pulmonary disease in children. *Adv Pediatr* 1978;25:39-57.
40. Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Fatalities due to anaphylactic reactions to foods. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:191-3.
41. Sampson HA, Mendelson LM, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992;327:380-4.
42. Lin RY, Schwartz LB, Curry A, Pesola GR, Knight RJ, Lee HS, et al. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: an emergency department-based study. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:65-71.
43. Varjonen E, Vainio E, Kalimo K. Life-threatening, recurrent anaphylaxis caused by allergy to gliadin and exercise. *Clin Exp Allergy* 1997;27:162-6.
44. Skolnick HS, Conover-Walker MK, Koerner CB, Sampson HA, Burks W, Wood RA. The natural history of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:367-74.
45. Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:881-90.
46. Bindslev-Jensen C, Vibits A, Stahl Skov P, Weeke B. Oral allergy syndrome: the effect of astemizole. *Allergy* 1991;46:610-3.
47. Leung DY, Sampson HA, Yunginger JW, Burks AW, Schneider L, Wortel CH, et al. Effect of anti-IgE therapy (TNX-901) in patients with severe peanut allergy. *N Engl J Med*. In press 2003.
48. Sampson HA. Immunological approaches to the treatment of food allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2001;12:91-6.
49. Gdalevich M, Mimouni D, David M, Mimouni M. Breast-feeding and the onset of atopic dermatitis in childhood: a systematic review and metaanalysis of prospective studies. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:520-7.
50. Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr* 2001;139:261-6.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Nella letteratura più recente le percentuali di prevalenza riportate sono lievemente più elevate (fino all'8% nei bambini e al 3,7 % negli adulti) (Sicherer e Sampson, *J Allergy Clin Immunol*, 2006), con dati recenti di un effetto ambientale sull'incremento della allergia alle arachidi, raddoppiata nell'infanzia. Importante dato socio-economico è che circa il 20% della popolazione modifica la dieta a causa della percezione di una reazione avversa ad alimenti, che può includere diversi meccanismi anche non immunologici (reazioni tossiche, metaboliche, farmacologiche, psicologiche). Anche i termini impiegati nelle definizioni (ad es. della WAO) sono leggermente diversi da quelli usati nell'edizione 2003. Nella discussione dei problemi connessi alle allergie alimentari affiora anche l'aspetto della diversificazione geografica, dovuta a diverse abitudini alimentari ed a fattori ancora poco noti. Ad esempio, nelle regioni mediterranee l'allergia ai frutti delle Prunoidee è causata da proteine di trasferimento dei lipidi (LTP, allergeni di classe 1) e non a cross-reattività con polline di betullacee.

Citato largamente lo studio pilota dell'uso di anti-IgE come nuova potenziale terapia delle forme gravi e persistenti di allergie alimentari. Altre possibili forme di trattamento vanno dalle esperienze con la medicina tradizionale cinese a base di erbe all'uso sperimentale di adiuvanti. Il possibile uso di induzione di tolleranza specifica per via orale (SOTT) dimostrato in alcune esperienze con protocolli estremamente diversi, pur presentando lo svantaggio di non dare una tolleranza permanente e non avere un pattern di risposta prevedibile, incontra sempre maggiore interesse per quei casi gravi e ribelli ad altri trattamenti.

Per la patogenesi sembra comparire l'ipotesi che almeno alcuni allergeni di classe I sfuggono alla tolleranza orale perché l'esposizione sensibilizzante iniziale avviene per via cutanea.

I meccanismi della tolleranza orale sono stati ulteriormente approfonditi e risultano più complessi, con almeno cinque tipi di cellule regolatorie nell'intestino, mentre il ruolo della flora batterica comincia solo ora ad essere apprezzato.

Alcune novità si registrano anche per la identificazione molecolare degli allergeni alimentari, ad es. la maggioranza di quelli studiati si concentrano in poche famiglie, come quella del Cupino, delle Prolamine e delle proteine di difesa contro i patogeni. A seconda anche dell'allergene verso cui si formano anticorpi IgE, i sintomi potranno differire tra pazienti allergici allo stesso alimento (ad es. per le arachidi Ara h1 che è di classe 1, mentre più lievi se Ara h8 che è di classe 2, essendo omologo del Bet v1 della betulla). Tuttavia Sampson nota che l'evidenza clinica di cross-reattività non è così frequente come ci si attenderebbe dalle estese omologie tra proteine alimentari. Perciò non si sa quanto potrà essere utile la determinazione fine della specificità a livello di epitopi degli allergeni.

La cottura può avere effetti opposti sull'allergenicità, con riduzione o aumento a seconda della proteina coinvolta. Per le forme cellulo-mediate vi sono esperienze con i patch test ma né i reagenti né i metodi sono stati standardizzati. Nella diagnostica, il problema dell'utilità dell'anamnesi nelle forme croniche ed anche delle diete di eliminazione resta irrisolto. Per i test cutanei, si sottolinea l'importanza della standardizzazione degli estratti e della conservazione di tutte le molecole allergeniche; infine, per i livelli decisionali (valori predittivi positivi e negativi) degli anticorpi IgE specifici per alimenti, si ricorda che diversi studi hanno raggiunto risultati differenti, indicando la necessità di ulteriori studi.

Per ciò che attiene l'esofagite eosinofila, non si conoscono effetti a lungo termine del trattamento in caso di infiammazione asintomatica ottenibile con farmaci.

La sindrome orale allergica talvolta non è correlata ad allergia a pollini e può comparire anche come reazione a cibi di origine animale. Non sempre i sintomi sono limitati e lievi, nel 30% dei casi compaiono sintomi sistemici e/o gravi. Riguardo la prevenzione, è stato fatto molto per aiutare la comprensione della composizione rendendone obbligatoria la dichiarazione nelle etichette.

Riferimenti bibliografici

Food Allergy

Burks W e Ballmer-Weber BK
Mol Nutr Food Res 2006;50:595-603

Food allergy

Sicherer SH e Sampson HA
J Allergy Clin Immunol 2006;117:S470-5

Specific oral tolerance induction in food allergy

Niggemann B et al
Allergy 2006;61:808-811

Prevalence of food allergy: an overview

Madsen C
Proc Nutr Soc 2005;64:413-7

Eosinophilic esophagitis

Noel RJ e Rothenberg ME

Curr Opin Pediatr 2005;17:690-4

Effects of anti-IgE therapy in patients with peanut allergy

Leung DY et al

N Engl J Med 2003;348:986-93

Food allergy

Lack G. Clinical practice

N Engl J Med 2008;359(12):1252-60. Review

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Advances in anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect venom

Scott H. Sicherer

March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Supplement Pages S829-S834)

Update on food allergy

Hugh A Sampson

May 2004 (Vol. 113, Issue 5, Pages 805-819)

A classification of plant food allergens

Heimo Breiteneder, Christian Radauer

May 2004 (Vol. 113, Issue 5, Pages 821-830)

Immunopathology of food allergy

Qutayba Hamid, Bruce Mazer

May 2004 (Vol. 113, Issue 5, Pages 1006-100)

Current approach to the diagnosis and management of adverse reactions to foods

Scott H. Sicherer, Suzanne Teuber, the Adverse Reactions to Foods Committee

November 2004 (Vol. 114, Issue 5, Pages 1146-1150)

Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities

Mirna Chehade, Lloyd Mayer

January 2005 (Vol. 115, Issue 1, Pages 3-12)

Molecular properties of food allergens

Heimo Breiteneder, E.N. Clare Mills

January 2005 (Vol. 115, Issue 1, Pages 14-21)

Molecular mechanisms of anaphylaxis: Lessons from studies with murine models

Fred D. Finkelman, Marc E. Rothenberg, Eric B. Brandt, Suzanne C. Morris, Richard T. Strait

March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Pages 449-457)

Statistical issues in clinical trials that involve the double-blind, placebo-controlled food challenge

Vernon M. Chinchilli, Laura Fisher, Timothy J. Craig

March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Pages 592-597)

The Diagnosis and Management of Anaphylaxis: An Updated Practice Parameters

March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Supplement 2 Pages S485-S523)

*** Food allergy**

Scott H. Sicherer, MD, Hugh A. Sampson

Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Supplement 2, Pages S470-S475)

Risk assessment in anaphylaxis: Current and future approaches

F. Estelle R. Simons, Anthony J. Frew, Ignacio J. Ansotegui, Bruce S. Bochner, David B.K. Golden, et al

July 2007 (Vol. 120, Issue 1, Pages S2-S24)

Peanut allergy: Emerging concepts and approaches for an apparent epidemic

Scott H. Sicherer, Hugh A. Sampson

September 2007 (Vol. 120, Issue 3, Pages 491-503)

Anaphylaxis: Lessons from mouse models

Fred D. Finkelman

September 2007 (Vol. 120, Issue 3, Pages 506-515)

*** Anaphylaxis**

F. Estelle R. Simons

Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S402-S407)

The role of protein digestibility and antacids on food allergy outcomes

Eva Untersmayr, Erika Jensen-Jarolim

June 2008 (Vol. 121, Issue 6, Pages 1301-1308)

10. Allergia a farmaci

Le reazioni avverse a farmaci sono di frequente riscontro, ma soltanto dal 6% al 10% sono immunologicamente mediate. Contrariamente alla maggior parte delle reazioni avverse a farmaci, quelle allergiche non sono prevedibili. Mentre alcune possono essere facilmente inquadrare in una delle quattro reazioni di ipersensibilità di Gell e Coombs, molte altre, che solo in apparenza sembrano essere immunologiche, in realtà non possono essere classificate per la mancanza di informazioni adeguate sulla patogenesi. Teoricamente, qualunque farmaco può indurre una risposta immunologica. Tuttavia, alcuni farmaci più di altri sono in grado di produrre reazioni immunologiche rilevanti. In questo gruppo sono compresi gli antimicrobici, gli anticonvulsivanti, agenti chemioterapici, eparina, insulina, protamina e farmaci biologici. Una volta accertato che la sintomatologia sia stata causata da un farmaco, va anche stabilito, attraverso test diagnostici di conferma (qualora disponibili) se la reazione è immuno-mediata. In mancanza di test affidabili, può essere presa in considerazione la possibilità di una reintroduzione graduale o di una desensibilizzazione, in relazione sia al tipo di reazione clinica verificatasi, che alla necessità di somministrare farmaci. L'educazione del paziente e un adeguato intervento medico sono fattori importanti nella gestione del paziente.

EPIDEMIOLOGIA DELLE REAZIONI ALLERGICHE DA FARMACI

Le reazioni "allergiche" a farmaci sono inquadrabili nell'ambito delle ADR (adverse drug reaction). Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, una ADR si può definire come effetto dannoso, non intenzionale e non desiderato di un farmaco alle dosi abitualmente utilizzate nella pratica clinica per la prevenzione, la diagnosi o la terapia¹. Nonostante le ADR siano di comune osservazione, non vi sono, tuttavia, dati certi sulla loro reale frequenza (incidenza e prevalenza), data la mancanza di adeguati strumenti di rilevazione.

Ciononostante, è noto che le reazioni allergiche "vere" rappresentano solo una piccola percentuale di tutte le ADR. Bigby e coll. hanno analizzato i dati derivanti dallo studio del Boston Collaborative Drug Surveillance Program, condotto dal giugno 1975 al giugno 1982 su 15.438 pazienti ricoverati per problemi medici, al fine di individuare la frequenza delle reazioni allergiche cutanee indotte da farmaci introdotti dopo il 1975. Dopo avere

Abbreviazioni utilizzate:

ADR/RAF:	Adverse drug reaction/Reazioni avverse reazioni a farmaci
DRESS:	Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms/Reazione a farmaci con eosinofilia e sintomi sistemici
HSS:	Hypersensitivity syndrome/ Sindrome di ipersensibilità
NSAID/FANS:	Nonsteroidal anti-inflammatory drug/ Farmaci antinfiammatori non steroidei
PPL:	Penicilloyl polylysine/Penicilloil-poli-lisina
SJS:	Stevens-Johnson syndrome/Sindrome di Stevens-Johnson
TEN:	Toxic epidermal necrolysis/Necrolisi epidermica tossica (Sindrome di Lyell)

ben caratterizzato le ADR e in modo particolare quelle cutanee per stabilire la loro reale o presunta natura allergica, gli Autori hanno rilevato 358 reazioni cutanee in 347 pazienti, con un tasso medio pari al 2,2%. La maggior parte di esse (94%) era rappresentata da eruzioni di tipo morbilliforme, mentre il 5% da eruzioni di tipo orticarioide. Per ognuno dei 51 farmaci in causa, inoltre, è stato calcolato il numero di reazioni per 1000 somministrazioni del farmaco, determinando così il tasso di reazioni: amoxicillina 5,1%, trimetoprim-sulfametossazolo 3,4%, ampicillina 3,3%, emoderivati 2,2%, cefalosporine 2,1%, penicilline semisintetiche, 2,1%, eritromicina 2,0% e penicillina G 1,8 %. Dalla studio emerge quindi che gli antibiotici rappresentano i principali responsabili delle reazioni allergiche cutanee farmaco-indotte.

Più recentemente, è stata valutata l'epidemiologia delle reazioni anafilattiche da farmaci. Nel 1999, Laxenaire³ ha pubblicato la quarta rassegna Francese sulle reazioni anafilattiche verificatesi durante l'anestesia generale. Il Perioperative Anaphylactoid Reactions Study Group ha selezionato, nel periodo da luglio 1994 - dicembre 1996, un gruppo di 1648 pazienti con anamnesi di anafilassi durante l'anestesia. Gli Autori hanno concluso per un meccanismo IgE-mediato in 692 casi (manifestazioni cliniche suggestive e positività dei test cutanei) e per reazioni anafilattoidi in altri 611 casi (sintomi clinici caratteristici per anafilassi ma negatività dei test cutanei); nei rimanenti 345 casi, non è stato possibile precisare il tipo di reazione presentata durante l'anestesia.

Le sostanze più frequentemente implicate nelle reazioni anafilattiche IgE-mediate erano i miorellassanti e il lattice. Eventi fatali, come esito di una reazione anafilattica da farmaci, sono riportati in diversi studi. Sulla base dei

Traduzione italiana del testo di:

Rebecca S. Gruchalla

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S548-59

dati registrati dal Comitato Danese sulle reazioni avverse a farmaci e del Central Death Register, sono stati identificati, in Danimarca dal 1968 al 1990, 30 casi di anafilassi fatale dovuti principalmente a mezzi di contrasto, antibiotici ed estratti allergenici⁴. Più recentemente, Pumphrey⁵ nel Regno Unito, analizzando 164 certificati di morte per anafilassi tra il 1992 e il 1998, ha rilevato che il 39% dei decessi era dovuto ai farmaci e, più frequentemente agli anestetici (in 27 casi), agli antibiotici (in 16 casi) e ai mezzi di contrasto (in 8 casi).

CLASSIFICAZIONE DELLE REAZIONI ALLERGICHE DA FARMACI

Le ADR possono essere distinte in reazioni di "tipo A" ("Augmented") e di "tipo B" ("Bizzarre"). Le prime sono prevedibili, dose-dipendenti, hanno alta morbilità e bassa mortalità e sono per lo più correlate all'azione farmacologica del farmaco. Le reazioni di "tipo B" sono imprevedibili, dose-indipendenti, hanno bassa morbilità e alta mortalità e non sono correlate all'azione farmacologica del farmaco.⁶ Approssimativamente, l'80% delle ADR, rientrano in quelle di "tipo A". Esempi tipici sono la tossicità farmaco-indotta, gli effetti collaterali e/o secondari e le interazioni tra farmaci. Le reazioni immuno-mediate o allergiche rientrano nelle reazioni di "tipo B" e, come altre reazioni incluse in questo gruppo, non sono frequenti, verificandosi in una percentuale variabile dal 6% al 10% di tutte le ADR.⁷

Contrariamente a quelle di "tipo A", le reazioni di "tipo B" spesso non si manifestano fino a quando il farmaco non è stato metabolizzato. Inoltre, le reazioni di "tipo B" sembrano essere in relazione sia a fattori genetici che ambientali e comprendono, oltre a quelle allergiche o da ipersensibilità (da uno o più dei classici meccanismi immunologici), anche reazioni da intolleranza al farmaco (effetto indesiderato prodotto dal farmaco a dosaggi terapeutici oppure subterapeutici), reazioni idiosincrasiche (reazioni non caratteristiche e non correlabili alle azioni note del farmaco).

Le reazioni immunologiche possono essere distinte, secondo la classificazione delle immunoreazioni di Coombs e Gell⁸, in reazioni da ipersensibilità immediata (mediate da anticorpi IgE farmaco-specifici), reazioni citotossiche, da immunocomplessi (mediate da anticorpi IgG e IgM farmaco-specifici) e reazioni di ipersensibilità ritardata (mediate da linfociti T farmaco-specifici). Nonostante la particolare esemplificazione, l'inquadramento delle reazioni allergiche da farmaci in uno dei meccanismi sopra riportati non è sempre facile, in relazione alla mancanza di informazioni concernenti i meccanismi che le sottendono.

PATOGENESI DELLE REAZIONI ALLERGICHE DA FARMACI

A causa della loro forma macromolecolare, alcuni farmaci, come i peptidi ormonali, sono intrinsecamente immunogenici. Molti farmaci, comunque, con peso molecola-

re inferiore a 1000 Daltons, non sono in grado di indurre risposta immune; per acquisire la capacità immunogenica, non solo devono legarsi covalentemente a proteine ad alto peso molecolare, ma devono poi essere sottoposti a processazione antigenica e successivamente a presentazione alle cellule immunocompetenti.

Le nostre conoscenze sulla risposta immune ai farmaci come antigeni si basa principalmente sulla teoria aptenica.⁹ Alcuni farmaci, come la penicillina, possono essere direttamente reattivi virtù della instabilità della loro struttura molecolare, mentre altri devono essere metabolizzati, o bioattivati, prima che una risposta immune possa essere avviata. Nonostante la bioattivazione sia caratteristicamente mediata dal citocromo P450 negli epatociti, il fenomeno può verificarsi anche in altre cellule, quali i cheratinociti cutanei.

Alla bioattivazione di solito fa seguito la bioinattivazione. In alcuni casi, tuttavia, i fattori genetici o ambientali, possono alterare l'equilibrio tra questi due processi, portando ad un aumento della formazione ovvero ad una ridotta eliminazione di metaboliti reattivi del farmaco, il cui effetto può estrinsecarsi in modo diverso:

1. Possono legarsi a macromolecole e causare danno cellulare diretto.
2. Possono legarsi ad acidi nucleici per produrre un prodotto genico alterato.
3. Possono legarsi covalentemente a target macromolecolari più grandi, formare un complesso immunogenico, e indurre una risposta immune.

REAZIONI IMMUNI A FARMACI ANTIMICROBICI

Penicillina e altri farmaci β -lattamici

Reazioni allergiche a composti β -lattamici, in particolare alla penicillina, sono di frequente riscontro e caratterizzate da manifestazioni diverse, quali eruzioni maculopapulose, morbilliformi ovvero orticarioidi e non ultime, se pure rare, anche anafilattiche. Alla fine degli anni '60, i dati sulle reazioni anafilattiche da penicillina, ottenuti sia da lavori pubblicati e non, mise in evidenza una frequenza variabile tra 1.5 e 4 casi per 10.000 soggetti trattati¹⁰. Successivamente è stato condotto in 11 paesi uno studio internazionale di tipo prospettico per valutare l'incidenza mensile di reazioni allergiche a iniezioni intramuscolari di benzilpenicillina benzatinica, somministrate per la prevenzione di recidive di febbre reumatica. Dopo 32.430 iniezioni, sono state osservate 57 (3,2%) reazioni allergiche su 1790 pazienti, di cui 4 anafilattiche (incidenza 0,2%; 1,2 casi/10,000 iniezioni)¹¹. Nonostante l'anafilassi da penicillina sia una evenienza rara, questo farmaco continua ad essere la causa più comune di anafilassi nell'uomo ed è responsabile di circa il 75% di casi fatali negli Stati Uniti ogni anno^{12,13}.

Le penicilline sono la famiglia di antibiotici più studiata, e per tale ragione la loro struttura immunochimica è abbastanza nota. Tutte le penicilline contengono sia un anello β -lattamico che un anello tiazolidinico. Ogni composto può essere distinto in base alla natura della

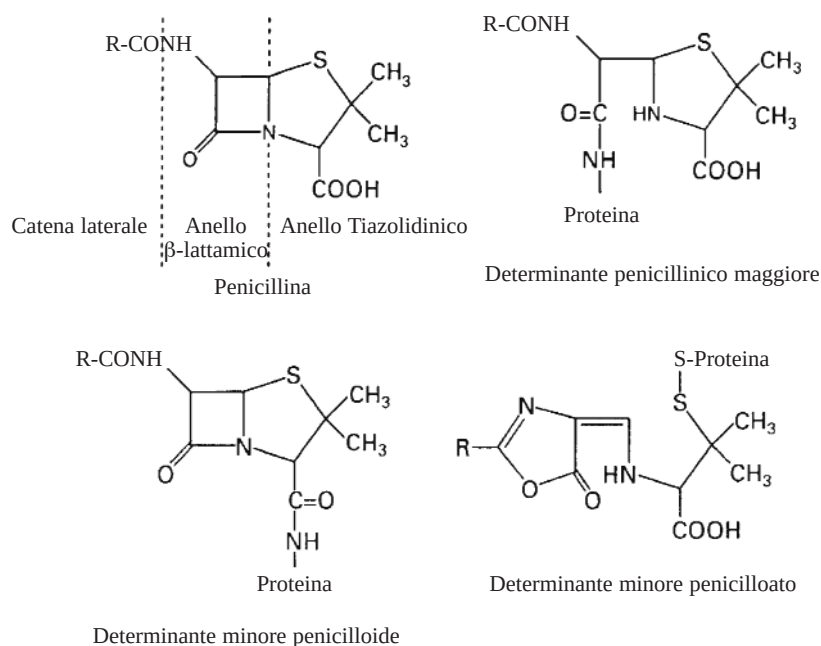


FIG 1. Struttura generica delle penicilline e strutture del maggiore e minore determinante antigenico-allergenico, mostrando il punto di legame del farmaco al carrier. Da Baldo B. Penicillins and cephalosporins as allergens-structural aspects of recognition and cross-reactions. Clin Exp Allergy 1999;29:745.(con permesso).

catena laterale R (Fig. 1). Mentre la maggior parte degli altri farmaci aptenici, quali ad esempio i sulfamidici, devono essere metabolizzati prima di potersi legare con proteine a formare complessi immuni, la penicillina è direttamente reattiva proprio per l'anello β -lattamico. A causa della sua instabilità, la struttura dell'anello si apre prontamente, consentendo al gruppo carbossilico di formare legami amidici con i residui di lisina sulle proteine vicine¹⁴. Poiché circa il 95% delle molecole penicilliniche si lega alle proteine in questo modo, il determinante antigenico formato, il benzil-penicilloile, viene considerato il determinante penicillinico maggiore. Dopo la sua identificazione, determinanti penicilloili sono stati coniugati alla polilisina, un carrier immunogenico debole per formare penicilloil-polilisina (PPL), che è commercialmente disponibile per uso diagnostico.

Oltre al determinante penicilloile, si possono formare molti altri determinanti minori della penicillina, i quali sono in grado di provocare reazioni IgE-mediate nell'uomo. Per tale ragione, non solo il PPL, ma anche una miscela di determinanti minori dovrebbe essere usata come reagente nella valutazione di pazienti per dimostrare la presenza di anticorpi IgE penicillina-specifici. La miscela originale di determinanti minori è formata da benzil-penicillina, dal suo prodotto di idrolisi alcalina (benzil-penicilloato) e dal suo prodotto di idrolisi acida (benzil-penicilloato)¹⁵.

È ben documentato che pazienti con storia positiva ma test cutanei negativi sia con il PPL che con la miscela di determinanti minori, raramente presentano reazioni IgE-mediate ad una successiva somministrazione di penicillina¹⁶. Se ciò dovesse comunque verificarsi, le reazioni sono lievi e limitate, mentre l'anafilassi non è mai stata

registrata nei soggetti con negatività dei test cutanei con penicillina²⁰.

La PPL è l'unico reagente della penicillina commercialmente disponibile per test cutanei. Sfortunatamente, tests cutanei eseguiti solo con PPL potrebbero escludere dalla diagnosi fino al 25% dei soggetti potenzialmente positivi¹⁸. Dall'altra parte, con l'utilizzo della sola benzilpenicillina G fresca (non invecchiata) (a concentrazioni di 10,000 U/mL) come unico determinante minore (insieme alla PPL), si potrebbero perdere dal 5% al 10% di cuti-reazioni potenzialmente positive^{8,21}. Pertanto, alcuni soggetti con test cutanei negativi potrebbero essere a rischio per lo sviluppo di anafilassi se esposti ad una successiva somministrazione di penicillina²².

Oltre all'anello β -lattamico, anche le strutture delle catene laterali, che distinguono le diverse penicilline, possono stimolare la produzione di IgE specifiche clinicamente significative.

Quindi, potrebbero rendersi necessari test specifici per le diverse penicilline, rispetto al semplice utilizzo di preparazioni di determinanti maggiore e minore derivati dalla benzilpenicillina. L'importanza di anticorpi specifici diretti contro le catene laterali è stata sottolineata da uno studio di Baldo²³ nel quale è stata valutata la specificità di legame delle IgE in soggetti che avevano reagito alla flucloxacillina. Studi quantitativi di inibizione aptenica hanno dimostrato che soltanto la dicloxacillina, la cloxacillina e la oxacillina (penicilline che hanno un gruppo R simile a quello della flucloxacillina) erano capaci di inibire fortemente il legame IgE, mentre le penicilline che non possedevano la catena laterale metil-fenil-isoxazonil erano deboli inibitori. Questi risultati sembrano indicare che, per alcuni soggetti con allergia ai β -lattamici, le IgE

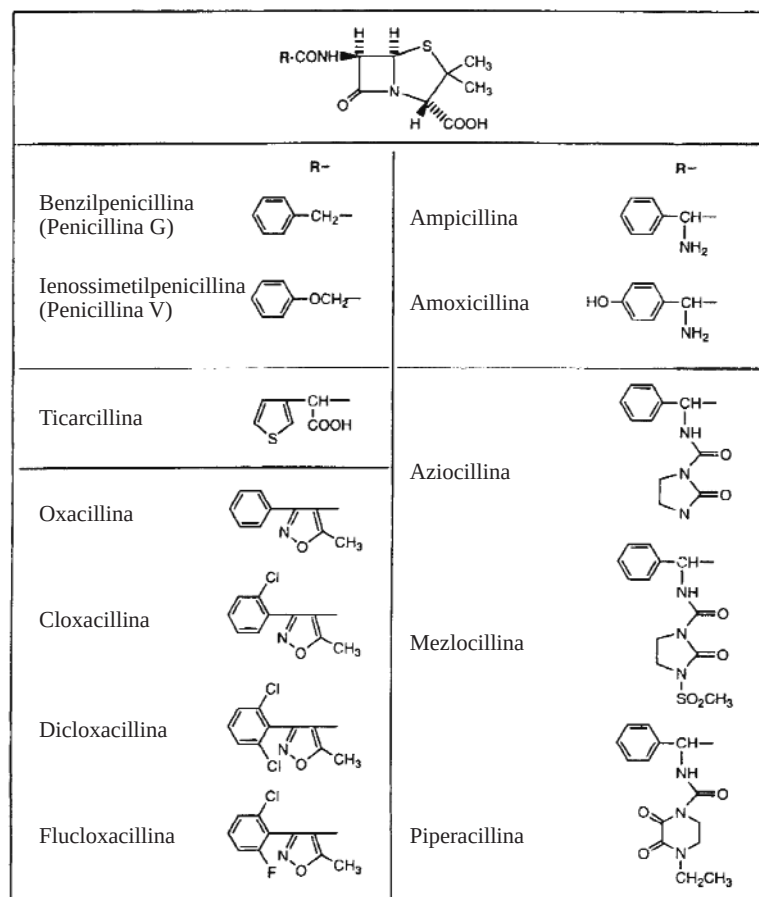


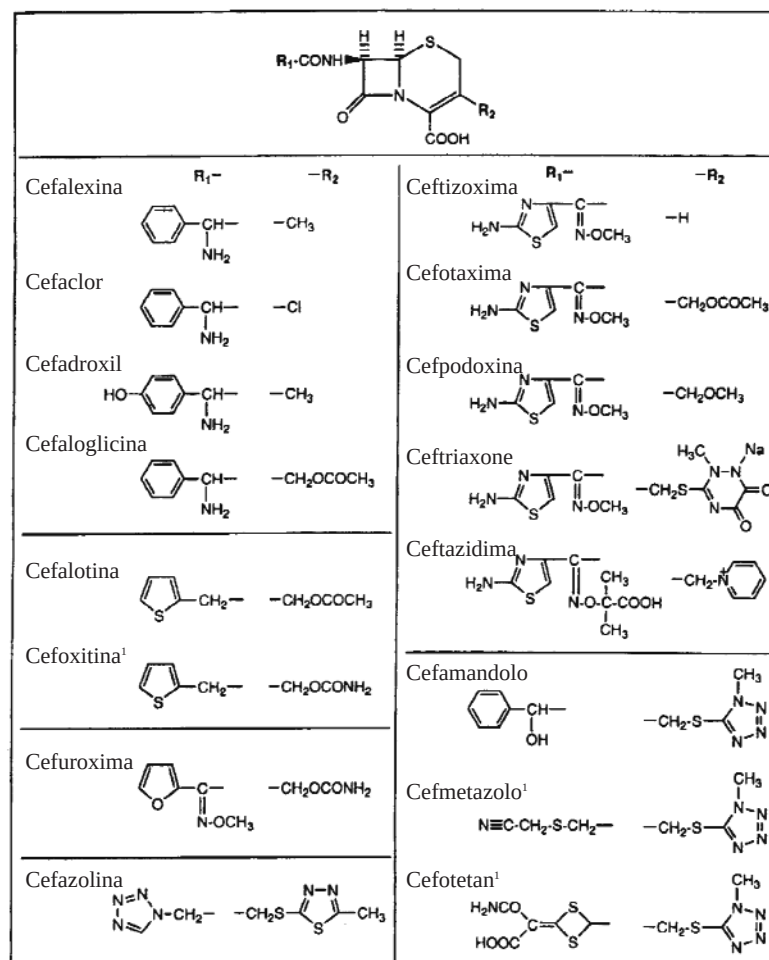
FIG 2. Similarità e differenze strutturali di penicillina. Da Baldo B. Penicillins and cephalosporins as allergens—structural aspects of recognition and cross-reactions. Clin Exp Allergy 1999;29:745. (con permesso)

possono essere dirette verso il gruppo R del farmaco e non verso l'anello β -lattamico o tiazolidinico. Questi dati suggeriscono che vi può essere una cross-reattività tra le diverse penicilline non solo per effetto degli anelli β -lattamico e tiazolidinico, ma anche per la similitudine chimica tra le diverse catene laterali. Non disponendo di reagenti per skin test ottenuti sia da penicilline semisintetiche che dai gruppi chimici delle catene laterali, può risultare utile la conoscenza della struttura chimica delle catene laterali. Nella fig. 2 sono riportate le varie penicilline semisintetiche con le relative formule chimiche da cui emergono le diverse somiglianze strutturali.

Contrariamente a quanto detto per le penicilline, le nostre acquisizioni sull'immunochimica e sui loro principali determinanti antigenici delle cefalosporine sono più limitate; per tale ragione non sono noti i diversi gradi di cross-reattività. In altre parole, non siamo ancora in grado di rispondere ad un vecchio quesito: possono i soggetti con allergia alla penicillina assumere una cefalosporina con sicurezza? Nonostante queste due classi di farmaci condividano l'anello β -lattamico (le cefalosporine hanno anche un anello diidrotiazinico), la cross-reattività, se pure teoricamente possibile, non è così frequente. Li e coll. , su 15.987 soggetti trattati con cefaloridina, cefalexina, cefalotina, cefaxolina o cefamandolo, hanno registrato una reazione avversa verso le cefalosporine

nell'8,1% dei soggetti con anamnesi positiva per allergia alla penicillina, rispetto all'1,9% di quelli con anamnesi negativa. Più recentemente, Kelkar e Li²⁵ hanno riesaminato tutti gli studi che valutavano il rischio di reazioni allergiche dopo somministrazione di cefalosporine nei soggetti allergici alla penicillina. In 8 degli studi presi in considerazione erano stati effettuati i test cutanei con la penicillina. In particolare, in 3 studi, sia i soggetti con test cutanei positivi che quelli con test cutanei negativi erano stati sottoposti a test di provocazione; in 4, soltanto quelli con test cutanei positivi, e infine in 1 lavoro quelli con test cutanei negativi. Il test di provocazione è risultato positivo in 6 (4,4%) dei 135 pazienti con test cutanei positivi, rispetto a 2 (1,3%) dei 351 soggetti con test cutanei negativi. Anche se questi dati sembrano indicare che i soggetti con IgE specifiche per la penicillina possono essere a rischio maggiore per reazioni crociate nei confronti delle cefalosporine, altri studi dimostrano che il rischio è relativamente limitato^{26,27}.

Come le penicilline, anche le cefalosporine possono indurre risposte immuni con anticorpi specifici diretti sia verso le catene laterali che verso dell'anello di base. Si può pertanto supporre che i principi che regolano la cross-reattività fra le cefalosporine siano analoghi a quelli descritti per le penicilline. Se gli anticorpi IgE sono diretti verso le strutture centrali dell'anello, tutte le cefa-



¹ Cefamicina con un gruppo α-metossi (-OCH₃) in posizione 7

FIG 3. Similarità e differenze strutturali delle cefalosporine. Da Baldo B. Penicillins and cephalosporins as allergens-structural aspects of recognition and cross-reactions. Clin Exp Allergy 1999;29:745. (con permesso)

losporine possono cross-reagire tra loro. Il problema si complica se le IgE specifiche sono dirette contro i gruppi R1 o R2 delle catene laterali. Reazioni crociate possono verificarsi verso i gruppi delle catene laterali R1 identici (cefaclor, cefalexina, cefaloglicina) oppure simili (cefaclor e cefadrossile) o anche verso il gruppo laterale R2 (cefalotina e cefotassime)²³. In questo contesto la strategia da seguire è la seguente. Se un soggetto con una anamnesi positiva per allergia alle cefalosporine ha necessità di effettuare una terapia con tali antibiotici, si può prendere in considerazione uno dei due approcci seguenti: 1) eseguire un test di tolleranza con una cefalosporina che ha gruppi chimici della catena laterale diversi da quelli della molecola originale responsabile della reazione allergica; 2) effettuare un test allergologico cutaneo con la cefalosporina che si intende utilizzare, pure in assenza di una adeguata standardizzazione del test e pur considerando che il suo valore predittivo negativo non è noto. La fig. 3 elenca le diverse cefalosporine, con le loro catene laterali molto simili tra loro.

Oltre alle reazioni IgE-mediate, le cefalosporine, come ad esempio il cefaclor, possono causare una sindrome simile alla malattia da siero, anche se non sono stati

dimostrati immunocomplessi circolanti. Queste reazioni quindi non vengono considerate come una vera malattia da siero, ma anche se il meccanismo non è ben noto, Kearns et al.²⁹ hanno suggerito che la reazione potrebbe dipendere da una biotrasformazione del farmaco originale a livello epatico.

I pazienti con veri o presunti anticorpi IgE specifici per un farmaco β-lattamico possono essere sottoposti a desensibilizzazione, se questo farmaco è indispensabile per il trattamento. La desensibilizzazione rapida consiste nella somministrazione di dosi scalari del farmaco in un intervallo di tempo da poche ore a giorni, ed è una procedura attraverso la quale il soggetto passa da uno stato di farmaco-sensibilizzazione ad uno stato di farmaco-tolleranza. La desensibilizzazione non è solo antigene-specifica, ma è anche antigene-dipendente, in quanto il mantenimento dello stato di tolleranza necessita della presenza continua dell'antigene.

La desensibilizzazione per la penicillina viene eseguita correntemente e può essere effettuata sia per via orale che per endovena. Una volta stabilito il dosaggio iniziale³⁰, questo viene raddoppiato ogni 15 minuti. Durante la iposensibilizzazione devono essere tenuti sotto controllo

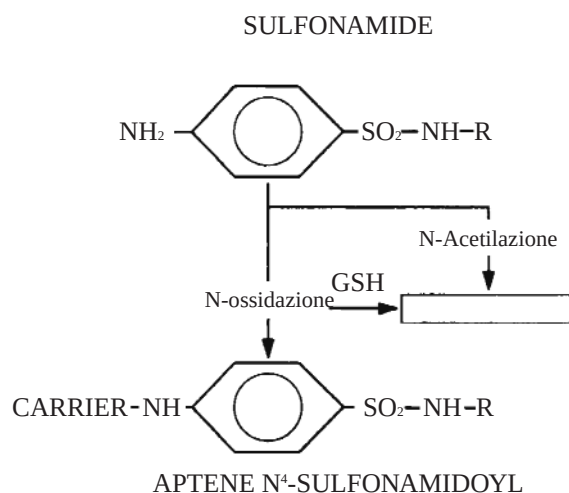


FIG 4. Metabolismo dei sulfamidici. Da Gruchalla RS, Pesenko RD, Do TT, Skiest DJ., *Sulfonamide-induced reaction in patients with AIDS- the role of covalent protein haptenization*, J Allerg Clin Immunol 1998;101:372 (con permesso)

i segni vitali, l'obiettività fisica e i valori del picco di flusso espiratorio. Sebbene la nostra esperienza con la farmaco-iposensibilizzazione derivi principalmente dalla penicillina, questa procedura è attuata con successo anche con numerosi altri farmaci^{31,32}.

I sulfamidici

Si definisce sulfamidico ogni molecola contenente un gruppo sulfon-amide (SO₂NH₂). È possibile classificare i sulfamidici in composti aromatici (farmaci ad azione antimicrobica) e non aromatici (es. furosemide, diuretici tiazidici, celecoxib, etc..) a seconda se, rispettivamente, presentano o meno un'arilamina in posizione N4 (questo gruppo chimico è fondamentale per l'attività antimicrobica). I composti aromatici, inoltre, si differenziano da quelli non aromatici per la presenza di un anello sostituito in posizione N1.

Le reazioni avverse ai sulfamidici ad azione antimicrobica interessano generalmente la cute e colpiscono il 2-4 % della popolazione sana e più del 50-60% dei pazienti affetti da AIDS. Il quadro clinico è variegato e può essere caratterizzato da orticaria, eritrodermia, eritema fisso, eritema multiforme, esantemi maculari e talora da eruzioni cutanee bollose gravi (TEN e SJS) e anafilassi.

Il metabolismo epatico di tali farmaci prevede una reazione di N-acetilazione e successivamente, sotto l'azione del citocromo P-450, di N-ossidazione, con formazione di idrossilamine³³; queste ultime sono quindi ossidate e le molecole azotate³⁴ che ne derivano sono escrete dopo riduzione ad opera del glutathione. Qualora la capacità di coniugazione del glutathione sia saturata, questi metaboliti possono esercitare un'azione citotossica diretta o attivare il sistema immunitario. In quest'ultimo caso l'apteno N4 sulfonamidoile si lega ad una proteina carrier (processo di aptenizzazione) creando un complesso immunogenico (Fig. 4)^{33,35-37}.

Le reazioni avverse ai sulfamidici, in genere, soprag-

giungono dopo alcuni giorni dall'inizio del trattamento, per cui si può supporre che, almeno alcune, siano di natura immunologica. Tale supposizione è rafforzata da studi che hanno dimostrato la presenza sia di linfociti T³⁸ sia di citochine proinfiammatorie³⁹ a livello delle lesioni cutanee indotte da tali farmaci. Sono riportati, infine, casi di reazioni IgE-mediate al sulfametossazolo^{40,41}.

Nell'approccio al paziente che riferisce reazioni avverse a tali farmaci non si dispone, ad oggi, di molti mezzi diagnostici. Per i pazienti affetti da AIDS e con storia di ipersensibilità ai sulfamidici, nonostante non siano ben noti i meccanismi alla base di queste reazioni, sono stati messi a punto, ed eseguiti con una buona percentuale di successo, diversi protocolli "desensibilizzanti"⁴²⁻⁴⁸. Il termine desensibilizzazione è messo tra virgolette poiché in alcuni casi i protocolli sono molto più simili a challenge graduati che ai comuni protocolli impiegati per gli antibiotici. Un elenco di alcuni protocolli è disponibile in tabella I. Le eruzioni cutanee bollose gravi (SJS e TEN) rappresentano una controindicazione al trattamento desensibilizzante specifico²⁸.

Un altro problema clinico rilevante è rappresentato dal grado di cross-reattività fra i sulfamidici aromatici (con il gruppo arilaminico in N4) e i sulfamidici non aromatici (diuretici, solfaniluree, celecoxib, sumatriptan). Sembra che la possibilità di cross-reazione sia esclusivamente teorica; nonostante ciò il Prontuario Farmaceutico Americano (2002) raccomanda di impiegare con cautela alcuni di questi farmaci in caso di precedenti reazioni avverse ai sulfamidici.

Nella tabella II è possibile visualizzare uno schema (ad opera di Allen)⁴⁹ delle controindicazioni per i pazienti con storia di ipersensibilità ai sulfamidici, contenute nelle avvertenze del foglietto illustrativo di alcuni di essi.

Altri farmaci ad azione antimicrobica

Le conoscenze circa i meccanismi responsabili della maggior parte delle reazioni da antimicrobici sono, sfortunatamente, poche. La maggior parte di esse è di natura non immunologica, anche se una parte prevede certamente una immunoreazione. In questa quota potrebbero essere comprese l'orticaria, l'angioedema e l'anafilassi, ma, poiché non sono disponibili reagenti validati per i test cutanei, non è possibile classificare queste manifestazioni come IgE-mediate. Un problema ancora maggiore è rappresentato dalle eruzioni da farmaci non specifiche. Non solo non sono noti i meccanismi alla base di queste reazioni, ma nella maggior parte dei casi non sono stati ancora identificati i determinanti antigenici. Per tali motivi si dispone ad oggi di pochi test diagnostici in vivo ed in vitro⁵⁰.

I test cutanei con i farmaci in forma nativa, però, possono fornire importanti informazioni in caso di sospetta reazione IgE-mediata, nonostante la limitazione delle nostre conoscenze e dei mezzi diagnostici a disposizione^{51,52}. La negatività di un test deve essere interpretato con cautela poiché il farmaco in forma nativa potrebbe non contenere i principali determinanti antigenici in grado di scatenare una reazione IgE mediata. Al contrario, una cutireazione positiva è indicativa di un disturbo

Tabella I. Desensibilizzazione ai sulfamidici in pazienti con AIDS

Autore e anno	Procedura di desensibilizzazione	Indicazione	Risultati e commenti
Absar et al., 1994	10 gg	Profilassi PCP, isosporiasi	Successi 23/27
Moreno et al., 1995	TMP-SMX 8 h; sulfadiazina 2.5 h	Toxoplasmosi cerebrale, isosporiasi, nocardiosi	Successi 1/2 TMP-SMX e 7/11 sulfadiazina; 6/8 successi con premedicazione
Palusci et al., 1996	4 h	PCP o profilassi PCP	Sono stati arruolati 5 pazienti pediatrici con reazioni IgE-mediate al TMP-SMX; successi 3/5
Caumers et al., 1997	3 gg	Profilassi, PCP	Successi 37/48; alto titolo CD4 ed elevato CD4/CD8 fattori predittivi di insuccesso
Rich et al., 1997	8 gg	Profilassi PCP	Successi 18/22
Demoly, 1998	6 h	Profilassi PCP	Successi 44/44; ad un mese 40/44 (91%)
Yashizawa et al., 2000	5 gg	Profilassi PCP	Successi 15/17

PCP: polmonite da *Pneumocystis Carinii* (*Pneumocystis Carinii* pneumonia); TMP-SMX: trimethoprim-sulfamatozolo

Tabella II. Impiego di sulfamidici in paziente con storia di ipersensibilità ad uno di questi farmaci

FARMACO	Controindicazioni all'impiego in pazienti con ipersensibilità ad un sulfamidico nel foglietto illustrativo	Commenti
Acetazolamide	No	Un caso di cross-reattività nel 1955
Amprenavir	Cautela nell'impiego	—
Brinzolamide	No	Il foglietto illustrativo mette in guardia da possibili reazioni avverse serie poiché il farmaco ha un assorbimento sistemico
Bumetanide	No	Il foglietto illustrativo mette in evidenza che i pazienti con ipersensibilità ad un sulfamidico possono presentare analoghe reazioni con la bumetanide
Captopril	No	Non è un sulfamidico
Celecoxib	Controindicato	—
Clorpropamide	No	—
Clortalidone	Controindicato	—
Clorotiazide	Controindicato	—
Dorzolamide	No	Il foglietto illustrativo mette in guardia da possibili reazioni avverse serie poiché il farmaco ha un assorbimento sistemico
Furosemide	Cautela nell'impiego	—
Glipizide	No	—
Gliburide*	No	Alcuni casi di cross-reattività negli studi post-marketing
Idroclorotiazide	Controindicato	—
Indapamide	No	—
Metolazone	No	Nessun caso di cross-reattività ma è un assunto teorico
Rofecoxib	No	Non è un sulfamidico

Allen J Witch medication to avoid in patient with sulfa allergy. Stockton (CA): Pharmacist's Letter and Prescriber's Letter, 2000 (con licenza)

* In Italia meglio nota come glibenclamide

IgE-mediato, qualora non risulti positiva anche in un soggetto controllo (in tal caso la positività sarebbe da interpretare come irritazione aspecifica). È bene sottolineare, infine, che i preparati ad uso endovenoso impiegati per i test cutanei possono essere responsabili di importanti reazioni di natura irritativi, qualora non siano opportunamente diluiti⁵².

REAZIONI IMMUNOMEDIATE A FARMACI NON ANTIMICROBICI

Anticonvulsivanti

Fenitoina, fenobarbital e carbamazepina sono farmaci

noti per causare una severa sindrome da ipersensibilità (HSS) caratterizzata da febbre, rash cutaneo, linfadenopatia con un coinvolgimento variabile, per tipologia e gravità, degli organi interni. Il rash cutaneo, generalmente di tipo morbilliforme all'esordio, può esitare in una franca dermatite esfoliativa.

Tale quadro clinico spesso si accompagna ad eosinofilia e sintomi sistemici e pertanto viene anche definito DRESS (reazione farmacologia con eosinofilia e sintomi sistemici). L'esordio dei sintomi si registra dopo alcune settimane dall'inizio del trattamento.

Altri farmaci, oltre ai citati antiepilettici, sono stati associati alla DRESS: fra essi ricordiamo il dapsone, l'allopurinolo, la minociclina e i sulfamidici.

Diverse evidenze hanno messo alla luce, recentemente,

Tabella III. Criteri impiegati per la classificazione delle eruzioni severe da farmaci

	SJS	TEN	HSS/DRESS
Interessamento delle membrane mucose	>90%	>90%	<30%
Erosioni mucose	Diversi siti	Diversi siti	Bocca e labbra
Distacco epidermide	< 10% BSA*	≥ 30% BSA*	No
Ipercheratosi, desquamazione	No	No	Frequente
Neutropenia	No	30%	No
Eosinofilia	No	No	90%
Linfociti atipici	No	No	30-40%
Manifestazioni respiratorie	Ulcerazioni bronchiali, ARDS	Ulcerazioni bronchiali, ARDS	Polmonite interstiziale
Manifestazioni epatiche	Epatite nel 10% dei casi	Epatite nel 10% dei casi	Epatite nel 60% dei casi
Manifestazioni cardiache	No	No	Miocardite
Linfomegalia	No	No	Frequente

Bachot N, Roujeau J-C. Pathophysiology and treatment of severe drug eruptions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:293-98(con permesso)

BSA: area della superficie corporea; ARDS: sindrome da distress respiratorio dell'adulto

Quando l'entità del distacco epidermico interessa dal 10% al 29% della BSA si parla di overlap SJS-TEN

un coinvolgimento del sistema immunitario nella patogenesi di queste reazioni, come ad esempio il fatto che per la loro comparsa sia richiesto un periodo di induzione esclusivamente durante il primo ciclo di terapia, ma non durante le successive riesposizioni.

Gli anticonvulsivanti aromatici sono metabolizzati in parte ad opera del citocromo P-450 ad ossidi benzenici, il cui accumulo, dovuto ad alterazioni dei sistemi di detossificazione, potrebbe rivestire un ruolo cruciale nella patogenesi di queste reazioni⁵³. Gli ossidi benzenici estrinsecherebbero la loro azione patogena sia inducendo direttamente la necrosi cellulare, sia generando una immuno-reazione dopo essersi legati a proteine carrier (aptenizzazione).

La terapia dell'HSS/DRESS è analoga a quello delle altre forme gravi di eruzioni da farmaci (TEN o SJS) e prevede la sospensione immediata dell'agente implicato e sostanzialmente misure di supporto. Spesso, per pazienti con una estesa dermatite esfoliativa, è necessario far ricorso alla terapia intensiva o al centro ustionati. La terapia consiste principalmente nell'utilizzo di liquidi, antibiotici, supporto nutrizionale, misure che evitino l'ipotermia, trattamento estensivo della cute. Qualora i sintomi fossero particolarmente severi si può far ricorso ai corticosteroidi. È bene, comunque, precisare che sono stati descritti casi di netto miglioramento delle manifestazioni viscerali della HSS/DRESS dopo dosi medio-alte di steroidi, na allo stesso tempo sono state riportate delle riattivazioni in seguito a riduzione del dosaggio⁵⁴. Nella tabella III è possibile visualizzare le principali similitudini e differenze delle forme più comuni di eruzione da farmaci.

È opportuno che ai pazienti che abbiano sviluppato una HSS/DRESS in corso di terapia con uno degli anticonvulsivanti aromatici, venga proscritta l'intera classe di farmaci; è descritto, infatti, un grado di cross-reattività maggiore del 75%. In alternativa è possibile far ricorso all'acido valproico (non in fase acuta per il rischio di epatite), al gabapentin, al vigabatrin e alle benzodiazepine⁵⁵. Non è segnalata cross-reattività fra anticonvulsivanti aromatici e lamotrigina; anche quest'ultima, però, è

stata associata allo sviluppo delle più comuni forme di eruzione bollose da farmaci (HSS/DRESS, TEN, SJS). L'anamnesi familiare ha un ruolo importante nella gestione di questi pazienti, dal momento che è stata descritta una certa familiarità nello sviluppo di reazioni da anticonvulsivanti⁵⁵.

Agenti chemioterapici

Reazioni da ipersensibilità sono descritte per tutti i chemioterapici in uso, anche se taxani, composti del platino, asparaginasi ed epipodofillotossine sono i farmaci maggiormente chiamati in causa. Lo spettro delle manifestazioni cliniche va da lievi eruzioni cutanee ad arresto respiratorio, collasso cardiocircolatorio e talora morte.

Le reazioni da chemioterapici sono spesso descritte in letteratura come reazioni da ipersensibilità, ma spesso mancano dati convincenti circa i meccanismi patogenici alla loro base. La natura dei sintomi (eritema fugace, prurito, modificazioni della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa, broncospasmo) depone a favore di una reazione da ipersensibilità immediata. È verosimile, però, che nella maggior parte dei casi intervenga un meccanismo di tipo non immunologico, legato alla capacità di alcuni di questi farmaci (o dei loro eccipienti) di determinare una degranulazione diretta dei mastociti.

Il paclitaxel e un suo affine, il docetaxel (nuovo taxano semisintetico), sono impiegati nel trattamento delle neoplasie polmonari, mammarie e ginecologiche. Dagli studi di fase I e II sui taxani si evince un tasso di reazioni cosiddette "da ipersensibilità" del 42%; queste ultime sono inquadrabili come severe nel 2 % dei casi⁵⁶. Il quadro clinico è per lo più caratterizzato da dispnea o broncospasmo, orticaria/angioedema, eritema fugace e ipotensione. Tali sintomi depongono a favore di una immuno-reazione IgE-mediata, ma, poiché nella maggior parte dei casi si registrano alla prima somministrazione (senza che via sia una fase di sensibilizzazione), è più ragionevole ipotizzare che essi siano l'effetto di una degranulazione diretta dei mastociti. Un eccipiente del paclitaxel, il Cremophor EL (olio di ricino polioossietilenato), può causare nel cane rila-

scio di istamina e ipotensione⁵⁷, ma l'elevato tasso di reazioni avverse che si registra con il docetaxel (privo di tale eccipiente) depone a favore della componente farmacologica in sé come principale agente eziologico.

Ai pazienti che sono sottoposti a terapia con taxani viene generalmente praticata una profilassi rivelatasi efficace nel ridurre l'incidenza e la severità delle reazioni avverse al paclitaxel e al docetaxel⁵⁶. Infatti, a seguito di una reazione da "ipersensibilità" è possibile eseguire ulteriori cicli di chemioterapia, previa premedicazione con antistaminici e cortisonici⁵⁸. Qualora la profilassi risulti inefficace, è possibile far ricorso alla desensibilizzazione⁵⁸.

I composti del platino, carboplatino e cisplatino, causano frequentemente reazioni da ipersensibilità, per lo più di tipo anafilattico. Queste ultime, al contrario di quanto accade per i taxani, si verificano generalmente dopo alcuni cicli di terapia; per tale motivo potrebbero essere realmente delle reazioni immuno-mediate. In virtù dell'elevato valore predittivo negativo (>96%)⁵⁹, i test cutanei sono utili nell'identificazione dei pazienti a rischio. Sono stati sviluppati protocolli di desensibilizzazione per i pazienti con cutireazioni positive, con percentuali di successo non uniformi^{58,60,61}.

L'aspariginasi, impiegata nel trattamento della leucemia linfoblastica acuta, è una proteasi isolata dall'E.Coli che riduce l'apporto di asparagina alle cellule neoplastiche. Circa il 25-35% di pazienti sottoposti a terapia con tale farmaco sviluppa reazioni anafilattoidi⁶² e alcuni di essi sviluppano anticorpi anti-aspariginasi⁶³. In genere si fa ricorso a test intradermici prima della somministrazione iniziale e prima delle successive, qualora queste avvengano dopo un intervallo maggiore o uguale ad una settimana⁶⁴.

In caso di sviluppo di reazioni all'aspariginasi, si potrebbe far ricorso ad altre preparazioni a base dello stesso enzima (l'aspariginasi di Erwinia Carotovora e l'aspariginasi di E.coli peghilata). Sebbene sia stato messo a punto un protocollo desensibilizzante⁶⁵, generalmente non si fa ricorso a tale procedura.

Le epipodofillotossine, etoposide e teniposide sono agenti antimitotici impiegati nel trattamento di diverse neoplasie, fra cui tumori ovarici e testicolari della linea germinale, carcinoma del polmone a piccole cellule e linfomi non-Hodgkin. L'incidenza delle reazioni da etoposide e teniposide varia dal 6% al 41%, con un tasso di reazioni anafilattiche dello 0,7-14%^{66,67}. I sintomi comprendono febbre, brividi, ipotensione, dispnea e broncospasmo. Essi compaiono generalmente alla prima somministrazione per cui più che una immunoreazione è possibile ipotizzare, cosiccome per i taxani, una degranolazione diretta dei mastociti indotta dal farmaco. Non esistono protocolli profilattici standardizzati e meno della metà dei pazienti con storia di reazione da "ipersensibilità" a questi farmaci tollera la risomministrazione degli stessi^{64,66}.

Eparina

L'eparina, un mucopolisaccaride con un peso molecolare di 6000-20000 dalton, è responsabile di diverse reazioni immuno-mediate come orticaria, asma, anafilassi⁶⁸, eruzioni cutanee ritardate (placche eritematose e necrosi cutanea) e trombocitopenia di tipo II. La lieve tromboci-

topenia in corso di terapia eparinica, prontamente reversibile dopo sospensione del farmaco, è probabilmente non immuno-mediata⁶⁸. La più severa e improvvisa trombocitopenia, accompagnata da trombosi e necrosi, che può verificarsi dopo circa 5 giorni di trattamento è imputabile ad anticorpi IgG specifici per il complesso fattore piastrinico 4 – eparina.

Sono state sviluppate ulteriori molecole ad azione antitrombotica fra cui eparine a basso peso molecolare (enoxaparina, dalteparina, danaparoidi e inibitori diretti della trombina - argatroban e lepirudina).

I test cutanei non sembrano utili nella diagnosi di ipersensibilità immediata all'eparina, ma le cutireazioni a lettura ritardata sono risultate positive in pazienti con placche eritematose nel punto di iniezione del farmaco^{69,70}. Nel siero di quest'ultimo gruppo di pazienti, inoltre, non è raro il riscontro di anticorpi IgG indotti dall'eparina. A causa della cross-reattività descritta fra eparina non frazionata, eparine a basso peso molecolare e danaparoid è auspicabile lo sviluppo di nuovi inibitori diretti della trombina da impiegare come molecole alternative nei pazienti allergici all'eparina^{69,71}.

Insulina e insulina coniugata con protamina

Reazioni avverse all'insulina sono state descritte sin dalla introduzione, nel 1922, dell'insulina di derivazione animale; a seguito dell'introduzione dell'insulina ricombinante umana, comunque, la loro incidenza è diminuita. Nella maggior parte dei casi si tratta di lesioni locali (nel punto di iniezione), anche se non è trascurabile l'evenienza, se pur rara, di sintomi sistemici. In entrambi i casi, comunque, è stata evidenziata la produzione di IgE specifiche^{72,73}. Per i pazienti con storia di reazioni locali si può far ricorso ad una profilassi antistaminica o cortisonica⁷² o, nel caso in cui tale approccio fallisse, all'infusione sottocutanea continua di insulina⁷². Sono descritte procedure desensibilizzanti con esito favorevole per i pazienti con storia di reazioni sistemiche⁷³.

Le reazioni ai coniugati insulina-protamina sono da attribuire non all'insulina, bensì alla componente carrier. La protamina solfato è una molecola policationica a basso peso molecolare che, oltre ad essere impiegata come antagonista dell'eparina, è coniugata all'insulina per ritardarne l'assorbimento (insulina neutral protamine Hagedorn, o NPH). Dykewicz⁷⁴ et al hanno riportato due casi di anafilassi da insulina NPH, con buona tolleranza dell'insulina regolare. In entrambi i casi le reazioni erano imputabili ad IgE anti-protamina (cutireazioni negative per l'insulina regolare, ma positive per l'insulina NPH). I pazienti diabetici in terapia con insulina NPH hanno un rischio molto elevato di sviluppare anafilassi durante terapia infusione con protamina; per tale motivo è opportuna una loro attenta valutazione prima di interventi di cardiocirurgia.

Farmaci biologici

Negli ultimi anni si è assistito ad un rapido sviluppo di farmaci biologici e di nuove terapie che agiscono su un target specifico nell'ambito di un particolare processo

patologico, fra cui interferoni, anti-TNF α , fattori di crescita, anticorpi monoclonali anti-linfociti T e anti-linfociti B e inibitori delle proteine del complemento. Trattasi di nuove ed efficaci opzioni per il trattamento di malattie croniche che, però, sono gravate dal rischio, non infrequente, di reazioni avverse, alcune delle quali di probabile natura immunologica.

Sia gli interferoni che l'anti-TNF α sono noti per causare reazioni sistemiche lievi e reazioni locali. Fra i sintomi generali più frequentemente registrati si annoverano malessere generale, febbre e brividi; sono state comunque descritte reazioni sistemiche severe. Un recente studio retrospettivo ha evidenziato che il 20% dei pazienti in terapia con l'anti-TNF α (etanercept) presentava reazioni locali durante i primi due mesi di trattamento. Interessante notare come tali lesioni, caratterizzate da un infiltrato predominante di linfociti T citotossici, si autolimitino con il proseguire del trattamento⁷⁵.

Saranno necessari ulteriori studi per chiarire la natura delle reazioni avverse ai farmaci biologici, i quali non solo evidenzino gli stimoli antigenici alla base dell'attivazione del sistema immunitario - alcune reazioni sono sicuramente immunomediata -, ma permettano anche di sviluppare idonei test predittivi.

ASPIRINA ED ALTRI FANS

La maggior parte delle reazioni da aspirina e da altri antinfiammatori non steroidei (FANS) è di natura non immunologica; in alcuni casi, però, presentano caratteristiche che depongono a favore di una reazione IgE-mediata (si presentano non alla prima ma a successive esposizioni al farmaco, sono specifiche per un singolo FANS). Solo raramente sono state evidenziate nel siero di questi pazienti IgE anti-aspirina. I pazienti con asma da aspirina tollerano il rofecoxib, un inibitore della ciclossigenasi 276. Per un approfondimento sulle reazioni da Aspirina e da FANS, si rimanda alla review di Stevenson e Simons⁷⁷.

REAZIONI NON IMMUNOLOGICHE DA FARMACI

Le reazioni da Ace-inibitori, anestetici locali, antagonisti oppioidi e mezzi di contrasto iodati sono, nella quasi totalità dei casi, di natura non immunologica. Per tale motivo non sono prese in considerazione in questo capitolo.

GESTIONE DEL PAZIENTE CON ALLERGIA A FARMACI

Le limitate conoscenze circa i fattori predisponenti la fisiopatologia delle reazioni avverse a farmaci fanno sì che ad oggi si disponga di pochi mezzi per la gestione di questi pazienti. Per tale motivo è opportuno un approccio metodologicamente rigoroso.

Innanzitutto bisogna stabilire un nesso causale fra farma-

co ed evento avverso e successivamente, se possibile, definire la tipologia della reazione. Nella gestione delle reazioni di tipo A (dose dipendente) la successiva somministrazione a dosaggi inferiori sarà sufficiente per evitare la ricomparsa di effetti collaterali.

Per le reazioni di tipo B non immuno-mediate, è possibile risomministrare il farmaco qualora i disturbi lamentati siano lievi (es. tinniti da aspirina). Per le reazioni idiosincrasiche, invece, è opportuna maggiore cautela; se per reazioni lievi si potrebbe considerare il test di provocazione con il farmaco implicato, per reazioni severe o potenzialmente fatali, invece, il farmaco non dovrebbe essere risomministrato.

Nella gestione delle reazioni di tipo B immuno-mediate bisogna tener conto dei meccanismi implicati. Qualora siano disponibili e validati test allergologici (come nel caso della penicillina), essi debbono essere impiegati per la definizione di uno stato di "allergia" o "non allergia". Nella maggior parte dei casi, però, tali test non sono disponibili, per cui è opportuno considerare diverse opzioni. La più semplice è proscrivere il farmaco implicato, facendo ricorso a molecole alternative. Se ciò non fosse possibile si può optare per una reintroduzione graduale del farmaco, ma, qualora la reazione fosse potenzialmente fatale o compatibile con una forma IgE-mediata, bisognerebbe considerare il trattamento desensibilizzante.

CONCLUSIONI

È compito dell'allergologo non solo educare i pazienti con storia di reazione avversa a farmaci, ma anche i medici di medicina generale. Innanzitutto è opportuno informare tanto i pazienti, quanto i loro curanti, che la maggior parte delle reazioni avverse è di natura non allergica. Non è infrequente che il medico curante terrorizzi il paziente, riducendo al minimo le opzioni terapeutiche disponibili in ragione della sua "allergia" polimedica. Spesso, infatti, nei casi di reazione ad antibiotici il paziente si sente perso di fronte allo spettro di una infezione. In base a quanto detto finora le opzioni, per quanto limitate, esistono. Bisogna ricordare, infine, che sono necessari tempo e pazienza per mettere appunto un approccio terapeutico ottimale.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization. International drug monitoring: the role of the hospital. Geneva: The Organization; 1966.
2. Bigby M, Jick S, Jick H, Arndt K. Drug-induced cutaneous reactions: a report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program on 15,238 consecutive inpatients, 1975 to 1982. JAMA 1986;256:3358-63.
3. Laxenaire M. Epidemiology of anesthetic anaphylactoid reactions: fourth multicenter survey (July 1994-December 1996). Ann Fr Anesth Reanim 1999;18:796-809.
4. Lenler-Petersen P, Hansen D, Andersen M, Sorensen H, Bille H. Druginduced fatal anaphylactic shock in Denmark 1968-1990. Ugeskr Laeger 1996;158:3316-8.

5. Pumphrey R. Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1144-50.
6. Rawlins M, Thompson W. Mechanisms of adverse drug reactions. In: Davies D, editor. *Textbook of adverse drug reactions*. New York: Oxford University Press; 1991. p. 18-45.
7. Borda I, Slone D, Jick H. Assessment of adverse reactions within a drug surveillance program. *JAMA* 1968;205:645-7.
8. Coombs R, Gell PG. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell P, Coombs RR, Lachman PJ, editors. *Clinical aspects of immunology*. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications; 1975. p. 761.
9. Naisbitt D, Williams D, Pirmohamed M, Kitteringham N, Park K. Reactive metabolites and their role in drug reactions. *Curr Opin Allergy Immunol* 2001;1:317-25.
10. Idsoe O, Guthe T, Wilcox R, deWeck A. Nature and extent of penicillin side-reactions, with particular reference to fatalities from anaphylactic shock. *Bull WHO* 1968;38:159-88.
11. International Rheumatic Fever Group. Allergic reactions to long-term benzathine penicillin prophylaxis for rheumatic fever. *Lancet* 1991;337:1308-10.
12. Joint Task Force on Practice Parameters, American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, American College of Allergy, Asthma and Immunology, and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. The diagnosis and management of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101(6 Pt 2):S465-528.
13. Neugut A, Ghatak A, Miller R. Anaphylaxis in the United States: an investigation into its epidemiology. *Arch Intern Med* 2001;161:15-21.
14. Levine B. Immunologic mechanisms of penicillin allergy. A haptenic model system for the study of allergic disease in man. *N Engl J Med* 1966;275:1115-25.
15. Levine B, Redmond A. Minor haptenic determinant-specific reagents of penicillin hypersensitivity in man. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1969;35:445-55.
16. Adkinson N, Thompson W, Maddrey W, Lichtenstein L. Routine use of penicillin skin testing on an inpatient service. *N Engl J Med* 1971;285:22-4.
17. Green G, Rosenblum R, Sweet L. Evaluation of penicillin hypersensitivity: value of clinical history and skin testing with penicilloyl-polylysine and penicillin G. A cooperative prospective study of the Penicillin Study Group of the American Academy of Allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1977;60:339-45.
18. Sullivan T, Wedner H, Shatz G, Yecies L, Parker C. Skin testing to detect penicillin allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:171-80.
19. Sogn D, Evans RE, Shepherd G, Casale T, Condemni J, Greenberger P, et al. Results of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Clinical Trial to test the predictive value of skin testing with major and minor penicillin derivatives in hospitalized adults. *Arch Intern Med* 1992;152:1025-32.
20. Weiss M, Adkinson, NF, Jr. Immediate hypersensitivity reactions to penicillin and related antibiotics. *Clin Allergy* 1988;18:515-40.
21. Parker C. Drug therapy. *N Engl J Med* 1975;292:511-4.
22. Gorevic P, Levine B. Desensitization of anaphylactic hypersensitivity specific for the penicilloate minor determinant of penicillin and carbencillin. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:267-72.
23. Baldo B. Penicillins and cephalosporins as allergens—structural aspects of recognition and cross-reactions. *Clin Exp Allergy* 1999;29:744-9.
24. Lin R. A perspective on penicillin allergy. *Arch Intern Med* 1992;152:930-7.
25. Kelkar P, Li J. Cephalosporin allergy. *N Engl J Med* 2001;345:804-9.
26. Anne S, Reisman R. Risk of administering cephalosporin antibiotics to patients with histories of penicillin allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:167-70.
27. Novalbos A, Sastre J, Cuesta J, De Las Heras M, Lluch-Bernal M, Bombin C, et al. Lack of allergic cross-reactivity to cephalosporins among patients allergic to penicillins. *Clin Exp Allergy* 2001;31:438-43.
28. Bernstein I, Gruchalla R, Lee R, Nicklas R, Dykewicz M. Disease management of drug hypersensitivity: a practice parameter. Joint Task Force on Practice Parameters, the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:665-700.
29. Kearns GL, Wheeler JG, Childress SH, Letzig LG. Serum sickness-like reactions to cefaclor: role of hepatic metabolism and individual sensitivity. *J Pediatr* 1994;125:805-11.
30. Gruchalla R. Acute drug desensitization. *Clin Exp Allergy* 1998;28:63-4.
31. Sullivan T. Drug allergy. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, Busse WW, editors. *Allergy: principles and practice*. St Louis: Mosby; 1993. p. 1726-46.
32. Patterson R, DeSwarte R, Greenberger P, Grammar L, Brown J, Choy A. *Drug allergy and protocols for management of drug allergies*. Providence (RI): Oceanside Publications; 1995. p. 1-27.
33. Cribb A, Spielberg S. Hepatic microsomal metabolism of sulfamethoxazole to the hydroxylamine. *Drug Metab Dispos* 1990;18:784-7.
34. Naisbitt D, Hough S, Gill H, Pirmohamed M, Kitteringham N, Park B. Cellular disposition of sulphamethoxazole and its metabolites: implications for hypersensitivity. *Br J Pharmacol* 1999;126:1393-407.
35. Gruchalla R, Pesenko, RD, Do, TT, Skiest, DJ. Sulfonamide-induced reactions in patients with AIDS—the role of covalent protein haptenation. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:371-8.
36. Reilly T, Lash L, Doll M, Hein D, Woster P, Svensson C. A role for bioactivation and covalent binding within epidermal keratinocytes in sulfonamide-induced cutaneous drug reactions. *J Invest Dermatol* 2000;114:1164-73.
37. Naisbitt D, Gordon S, Pirmohamed M, Burkhart C, Cribb A, Pichler W, et al. Antigenicity and immunogenicity of sulphamethoxazole: demonstration of metabolism-dependent haptenation and T cell proliferation in vivo. *Br J Pharmacol* 2001;133:295-305.
38. Pichler W, Schnyder B, Zanni M, Hari Y, von Greysen S. Role of T cells in drug allergies. *Allergy* 1998;53:225-32.
39. Yawalkar N, Shrikhande M, Hari Y, Nievergelt H, Braathen L, Pichler W. Evidence for a role for IL-5 and eotaxin in activating and recruiting eosinophils in drug-induced cutaneous eruptions. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:1171-6.
40. Carrington D, Earl H, Sullivan T. Studies of human IgE to a sulfonamide determinant. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:442-7.
41. Gruchalla R, Sullivan T. Detection of human IgE to sulfamethoxazole by skin testing with sulfamethoxazole poly-L-tyrosine. *J Allergy Clin* 1991;88:784-92.
42. Absar N, Daneshvar H, Beall G. Desensitization to trimethoprim/sulfamethoxazole in HIV-infected patients. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:1001-5.

43. Moreno J, Poblete R, Maggio C, Gagnon S, Fischl M. Rapid oral desensitisation for sulfonamides in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:140-6.
44. Palusci V, Kaul A, Lawrence R, Haines K, Kwittken P. Rapid oral desensitisation to trimethoprim-sulfamethoxazole in infants and children. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:456-60.
45. Caumes E, Guermonprez G, Lecomte C, Katlama C, Bricaire F. Efficacy and safety of desensitization with sulfamethoxazole and trimethoprim in 48 previously hypersensitive patients infected with human immunodeficiency virus. *Arch Dermatol* 1997;133:465-9.
46. Rich J, Sullivan T, Greineder D, Kazanjian P. Trimethoprim/sulfamethoxazole incremental dose regimen in human immunodeficiency virus-infected persons. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:409-14.
47. Demoly P, Messaad D, Sahla H, Fabre J, Faucherre V, Andre P, et al. Sixhour trimethoprim-sulfamethoxazole-graded challenge in HIV-infected patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:1033-6.
48. Yoshizawa S, Yasuoka A, Kikuchi Y, Honda M, Gatanaga H, Tachikawa N, et al. A 5-day course of oral desensitization to trimethoprim/sulfamethoxazole (T/S) in patients with human immunodeficiency virus type-1 infection who were previously intolerant to T/S. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;85:241-4.
49. Allen J. Which medications to avoid in patients with sulfa allergy. Stockton (CA): Pharmacist's Letter and Prescriber's Letter; 2000.
50. Weiss ME, Adkinson NF Jr. Diagnostic testing for drug hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am* 1998;18:731-44.
51. Brandt M, Gruchalla R, Sullivan T. Skin testing and in vitro testing to detect IgE to antimicrobial drugs [abstract]. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:263.
52. Empedrad R, Earl H, Gruchalla R. Determination of non-irritating skin test concentrations of commonly used antimicrobial drugs [abstract]. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:803.
53. Shear N, Spielberg SP. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: in vitro assessment of risk. *J Clin Invest* 1988;82:1826-32.
54. Bachot N, Roujeau JC. Physiopathology and treatment of severe drug eruptions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:293-8.
55. Knowles S, Shapiro L, Shear N. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: incidence, prevention and management. *Drug Saf* 1999;21:489-501.
56. Eisenhauer EA, ten Bokkel Huinink WW, Swenerton KD, Gianni L, Myles J, van der Burg ME, et al. European-Canadian randomized trial of paclitaxel in relapsed ovarian cancer: high-dose versus low-dose and long versus short infusion. *J Clin Oncol* 1994;12:2654-66.
57. Lorenz W, Reimann H, Schmal A, Dormann P, Schwarz B, Neugebauer E, et al. Histamine release in dogs by Cremophor EL and its derivatives: oxethylated oleic acid is the most effective constituent. *Agents Actions* 1977;7:63-7.
58. Markman M, Kennedy A, Webster K, Kulp B, Peterson G, Belinson J. Paclitaxel-associated hypersensitivity reactions: experience of the gynaecologic oncology program of the Cleveland Clinic Cancer Center. *J Clin Oncol* 2000;18:102-5.
59. Zanotti K, Rybicki L, Kennedy A, Belinson J, Webster K, Kulp B, et al. Carboplatin skin testing: a skin-testing protocol for predicting hypersensitivity to carboplatin chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001;19:3126-9.
60. Broome C, Schiff R, Friedman H. Successful desensitization to carboplatin in patients with systemic hypersensitivity reactions. *Med Pediatr Oncol* 1996;26:105-10.
61. Rose P, Fusco N, Fluellen L, Rodriguez M. Carboplatin hypersensitivity reactions in patients with ovarian and peritoneal carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 1998;8:365-6.
62. Billet A, Carls A, Belber R, Sallan S. Allergic reactions to Erwinia asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia who had previous allergic reactions to Escherichia coli asparaginase. *Cancer* 1992;70:201-6.
63. Woo M, Hak L, Storm M, Evans W, Sandlund J, Rivera G, et al. Antiasparaginase antibodies following E. coli asparaginase therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1998;12:1527-33.
64. Zanotti K, Markman M. Prevention and management of antineoplastic-induced hypersensitivity reactions. *Drug Saf* 2001;24:767-79.
65. Bonno M, Kawasaki H, Hori H, Umemoto M, Komada Y, Sakurai M. Rapid desensitization for L-asparaginase hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:571-2.
66. O'Dwyer P, King S, Fortner C, Leyland-Jones B. Hypersensitivity reactions to teniposide (VM-26): an analysis. *J Clin Oncol* 1986;4:1262-9.
67. Kellie S, Crist W, Pui C, Crone M, Fairclough D, Rodman J, et al. Hypersensitivity reactions to epiphosphorylotoxins in children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1991;67:1070-5.
68. MacLean J, Moscicki R, Block K. Adverse reactions to heparin. *Ann Allergy* 1990;65:254-9.
69. Harenberg J, Huhle G, Wang L, Hoffmann U, Bayerl C, Kerowgan M. Association of heparin-induced skin lesions, intracutaneous tests, and heparin-induced IgG. *Allergy* 1999;54:473-7.
70. Grassegger A, Fritsch P, Reider N. Delayed-type hypersensitivity and cross-reactivity to heparins and danaparoid: a prospective study. *Dermatol Surg* 2001;27:47-53.
71. Aijaz A, Nelson J, Naseer N. Management of heparin allergy in pregnancy. *Am J Hematol* 2001;67:268-9.
72. Pratt E, Miles P, Kerr D. Localized insulin allergy treated with continuous subcutaneous insulin. *Diabet Med* 2001;18:515-6.
73. Wessbecher R, Kiehn M, Stoffel E, Moll I. Management of insulin allergy. *Allergy* 2001;56:919-20.
74. Dykewicz M, Kim H, Orfan N, Yoo T, Lieberman P. Immunologic analysis of anaphylaxis to protamine component in neutral protamine Hagedorn human insulin. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:117-25.
75. Zeltser R, Valle L, Tanck C, Holyst M, Bitchlin C, Gaspari A. Clinical, histological, and immunophenotypic characteristics of injection site reactions associated with etanercept. *Arch Dermatol* 2001;137:893-9.
76. Stevenson DD, Simon RA. Lack of cross-reactivity between rofecoxib and aspirin in aspirin-sensitive patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:47-51.
77. Stevenson DD, Simon RA. Sensitivity to aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, editors. *Allergy: principles and practice*, vol 2. 5th ed. St Louis: Mosby; 1998.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Classificazione delle reazioni avverse a farmaci

L'Accademia Europea di Allergologia e Immunologia Clinica (EAACI) distingue le reazioni avverse a farmaci in “tossiche” e “da ipersensibilità”; queste ultime comprendono reazioni *immuno-mediate* e *non immuno-mediate*¹.

Patogenesi delle reazioni allergiche da farmaci

Le reazioni “ritardate”, e in particolare le modalità di attivazione di cellule T farmaco-specifiche, hanno suscitato particolare interesse in questi ultimi anni. Dai risultati di studi in vitro si può dedurre che farmaci cosiddetti “inerti”, ossia incapaci di legare proteine carrier e generare complessi immuni, siano in grado di determinare autonomamente una stimolazione MHC-dipendente delle cellule T (è il cosiddetto concetto “p-i”). Questa possibilità, riconosciuta al momento per un ristretto numero di farmaci (es. carbamazepina), spiegherebbe perché alcuni di essi causerebbero esclusivamente disturbi T-mediati (rash maculo-papulare, SJS, TEN), mentre farmaci aptenici (es. ampicillina) potrebbero evocare sia reazioni anticorpo mediate (anemia emolitica, anafilassi) sia reazioni T-mediate (esantemi, SJS, TEN)².

Reazioni immuni a farmaci

Penicilline e altri farmaci β -lattamici

In Europa, oltre alla PPL, si impiega routinariamente anche l'MDM (Diater, Madrid, Spagna)^{3,4}.

Il concetto di cross-reattività specifica per le catene laterali ha finito per mutare notevolmente l'approccio ai pazienti con storia di reazioni immediate e ritardate da betalattamici.⁵

L'EAACI ha elaborato due position paper relative alla valutazione allergologica – test cutanei (prick test, intradermoreazioni a lettura rapida e ritardata, patch test) e test di provocazione - dei pazienti con reazioni “immediate” e “ritardate” a betalattamine^{6,7}.

Recenti studi hanno messo in evidenza l'utilità dei test cutanei e del RAST nella diagnosi di reazioni IgE-mediate alle cefalosporine⁸ e nei pazienti con storia di allergia alle penicilline che necessitano di terapia con cefalosporine. Allo stesso tempo è stato evidenziato che è possibile somministrare penicilline a pazienti con allergia alle cefalosporine, qualora i test cutanei eseguiti con i determinanti antigenici della penicillina risultino negativi.

Infine, pazienti con allergia IgE-mediata alle penicilline tollerano in genere carbapenemi e monobattami (di quest'ultimo però non abbiamo una voce bibliografica internazionalmente valida); anche in quest'ultimo caso sono raccomandate cutireazioni con questi farmaci prima di procedere con una somministrazione graduale del farmaco⁸.

I sulfamidici

Ulteriori studi evidenziano che la cross-reattività fra sulfamidici aromatici (antimicrobici) e non aromatici è più teorica che pratica.^{9,10}

Altri farmaci antimicrobici

L'EAACI ha elaborato un documento al fine di standardizzare i test cutanei nella diagnosi di reazioni da ipersensibilità ai farmaci¹¹.

REAZIONI IMMUNOMEDIATE A FARMACI NON ANTIMICROBICI

Anticonvulsivanti

Alcuni autori propongono le immunoglobuline e.v. per il trattamento della SJS e della TEN, ma ad oggi queste non rientrano ancora nel trattamento standard di tali patologie^{12,13}.

Chemioterapici

Pazienti con ipersensibilità al carboplatino tollerano, in genere, il cisplatino¹⁴.

Sono stati elaborati diversi protocolli desensibilizzanti con chemioterapici¹⁵.

Eparina

Sono state sviluppate nuove molecole (es. fundaparinux)¹⁶ per la terapia anticoagulante in pazienti con allergia alle diverse eparine; sono descritti, comunque, casi di cross-reattività anche con alcune di esse¹⁷.
Metodiche di desensibilizzazione alla eparina sono state eseguite già da tempo con successo.

Farmaci biologici

Sono descritti casi di desensibilizzazione eseguite con anticorpi monoclonali^{20,21,22}.

FANS

Sono state segnalate in letteratura reazioni immuno-mediate (IgE-mediate e cellulo-mediate) a FANS^{23,24}.
Pazienti con reazioni avverse a FANS, in genere, tollerano la nimesulide, il meloxicam, il paracetamolo e il tramadolo²⁵.
Il rofecoxib non è più in commercio; comunque farmaci analoghi (es. etoricoxib e celecoxib) sono ben tollerati in pazienti con reazioni avverse ai FANS.

Riferimenti bibliografici

1. **A revised nomenclature for allergy Position paper**
S. G. O. Johansson, J. O'B Hourihane, J. Bousquet, C. Bruijnzeel-Koomen, S. Dreborg, T. Haahtela, M. L. Kowalski, N. Mygind, J. Ring, P. van Cauwenberge, M. van Hage-Hamsten, B. Wu" thrich
Allergy 2001; 813: 824
2. **Delayed Drug Hypersensitivity Reactions**
Werner J. Pichler
Ann Intern Med. 2003;139:683-693
3. **Blanca and the European Network for Drug Allergy (ENDA) and the EAACI interest group on drug hypersensitivity Importance of skin testing with major and minor determinants of benzylpenicillin in the diagnosis of allergy to betalactams. Statement from the European Network for Drug Allergy concerning AllergoPen withdrawal**
M. J. Torres, M.
Allergy 2006; 61: 910-911
4. **Continued need of appropriate betalactam-derived skin test reagents for the management of allergy to betalactams**
M. Blanca, A. Romano, M. J. Torres, P. Demoly, DeWeck
Clin Exp Allergy 2007, 37, 166-173
5. **Side-chain-specific reaction to betalactams: 14 years later**
M. Blanca, C. Mayorga, M.J. Torres, R. Warrington, A. Romano, P. Demoly, F. Siliviu-Dan, M. Moya, J. Fernandez, C. Juarez
Clin Exp Allergy 2002; 32: 192-197.
6. **Demoly for ENDA and the EAACI interest group on drug hypersensitivity Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics**
M. J. Torres, M. Blanca, J. Fernandez, A. Romano, A. De Weck, W. Aberer, K. Brockow, W. J. Pichler, P.
Allergy 2003; 58: 961-972
7. **Diagnosis of nonimmediate reactions to b-lactam antibiotics**
A. Romano, M. Blanca, M. J. Torres, A. Bircher, W. Aberer, K. Brockow, W. J. Pichler, P. Demoly, for ENDA and the EAACI interest group on drug hypersensitivity
Allergy 2004; 59: 1153-1160
8. **Immediate allergic reactions to cephalosporins: Evaluation of cross-reactivity with a panel of penicillins and cephalosporins**
C. Antunez, N. Blanca-Lopez, M.-J. Torres, C. Mayorga, E. Perez-Inestrosa, M.-I. Montanez, T. Fernandez, M. Blanca
J Allergy Clin Immunol 2006;117:404-10.)
9. **Sulfonamide allergy without cross-reactivity to celecoxib**
J. Figueroa, N. Ortega, L. Almeida, C. Blanco, R. Castillo
Allergy 2007; 62:92-93
10. **Absence of Cross-Reactivity between Sulfonamide Antibiotics and Sulfonamide Nonantibiotics**
B.-L. Strom, R. Schinnar, A.- J. Apter, D.-J. Margolis, E. Lautenbach, S. Hennessy, W.-B. Bilker, D. Pettitt
N Engl J Med 349;17: 1628-1635

11. **General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity**
K. Brockow, A. Romano, M. Blanca, J. Ring, W. Pichler, P. Demoly
Allergy 2002; 57: 45–51
12. **Intravenous immunoglobulin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a prospective non-comparative study showing no benefit on mortality or progression**
Bachot N, Revuz J, Roujeau JC
Arch Dermatol 2003;139:33-6
13. **Toxic epidermal necrolysis: does immunoglobulin make a difference?**
Brown KM, Silver GM, Halerz M, Walaszek P, Sandroni A, Gamelli RL
J Burn Care Rehabil 2004;25:81-8.
14. **Cisplatinum rechallenge in relapsed ovarian cancer patients with platinum reinduction therapy and carboplatin hypersensitivity**
Kandel MJ, Loehr A, Harter P, Traut A, Gnauert K, du Bois A
Int J Gynecol Cancer 2005; 15:780–784.
15. **Rapid desensitization for hypersensitivity reactions to chemotherapy agents**
M. Castells
Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2006, 6:271–277
16. **Fondaparinux as a novel therapeutic alternative in a patient with heparin allergy**
Maetzke J, Hinrichs R, Staib G, Scharffetter-Kochanek K.
Allergy. 2004 Feb;59(2):237-8
17. **Allergy to heparins and anticoagulants with a similar pharmacological profile: an update**
Jappe U.
Blood Coagul Fibrinolysis. 2006 Nov;17(8):605-13
18. **Rush desensitization in heparin hypersensitivity: a case report**
Patriarca G, Rossi M, Schiavino D, Schinco G, Fais G, Varano C, Schiavello R
Allergy 1994;49:292-4
19. **Heparin allergy: successful desensitization for cardiopulmonary bypass**
Parekh K, Burkhart HM, Hatab A, Ross A, Muller BA
J Thorac Cardiovasc Surg. 2005 Nov;130(5):1455-6
20. **Desensitisation to infliximab in patients with Crohn's disease**
Lelong J, Duburque C, Fournier C, et al
Rev Mal Respir 2005; 22 (2 Pt 1): 239–246
21. **Hypersensitivity reactions to biological agents with special emphasis on tumor necrosis factor-alpha antagonists**
Campi P, Benucci M, Manfredi M, Demoly P
Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2007;7:393-403
23. **Delayed hypersensitivity reactions to diclofenac**
Klingenberg RD, Bassukas ID, Homann N, Stange EF, Ludwig D
Allergy. 2003 Oct;58(10):1076-7
24. **IgE-mediated immediate-type hypersensitivity to the pyrazolone drug propyphenazone**
Himly M, Jahn-Schmid B, Pittertschatscher K, Bohle B, Grubmayr K, Ferreira F, Ebner H, Ebner C
J Allergy Clin Immunol. 2003 Apr;111(4):882- 8
25. **The aspirin disease Thorax**
Schiavino D, Nucera E, Milani A, Del Ninno M, Buonomo A, Sun J, Patriarca G
2000 Oct;55 Suppl 2:S66-9

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Advances in anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect venom

Scott H. Sicherer

March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Supplement Pages S829-S834)

Molecular mechanisms of anaphylaxis: Lessons from studies with murine models

Fred D. Finkelman, Marc E. Rothenberg, Eric B. Brandt, Suzanne C. Morris, Richard T. Strait

March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Pages 449-457)

The Diagnosis and Management of Anaphylaxis: An Updated Practice Parameters

March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Supplement 2 Pages S485-S523)

*** Drug allergy**

Paul A. Greenberger, MD

Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Supplement 2, Pages S464-S470)

Risk assessment in anaphylaxis: Current and future approaches

F. Estelle R. Simons, Anthony J. Frew, Ignacio J. Ansotegui, Bruce S. Bochner, David B.K. Golden, Fred D. Finkelman, Donald Y.M. Leung, Jan Lotvall, Gianni Marone, Dean D. Metcalfe, Ulrich Müller, Lanny J. Rosenwasser, Hugh A. Sampson, Lawrence B. Schwartz, Marianne van Hage, Andrew F. Walls July 2007 (Vol. 120, Issue 1, Pages S2-S24)

Anaphylaxis

F. Estelle R. Simons

February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S402-S407)

11. Malattie allergiche ed immunologiche della pelle

Molte malattie dermatologiche hanno una componente immunologica o infiammatoria e le terapie antinfiammatorie rappresentano uno dei maggiori strumenti terapeutici a disposizione del dermatologo. Sebbene l'eziologia della maggior parte di queste malattie resti ignota, i meccanismi alla base della formazione delle lesioni e lo sviluppo dei sintomi sono sempre meglio conosciuti. Questi progressi, insieme alla validità dei nuovi agenti immunomodulatori, hanno aperto una nuova era per l'immunodermatologia. Pazienti affetti da psoriasi, dermatite allergica da contatto, dermatite atopica, orticaria e malattie bollose mediate da autoanticorpi sono tra coloro che verosimilmente beneficeranno del progresso relativo alla comprensione dei meccanismi patogenetici e delle nuove terapie immunologiche.

La cute rappresenta l'organo immunologico più esteso del corpo umano. Componenti sia dell'immunità innata sia di quella acquisita sono entrambi ben presenti in questo tessuto. L'importanza delle cellule dendritiche della pelle, delle mastcellule locali e degli infiltrati linfocitari nelle reazioni immunodermatologiche è ormai ben nota. È inoltre ben noto il ruolo svolto dalle cellule endoteliali e dai cheratinociti nell'immunopatogenesi delle malattie dermatologiche. Recentemente si sono realizzati enormi progressi nella comprensione delle reazioni immunologiche innate della pelle e dell'importanza delle cellule dendritiche nella risposta linfocitaria T e nel delineare il ruolo delle interazioni tra leucociti, cellule endoteliali e chemochine della cute. Molte di queste scoperte scientifiche si sono tradotte in importantissimi progressi terapeutici per pazienti affetti da gravi malattie dermatologiche.

Di conseguenza scopo di questo capitolo è quello di passare in rassegna diverse malattie dermatologiche che rappresentano un esempio di nuovi concetti emersi di recente nello studio delle malattie dermatologiche immunomEDIATE. L'importanza delle cellule T, incluse le cellule CD8, nelle malattie dermatologiche e la potenziale utilità terapeutica di farmaci aventi come target le cellule T saranno enfatizzate nelle sezioni riguardanti la psoriasi e la dermatite allergica da contatto. La risposta infiammatoria IgE mediata e lo sviluppo anomalo delle cellule T helper

Abbreviazioni utilizzate:

- ACD/DAC: Allergic contact dermatitis/Dermatite allergica da contatto
 ACE: Angiotensin-converting enzyme/enzima che converte l'angiotensina
 AchE: Acetylcholinesterase/Acetilcolinesterasi
 AD: Atopic dermatitis/Dermatite atopica
 APC: Antigen-presenting cell/Cellula presentante l'antigene
 CCR: Chemokine class with two linked cysteine residues/Classe di chemochine con due residui di cisteina associati
 CLA: Cutaneous lymphocyte antigen/Antigene cutaneo linfocitario
 CTLA4Ig: (CD152, molecular T-cells that terminate responses/cellule T che determinano risposte)
 CTS: Contact sensitivity/Sensibilità da contatto
 CXCR: Chemokine class with one amino acid residue separating cysteine residues/Classe di chemochine con un residuo aminoacidico che separa i residui di cisteina
 Dsg: Desmogleina
 DTH: Delayed type hypersensitivity/Ipersensibilità di tipo ritardato
 ELISA: Enzyme-linked immunoadsorbent assay/Test immuno-enzimatico
 FcεRI-γ: High affinity receptor for IgE/Recettore ad alta affinità per le IgE
 HLA: Human leukocyte antigen/Antigene leucocitario umano
 HIV: Human immunodeficiency virus/ Virus di immunodeficienza umana
 ICAM: Intercellular adhesion molecule/Molecola intercellulare di adesione
 IFG: Interferone
 IG: Immunoglobulina
 IL: Interleuchina
 IVIG: Intravenous immunoglobulin/Immunoglobulina endovena
 LFA-3 TIP: Alefacept
 MHC: Major histocompatibility complex/Complesso maggiore di istocompatibilità
 PDE: Phosphodiesterase/Fosfodiesterasi
 PF: Pemfigo foliaceo
 PGE₂: Prostaglandina E₂
 PNP: Pemphigus foliaceus/Pemfigo paraneoplastico
 PUVA: Combination treatment of psoralin (photosensitizer) and ultraviolet light A/Trattamento combinato di psoralina (fotosensibilizzante) e raggi ultravioletti A
 PV: Paraneoplastic pemphigus/Pemfigo volgare
 S: Staphylococcal exotoxin/Esotossina stafilococcica
 SSS: Sindrome cutanea da Stafilococco
 TARC: Thymus and activation-regulated chemokine
 Th: Cellule T helper
 TNF: Tumor necrosis factor/Fattore di necrosi tumorale
 TSST: Toxic shock syndrome toxin/Tossina della sindrome da shock tossico
 VCAM: Vascular cell adhesion molecule/Molecola di adesione cellulosa-vascolare
 UV: Raggi ultravioletti

Traduzione italiana del testo di:
 Andrei Blauvelt, Sam T. Hwang e Mark C. Udey
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S560-70

saranno trattati nell'ambito della discussione sulla dermatite atopica e l'orticaria. Il ruolo patogenetico che gli autoanticorpi IgG svolgono nella formazione delle bolle del pemfigo sarà rivisitata nella parte finale di quest'articolo.

PSORIASI

Manifestazioni cliniche

La psoriasi è una malattia dermatologica cronica relativamente comune dal momento che colpisce il 2-3% della popolazione americana. Il tipo clinico più frequente è la psoriasi cronica a placche. Le lesioni della pelle appaiono generalmente come placche eritematose ben demarcate coperte da pelle desquamata a scaglie grosse e grigie. La pelle del cuoio capelluto e delle superfici estensorie (gomiti, ginocchia e unghie) sono le parti più frequentemente colpite. Ad ogni modo lesioni tipiche possono essere presenti ovunque nel corpo. Le lesioni delle unghie appaiono come fossette, onicolisi o onicodistrofia. La gravità delle lesioni cutanee varia da lieve fino ad un coinvolgimento cutaneo di tutta la superficie corporea. La psoriasi guttata è un altro tipo di psoriasi che tipicamente colpisce bambini e giovani adulti, che frequentemente compare dopo infezioni da streptococco beta-emolitico. Le lesioni cutanee sono di piccole dimensioni e a forma di moneta (psoriasi guttata) e possono seguire lo sviluppo della forma cronica a placche. Due altre varianti più rare e gravi sono la pustolosa e la eritrodermica, in cui le lesioni compaiono rispettivamente come pustole o come eritema diffuso. Anche se le forme pustolosa ed eritrodermica possono essere di per sé la prima manifestazione della malattia, esse generalmente compaiono in soggetti con psoriasi a placche pre-esistente. In particolare, le forme pustolose e eritrodermiche possono interessare pazienti con psoriasi a placche trattati con cortisonici e/o ciclosporina in seguito alla sospensione brusca della terapia. Altre cause che possono scatenare e/o esacerbare la psoriasi sono le infezioni (ad es. HIV, streptococciche), le lesioni cutanee, lo stress, i farmaci (litio e beta bloccanti), l'abuso di tabacco ed alcol.

Il 25% dei pazienti affetti da psoriasi cutanea può essere colpito dall'artrite psoriasica, una forma di spondiloartrite sieronegativa. I cinque tipi più comuni di artropatie psoriasiche sono: l'oligoartrite asimmetrica (la forma più comune), la forma "osteoartrite-like" con interessamento delle articolazioni distali simmetriche, la forma "artrite reumatoide-like" con localizzazione simmetrica prossimale, la forma "spondilite anchilosante-like" HLA-B27+ e una forma mutilante e distruttiva. In pazienti affetti da psoriasi sono anche più comuni malattie infiammatorie croniche intestinali, quali la colite ulcerativa e la malattia di Crohn.

Genetica

L'età d'esordio della psoriasi è bifasica con un primo picco in età infantile-giovanile (età media 16 anni per le donne, 22 per gli uomini), il secondo in età avanzata (età media 60 anni per le donne e 57 per gli uomini).¹ Una familiarità per la malattia si riscontra in circa 1/3 dei

casi. I parenti di primo grado di pazienti affetti da psoriasi giovanile hanno un rischio 10 volte maggiore rispetto alla popolazione generale di sviluppare la malattia.¹ Inoltre la concordanza della malattia in gemelli monozigoti ha una frequenza significativamente maggiore rispetto a quella osservata nei gemelli eterozigoti.² Tuttavia la trasmissione non segue un pattern di ereditarietà mendeliana classica, dominante o recessivo. Studi genetici approfonditi sembrano concordare sul fatto che geni multipli in loci diversi sono necessari per sviluppare la psoriasi. Si ritiene che uno dei geni della psoriasi sia localizzato sulla regione MHC (braccio corto del cromosoma 6, denominato *PSORS1*) e che molti altri geni siano distribuiti in tutto il genoma.³ Anche se HLA-Cw6 è strettamente correlato a *PSORS1*, non si ritiene che esso sia il gene responsabile della malattia. Più specificamente il locus *PSORS1* si trova su una regione cromosomica che rappresenta un telomero di *HLA-C3*.³ Studi di linkage disequilibrium hanno identificato altri geni responsabili della suscettibilità alla psoriasi. *PSORS2* si trova sul braccio distale del cromosoma 17. Inoltre i loci meno conosciuti sui cromosomi 4q (*PSORS3*), 1q21 (*PSORS4*), 3q21 (*PSORS5*), 19p (*PSORS6*) ed 1p sono ritenuti (*PSORS7*), così come loci sui cromosomi 16q e 20, possano essere coinvolti nello sviluppo della psoriasi e sono in fase di studio.

Fisiopatologia

Dal punto di vista istologico, la psoriasi è caratterizzata da notevole iperproliferazione dei cheratinociti, da un ricco infiltrato infiammatorio costituito da linfociti T e neutrofili, da dilatazione e proliferazione vascolare. Per lungo tempo si è ritenuto che il difetto primario fosse costituito dall'anomala proliferazione cheratinocitaria. Certamente nelle lesioni cutanee vi è un'iperattivazione dei geni codificanti per alcuni fattori di crescita cheratinocitaria, tra cui l'epidermal growth factor.⁴ Negli ultimi 15 anni tuttavia vi è stata una rivalutazione dei possibili meccanismi patogenetici, che ha portato a considerare la psoriasi una patologia infiammatoria mediata da linfociti T. Oggi si ritiene che l'iperproliferazione dei cheratinociti sia un fenomeno secondario provocato dal rilascio locale di citochine pro-infiammatorie di tipo 1 prodotte dai linfociti infiltrati. Nel derma e nell'epidermide delle lesioni psoriasiche attive sono infatti presenti linfociti T di memoria attivati (CD45RO+) con un fenotipo, rispettivamente, CD4+ e CD8+.⁵

Le cellule T attivate presenti nelle lesioni cutanee producono un'ampia gamma di citochine proinfiammatorie di tipo 1, tra cui IFN- γ , TNF- α , IL-1 e IL-2.⁶⁻⁸ Al contrario, nelle lesioni le cellule producono solo scarse quantità di citochine di tipo 2, come IL-4 e IL-10.⁹ L'ipotesi corrente è che le cellule T di memoria attivate siano la rispondano ad un autoantigene della cute, benché l'esatta natura e origine (epidermide versus derma) di questo ipotetico autoantigene siano tuttora ignoti. Studi recenti sembrano indicare che anche il traffico delle cellule T, mediato dalla espressione di citochine nella cute e da corrispondenti recettori delle citochine sulle cellule infiammatorie, possa essere coinvolto nella patogenesi della psoriasi.¹⁰

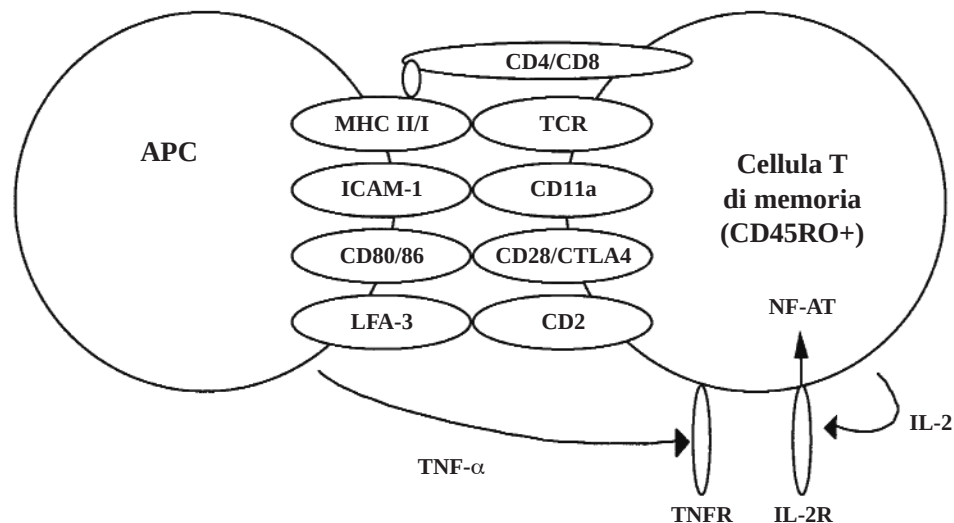


FIG 1. Rappresentazione schematica delle potenziali interazioni sulla superficie cellulare tra APC (cellule presentanti l'antigene) e cellule T di memoria CD4⁺ o CD8⁺ nelle lesioni psoriasiche. Ognuna di queste interazioni potrebbe essere il bersaglio per terapie in grado di uccidere le cellule T o bloccare la loro attivazione o attività biologica.

Terapia

I pazienti affetti da forme lievi o circoscritte di psoriasi vengono spesso trattati con steroidi topici a potenza medio-alta. Il Calcipotriene (un analogo della vitamina D) e il tazorotene (un retinoide) sono più nuovi agenti topici utilizzati con successo per la psoriasi cronica a placche. Per le forme più gravi le terapie tradizionali, basate sulla capacità di interferire con la proliferazione dei cheratinociti, sono rappresentate da methotrexate ed acitretina (un retinoide) per via orale, fototerapia con raggi UVB e PUVA (un approccio combinato che sfrutta la possibilità di fotoattivare lo psoralene con gli UVA). Studi recenti dimostrano che queste terapie tradizionali hanno un effetto diretto sulle cellule T in alternativa o in aggiunta all'azione inibitoria sulla proliferazione dei cheratinociti. I recenti progressi nello studio della patogenesi immunologica della psoriasi hanno portato allo sviluppo di farmaci in grado di interferire primariamente con i linfociti T attivati.

In particolare, nuovi eccitanti progressi nella comprensione della psoriasi come malattia infiammatoria mediata dalle cellule T hanno portato a sviluppare farmaci che hanno come obiettivo i linfociti T attivati (Fig. 1). Il primo farmaco di questo tipo ad essere introdotto è stata la ciclosporina, che agisce bloccando la trasduzione mediata da NF-AT nelle cellule T attivate.¹¹ Il ruolo fondamentale svolto dalle cellule T attivate nella patogenesi della psoriasi è sottolineato dall'efficacia terapeutica della tossina IL-2, in grado di uccidere i linfociti T attivati.¹² Questi studi hanno spinto verso lo sviluppo di nuove immunoterapie. Ad esempio, CTLA4Ig, una molecola che si lega a CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) presenti sulle APC (cellule presentanti l'antigene) può interferire con l'attivazione delle cellule T e consente un miglioramento del quadro clinico della psoriasi.¹³ Allo stesso modo, anche la terapia con anticorpi anti-IL-2,¹⁴ anti-CD4¹⁵ e LFA-3 TIP (alefacept)¹⁶ è stata descritta

come in grado di uccidere direttamente le cellule T di memoria e quindi indurre un significativo miglioramento delle lesioni psoriasiche. Un altro approccio possibile è quello di bloccare l'attività delle citochine pro-infiammatorie di tipo 1 rilasciate, utilizzando anticorpi anti-TNF-alfa (infliximab)¹⁷ e recettori solubili per il TNF-alfa (ad es. alefacept).¹⁸

Si è anche valutato il potenziale impiego di citochine anti-infiammatorie di tipo 2 (ad es. IL-10 o IL-11) a dosi elevate.^{9,19,20} Infine, il blocco delle cellule T circolanti nella cute è alla base della terapia con anticorpi anti-CD-11a, che interferisce con il legame delle cellule T con le cellule dell'endotelio vascolare.^{21,22} Ad eccezione della ciclosporina, l'introduzione di queste molecole per il trattamento della psoriasi è veramente recente e per tale motivo sono necessari ulteriori studi per confermare la loro esatta posologia ed esaltarne le proprietà immunoregolatrici, riducendone al minimo gli effetti collaterali.

DERMATITE ALLERGICA DA CONTATTO

La dermatite da contatto è una dermatosi infiammatoria comune che colpisce soprattutto l'adulto e che, se cronicizza, diviene causa di alta morbidità.²³ Inoltre, nelle forme in cui l'esposizione all'allergene è di tipo professionale, l'impatto socio-economico è notevole sia per il paziente che per il datore di lavoro. Come indicato dal nome stesso, la dermatite allergica da contatto (ACD) è dovuta ad una reazione di ipersensibilità T-mediata verso uno specifico antigene.

La dermatite irritante da contatto è più comune della ACD ed è causata da una risposta tossica non antigenica.

La ACD è una patologia di notevole interesse principalmente per due motivi: 1. rappresenta un problema rilevante di salute pubblica; 2. i risultati degli studi speri-

mentali sull'induzione della sensibilità da contatto (CTS) nell'uomo e nei modelli animali (topo) rappresentano le basi per la comprensione di molti aspetti dell'immunologia cutanea.

Manifestazioni cliniche

Le lesioni della ACD sono difficili da distinguere da altri tipi di dermatite quali l'eczema della dermatite atopica (AD). Le lesioni della ACD in fase acuta sono rappresentate da vescicole pruriginose su cute eritematosa. La componente vescicolare può persistere nelle forme cronicizzate subacute, ma eritema e desquamazione sono più frequenti. Le lesioni croniche sono caratterizzate da cute ispessita con prominenza dei margini cutanei (lichenificazione) e desquamazione. Le vescicole non sono tipiche di eczema cronico e l'eritema può non essere marcato.

Fisiopatologia

Anche se la sensibilità da contatto (CTS) e quella ritardata (DTH) sono entrambe mediate da cellule T, i meccanismi responsabili dell'induzione ed evoluzione di queste due reazioni sono in realtà diversi, come suggerito dagli studi nei modelli murini e umani.^{24,25} Responsabili delle reazioni DTH sono le cellule T CD4+ MHC-II+ mentre nelle reazioni CTS gli attori principali sono i T CD8+. Nelle reazioni CTS le cellule TCD4 agiscono come cellule regolatorie, attenuando più che potenziando la risposta infiammatoria. Anche gli antigeni coinvolti nelle reazioni DTH sono differenti da quelli responsabili delle reazioni ACD. Gli antigeni che provocano le risposte DTH sono proteine solubili di grosse dimensioni, mentre gli antigeni che provocano le risposte ACD sono piccole molecole lipofile (aptene) o ioni metallici, quali nickel o cobalto, privi di potere allergenico intrinseco ma in grado di comportarsi da allergeni se legati a proteine o peptidi. Si ritiene che l' "antigene completo" nella reazione ACD sia rappresentato da un aptene (o ioni metallici) legato a proteine di origine cheratinocitaria, con molecole MHC-II espresse sulla superficie di APC o con peptidi già processati e presentati nell'ambito di molecole MHC di classe II.

Si ritiene comunemente che le reazioni CTS inizino quando le cellule di Langherhans epidermiche (e forse le cellule dendritiche del derma) attivate migrano nei linfonodi drenanti dove stimolano cellule T naive, che riconoscono l'antigene nell'ambito di molecole MHC di classe I e II.²⁴ La mobilitazione delle cellule dendritiche avviene in risposta al rilascio locale di citochine proinfiammatorie quali IL-1 e TNF- α . La maggior parte degli allergeni da contatto è anche irritante e probabilmente l'irritazione ha un ruolo fondamentale nell'attivazione delle cellule dendritiche. Le cellule dendritiche attivate esprimono livelli elevati di antigeni CCR7, MHC e molecole costimolatorie (CD40, CD80, CD86) e si muovono dal derma ai linfatici in seguito al rilascio di chemochine da parte dello stesso tessuto linfatico attivato. Questo processo rende possibile anche la produzione di metalloproteasi da parte delle cellule dendritiche. Il risultato finale dell'interazione tra le cellule dendritiche e le cellule T

nei linfonodi drenanti la cute esposta all'antigene è la produzione di cellule T CD8+, antigene-specifiche e di memoria (e di cellule T CD4+ regolatorie).

Le manifestazioni cliniche della ACD compaiono in occasione di esposizioni successive al primo contatto con l'antigene (necessario per la sensibilizzazione).^{24,25} Cellule T CD8+ di memoria sono presenti in circolo e possono quindi raggiungere la cute, dove avviene il contatto con l'antigene, ed aderire alle cellule endoteliali delle venule grazie alla presenza di molecole di adesione superficiali (CLA, E-selectina) e di recettori specifici per le chemochine (CXCR3). Mentre IL-2 non sembra avere un ruolo importante nello scatenare la reazione ACD, cellule effettrici T CD8 producono grosse quantità di IFN- γ . Il potenziale citotossico degli effettori della ACD è importante poiché, in un modello murino, l'assenza di perforina o l'inibizione del meccanismo dipendente dall'interazione Fas-FasL determinano un'attenuazione della risposta CTS.

Valutazione clinica e terapia

Poiché la miglior terapia (e forse l'unica realmente efficace) è rappresentata dalla non-esposizione all'antigene, diventano cruciali l'esatta diagnosi e identificazione dell'agente scatenante. La diagnosi ed il trattamento di pazienti affetti da dermatite da contatto cronica è molto difficile. Diventa quindi importante il coinvolgimento di un dermatologo specialista in ACD, soprattutto in caso di rivendicazioni lavorative.

La diagnosi di ACD si basa su una anamnesi approfondita, su un esame fisico meticoloso e, se necessario, sulla effettuazione di patch test.²³ La biopsia cutanea mostra in genere un quadro aspecifico di dermatite spongiosa.

L'anamnesi di una recente escursione nei boschi, seguita dopo diversi giorni dalla comparsa di vescicole intensamente pruriginose lineari sulla cute esposta delle estremità suggerisce una ACD acuta da urusciolo nelle piante di "edera velenosa". Un'area di eritema e desquamazione in aree di cute a contatto con gioielli di metallo sono tipici dell'ACD da nickel. Eritema diffuso e edema delle palpebre sono tipici di allergia a componenti di smalti da unghie o similari. Più difficile è la diagnosi delle forme croniche dove non è facile identificare l'antigene scatenante ed il quadro clinico si confonde con quello di un eczema; in questi casi più difficili in cui l'esame obiettivo non permette la diagnosi di ACD, il patch test può essere estremamente utile.^{23,26} Il patch test è una procedura ben caratterizzata, in cui un allergene da contatto, a concentrazione standard in petrolatum, viene applicato in occlusione in aree cutanee circoscritte secondo un approccio standardizzato. Dopo 48 ore l'occlusione è rimossa e viene valutata l'eventuale presenza di eritema, vescicole e tumefazioni. L'entità della reazione viene quantificata mediante uno metodo di score standardizzato. Reazioni ritardate vengono valutate dopo 3-7 giorni. Sebbene la serie standard di antigeni utilizzata sia relativamente ampia, comprendendo anche gli ioni metallici più frequentemente coinvolti nella ACD, talvolta è necessario ampliare il pannello di antigeni da testare. In questi casi vengono testate altre sostanze chimiche, in condizio-

ni di strettissima sorveglianza per eventuali reazioni abnormi oppure molecole già presenti nella serie standard ma applicate nella forma sotto cui vengono comunemente a contatto con la cute. Una diagnosi accurata deriva dall'integrazione della valutazione del patch test con l'anamnesi e l'esame obiettivo. Va comunque ricordato che sono possibili sia falsi positivi che falsi negativi. Una volta identificata la causa di ACD, è necessario evitare l'esposizione all'allergene ritenuto responsabile. Sebbene sia consentita l'esposizione dei pazienti a bassi livelli di agenti sensibilizzanti²⁷, è comunque preferibile il loro evitamento. Una buona protezione può essere ottenuta utilizzando i guanti (barriera fisica), mentre scarsi risultati si raggiungono con le creme protettive. Gli antistaminici migliorano i sintomi, come pure i cortisonici topici ad elevata potenza che portano ad una risoluzione delle lesioni cutanee in tempi brevi. Casi di severa ed acuta ACD possono richiedere terapia cortisonica sistemica a dosi elevate per una o più settimane. In pazienti con ACD cronica grave i trattamenti fototerapici con raggi UVB o terapia PUVA possono rappresentare un valido approccio. Il prossimo traguardo sarà rappresentato dalla disponibilità di formulazioni topiche di molecole ad attività anti-infiammatoria in grado di interferire in maniera specifica con le cellule target ed i meccanismi di traduzione rilevanti nella ACD.

DERMATITE ATOPICA

La dermatite atopica (AD) è una patologia cronica che spesso si manifesta nella prima infanzia, migliora con il progredire degli anni anche se non sono rare le manifestazioni in età adulta con episodi di riacutizzazioni ricorrenti. Comunemente associata con la rinite allergica e l'asma, la dermatite atopica rappresenta l'esito clinico di una risposta Th2 ad una ampia gamma di stimoli ambientali e batterici. Benchè la maggior parte degli individui presenti un quadro clinico di lieve o moderata entità, controllabile con farmaci topici, l'incremento della prevalenza (>10% dei bambini) rende necessaria una migliore comprensione della sua patogenesi e un più efficace approccio terapeutico.

Manifestazioni cliniche

La diagnosi di dermatite atopica è basata su una costellazione di caratteristiche cliniche non necessariamente presenti contestualmente. Queste caratteristiche includono il prurito con sedi tipiche, un decorso cronico con fasi di riacutizzazioni e una storia familiare positiva per atopìa: asma, rinite allergica, congiuntivite e dermatite atopica. Le lesioni acute possono presentarsi inizialmente con un intenso prurito, macule eritematose e papule. In seguito al grattamento delle lesioni primarie, possono apparire le lesioni secondarie con papule escoriate, croste e essudato sieroso.

Nei bambini le lesioni tendono a localizzarsi al viso, al cuoio capelluto e sulla faccia estensoria delle braccia e delle gambe. Nei bambini più grandi, le lesioni tendono a localizzarsi nelle pieghe e alle estremità, talvolta asso-

TABELLA I. Alterazioni immunologiche nella dermatite atopica

Malattia acuta. In confronto ai soggetti normali, incremento di:
IL-13 (dalle cell T e dai mastociti in prossimità delle lesioni)
Cellule Th2 produttrici di IL-4 e IL-5 (nel sangue periferico e nella cute)
IgE sieriche
Eosinofili (nel sangue)
Rilascio spontaneo di istamina dai basofili
IL-10, GM-CSF, PGE2 di produzione macrofagica
Prodotti di derivazione eosinofila
Chemochine (TARC, RANTES, eotassina) (dai cheratinociti e dalle cellule endoteliali)
Malattia cronica. In confronto ai soggetti normali, incremento di:
IL-5 (dalle cellule in prossimità delle lesioni)
IL-12 (dalle cellule dendritiche o dai macrofagi in prossimità delle lesioni)
GM-CSF (dai cheratinociti e verosimilmente anche altre cellule)
INF-gamma (dalle cellule in prossimità delle lesioni)
Macrofagi e cellule Th1 cutanei
Eosinofili cutanei
In confronto ai soggetti normali, diminuzione di:
Cellule Th1 produttrici di INF-gamma (nella malattia acuta)
Linfociti T CD8 citotossici/suppressori
IL-15 (dai cheratinociti e dalle cellule dendritiche)

ciate con intenso prurito e rossore periorbitale (pieghe infraorbitali di Morgan). Sia nei bambini sia negli adulti, la pelle nella dermatite atopica tende ad essere secca, indicando la perdita della funzione cutanea di barriera. La cute atopica mostra anche una maggiore permeabilità agli allergeni e ai microbi. Le lesioni croniche sono caratterizzate da lichenificazione (ispessimento della cute ed accentuazione delle linee). Insieme ad un intenso rossore possono essere presenti noduli pruriginosi, dovuti all'ipertrofia dell'epidermide. Nella forma subacuta, le lesioni possono comprendere eritema, papule con croste che possono suggerire una superinfezione batterica. Il prurito intenso è spesso l'aspetto più problematico della malattia. In effetti, le lesioni conseguenti all'eritema e al grattamento possono residuare in una ulteriore infiammazione della pelle per il rilascio di mediatori pro-infiammatori da parte dei cheratinociti.

La diagnosi di dermatite atopica è basata solitamente sulla storia clinica e sull'esame fisico, mentre l'esame biotico mette spesso in evidenza un infiltrato linfocitico aspecifico nel derma e nell'epidermide. Nella forma acuta nell'infiltrato, il numero di eosinofili, basofili e mastociti non è elevato. Nelle lesioni molto precoci l'infiltrato è infatti rappresentato principalmente da T CD4+ di memoria. L'epidermide può mostrare un edema di modestissima entità, difficilmente rilevabile.

Nelle lesioni croniche, l'epidermide è caratterizzata dalla presenza di moderata o estesa ipoplasia, mentre nel derma è presente un numero consistente di eosinofili e cellule mononucleate. Poiché il quadro istologico non è specifico, l'esame biotico non rientra nella routine diagnostica qualora il quadro clinico sia altamente suggestivo di dermatite atopica. Le biopsie cutanee, possono essere necessarie nelle forme atipiche dell'infanzia o in caso di esordio con lesioni eczematoze nell'adulto. In questi casi, la diagnosi

differenziale deve essere posta nei confronti di gravi patologie sistemiche (sindrome di Wischott-Aldrich, immunodeficienze, deficienze nutrizionali, il linfoma a cellule T e il pemfigo foliaceo) con manifestazioni cliniche in grado di mimare una dermatite atopica.

Fisiopatologia

La dermatite atopica è verosimilmente dovuta ad un'alterata risposta Th2 agli stimoli ambientali.²⁸

Un sommario delle caratteristiche immunologiche è riportato nella tabella I. Nella AD sono presenti livelli ematici elevati di IgE e di eosinofili. Sempre a livello periferico è aumentato il numero di cellule T antigene-specifiche che producono IL-4, IL-5 e IL-13. Oltre alla capacità di promuovere la risposta anticorpale, IL-4 e IL-13 inibiscono anche l'abilità delle cellule T a produrre e rilasciare citochine Th1, tra cui IFN- γ . Infatti le cellule mononucleate dei pazienti con AD hanno una ridotta capacità a produrre citochine Th1. Sulla base dell'osservazione che i pazienti con AD rispondono bene al trattamento con IFN- γ , sembra verosimile che la perdita di IFN- γ rappresenti un fattore patogenetico cruciale.²⁹

Nei soggetti con AD è inibita anche la produzione di IL-15, una citochina Th1 che induce il rilascio di IFN- γ .³⁰ Le cellule APC (cellule dendritiche) nella cute atopica presentano molecole di IgE sulla membrana, facilitando in tal modo la presentazione dell'allergene alle cellule T.

Nelle lesioni delle forme acute, la quantità di cellule T in grado di rilasciare IL-4, IL-5 e IL-13 è elevata mentre le cellule capaci di produrre IFN- γ sono rare. È interessante rilevare che il numero di cellule IFN- γ + incrementa con il progredire della malattia, facendo supporre uno switch verso il fenotipo Th1. Tuttavia non è noto se questo processo rappresenti la progressione della malattia o un tentativo di compensare la risposta immune iniziale.

Una serie di evidenze sperimentali indica che le chemochine (una grande famiglia di piccole citochine chemotattiche e i corrispondenti recettori, costituiti da 7 domini transmembrana associati alla proteina G) giocano un ruolo importante nella chemotassi di specifiche cellule immunocompetenti nella cute dei soggetti con AD, così come in altre patologie infiammatorie cutanee.³¹

Le chemochine che si ritiene inducano la migrazione delle cellule infiammatorie nella cute sono espresse primariamente dai cheratinociti e dalle cellule endoteliali, anche se altre cellule (cellule dendritiche) possono contribuire al loro rilascio, che a sua volta attrae specifici sottoclassi di leucociti.

In base alla distanza tra i residui di cisteina, le chemochine sono distinte in 4 classi, a 2 delle quali (le famiglie CC e CXC) appartengono la maggior parte delle chemochine note. La presenza di IL-4 e di IL-13 nella cute promuove l'espressione di chemochine, alcune delle quali (*eotassina*, *monocyte chemotactic protein-4*, *thymus e activation-regulated chemokine* o *TARC*) sembrano espresse a livelli elevati nella cute atopica.³² TARC, una chemochina che si lega al recettore CCR4, è espressa in maniera significativamente maggiore dai cheratinociti dei soggetti atopici rispetto a quelli dei soggetti psoriasi-

ci. Poiché le cellule endoteliali delle aree coinvolte dalla flogosi esprimono anche TARC, ciò potrebbe stimolare i linfociti CCR4+ ad aderire ai vasi dermici nella cute atopica.

Numerosi studi hanno dimostrato che il legame del recettore delle chemochine aumenta l'adesione delle integrine linfocitarie ai rispettivi ligandi (ICAM-1 e VCAM-1). Il livello sierico di TARC è particolarmente elevato nei soggetti con AD, ma non nei soggetti sani o affetti da psoriasi.³³

È importante notare che il recettore per TARC (CCR4) sembra essere espresso soprattutto dalle cellule Th2 positive anche per CLA, marcatore dell'homing cutaneo delle cellule T.

In corso di AD possono essere espresse altre chemochine, tra cui eotassina e RANTES, che sembrano maggiormente responsabili del richiamo nella cute di cellule Th2, eosinofili e basofili. Inoltre sono state riportate nei bambini con AD mutazioni a carico del promoter di RANTES in grado di aumentarne fino a 8 volte l'espressione.³⁴ Tuttavia, questa up-regolazione del promoter, confermata da altri studi, non sembra associarsi ad una aumentata tendenza verso l'atopia.

IL-16, una citochina prodotta da molte cellule del sistema immune e dalle cellule epiteliali, è un potente chemotatticante nei confronti dei T CD4+ e appare essere iperespresso nella cute sia nelle forme acute sia in quelle croniche di AD. Altri difetti biochimici in questi pazienti sono rappresentati da un'aumentata espressione di cAMP-fosfodiesterasi (PDE) nelle cellule immunocompetenti, responsabile dell'elevata produzione di PDE₂ e IL-10 da parte dei monociti ed eventualmente infine alterata produzione di IFN- γ .

Ruolo degli allergeni nella AD

Il cibo è una potenziale fonte di allergeni nelle AD ed è noto che alcuni pazienti presentino eruzioni cutanee dopo l'ingestione di alcuni alimenti, in particolare arachidi, uova, soia e grano.

I prick tests sono caratterizzati da elevata sensibilità nell'identificazione degli allergeni alimentari e l'uso combinato di questo test con la valutazione dei livelli sierici di IgE specifiche può aiutare nella identificazione (e la successiva eliminazione) degli allergeni alimentari.³⁵

Sebbene alcuni dati suggeriscano che le diete di azione possano rappresentare un aiuto per i bambini con AD, i benefici di questi regimi alimentari nei bambini più grandi e negli adulti sono controversi.

Anche gli allergeni inalati come polline di ambrosia o graminacee, acari della polvere e pelo di cavallo possono giocare un significativo ruolo patogenetico nella AD. Infatti, 27 su 30 bambini con AD hanno patch-test positivi anche con un mix di aeroallergeni, con conseguente comparsa di lesioni eczematoze.³⁶

I microbi, particolarmente lo *Stafilococco Aureo*, possono giocare un ruolo significativo nella patogenesi della AD.³⁷ La pelle nella AD è frequentemente colonizzata da *S.Aureus*. Ciò è possibile perché *S.Aureus* esprime una proteina in grado di legare la fibronectina, espressa in modo anormale nello stato corneo della cute atopica.³⁸

Le esotossine dello Stafilococco (SE-A, SE-B, TSST-1) rappresentano una famiglia di superantigeni che facilitano il legame tra le molecole MHC di classe II e i recettori delle cellule T, senza utilizzare la classica conformazione del sito del peptide. Le tossine dello stafilococco possono attivare le cellule di Langerhans e i macrofagi portando alla produzione dei mediatori infiammatori dei cheratinociti (IL-1 e TNF- α). Queste citochine permettono la iper-espressione di un'ampia varietà di recettori di adesione sulle cellule endoteliali e di chemochine, che a loro volta richiamano le cellule T dal circolo ematico. Un altro recettore di adesione, specifico per le cellule endoteliali cutanee, è E-selettina, una proteina in grado di legare l'epitopo glicidico di CLA+, presente sulle cellule di memoria con homing cutaneo. Nei pazienti con AD le cellule T, antigene-specifiche, CLA+, ma non quelle CLA-, sono in grado di produrre elevate quantità di citochine Th2.

I pazienti affetti da AD spesso producono anticorpi IgE diretti verso gli antigeni stafilococcici SE.

Il successivo legame delle IgE SE-specifiche ai basofili provoca la liberazione di istamina e può quindi indurre il prurito. Allo stesso modo, le IgE specifiche per alcuni miceti cutanei (*P. Ovale*) e dermatofiti (*T. Rubrum*) possono attivare la risposta immune in corso di AD.

Trattamento

Quattro eventi devono realizzarsi affinché la terapia della AD abbia successo: riduzione del prurito, ricostituzione della barriera cutanea, eliminazione dei fattori ambientali scatenanti, controllo della flogosi.³⁹ Doxepin idrocloridico è in grado di bloccare entrambi i recettori dell'istamina (H1 e H2), è indicato nelle forme più severe di prurito ed è anche in grado di indurre sedazione (utile nell'insonnia secondaria da prurito). La secchezza cutanea può essere attenuata da semplici norme comportamentali (riduzione della temperatura dell'acqua della doccia, utilizzo di saponi non aggressivi, applicazione abbondante di emollienti), che mirano complessivamente alla ricostituzione della barriera cutanea.

I corticosteroidi topici sono tuttora i principali farmaci per il trattamento di AD.

Nelle forme moderate e severe, si dovrebbe far ricorso a corticosteroidi sotto forma di unguento (ad es. triamcinolone acetamide 0,1%) o a più elevata potenza (es. fluocinonide 0,05%) che permettono una rapida risoluzione dei sintomi, piuttosto che tentare approcci più "soft" ma sicuramente inefficaci. Tacrolimus⁴⁰ e Pimecrolimus si legano alla proteina legante FK506 e bloccano l'attività delle cellule T tramite l'inibizione della trascrizione, calcineurina-dipendente, di geni, tra cui quello codificante per IL-2. Il costo economico di questi nuovi farmaci è sicuramente elevato, ma si tratta di molecole efficaci nel trattamento della AD, senza gli stessi effetti collaterali dei corticosteroidi.

Il controllo della colonizzazione batterica (ad es. *S. aureus*) mediante antibiotici locali o brevi cicli di antibiotici per via orale, è utile soprattutto nei pazienti in cui sono predominanti le lesioni essudative e crostose.

Per quanto riguarda il trattamento delle forme più severe, si dispone attualmente di una vasta gamma di approc-

ci terapeutici. La fototerapia con UVB (311 nm)⁴¹ e la PUVA terapia (psoralene più UVA) inducono immunosoppressione attraverso l'induzione dell'apoptosi delle cellule APC cutanee e della produzione di IL-10 nei cheratinociti. Si è fatto ricorso anche all'immunosoppressione sistemica (methotrexate, azatioprina, ciclosporina, mofetil micofenolato, immunoglobuline ad alte dosi⁴²), sebbene l'utilizzo degli immunosoppressivi sistemici dovrebbe essere riservato alle forme recedenti e non-responsive alle altre terapie, alla luce dei loro gravi potenziali effetti collaterali.

La comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della patogenesi della AD ha condotto allo sviluppo di molecole utili per i pazienti atopici. Gli inibitori della PDE⁴³, come il RO 20-1724, potrebbero ridurre l'espressione di IL-10 e quindi spostare la risposta immune verso il tipo Th1.

Attualmente la formulazione topica degli inibitori della PDE sembra avere una buona efficacia terapeutica. Il trattamento con IFN- γ (citochina Th1) sembra essere efficace, anche nei confronti degli altri sintomi dell'atopia e privo di effetti collaterali pur nelle terapie a lungo termine (fino a 2 anni) con somministrazione giornaliera.²⁹ Probabilmente i farmaci più interessanti sono quelli il cui target specifico è rappresentato proprio dai mediatori della risposta immune Th2 (IL-4, IL-5, IgE). Questi agenti sono già in fase di sviluppo e sembrano efficaci nei modelli sperimentali preclinici.

In futuro, un ulteriore strumento terapeutico potrà essere costituito dai farmaci in grado di interferire direttamente con le chemochine che richiamano gli eosinofili e le cellule Th2.

ORTICARIA

Manifestazioni cliniche

L'orticaria è caratterizzata dalla presenza di aree circoscritte di edema transitorio con interessamento cutaneo e mucoso. Le lesioni che interessano il derma superficiale sono dette "pomfi". I pomfi sono solitamente ovali e danno prurito. Inizialmente i pomfi presentano una parte centrale pallida circondata da un anello eritematoso. Le lesioni di più vecchia data sono invece uniformemente rosa. I pomfi si risolvono completamente nel giro di 24 ore. La permanenza delle lesioni per un periodo maggiore dovrebbe far sospettare una vasculite con lesioni orticarioidi (vasculite orticariosa). Un edema transitorio localizzato con interessamento a tutto spessore della cute o delle mucose è tipico dell'angioedema, caratterizzato da lesioni dolorose più che pruriginose. Il termine orticaria cronica si riferisce ad un quadro clinico in cui gli episodi di orticaria si ripetono almeno due volte a settimana per almeno sei settimane.

Valutazione clinica e patogenesi

L'orticaria è dovuta alla degranolazione mastocitaria nella cute. Molti fattori possono indurre la degranolazione mastocitaria e quindi l'inizio delle manifestazioni cli-

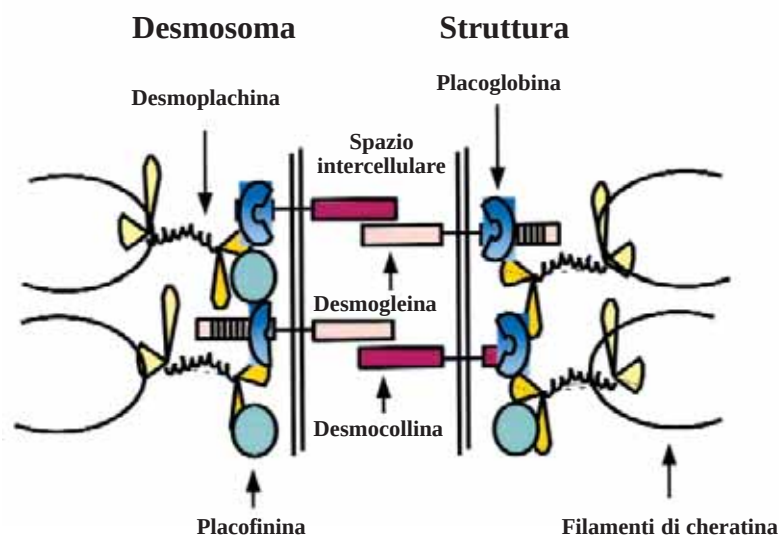


FIG 2. Struttura del desmosoma. Adattato da una figura fornita da Dr. Kathleen Green (Northwestern University Medical School) con autorizzazione.

niche dell'orticaria. È possibile infatti identificare tra i fattori scatenanti quelli fisici (caldo, freddo, raggi solari, pressione, stress), iatrogeni (aspirina, anti-infiammatori non steroidei, codeina, morfina, mezzi di contrasto, progesterone, penicillina, ACE-inibitori), infettivi (*Helicobacter Pylori*, parassiti, candida), alimentari (arachidi, crostacei, additivi) e le malattie croniche infiammatorie, autoimmuni o sistemiche (gastriti, malattie tiroidee, deficienza dell'inibitore della C1-esterasi).⁴²

La valutazione dei pazienti con orticaria comincia con la storia personale, focalizzando l'attenzione sui potenziali fattori scatenanti. Generalmente per i pazienti con orticaria acuta non sono necessari esami di laboratorio. Nel caso dell'orticaria cronica, si dovrebbe comunque limitare il ricorso a test di laboratorio per la valutazione degli agenti causanti o scatenanti le manifestazioni cliniche, focalizzando lo studio a quegli agenti che non possono emergere dalla semplice anamnesi personale e dall'esame obiettivo (ad es. valutazione del profilo tiroideo o radiografia dei seni paranasali, solo in caso di sospetto). Nel 30-50% dei pazienti con orticaria cronica ad eziologia incerta sono stati descritti auto-anticorpi diretti verso la subunità α ad alta affinità del recettore per le IgE (Fc ϵ RI α).⁴⁵⁻⁴⁸ Questi auto-anticorpi appartengono alle classi IgG 1 e IgG 3, fissano il complemento e inducono il rilascio di istamina da parte dei basofili e dalle cellule mastocitarie che esprimono Fc ϵ RI α . Gli autoanticorpi anti-recettore per le IgE sono presenti anche in soggetti affetti da pemfigo volgare, dermatomiositi e lupus eritematoso. In quest'ultimo caso gli autoanticorpi sono IgG 2 o IgG 4, non fissano il complemento nè inducono il rilascio di istamina da parte dei basofili e dei mastociti.⁴⁸ Il test in vivo per la dimostrazione degli auto-anticorpi anti-recettore per le IgE è noto come "test cutaneo con siero autologo". In questo test, si valuta la formazione, entro 30 minuti, di un pomfo nel sito di iniezione intradermica di siero autologo contenente autoanticorpi "funzionali" anti-Fc ϵ RI α .^{45,46}

La sensibilità e la specificità di questo test sono rispettivamente pari al 70% e 80%. Ciò significa che soltanto il 70% dei pazienti con autoanticorpi anti-Fc ϵ RI α (valutati mediante Western Blot o ELISA) avrà un "test cutaneo con siero autologo" positivo, mentre il 20% dei soggetti senza auto-anticorpi anti-Fc ϵ RI α risulterà comunque positivo a questo test. Sebbene i pazienti con autoanticorpi anti-Fc ϵ RI α tendano ad avere quadri più severi di orticaria, mancano specifiche indicazioni per poter identificare in questo gruppo di pazienti un unico agente causale o scatenante.

Indipendentemente dalla causa, il quadro istologico è molto omogeneo. L'epidermide e gli strati intermedio e superiore del derma presentano edema, con dilatazione delle venule post-capillari e dei linfatici. In base all'età della lesione, l'infiltrato infiammatorio misto è caratterizzato dalla presenza più o meno significativa di neutrofili, eosinofili, macrofagi, cellule T e mastociti. Al momento non è ancora chiaro se nei pomfi il numero assoluto dei mastociti sia aumentato o se essi siano semplicemente più sensibili alla degranulazione. L'istamina rappresenta il mediatore pre-formato più importante rilasciato dai mastociti ed è responsabile di molte delle modificazioni tissutali in corso di orticaria. I leucotrieni, le prostaglandine, il fattore attivante le piastrine e il TNF- α , sintetizzati dai mastociti, possono contribuire agli eventi tardivi nell'evoluzione naturale di un pomfo.

Trattamento

L'anamnesi personale e l'esame obiettivo permettono di identificare la causa o gli eventi scatenanti responsabili dell'orticaria. In quest'ottica i fattori fisici responsabili, o ritenuti tali, dell'orticaria dovrebbero essere identificati e quindi evitati; allo stesso modo i farmaci e gli alimenti potenzialmente in grado di scatenare l'orticaria dovrebbero essere eliminati dalla dieta e le infezioni croniche trattate.

Nei casi in cui le manifestazioni cliniche persistano nonostante l'eliminazione dei fattori scatenanti, il trattamento farmacologico di prima scelta è rappresentato dagli antistaminici non-sedativi,⁴⁴ tra cui cetirizina, fexofenadina, loratadina, desloratadina. Nelle forme non-responsive, è necessario aggiungere antistaminici sedativi la sera o H2-antagonisti.

Gli immunodepressori ad elevata potenza, come corticosteroidi e ciclosporina, dovrebbero essere riservati solo ai casi più severi di orticaria, ma non in modo cronico. Ultimamente, la plasmateresi e la terapia con immunoglobuline e.v. si sono dimostrati efficaci nei pazienti con autoanticorpi anti-Fc ϵ RI α , sebbene in entrambi i casi l'esperienza clinica e la casistica siano limitate.

MALATTIE BOLLOSE DELL'EPIDERMIDE (PEMFIGO)

Le malattie bollose cutanee sono molto meno comuni dei disordini cutanei discussi sin ad ora, ma la loro rilevanza clinica in termini di morbidità e, a volte, di mortalità è notevole. Inoltre, lo studio delle malattie bollose epidermiche ha permesso di migliorare la conoscenza delle basi molecolari dell'adesione intercellulare e tra cellula e matrice.^{49,50} Nella maggior parte dei casi le molecole di adesione rappresentano le proteine riconosciute dagli anticorpi nei pazienti con malattie bollose. In alcuni casi le mutazioni a carico dei geni codificanti per le stesse proteine danno luogo, da un punto di vista clinico, agli stessi difetti. La separazione intraepidermica è determinata dalla perdita dell'adesione, mediata dai desmosomi, tra cheratinociti (acantolisi) e dà luogo alla formazione di vescicole, tipiche dei pazienti con pemfigo.^{51,52} La disfunzione dei desmosomi è causata, almeno in parte, da autoanticorpi circolanti rivolti verso le caderine desmosomiali, dette desmogleine (Fig. 2). Meritano di essere discussi tre tipi di pemfigo.

Pemfigo volgare

Il pemfigo volgare (PV) può insorgere a qualsiasi età, ma è più frequente nei soggetti di mezza età.⁵¹

Le erosioni orali persistenti e dolorose sono di comune riscontro e solitamente sono il disturbo d'esordio del PV. Pertanto la diagnosi di pemfigo volgare dovrebbe essere presa in considerazione in caso di ulcerazioni orali croniche. Le erosioni possono interessare anche altri epiteli squamosi stratificati (nasofaringeo, laringeo, esofago, vaginale, rettale) e possono causare una morbidità significativa. Le classiche lesioni cutanee del pemfigo volgare sono bolle flaccide senza eritema circostante. Le lesioni del capo sono frequenti e quelle a livello del tronco sono comuni. Le erosioni si sviluppano col progredire nel tempo della lesione. Le lesioni vegetative non hanno necessariamente una componente bollosa, ma possono svilupparsi nelle aree intertriginose.

I pazienti con pemfigo volgare hanno autoanticorpi circolanti, ma presenti anche in situ, in grado di legarsi alla superficie dei cheratinociti; essi sono coinvolti nella patogenesi del PV. L'attività della malattia correla con il titolo

anticorpale. Inoltre, le lesioni possono essere presenti transitoriamente nei neonati (nati da madri con PV) in seguito al passaggio materno-fetale di IgG. Infine, nel modello murino l'inoculo in età neonatale della frazione IgG del siero di PV determina la comparsa di tipiche lesioni da PV. La Desmogleina 3 (Dsg3), una caderina desmosomiale di 130 kDa, è la proteina verso cui, nella maggior parte dei casi, sono diretti gli autoanticorpi. È stato inoltre suggerito che autoanticorpi diretti verso proteine superficiali non desmosomiali dei cheratinociti potrebbero essere coinvolti nella patogenesi della malattia.⁵³ La loro identificazione e caratterizzazione è tuttora in corso.

D'altra parte gli anticorpi diretti verso un'altra caderina desmosomiale, la Desmogleina 1 (Dsg1), hanno sicuramente un ruolo patogenetico (vedi sotto).

Nelle fasi iniziali della malattia, caratterizzate da un interessamento esclusivamente mucoso, sono presenti in circolo solo gli anticorpi anti-Dsg3. Nelle fasi successive, quando anche la cute viene interessata, compaiono gli anticorpi, non cross-reattivi, anti-Dsg1. La comparsa di lesioni cutanee in concomitanza con la "espansione degli epitopi" riflette la differente e specifica espressione delle Dsg1 e 3 da parte dei cheratinociti dei diversi epiteli squamosi stratificati. Tale fenomeno rientra nella cosiddetta "ipotesi della compensazione delle desmogleine".⁵⁴ Gli studi attuali indicano che Dsg3 è l'antigene dominante nel PV e che gli anticorpi anti-Dsg3, bloccando la funzione della Dsg3 o down-modulandone l'espressione, determinano la formazione delle lesioni. Nel modello murino la presenza del complemento non è necessaria e i frammenti FAB possono indurre lesioni. Inoltre il topo knockout per Dsg3 presenta manifestazioni prevalentemente a livello mucoso, come nelle fasi iniziali del PV.⁵⁵ Sebbene i meccanismi patogenetici responsabili della formazione delle lesioni siano noti, l'eziologia della malattia è poco conosciuta. La frequenza del PV è molto elevata tra gli Ebrei e tra le popolazioni del Mediterraneo. In questi gruppi la frequenza degli alleli HLADRB1*0402 e HLADQB1*0503 è elevata. I peptidi Dsg3 potenzialmente in grado di legare i prodotti proteici di HLADRB1*0402 possono attivare i linfociti T HLADRB1*0402+ dei pazienti con PV. Ciò suggerisce che il PV, come altre malattie autoimmuni anticorpo-mediate, sia dovuta ad una stimolazione anormale dei linfociti T e forse dei linfociti B. Sicuramente la possibilità di disporre di un modello murino di PV basato sull'immunizzazione attiva potrà permettere una migliore comprensione dell'eziologia del pemfigo stesso.⁵⁶ La diagnosi di PV è generalmente semplice. Abitualmente il quadro istologico presenta acantolisi soprabasale. L'infiltrato infiammatorio è spesso presente ed è prevalentemente costituito da eosinofili. Nella cute perilesionale sono presenti anticorpi anti-cheratinociti. Autoanticorpi circolanti sono d'altra parte dimostrabili mediante immunofluorescenza indiretta, usando come substrato di scimmia o mediante ELISA.⁵⁷ Prima dell'avvento dei corticosteroidi, l'esito del PV era nella maggior parte dei casi infausto. Le erosioni progressive e non trattabili delle mucose compromettono la capacità d'assorbimento orale e le estese lesioni della pelle predispongono alle sovrainfezioni batteriche. Oggi

è più probabile che i pazienti vadano incontro ad eventi gravi per la loro vita in seguito al trattamento piuttosto che a causa della malattia stessa. I corticosteroidi restano il trattamento d'elezione. Dosi elevate possono essere necessarie per il controllo iniziale del quadro clinico e i miglioramenti generalmente si verificano prima che il titolo anticorpale diminuisca. La maggior parte dei clinici concorda sul fatto che gli steroidi siano fondamentali nel trattamento a lungo termine dei pazienti con PV.

Azatioprina e ciclofosfamide sono stati ampiamente usati. La plasmateresi in associazione a questi due farmaci si è rivelata molto efficace nei casi molto gravi di PV. Recentemente si è molto diffuso l'uso di mofetil micofenolato. Buoni risultati sono stati riportati anche per il trattamento con boli corticosteroidi o ciclofosfamide o dapsona. Negli ultimi anni si è fatto ricorso anche alla terapia e.v. con immunoglobuline. In assenza di trial terapeutici controllati l'approccio ai pazienti con PV dovrebbe prevedere l'impiego di farmaci in grado di ridurre al minimo l'attività della malattia, con il numero minore possibile di effetti tossici collaterali.

Pemfigo foliaceo

Il pemfigo foliaceo (PF) è un'altra malattia bollosa della cute causata da anticorpi anti-desmogleina, ma in questo caso la caderina desmosomiale Dsg1 di 160 kDa è l'antigene verso cui sono rivolti gli autoanticorpi.^{49,50} Nei pazienti con PF manca l'interessamento mucoso e la diagnosi differenziale nei confronti del PV è usualmente agevole. Le lesioni del PF sono caratterizzate da eritema, placche rilevate o erosioni molto superficiali con localizzazione al tronco o al viso. Le bolle intatte sono visibili solo raramente. Quando il PF è esteso può causare una esfoliazione eritrodermica difficilmente distinguibile da quella causata da malattie estese papulosquamose. La morbilità del PF è considerevolmente minore rispetto a quella del PV, ad eccezione di alcune categorie a rischio, come i soggetti anziani con altre patologie concomitanti. Le lesioni del PF sono causate dagli anticorpi anti-Dsg1. In maniera analoga a quanto avviene nel PV con gli anticorpi anti-Dsg3, gli anticorpi anti-Dsg1 possono causare lesioni PF o bloccando la funzione di Dsg1 o riducendone l'espressione. Tale ipotesi è supportata dai recenti studi sulla patogenesi della "sindrome cutanea da stafilococco" (SSSS) e sull'impetigine bollosa. Le tossine esfolianti purificate A e B sono proteasi in grado di degradare Dsg1 ma non Dsg3.^{58,59} Inoltre, l'esame istologico delle biopsie di lesioni di PF e SSSS/impetigine bollosa mette in evidenza un distacco subcorneale indipendentemente dalla patologia sottostante. Complessivamente queste osservazioni, oltre a confermare che Dsg1 è la proteina riconosciuta dagli autoanticorpi del PF, rendono ragione anche dell'efficacia del trattamento antibiotico. La causa del PF sporadico è sconosciuta. Negli Stati Uniti e in Europa, l'esordio è nella maggior parte dei casi in età adulta. L'incidenza non è maggiore nella popolazione ebraica ma nel suo interno vi è una particolare ricorrenza degli aplotipi HLADRB1 0404, 1402, 1406. È stata riportata una forma endemica di PF in Brasile. I bambini e gli adulti sono suscettibili e non vi è una chia-

ra predisposizione genetica. Il PF endemico e il PF sporadico sono indistinguibili dal punto di vista clinico, istologico e immunochimico. In Brasile la malattia è molto comune nelle vallate rurali vicino ai fiumi dove vive un particolare insetto (*simulium nigrimanum*) che, in base a diversi studi epidemiologici, potrebbe essere il vettore.⁶⁰ L'insetto potrebbe iniziare un'infezione su cui, in individui suscettibili, si svilupperebbe il PF. Una migliore comprensione delle cause del PF endemico potrà portare anche alla definizione dell'eziologia della forma sporadica.

Analogamente a quanto avviene nel caso del PV, la diagnosi del PF si basa su criteri clinici, istologici e immunochimici. L'esame istologico mette in evidenza un distacco immediatamente sotto lo strato corneo, che può essere perso nei campioni biotici. L'infiltrato infiammatorio è di entità variabile, ma può essere scarso. I sieri dei pazienti con PV o PF danno analoghi quadri in immunofluorescenza diretta e indiretta. L'immunoreattività nel PF e nel PV può essere differenziata solo mediante immunoprecipitazione o ELISA, utilizzando gli antigeni ricombinati Dsg1 e Dsg3.⁵⁷

Nei casi di PF di moderata estensione possono essere utilizzati gli steroidi topici fluorinati. Le forme più estese richiedono un trattamento sistemico con gli stessi farmaci impiegati nel PV. Il dapsona sembra molto più efficace nel PF che nel PV. Altrettanto utile può risultare la terapia combinata con antibiotici in grado di eradicare l'infezione da *S. Aureus*. Considerato il decorso benigno della patologia si dovrebbe far ricorso con estrema cautela a regimi di terapia con più immunosoppressori, dato il loro elevato potenziale tossico.

Pemfigo paraneoplastico

Il pemfigo paraneoplastico (PNP) è una rara malattia frequentemente devastante.^{51,60} Nei pazienti con neoplasia sospetta o accertata (solitamente linforeticolare) si presenta con erosioni mucose e lesioni polimorfiche della cute. Data la resistenza alla terapia, nella maggior parte dei casi la morte sopraggiunge per la neoplasia primaria o per la bronchiolite obliterante conseguente all'interessamento dell'epitelio respiratorio da parte del PNP. Il riscontro di PNP in un bambino dovrebbe far nascere il sospetto di una neoplasia. In alcuni casi di PNP associato a malattia di Castleman, la resezione del tumore ha portato alla completa remissione della malattia.

L'insieme dei dati clinici nel PNP permette di porre diagnosi. L'esame istologico evidenzia un intenso infiltrato linfocitico. L'immunofluorescenza diretta permette la dimostrazione di anticorpi sulla superficie dei cheratinociti e di depositi di C3 sulla membrana basale. Gli anticorpi presenti nel siero dei pazienti con PNP sono specifici per Dsg3 e per alcune plachine, componenti della famiglia delle proteine intracellulari della placca desmosomiale (Fig. 2).⁶² Nei modelli murini di trasferimento passivo, gli anticorpi anti-Dsg3 derivati da soggetti con PNP causano la formazione di bolle nei topi neonati.⁶³ Tuttavia il contributo allo sviluppo del PNP da parte degli anticorpi anti-plachine deve essere ancora del tutto chiarito. Gli anticorpi in grado di legare componenti dell'epitelio respiratorio sono stati identificati nel siero dei

soggetti con PNP e potrebbero contribuire allo sviluppo della bronchiolite obliterante.

L'eziologia del PNP è sconosciuta e i meccanismi responsabili della generazione di anticorpi non cross-reattivi in grado di legare le plachine, sequestrandole in una singola struttura nei cheratinociti (desmosomi), sono ancora da chiarire.⁶⁴ L'apparente relazione tra l'eradicazione della malattia di Castleman e la remissione del PNP in gruppi selezionati di pazienti suggerisce che uno o più derivati solubili del tumore siano coinvolti nell'induzione e nel mantenimento della malattia.

Il PNP viene trattato con gli stessi agenti immunosoppressori utilizzati nel PV. I pazienti con PNP abitualmente non rispondono bene alla terapia.

BIBLIOGRAFIA

- Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985;133:450-6.
- Farber EM, Nall ML, Watson W. Natural history of psoriasis in 61 twin pairs. *Arch Dermatol* 1974;109:207-11.
- Elder JT, Nair RP, Henseler T, Jenisch S, Stuart P, Chia N, et al. The genetics of psoriasis 2001: the odyssey continues. *Arch Dermatol* 2001;137:1447-54.
- Piepkorn M, Pittelkow MR, Cook PW. Autocrine regulation of keratinocytes: the emerging role of heparin-binding, epidermal growth factor-related growth factors. *J Invest Dermatol* 1998;111:715-21.
- Ferenczi K, Burack L, Pope M, Krueger JG, Austin LM. CD69, HLA-DR and the IL-2R identify persistently activated T cells in psoriasis vulgaris lesional skin: blood and skin comparisons by flow cytometry. *J Autoimmun* 2000;14:63-78.
- Uyemura K, Yamamura M, Fivenson DF, Modlin RL, Nickoloff BJ. The cytokine network in lesional and lesion-free psoriatic skin is characterized by a T-helper type 1 cell-mediated response. *J Invest Dermatol* 1993;101:701-5.
- Schlaak JF, Buslau M, Jochum W, Hermann E, Girndt M, Gallati H, et al. T cells involved in psoriasis vulgaris belong to the Th1 subset. *J Invest Dermatol* 1994;102:145-9.
- Austin LM, Ozawa M, Kikuchi T, Walters IB, Krueger JG. The majority of epidermal T cells in Psoriasis vulgaris lesions can produce type 1 cytokines, interferon-gamma, interleukin-2, and tumor necrosis factor-alpha, defining TC1 (cytotoxic T lymphocyte) and Th1 effector populations: a type 1 differentiation bias is also measured in circulating blood T cells in psoriatic patients. *J Invest Dermatol* 1999;113:752-9.
- Asadullah K, Sterry W, Stephanek K, Jasulaitis D, Leupold M, Audring H, et al. IL-10 is a key cytokine in psoriasis. Proof of principle by IL-10 therapy: a new therapeutic approach. *J Clin Invest* 1998;101:783-94.
- Rottman JB, Smith TL, Ganley KG, Kikuchi T, Krueger JG. Potential role of the chemokine receptors CXCR3, CCR4, and the integrin alphaEbeta7 in the pathogenesis of psoriasis vulgaris. *Lab Invest* 2001;81:335-47.
- Ellis CN, Gorsulowsky DC, Hamilton TA, Billings JK, Brown MD, Headington JT, et al. Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. *JAMA* 1986;256:3110-6.
- Gottlieb SL, Gilleaudeau P, Johnson R, Estes L, Woodworth TG, Gottlieb AB, et al. Response of psoriasis to a lymphocyte-selective toxin (DAB389IL-2) suggests a primary immune, but not keratinocyte, pathogenic basis. *Nat Med* 1995;1:442-7.
- Abrams JR, Lebwohl MG, Guzzo CA, Jegasothy BV, Goldfarb MT, Goffe BS, et al. CTLA4lg-mediated blockade of T-cell costimulation in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Invest* 1999;103:1243-52.
- Krueger JG, Walters IB, Miyazawa M, Gilleaudeau P, Hakimi J, Light S, et al. Successful in vivo blockade of CD25 (high-affinity interleukin 2 receptor) on T cells by administration of humanized anti-Tac antibody to patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2000;43:448-58.
- Gottlieb AB, Lebwohl M, Shirin S, Sherr A, Gilleaudeau P, Singer G, et al. Anti-CD4 monoclonal antibody treatment of moderate to severe psoriasis vulgaris: results of a pilot, multicenter, multiple-dose, placebo-controlled study. *J Am Acad Dermatol* 2000;43:595-604.
- Ellis CN, Krueger GG. Treatment of chronic plaque psoriasis by selective targeting of memory effector T lymphocytes. *N Engl J Med* 2001;345:248-55.
- Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB. Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomised trial. *Lancet* 2001;357:1842-7.
- Mease PJ, Goffe BS, Metz J, VanderStoep A, Finck B, Burge DJ. Etanercept in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis: a randomised trial. *Lancet* 2000;356:385-90.
- Kimball AB, Kawamura T, Tejura K, Boss C, Hancox AR, Vogel JC, et al. Clinical and immunologic assessment of patients with psoriasis in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial using recombinant human interleukin 10. *Arch Dermatol* 2002;138:1341-6.
- Trepicchio WL, Ozawa M, Walters IB, Kikuchi T, Gilleaudeau P, Bliss JL, et al. Interleukin-11 therapy selectively downregulates type I cytokine proinflammatory pathways in psoriasis lesions. *J Clin Invest* 1999;104:1527-37.
- Krueger J, Gottlieb A, Miller B, Dedrick R, Garovoy M, Walicke P. Anti-CD11a treatment for psoriasis concurrently increases circulating T- cells and decreases plaque T-cells, consistent with inhibition of cutaneous T-cell trafficking. *J Invest Dermatol* 2000;11:333.
- Gottlieb AB, Krueger JG, Wittkowski K, Dedrick R, Walicke PA, Garovoy M. Psoriasis as a model for T-cell-mediated disease: immunobiologic and clinical effects of treatment with multiple doses of efalizumab, an anti-CD11a antibody. *Arch Dermatol* 2002;138:591-600.
- Rietschel RL, Fowler JF, editors. *Fisher's Contact Dermatitis*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 862.
- Girolomoni G, Sebastiani S, Albanesi C, Cavani A. T-cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy. *Curr Opin Immunol* 2002;13:733-7.
- Gorbachev AV, Fairchild RL. Induction and regulation of T-cell priming for contact sensitivity. *Crit Rev Immunol* 2001;21:415-72.
- Marks JG, Belsito DV, DeLeo VA, Fowler JF, Fransway AF, Maibach HI. North American Contact Dermatitis Group patch-test results. *Arch Dermatol* 2000;136:272-3.
- English J. Current concepts in contact dermatitis. *Br J Dermatol* 2001;145:527-9.
- Leung DY, Soter NA. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001;44(1 Suppl):S1-S12.
- Stevens SR, Hanifin JM, Hamilton T, Tofte SJ, Cooper KD. Long-term effectiveness and safety of recombinant human interferon gamma therapy for atopic dermatitis despite unchanged serum IgE levels. *Arch Dermatol* 1998;134:799-804.

30. Ong PY, Hamid QA, Travers JB, Strickland I, Al Kerithy M, Boguniewicz M, et al. Decreased IL-15 may contribute to elevated IgE and acute inflammation in atopic dermatitis. *J Immunol* 2002;168:505-10.
31. Locati M, Murphy PM. Chemokines and chemokine receptors: biology and clinical relevance in inflammation and AIDS. *Annu Rev Med* 1999;50:425-40.
32. Vestergaard C, Bang K, Gesser B, Yoneyama H, Matsushima K, Larsen CG, et al. A Th2 chemokine, TARC, produced by keratinocytes may recruit CLA+CCR4+ lymphocytes into lesional atopic dermatitis skin. *J Invest Dermatol* 2000;115:640-6.
33. Kakinuma T, Nakamura K, Wakugawa M, et al. Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis: serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:535-41.
34. Nickel RG, Casolaro V, Wahn U, Beyer K, Barnes KC, Plunkett BS, et al. Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES. *J Immunol* 2000;164:1612-6.
35. Eigenmann PA, Calza AM. Diagnosis of IgE-mediated food allergy among Swiss children with atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2000;11:95-100.
36. Wananukul S, Huiprasert P, Pongprasit P. Eczematous skin reaction from patch testing with aeroallergens in atopic children with and without atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol* 1993;10:209-13.
37. Breuer K, Kapp A, Werfel T. Bacterial infections and atopic dermatitis. *Allergy* 2001;56:1034-41.
38. Cho SH, Strickland I, Boguniewicz M, Leung DY. Fibronectin and fibrinogen contribute to the enhanced binding of *Staphylococcus aureus* to atopic skin. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:269-74.
39. Tofte SJ, Hanifin JM. Current management and therapy of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001;44(1 Suppl):S13-6.
40. Paller A, Eichenfield LF, Leung DY, Stewart D, Appell M. A 12-week study of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in pediatric patients. *J Am Acad Dermatol* 2001;44(1 Suppl):S47-57.
41. Reynolds NJ, Franklin V, Gray JC, Diffey BL, Farr PM. Narrow-band ultraviolet B and broad-band ultraviolet A phototherapy in adult atopic eczema: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001;357:2012-6.
42. Jolles S. A review of high-dose intravenous immunoglobulin treatment for atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 2002;27:3-7.
43. Hanifin JM, Chan SC, Cheng JB, Tofte SJ, Henderson WR Jr, Kirby DS, et al. Type 4 phosphodiesterase inhibitors have clinical and in vitro anti-inflammatory effects in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 1996;107:51-6.
44. Grattan CE, Sabroe RA, Greaves MW. Chronic urticaria. *J Am Acad Dermatol* 2002;46:645-57.
45. Grattan CE, Wallington TB, Warin RP, Kennedy CT, Bradfield JW. A serological mediator in chronic idiopathic urticaria—a clinical, immunological and histological evaluation. *Br J Dermatol* 1986;114:583-90.
46. Hide M, Francis DM, Grattan CE, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N Engl J Med* 1993;328:1599-604.
47. Fiebiger E, Maurer D, Holub H, Reininger B, Hartmann G, Woisetschlager M, et al. Serum IgG autoantibodies directed against the alpha chain of Fc epsilon RI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J Clin Invest* 1995;96:2606-12.
48. Fiebiger E, Hammerschmid F, Stingl G, Maurer D. Anti-Fc epsilon RI alpha autoantibodies in autoimmune-mediated disorders. Identification of a structure-function relationship. *J Clin Invest* 1998;101:243-51.
49. Diaz L, Giudice GJ. End of the century overview of blisters. *Arch Dermatol* 2000;136:106-12.
50. Green KJ, Gaudry CA. Are desmosomes more than tethers for intermediate filaments? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:208-16.
51. Stanley JR. Pemphigus. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB. *Dermatology in General Medicine*, 5th ed. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 654-66.
52. Anhalt GJ, Diaz, LA. Research advances in pemphigus. *JAMA* 2001;285:652-4.
53. Nguyen VT, Ndoie A, Shultz LD, Pittelkow MR, Grando SA. Antibodies against keratinocyte antigens other than desmogleins 1 and 2 can induce pemphigus vulgaris-like lesions. *J Clin Invest* 2000;106:1467-79.
54. Udey MC, Stanley JR. Pemphigus-diseases of antidesmosomal autoimmunity. *JAMA* 1999;282:572-6.
55. Koch PJ, Mahoney MG, Ishikawa H, Pulkkinen L, Uitto J, Murphy GF, Whitaker-Menezes D, Stanley JR. Targeted disruption of the pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) gene in mice causes loss of keratinocyte cell adhesion with a phenotype similar to pemphigus vulgaris. *J Cell Biol* 1997;137:1091-102.
56. Tsundo K, Ota T, Ohyama M, Nagai T, Nishikawa T, Amagai M, et al. Pathogenic autoantibody production requires loss of tolerance against desmoglein 3 in both T and B cells in experimental pemphigus vulgaris. *Eur J Immunol* 2002;32:627-33.
57. Amagai M, Komai A, Hashimoto T, Shirakata Y, Hashimoto K, Yamada T. Usefulness of enzyme-linked immunoadsorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3 for serodiagnosis. *Br J Dermatol* 1999;140:351-7.
58. Amagai M, Matsuyoshi N, Wang ZH, Andl C, Stanley JR. Toxin in bullous impetigo and staphylococcal scalded-skin syndrome targets desmoglein 1. *Nat Med* 2000;6:1275-7.
59. Amagai M, Yamaguchi T, Hanakawa Y, Nishifuji K, Sugai M, Stanley JR. Staphylococcal exfoliative toxin B specifically cleaves desmoglein 1. *J Invest Dermatol* 2002;118:845-50.
60. Eaton DP, Diaz LA, Hans-Filho G, Santos VD, Aoki V, Friedman H. Comparison of black fly species (Diptera: Simuliidae) on an Amerindian reservation with a high prevalence of fogo selvagem to neighboring disease-free sites in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. The cooperative group on fogo selvagem research. *J Med Entomol* 1998;35:120-31.
61. Anhalt GJ. Paraneoplastic pemphigus. *Adv Dermatol* 1997;12:77-96.
62. Mahoney MG, Aho S, Uitto J, Stanley JR. The members of the plakin family recognized by paraneoplastic pemphigus antibodies include periplakin. *J Invest Dermatol* 1998;111:308-13.
63. Amagai M, Nishikawa T, Nousari HC, Anhalt GJ, Hashimoto T. Antibodies against desmoglein 3 (pemphigus vulgaris antigen) are present in the sera of patients with paraneoplastic pemphigus and cause acantholysis in neonatal mice. *J Clin Invest* 1998;102:775-82.
64. Bowen GM, Peters NT, Fivenson DP, Su LD, Nousari HC, Anhalt GJ, Cooper KD. Lichenoid dermatitis in paraneoplastic pemphigus: A pathogenic trigger of epitope spreading? *Arch Dermatol* 2000;136:652-6.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Il progresso nella comprensione dei meccanismi immunologici coinvolti nelle malattie della cute ha profondamente modificato la dermatologia, comportando anche un notevole sviluppo delle strategie terapeutiche che, accanto a nuove molecole anti-staminiche, sempre più si avvalgono di farmaci immunosoppressori od immunomodulanti nonché di agenti biologici.

La **psoriasi**, in particolare, ben dimostra i progressi avvenuti in questi ultimi 5 anni. In una recente revisione della letteratura dedicata alla genetica della psoriasi, si sottolinea come PSORS1, localizzato in un segmento di circa 300 kb nella regione dell'MHC di classe I posta sul cromosoma 6p21.3, debba essere effettivamente considerato come il principale determinante genetico della malattia. In particolare, secondo gli studi più recenti di Nair e coll. e diversamente da quanto noto in precedenza, è stato osservato che l'aplotipo HLA-Cw6 sia davvero la variante PSORS1 che conferisce la suscettibilità alla malattia. Inoltre, altre ricerche hanno evidenziato l'associazione tra particolari aplotipi e caratteristiche fenotipiche della psoriasi con interessamento articolare. Ad es., se è ben nota l'associazione tra HLA-B27 e l'interessamento spinale, B38 e B39 sono associati alla poliartrite periferica, mentre è più generica l'associazione HLA-B13, B57, Cw6 e Cw7 ed artrite psoriasica. Di particolare interesse anche alcuni loci la cui funzione appare correlata alla alterata espressione di alcune citochine, come per es.: PSORS9 (4q31) e il gene per l'IL-15; PSORS7 (1p) ed il gene per il recettore della IL-23; PSORS3 (4q34) ed il gene per il fattore di trascrizione IRF-2; o, infine, PSORS6 (19p13) ed il gene per il fattore di trascrizione JunB. Tuttavia, le novità di maggiore rilievo riguardano il coinvolgimento di nuove citochine (IL-17, IL-22) nella reinterpretazione dei meccanismi patogenetici della psoriasi. Delle caratteristiche della IL-17 e dei linfociti T che la producono (Th17) si parla nei commenti di altri capitoli (cfr. cap. 1, 2 e 3). Ma deve anche essere sottolineato il fatto che i cheratinociti contribuiscono in modo determinante nell'influenzare il tipo di flogosi. Sia l'IL-17 che l'IL-22 inducono l'espressione dei geni che codificano per beta-defensine 2 e 3 nei cheratinociti (stesse defensine che sono anche iperesprese nelle lesioni psoriasiche in vivo), l'IL-22 induce iperproliferazione dei cheratinociti ed acantosi (caratteristiche tipiche della malattia), l'IL-17 è responsabile del richiamo dei granulociti neutrofili (altro elemento caratterizzante della psoriasi). Sia nel siero che nelle lesioni cutanee, in effetti, alcune citochine sono over-esprese: IL-17A ed F, IL-22, IL-26, TNF-alfa ed IL-23 così come è anche aumentata l'espressione del fattore di trascrizione RORC. L'inoculazione di IL-23 nella cute degli animali da esperimento induce iperplasia epidermica ed infiltrazione cellulare che all'esame istologico è indistinguibile dalla psoriasi umana. Inoltre, le cellule Th17 esprimono CCR6, recettore per la chemochina CCL20 la cui espressione è aumentata nelle lesioni cutanee della psoriasi, mentre è stato anche dimostrato che nel circolo periferico dei pazienti affetti dalla malattia una grande percentuale di cellule T destinate a migrare nella cute (e pertanto CLA+) mostrano anche positività per CCR6. Nograles e coll mostrano nel loro lavoro un'interessante modello patogenetico della malattia, mentre Tesmer e coll affrontano in modo esauriente il problema del ruolo delle cellule Th17 nelle malattie umane. Una possibile conseguenza delle rinnovate conoscenze dei meccanismi patogenetici della psoriasi (ed in genere di tutte le malattie immuno-mediate) è la possibilità di possedere migliori marcatori per avvalorare la diagnosi o per misurare l'attività della malattia stessa, consentendo una più idonea terapia. L'uso (ed il miglioramento) dei cosiddetti 'biomarkers' per un ampio spettro di malattie rappresenta veramente il futuro delle discipline reumatologiche e dermatologiche come sottolineano de Vlam e coll in una recente rivisitazione della letteratura.

È ovvio l'interesse di un giornale come 'The Journal of Allergy and Clinical Immunology' nei confronti delle malattie di interesse più strettamente allergologico quali la dermatite atopica e l'orticaria, tanto da redigere regolarmente ogni anno un breve riassunto sulle principali novità sull'argomento.

Per quanto riguarda la **dermatite atopica** (DA) emerge in modo sempre più chiaro il ruolo svolto dalla filaggrina. Il gene che codifica per tale proteina è localizzato sul cromosoma 1q21 ed è associato alla sensibilizzazione verso gli allergeni, alla suscettibilità a sviluppare precocemente DA ed a mostrare asma insieme alla manifestazione cutanea. Mutazioni 'null' del gene della filaggrina sarebbero in effetti correlate con un incremento nella severità dell'asma nei bambini e nei giovani adulti e, soprattutto, non si osservano se manca la dermatite atopica. Se, comunque, le mutazioni genetiche forniscono spiegazioni solo per alcuni pazienti affetti da DA, sembra più interessante il dato che le citochine Th2-correlate siano in grado di down-regolare il gene della filaggrina e l'espressione della proteina a livello dei cheratinociti. Inoltre, i pazienti con DA mostrano anche tipiche modificazioni dei meccanismi difensivi innati e la ridotta capacità di produrre MIP3alfa e defensine è associata alla aumentata frequenza delle infezioni (soprattutto virali) disseminate. Comunque, i maggiori progressi per la DA riguardano forse la terapia che si avvale, in modo sempre più ampio, di agenti biologici. Basse dosi di anti-IgE (anche per quei pazienti con titoli elevati circolanti di questa classe anticorpale), immunoterapia con estratto di acari e picremolimus topico (che agirebbe anche sul controllo dell'iperreattività bronchiale) sono stati proposti per la cura e la prevenzione delle manifestazioni cutanee eczematoze.

Con riferimento all'**orticaria**, i dati più significativi riguardano la pubblicazione di linee-guida internazionali sulla sua definizione, classificazione, diagnosi e trattamento^{1,2}.

La classificazione proposta da tali documenti si basa essenzialmente sui differenti fattori scatenanti la sintomatologia (spontanea, fisica, da altre cause), ponendo i vari meccanismi patogenetici intervenire nei differenti fenotipi.

Per quanto riguarda il trattamento le linee-guida raccomandano di impiegare quale trattamento di elezione antistaminici di seconda generazione e di aumentarne il dosaggio fino a 4 volte in caso di mancata risposta prima di cambiare tratta-

menti alternativi. Ovviamente, il ricorso a dosaggi elevati richiede l'utilizzo di molecole con elevato margine terapeutico (quali desloratadina³, ebastina o altre molecole prive di effetti collaterali soprattutto a carico del sistema nervoso centrale o cardiovascolare quali: sonnolenza, disturbi del ritmo cardiaco legati al metabolismo attraverso il citocromo P450, interferenze farmacologiche, ecc.

Se tale strategia non risultasse sufficiente a controllare i sintomi entro 1-4 settimane, si può fare ricorso ad un differente antistaminico di seconda generazione, ad un anti-leucotricemico o a un breve ciclo (3-7 giorni) di corticosteroidi sistemici.

Riferimenti bibliografici

1. EAACI/GA2LEN/EDF guideline:

Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W, Grattan CE, Greaves MW, Henz BM, Kapp A, Kozel MM, Maurer M, Merk HF, Schäfer T, Simon D, Vena GA, Wedi B; AACI/GA2LEN/EDF. EAACI/GA2LEN/EDF guideline: management of urticaria. *Allergy*. 2006 Mar;61(3):321-31.

2. EAACI/GA2LEN/EDF guideline:

Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W, Grattan CE, Greaves MW, Henz BM, Kapp A, Kozel MM, Maurer M, Merk HF, Schäfer T, Simon D, Vena GA, Wedi B; AACI/GA2LEN/EDF. EAACI/GA2LEN/EDF guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy*. 2006 Mar;61(3):316-20.

3. Updosing of desloratadine reduces cold provocation test responses in patients with cold urticaria:

Maurer M, Siebenhaar F, Degener F, et al.
J Allergy Clin Immunol 2008; 121 (suppl.) 794.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Advances in allergic skin diseases

Donald Y.M. Leung, Mark Boguniewicz
March 2003 (Vol. 111, Issue 3, Supplement Pages S805-S81)

Elidel (pimecrolimus) cream 1%: A nonsteroidal topical agent for the treatment of atopic dermatitis

Donald Y.M. Leung, Stanley J. Szfler, Philip S. Noman, Andrea Apter, Lawrence F. Eichenfield, Lisa Beck
May 2003 (Vol. 111, Issue 5, Pages 1154-1169)

Atopic Dermatitis Intervention to Control the Atopic March

December 2003 (Vol. 112, Issue 6, Supplement Pages S117-S150)

Chronic urticaria: Pathogenesis and treatment

Allen P. Kaplan
September 2004 (Vol. 114, Issue 3, Pages 465-474)

Canadian 2003 International Consensus Algorithm for the Diagnosis, Therapy, and Management of Hereditary Angioedema

Tom Bowen, Marco Cicardi, Henriette Farkas, Konrad Bork, Wolfhart Kreuz, Lorenza Zingale, Lilian Varga, Inmaculada Martinez-Saguer, Emel Aygören-Pürsün, Karen Binkley, Bruce Zuraw, Alvin Davis, Jacques Hebert, Bruce Ritchie, Jeanne Burnham, Anthony Castaldo, Alejandra Menendez, Istvan Nagy, George Harmat, Christoph Bucher, Gina Lacuesta, Andrew Issekutz, Richard Warrington, William Yang, John Dean, Amin Kanani, Donald Stark, Christine McCusker, Eric Wagner, Georges-Etienne Rivard, Eric Leith, Ellie Tsai, Michael MacSween, John Lyanga, Bazir Serushago, Art Leznoff, Susan Waserman, Jean de Serres
September 2004 (Vol. 114, Issue 3, Pages 629-637)

Hereditary and Acquired Angioedema: Problems and Progress: Proceedings of the Third C1-Esterase Inhibitor Deficiency Workshop and Beyond

September 2004 (Vol. 114, Issue 3, Supplement Pages S51-S131)

* Atopic dermatitis

Mark Boguniewicz, MD, Donald Y.M. Leung, MD, PhD
Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Supplement 2, Pages S475-S480)

New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: Gene-environment interactions

Michael J. Cork, Darren A. Robinson, Yiannis Vasilopoulos, Adam Ferguson, Manar Moustafa, Alice MacGowan, Gordon W. Duff, Simon J. Ward, Rachid Tazi-Ahnini
July 2006 (Vol. 118, Issue 1, Pages 3-21)

Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/PRACTALL Consensus Report

Cezmi A. Akdis, Mübeccel Akdis, Thomas Bieber, Carsten Bindslev-Jensen, Mark Boguniewicz, Philippe Eigenmann, Qutayba Hamid, Alexander Kapp, Donald Y.M. Leung, Jasna Lipozencic, Thomas A. Luger, Antonella Muraro, Natalija Novak, Thomas A.E. Platts-Mills, Lanny Rosenwasser, Annika Scheynius, F. Estelle R. Simons, Jonathan Spergel, Kristiina Turjanmaa, Ulrich Wahn, Stefan Weidinger, Thomas Werfel, Torsten Zuberbier, for the European Academy of Allergology and Clinical Immunology/American Academy of Allergy, Asthma and Immunology/PRACTALL Consensus Group
July 2006 (Vol. 118, Issue 1, Pages 152-169)

*** Hereditary angioedema**

Michael M. Frank

Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S398-S401)

Filaggrin in atopic dermatitis, 09 September 2008

Grainne M. O'Regan, Aileen Sandilands, W.H. Irwin McLean, Alan D. Irvine

October 2008 (Vol. 122, Issue 4, Pages 689-693)

Altri articoli di interesse (2003/2008)

Advances in allergic skin disease, anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs and insects in 2007

Sicherer SH e Leung DYM

J Allergy Clin Immunol 2008; 121: 1351-8

New biologic therapies for psoriatic disease

Bohjanen KA, Praver SE

Minn Med 2004;87:34-6

Advancements in the treatment of psoriasis: role of biologic agents

Rich SJ, Bello-Quintero CE

J Manag Care Pharm 2004;10:318-25

Biologic therapies for psoriasis. A systematic review

Boehncke WH, Prinz J, Gottlieb AB

J Rheumatol 2006;33:1447-51

The Immunology of Contact Dermatitis

Markert R, Elsner P

Exogenous Dermatology 2003;2:53-59

A double-blind randomized placebo-controlled pilot study comparing topical immunomodulating agents and corticosteroids for treatment of experimentally induced nickel contact dermatitis

Bhardwaj SS, Jaimes JP, Liu A, Warshaw EM

Dermatitis 2007;18:26-31

Calcineurin inhibitors in the treatment of allergic dermatitis

Castro AP.

J Pediatr 2006;82:166-72

Blinded side-to-side comparison of topical corticosteroid and tacrolimus ointment in children with moderate to severe atopic dermatitis

Arkwright PD, Gillespie MC, Ewing CI, David TJ

Clin Exp Dermatol 2007;32:145-7

Review of pimecrolimus cream 1% for the treatment of mild to moderate atopic dermatitis

Herbert AA

Clin Ther 2006; 28: 1972-82

Clinical practice. Hereditary angioedema

Zuraw BL

N Engl J Med 2008;359:1027-36. Review

Genetics of psoriasis and psoriatic arthritis: update and future direction

Callis Duffin K, Chandran V, Gladman DD et al

J Rheumatol 2008; 35: 1449-53

Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene

Nair RP, Stuart PE, Nistor I et al

Am J Hum Genet 2006; 78: 827-51

Th17 cytokines IL-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways

Nogales KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E et al

Br J Dermatol giugno 2008; in corso di stampa

Th17 cells in human disease

Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA

Immunological Rev 2008; 223: 87-113

Biological biomarkers in psoriatic disease

de Vlam K, Gottlieb AB e Fitzgerald O

A review. J Rheumatol 2008; 35:1443-8

12. Immunodeficienze primitive

Sebbene le immunodeficienze primitive siano relativamente rare, il loro studio approfondito ha permesso di ottenere una grande quantità di conoscenze riguardo i meccanismi immunologici di base della difesa dell'ospite, dell'infiammazione e dell'autoimmunità. Queste acquisizioni hanno portato ad importanti sviluppi non solo nel trattamento delle immunodeficienze primitive ma anche nel trattamento di pazienti con stati di immunocompromissione secondaria, disordini autoimmuni, ipersensibilità, rigetto di trapianti e malattia del "trapianto-contro-ospite" (graft versus host disease). La correzione di una forma di immunodeficienza combinata severa rappresenta il primo vero successo della terapia genica umana. Questa trattazione passa in rassegna le principali manifestazioni cliniche delle immunodeficienze primitive, insieme con gli elementi essenziali della fisiopatologia di questi disordini, ormai definiti a livello molecolare. Vengono anche presentati i concetti chiave del trattamento. È importante per il curante e per l'allergologo tenere presente la possibilità clinica di una immunodeficienza. Una diagnosi precoce offre la migliore opportunità per ridurre la mortalità e aumentare la sopravvivenza ed è fondamentale per un accurato consulto genetico.

Le immunodeficienze primitive sono disordini su base genetica della funzione del sistema immunitario. Molte sono associate con singoli difetti genetici, mentre altre possono essere poligeniche o possono rappresentare interazioni fra tratti geneticamente determinati e fattori ambientali o infettivi. Si stima che queste patologie si manifestino in una percentuale variabile da 1/10000 a 1/2000 nati vivi^{1,2} e vengono classificate in base al tipo di meccanismo immunologico danneggiato dal particolare difetto genico. Le patologie nelle quali viene danneggiata prevalentemente la funzione linfocitaria sono comunemente divise in tre gruppi principali. Nei difetti anticorpali, definiti anche immunodeficienze delle cellule B o umorali, il difetto genetico interessa selettivamente la produzione di anticorpi, mentre l'immunità cellulo-mediata è intatta. Nelle deficienze cellulari è vero l'opposto: la produzione di anticorpi è normale mentre i meccanismi effettori cellulari sono compromessi. Nelle immunodeficienze combinate sono danneggiati entrambi i bracci effettori dell'immunità specifica. Questa categoria contiene il sottogruppo dell'immunodeficienza combinata severa (SCID), nella quale è completamente assente l'immunità specifica linfocita-dipendente.

Abbreviazioni utilizzate:

ADAD:	Deficit di adenosin-deaminasi
AICDA:	Citidin-deaminasi indotta dall'attivazione
AIRE:	Regolatore autoimmune
APECED:	Poliendocrinopatia autoimmune-candidiasi-distrofia ectodermica
APS-1:	Sindrome polighiandolare autoimmune di tipo 1
A-T:	Atassia-tealeangectasia
ATM:	Atassia-tealeangectasia mutato
BCR:	Recettore della cellula B
BLNK:	Proteina legante della cellula B
BTK:	Bruton tirosin-chinasi
CGD:	Malattia granulomatosa cronica
ICV/CVID:	Immunodeficienza comune variabile/common variable immunodeficiency
G-CSF:	Fattore stimolante le colonie granulocitarie
G-CSFR:	Recettore del fattore stimolante le colonie granulocitarie
GM-CSF:	Fattore stimolante le colonie granulocitarie-macrofagiche
HIGM:	Sindrome da iper IgM
IFNGR:	Recettore dell'interferon- γ
Ig:	Immunoglobulina
IGAD:	Deficit di IgA
IGGSD:	Deficit di sottoclassi delle IgG
IkB:	Inibitore del fattore nucleare-kB
IKK:	Chinasi dell'inibitore del fattore nucleare-kB
IL:	Interleuchina
IVIG:	Immunoglobuline endovenose
LAD:	Deficit dell'adesione leucocitaria
LFA-1:	Molecola 1 associata alla funzione leucocitaria
MBL:	Lectina legante il mannosio
NBS:	Sindrome di rottura di Nijmegen
NEMO:	Modificatore essenziale dell'NF-kB
NF-kB:	Fattore nucleare kB
PNPD:	Deficit della purin-nucleoside fosforilasi
RAG:	Gene attivante la ricombinasi
SADNI:	Deficit di anticorpi specifici con immunoglobuline nella norma
SCID:	Immunodeficienza combinata severa
TAP:	Trasportatore di peptidi antigenici
TCR:	Recettore della cellula T
TNFSF:	Superfamiglia del tumor necrosis factor
TNFRSF:	Recettore per la superfamiglia del tumor necrosis factor
THI:	Ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia
WAS:	Sindrome di Wiskott-Aldrich
WASP:	Proteina della sindrome di Wiskott-Aldrich
WHN:	Winged helix nuda
XLA:	Agammaglobulinemia legata al cromosoma X
XLP:	Disordine linfoproliferativo legato al cromosoma X

Traduzione italiana del testo di:
Francisco A. Bonilla e Raif S. Geha
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S571-81

TABELLA I. Organismi infettivi associati con le principali categorie di immunodeficienza

Organismo	Deficit di anticorpi	Deficit cellulare	Deficit combinato	Deficit fagocitario	Deficit del complemento
Virus	Enterovirus		Tutti	No	No
Batteri	<i>S pneumoniae</i> , <i>H influenzae</i> , <i>S aureus</i> , <i>P aeruginosa</i> , <i>C fetus</i> , <i>N meningitidis</i> , <i>M hominis</i> , <i>U ureolyticum</i>	<i>S typhi</i>	Come per il deficit di anticorpi. Anche: <i>L monocytogenes</i> , <i>S typhi</i> , flora intestinale	<i>S aureus</i> , flora intestinale, <i>P aeruginosa</i> , <i>S typhi</i> , <i>N asteroides</i>	Come per il deficit di anticorpi, spec. <i>N meningitidis</i>
Micobatteri	No	Non tubercolari, incluso BCG	Non tubercolari, incluso BCG	Non tubercolari, incluso BCG	No
Miceti	No	<i>C albicans</i> , <i>H capsulatum</i> , <i>A fumigatus</i> , <i>C immitis</i>	Come per il deficit cellulare	<i>A fumigatus</i> , <i>C albicans</i>	No
Protozoi	<i>G lamblia</i>		<i>P carinii</i> , <i>T gondii</i>	<i>P carinii</i>	No

Rimangono altre due principali classi di immunodeficienze primitive: i difetti della funzione fagocitaria e i difetti del complemento.

Ognuna di queste forme principali di immunodeficienza è caratterizzata da un certo aumento di suscettibilità alle infezioni. Il sospetto diagnostico sarà da tener presente particolarmente in presenza di infezioni più frequenti o severe o inusualmente resistenti alle terapie standard oppure causate da microrganismi solitamente non patogeni (opportunistici). Ogni classe di immunodeficienza si presenta con una predisposizione verso un caratteristico gruppo di infezioni, che spesso guida le indagini diagnostiche iniziali. Di certo c'è una considerevole sovrapposizione nel tipo di organismi che possono causare infezione in pazienti con immunodeficienza anticorpale o cellulare, deficienza del complemento e così via. Come risultato, può essere necessario analizzare diversi "bracci" del sistema immunitario per arrivare ad una diagnosi definitiva. Inoltre, molte sindromi da immunodeficienza possono presentarsi con caratteristiche cliniche tipiche associate che possono anche guidare in una valutazione diagnostica precoce.

La Tabella I contiene un elenco dei più comuni agenti infettivi associati ad ogni categoria di immunodeficienza descritta nelle sezioni seguenti.

DEFICIT ANTICORPALI

Il feto umano acquisisce livelli adulti di immunoglobuline (Ig)G durante la fase terminale della gestazione. Queste IgG gradualmente decrescono durante i primi 6-12 mesi di vita, quando inizia la produzione endogena di IgG. Come risultato, le complicanze infettive dei deficit di anticorpi possono essere ritardate fino a 6-12 mesi di età o anche oltre.³ Questi disordini caratteristici della prima infanzia, si presentano con infezioni batteriche delle alte e basse vie respiratorie. Si verificano anche infezioni batteriche di altri organi e sepsi, così come infezioni da enterovirus. I deficit di anticorpi includono le agammaglobulinemie legate al cromosoma X ed autosomiche recessive, come anche l'immunodeficienza comune variabile, il deficit di IgA, il deficit di sottoclassi di IgG, l'ipogammaglobulinemia transitoria dell'infan-

zia e il deficit anticorpale specifico. I tipi di complicanze infettive caratteristiche dei deficit di anticorpi sono considerevoli anche nelle immunodeficienze combinate quali la sindrome di Wiskott-Aldrich, l'atassia-telean-gectasia e la sindrome da iper-IgM.

Nei pazienti privi di cellule B e di immunoglobuline sieriche sono state identificate cinque mutazioni genetiche (Tabella II).⁴ Il disordine più comune è l'agammaglobulinemia legata al cromosoma X (XLA, difetto della Bruton tirosin chinasi o BTK), che rende conto dell'80-90% di tutti i casi.

Altre forme sono mutazioni del gene della catena pesante delle IgM (circa una dozzina di pazienti identificati ad oggi) e mutazioni dei geni che codificano componenti della catena leggera surrogata ($\lambda 5$ o $\lambda 4.1$, anche chiamata CD179b), il componente Ig- α del recettore delle cellule B (CD79a) e la proteina delle cellule B che lega la proteina impalcatura che trasduce il segnale, o BLNK. È stato descritto solo un caso per ognuno di questi tre difetti.

È interessante rilevare che tutti questi difetti bloccano lo sviluppo delle cellule B nel midollo osseo allo stadio pre-B. La transizione attraverso questo stadio dipende dal segnale mediato dal recettore della cellula pre-B (pre-BCR), un complesso costituito dalla catena pesante delle IgM, dal surrogato della catena leggera ($\lambda 5/V$ preB eterodimero) e dall'eterodimero Ig- α/β che trasduce il segnale. I difetti nella catena pesante IgM, in $\lambda 5$ e Ig- α , prevengono l'espressione sulla superficie cellulare del pre-BCR. I difetti nella BTK e nella BLNK prevengono la trasduzione del segnale da parte del pre-BCR, così che le vie critiche di attivazione intracellulari rimangono inattive.

Una forma di ipogammaglobulinemia severa all'interno di un gruppo di disordini noti come sindrome da iper-IgM (ridotti livelli di IgG e IgA con normali o elevati livelli di IgM) è dovuta ad un difetto nell'enzima che codifica per l'RNA, la citidina deaminasi indotta dall'attivazione (AICDA).⁵

Questo enzima è espresso solo nelle cellule B ed è richiesto per i processi di cambio di classe e di ipermutazione somatica dei geni delle immunoglobuline. Durante una risposta anticorpale primaria, le cellule B producono inizialmente IgM e IgD. Quando la risposta progredisce,

TABELLA II. Immunodeficienze associate con lesioni geniche note

Disordini	Geni
Deficit di anticorpi	
Agammaglobulinemia	<i>BTK, IGHM, CD79A, CD179B, BLNK</i>
Sindrome da iper-IgM, autosomica recessiva	<i>AICDA</i>
Deficit cellulari	
Asse interferon- γ -interleuchina-12	<i>IFNGR1, IFNGR2, IL12B, IL12RB1, STAT1</i>
Sindrome polighiandolare autoimmune di tipo 1	<i>AIRE</i>
Funzione difettiva delle NK (deficit di CD16)	<i>FCGR3A</i>
Deficit combinati	
Severi (SCID)	
Difettivo segnale citochinico	<i>IL2RG, IL2RA, IL7RA, JAK3</i>
Difettivo segnale del recettore della cellula T	<i>PTPRC, CD3G, CD3E, ZAP70</i>
Difettiva ricombinazione del gene del recettore	<i>RAG1, RAG2</i>
Difettiva via di salvataggio nucleotidica	<i>ADA, NP</i>
Difettiva espressione dell'MHC di classe I	<i>TAP1, TAP 2</i>
Difettiva trascrizione dell'MHC di classe II	<i>MHC2TA, RFXANK, RFX5, RFXAP</i>
Altri	<i>DCCRE1C, WHN</i>
Sindrome di Wiskott-Aldrich	<i>WASP</i>
Gruppo Atassia-Teleangectasia	<i>ATM, NBS1, MRE11A</i>
Sindrome di DiGeorge	<i>del22q11</i>
Sindrome da iper-IgM	<i>TNFSF5, TNFRSF5, IKBKG</i>
Sindrome linfoproliferativa legata al cromosoma X	<i>SH2D1A</i>
Difetti dei fagociti	
Malattia granulomatosa cronica	<i>CYBA, CYBB, NCF1, NCF2</i>
Variante della malattia granulomatosa cronica	<i>RAC2</i>
Sindrome di Chediak-Higashi	<i>LYST</i>
Deficit di adesione leucocitaria	<i>ITGB2, FLJ11320</i>
Deficit dei granuli specifici dei neutrofili	<i>CEBPE</i>
Neutropenia ciclica	<i>ELA2</i>
Agranulocitosi congenita (sindrome di Kostmann)	<i>CSF3R</i>
Difetti del complemento	Tutti i componenti solubili del complemento eccetto il fattore B

attraverso un processo di riarrangiamento del DNA, le cellule B passano alla produzione di IgG, IgA ed IgE (switching di classe). Questo processo dipende dalla trascrizione di questi geni per le catene pesanti prima del riarrangiamento del DNA. L'ipermutazione somatica è associata con lo switching di classe ed è costituita dall'accumulo sequenziale di mutazioni puntiformi nei geni della regione variabile delle immunoglobuline che porta ad un aumento dell'affinità anticorpale per l'antigene (maturazione dell'affinità). Il danno di questi processi di sviluppo delle cellule B antigene-dipendenti si determina nei centri germinativi, per cui queste strutture si dilatano notevolmente, dando origine alla rilevante linfadenopatia e all'iperplasia linfoide intestinale, caratteristiche di questa malattia.

I rimanenti disordini classificati come immunodeficienze umorali sono definiti clinicamente, ma non sono ancora stati delucidati a livello molecolare. L'immunodeficienza comune variabile (ICV) è definita principalmente come una riduzione delle IgG (spesso con riduzione delle IgA) insieme ad una significativa riduzione della produzione anticorpale specifica in risposta ai vaccini o alle infezioni naturali.^{6,7} Questi soggetti possono anche presentare una varietà di fenomeni autoimmuni (artrite sieronegativa, vasculiti, citopenie), così come una malattia linfoproliferativa benigna (circa un terzo dei pazienti) o linfomi (il rischio relativo può essere maggiore di circa 300 volte). Circa il 10% dei pazienti con ICV presenta asma e rinite, analogamente ai pazienti con atopia, ma non si

ha produzione di IgE specifiche (C. Cunningham-Rundles, comunicazione personale). In molti pazienti ci sono correlazioni genetiche con il locus MHC⁸ ma i geni realmente interessati non sono ancora stati identificati.

Circa 1 su 700 bianchi negli Stati Uniti non ha IgA nel siero.⁹ Molti di loro sono asintomatici, ma un follow-up prospettico a lungo termine (20 anni) di una ampia coorte di questi pazienti ha mostrato un aumentato tasso di infezioni del tratto respiratorio come la sinusite e la broncopneumonia.¹⁰ Nei donatori di sangue sani, il deficit di IgG2 (vedi sotto) viene rilevato nel 9% degli individui con deficit di IgA; la proporzione sale al 31% per quelli con deficit di IgA e infezioni ricorrenti.¹¹ Ulteriori manifestazioni cliniche del deficit di IgA (IGAD) possono essere simili a quelle viste nella ICV, e sono state descritte analoghe associazioni con l'HLA.

La produzione di anticorpi specifici è intatta nella IGAD, e le manifestazioni atopiche sono generalmente associate con risposte positive di tipo IgE.

Ci sono quattro sottoclassi di IgG umane, chiamate IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Esse sono numerate consecutivamente in relazione alla loro prevalenza relativa nel siero, in quanto le IgG1 sono le più abbondanti e le IgG4 le meno rappresentate. Come nel caso dell'IGAD, la maggioranza degli individui con livelli selettivamente bassi di una o più sottoclassi di IgG è asintomatica.

Tuttavia le infezioni batteriche delle alte e delle basse vie respiratorie, e le infezioni virali, si verificano con una frequenza maggiore in questa popolazione.^{12,13} La produ-

TABELLA III. Fenotipi linfocitari associati caratteristicamente a forme particolari di SCID

Forme di SCID	Cellule T				
	CD3	CD4	CD8	Cellule B	Cellule NK
Legata al cromosoma X, JAK3, IL-2R, IL-7R	↓	↓	↓	NL	↓
RAG1/2	↓	↓	↓	↓	NL
ADA	↓	↓	↓	↓	↓
MHC II	NL	↓	NL	NL	NL
ZAP-70, MHC I	NL	NL	↓	NL	NL

zione anticorpale specifica può essere danneggiata in alcuni pazienti con deficit delle sottoclassi delle IgG (IGGSD); questo deficit può essere più pronunciato nei confronti degli antigeni polisaccaridici (ad es. quelli della capsula pneumococcica) e può verificarsi più frequentemente in coloro che hanno un deficit selettivo di IgG2. Sono state descritte lesioni molecolari nei geni per specifiche sottoclassi di IgG solo in pochi rari individui.¹⁴ Le basi molecolari nella maggioranza dei casi non sono state descritte.

L'ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia (THI) è definita semplicemente come un'associazione di livelli estremamente bassi di IgG e di malattie batteriche o virali ricorrenti, che interessano prevalentemente il tratto respiratorio e che si risolve spontaneamente intorno ai 4 anni di età.¹⁵ La maggior parte dei pazienti (non tutti) ha una produzione del tutto normale di anticorpi specifici e infezioni gravi sono state riportate solo in pochi pazienti. Esiste un numero non noto ma probabilmente ampio di individui che presentano livelli transitoriamente bassi di IgG ma che sfuggono del tutto all'attenzione clinica in quanto asintomatici oppure a causa del mancato riconoscimento di una eccessiva incidenza di infezioni nella prima infanzia.

Alcuni pazienti con infezioni batteriche ricorrenti dell'apparato respiratorio presentano una alterata produzione di anticorpi specifici (in particolare verso gli antigeni polisaccaridici) nel contesto di livelli completamente normali di IgG, IgA, IgM e delle sottoclassi di IgG. Questo quadro è stato chiamato deficit di anticorpi specifici con immunoglobuline normali (SADNI).¹⁶ Le proporzioni relative di pazienti con ICV, IGAD, IGGSD, THI e SADNI non sono del tutto chiare. In uno studio retrospettivo in un centro di cura di terzo livello, la SADNI era la diagnosi più frequente, rendendo conto del 23% delle diagnosi di immunodeficienza.¹⁷

DEFICIT CELLULARI

Vi sono diverse mutazioni genetiche che bloccano selettivamente i meccanismi effettori cellulari delle cellule T, NK e delle cellule mononucleate mentre lasciano intatta la produzione di anticorpi. (tabella II). Cinque

delle mutazioni genetiche descritte interessano lo stesso pathway di citochine: l'asse interferone (IFN)- γ -IL-12.¹⁸ L'IL-12 è lo stimolo più importante per la produzione di IFN- γ da parte delle cellule T di tipo Th1 e delle cellule natural killer. L'IFN- γ è uno stimolo critico che attiva i meccanismi citotossici delle cellule mononucleate. Se questo asse di citochine è danneggiato, l'ospite diventa altamente suscettibile ad infezioni da parte di organismi a replicazione intracellulare, specialmente i micobatteri non tubercolari e la salmonella. Sono state descritte mutazioni nella subunità p40 dell'eterodimero dell'IL-12, nella catena β 1 del recettore dell'IL-12, nelle catene α e β del recettore dell'IFN- γ (IFNGR1,2) e nella molecola STAT-1 che trasduce il segnale, ed è necessaria per inviare il segnale attraverso il IFNGR.

Il regolatore autoimmune (AIRE) è una molecola con funzione sconosciuta che si è dimostrata responsabile di un sottogruppo dei disordini noti come candidiasi mucocutanea cronica.¹⁹ La mutazione di AIRE è associata ad una forma caratterizzata da risposte autoimmuni verso i tessuti endocrini. La malattia è chiamata anche sindrome polighiandolare autoimmune di tipo 1 (APS-1), o polienodocrinopatia autoimmune-candidiasi-distrofia ectodermica (APECED).

È stato segnalato un paziente con infezioni ricorrenti, con una funzione deficitaria delle cellule natural killer dovuta ad una mutazione nella molecola CD16 (Fc γ RIIIa).²⁰

DEFICIT COMBINATI

Il più ampio gruppo di disordini per i quali sono state identificate lesioni molecolari sono le immunodeficienze combinate severe (SCID) (Tabella II).^{3,21,22} Questi sono i difetti più gravi dell'immunità specifica, spesso con assenza completa di una normale funzione linfocitaria. Le manifestazioni cliniche più comuni includono la diarrea cronica con incapacità di accrescimento, infezioni respiratorie ricorrenti e croniche, così come infezioni opportunistiche e disseminate. Come nel caso dei difetti anticorpali e cellulari, alcuni fenotipi si manifestano come il risultato di mutazioni in una serie di geni con funzioni correlate.

Alcuni pazienti sono privi di cellule T ma con un numero normale o elevato di cellule B scarsamente funzionanti. Questa patologia è chiamata SCID T⁻B⁺ (vedi Tabella III). In questi pazienti sono state descritte quattro mutazioni correlate. Quella del gene IL2RG, che codifica una proteina ora chiamata catena γ comune del recettore delle citochine (γ_c), si verifica più frequentemente ed è alla base della SCID X-correlata. Questa molecola è un componente del recettore per 6 diverse citochine (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21).²³ La catena comune γ funziona come trasduttore del segnale attraverso la sua interazione con la tirosin-chinasi JAK3. Quindi, mutazioni della JAK3 sono associate con un fenotipo assai simile.²⁴ È stato scoperto che alcuni pazienti con SCID T⁻B⁺ hanno anche mutazioni nei geni che codificano per le catene α dei recettori dell'IL-2²⁵ o dell'IL-7²⁶.

Un altro gruppo di pazienti con SCID presenta assenza di

linfociti e questa forma è talora chiamata SCID T^B-. (Tabella III). Circa la metà di questi pazienti presenta mutazioni di uno dei due geni che regolano la ricombinazione somatica dei geni per le immunoglobuline e per il recettore delle cellule T durante lo sviluppo delle cellule T e B. Questi sono i geni che attivano la ricombinasi 1 e 2 (RAG1/2).²⁷ Senza RAG1 e RAG2, i geni per le Ig mature e per il recettore delle cellule T (TCR) non vengono assemblati e lo sviluppo dei linfociti si arresta ad uno stadio molto precoce. Una variante della SCID, nella quale le mutazioni permettono una funzione parziale di RAG1 o RAG2, è nota come sindrome di Omenn.

La forma più comune di SCID con ereditarietà autosomica recessiva è il deficit di adenosin deaminasi (ADAD), che rende conto di circa il 15% di tutte le SCID.^{3,21,22} Il deficit di un enzima strettamente correlato, la purino-nucleoside fosforilasi (PNPD) è più raro (riportati circa 35 casi).²⁸ Entrambi questi difetti interessano la via di salvataggio della biosintesi dei nucleotidi. ADAD e PNPD portano ad un danneggiato sviluppo e ad un arco di vita ridotto sia delle cellule B che T, tramite meccanismi che non sono del tutto noti. Il fenotipo dell'ADAD generalmente è più severo di quello della PNPD, nella quale la funzione delle cellule T e B può essere mantenuta nelle fasi precoci della malattia ed in seguito decresce gradualmente.

Un altro gruppo di mutazioni interessa precocemente il segnale attraverso il recettore per l'antigene della cellula T. Queste colpiscono la protein-tirosin-fosfatasi CD45²⁹, le catene γ e ϵ del complesso CD3,^{30,31} e la tirosin-chinasi ZAP70.³² I fenotipi clinici e di laboratorio associati con queste mutazioni sono variabili. Il deficit di ZAP70 è caratterizzato dall'assenza di cellule T CD8⁺ circolanti, anche se le cellule T CD4⁺ che si sviluppano hanno una funzione danneggiata.

L'espressione delle molecole MHC di classe I è inibita se ciascuno dei due trasportatori di peptidi antigenici 1 e 2 (TAP1/2) è assente.³³ Queste proteine trasportano i peptidi dal citosol attraverso il reticolo endoplasmatico perché siano caricati sulle molecole MHC di classe I dopo la sintesi. In assenza di questi peptidi, le molecole MHC di classe I sono instabili e non raggiungono la superficie cellulare. Le molecole MHC di classe I sono necessarie per l'interazione delle cellule T CD8⁺ con le cellule presentanti l'antigene e le cellule bersaglio. Se l'MHC di classe I è assente, si ha un deficit selettivo di cellule T CD8⁺, con un fenotipo SCID un po' più lieve.

D'altro canto, il deficit dell'MHC di classe II porta ad un fenotipo SCID severo, con prognosi infausta.³⁴ In questi pazienti sono stati descritti quattro difetti genici. Tutti questi geni codificano componenti di un complesso di trascrizione necessario per l'espressione dei geni dell'MHC di classe II. Se uno dei componenti del complesso è assente, questo non può funzionare e non vengono prodotte molecole MHC di classe II. Le molecole MHC di classe II sono necessarie per l'interazione delle cellule T CD4⁺ con le cellule presentanti l'antigene e le cellule B. Il deficit dell'MHC di classe II è associato con una riduzione selettiva delle cellule T CD4⁺ circolanti e con una immunodeficienza severa.

Sono state descritte alcune mutazioni ulteriori nei pazienti con SCID. È stato identificato un gruppo di pazienti con SCID con l'addizionale caratteristica della sensibilità alle radiazioni che presentano mutazioni del gene (nome provvisorio DCCRE1C) che codifica una proteina con funzione non nota, chiamata ARTEMIS.³⁵ Recentemente è stato identificato un singolo paziente atimico con SCID, alopecia e distrofia ungueale che presenta una mutazione nel fattore di trascrizione "winged-helix nude" (WHN), lo stesso gene che è mutato nel topo mutante spontaneo nudo.³⁶

Ci sono diversi altri difetti genici associati con immunodeficienza combinata di varia gravità. La sindrome di Wiskott-Aldrich legata al cromosoma X (WAS) è caratterizzata dalla classica triade eczema, trombocitopenia e immunodeficienza.³⁷ La proteina mutata è chiamata WASP (proteina WAS). È interessante notare che, mutazioni di questa proteina sono state identificate anche in pazienti con trombocitopenia legata al cromosoma X e in un paziente con neutropenia legata al cromosoma X. La proteina WASP connette le vie di segnale della cellula T ai meccanismi regolatori critici del citoscheletro, necessari per l'attivazione della cellula T.

L'ataxia-teleangectasia (A-T), come indica il nome, è costituita da una ataxia cerebellare e da teleangectasie oculocutanee associate ad immunodeficienza.³⁸ Questo disordine è associato anche con la sensibilità alle radiazioni ionizzanti e con una alta incidenza di neoplasie (principalmente linfoma e leucemia). Il gene interessato in questa malattia è chiamato ATM (A-T mutato). ATM ha un ruolo critico nell'identificare rotture della doppia catena del DNA. In assenza dell'ATM, il ciclo cellulare sorpassa un normale punto di controllo che arresta la divisione cellulare se il DNA è danneggiato. Questo chiaramente è alla base della sensibilità alle radiazioni in questa patologia e porta ad un alterato sviluppo e funzione dei linfociti, almeno in parte tramite l'interferenza con il processo di assemblaggio dei geni delle Ig e del TCR. Circa il 95% dei pazienti con A-T ha elevati livelli di α -fetoproteina sierica, e questo può essere un utile sistema per confermare la diagnosi. Una patologia clinicamente simile, la sindrome da rottura di Nijmegen è dovuta a mutazioni di NBS1, che codifica un substrato di ATM nella via di rilevazione del danno del DNA.³⁹ La molecola MRE11A è un altro elemento di questa via; mutazioni che interessano questa proteina portano ad un'altra patologia clinicamente simile.⁴⁰

La sindrome di DiGeorge è associata con delezioni del cromosoma 22q11.⁴¹ Le caratteristiche cliniche possono comprendere un ridotto o assente sviluppo timico, malformazioni cardiache, ipoparatiroidismo e ipocalcemia e dismorfismo facciale. C'è un ampio spettro di espressione clinica delle delezioni di 22q11. L'assenza completa del timo (quindi l'assenza di cellule T) è un fenotipo simile alla SCID. Più comunemente si verifica uno sviluppo parzialmente ridotto del timo e la gravità del deficit immunitario dipende dall'ammontare del tessuto timico presente. Alcuni pazienti con delezioni in questa regione hanno un timo normale e difetti cardiaci (sindrome velocardiocardiale). Recentemente è stato dimostrato in un modello murino, che l'emizigosi del gene che codi-

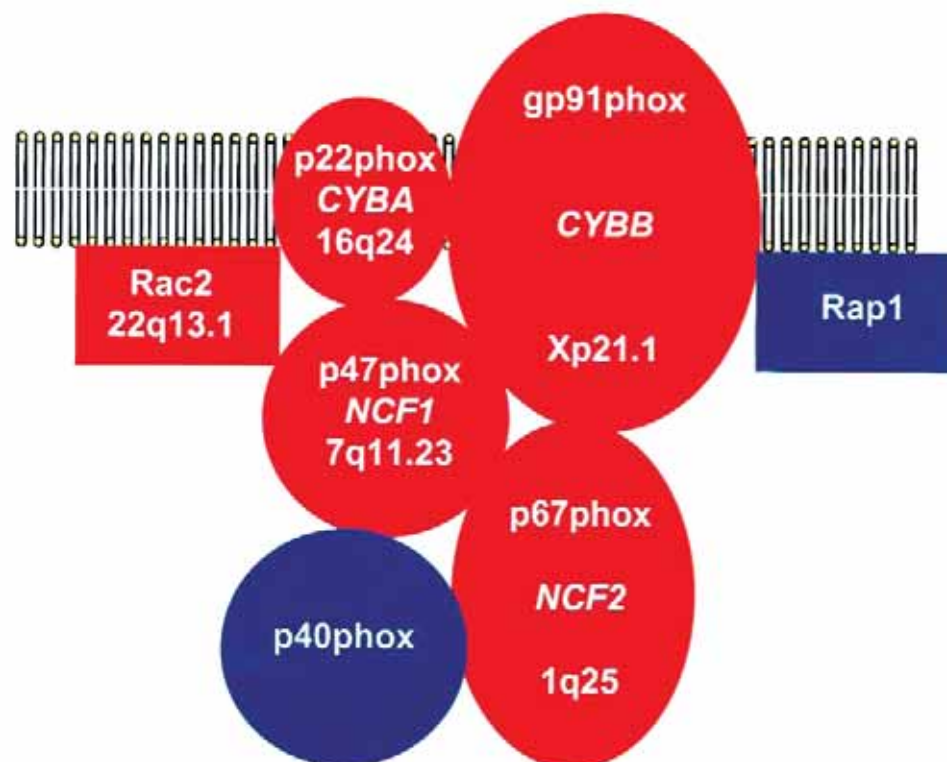


FIG 1. Il complesso fagocitario NADPH ossidasi illustra come lesioni genetiche in proteine con funzione correlata portino a fenotipi simili. Il complesso dell'ossidasi attiva è formato da due proteine di membrana (p22phox e gp91phox, chiamate anche rispettivamente catene α e β del citocromo b558), e da tre polipeptidi addizionali: p47phox [fattore 1 citosolico dei neutrofili (NCF1), p67phox (NCF2) e p40phox]. L'assemblaggio e l'attività del complesso ossidasico sono regolati da due GTPasi, Rac2 e Rap1. Mutazioni nei geni che codificano ciascuno dei componenti in rosso sono state identificate in pazienti con CGD. Le mutazioni di CYBB sono le più comuni e sono alla base della forma legata al cromosoma X di CGD. Mutazioni di CYBA, NCF1, NCF2 e RAC 2 portano a forme autosomiche recessive con fenotipi simili, poiché risulta danneggiata la funzione dello stesso complesso costituito da multiple subunità.

fica il fattore di trascrizione TBS-1 riassume i difetti cardiaci associati con la delezione umana 22q11.⁴²

La sindrome da iper-IgM legata al cromosoma X (XHIGM o HIGM1) è dovuta ad una mutazione nel gene TNFSF5 (membro 5 della superfamiglia del tumor necrosis factor).^{5,43} La proteina codificata è stata chiamata anche ligando del CD40, o CD154. Questa molecola interagisce con il CD40 sulle cellule B e sulle cellule presentanti l'antigene, e questa interazione gioca un ruolo critico nel promuovere la funzione cellulare accessoria delle cellule presentanti l'antigene, così come nella cooperazione delle cellule T e B per indurre la produzione di anticorpi. Senza questa interazione, le cellule T non sono stimulate in modo appropriato dopo l'esposizione all'antigene e lo switch di classe delle cellule B non si può verificare (vedi Deficienze di Anticorpi). Il fenotipo clinico è caratterizzato da basse IgG e IgA con normali o elevati livelli di IgM. Inoltre vengono rilevate infezioni opportunistiche caratteristiche della disfunzione delle cellule T (polmonite da *P carinii* o PCP). La PCP è una componente della presentazione clinica nel 35-40% dei pazienti. Un grado variabile di neutropenia si rileva nel 65% dei pazienti. Un fenotipo identico con ereditarietà autosomica recessiva è stato recentemente ascrivito a mutazioni nel gene che codifica il ligando per TNFSF5, cioè TNFRSF5 (mem-

bro 5 della superfamiglia del recettore del TNF), anche chiamato CD40.⁴⁴

Il fattore nucleare di trascrizione κ B (NF- κ B) è critico per regolare l'espressione di una varietà di geni importanti per l'immunità e l'infiammazione (risposta di fase acuta, molecole di adesione IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, G- e GM-CSF, TNF).⁴⁵ L'attività dell'NF- κ B è controllata dall'inibitore di κ B (I κ B). Quando viene fosforilato dalla I κ B chinasi (IKK), l'inibitore viene degradato e l'NF- κ B è attivo. Mutazioni che lasciano una funzione parziale della catena γ di IKK (chiamata anche modificatore essenziale di NF- κ B, o NEMO) si trovano in un gruppo di pazienti con deficit di anticorpi associato a sensibilità esclusiva a infezioni da micobatteri nontubercolari e con displasia ectodermica.⁴⁶ È interessante notare che mutazioni null di questo gene sul cromosoma X sono associate nelle femmine eterozigoti con "incontinentia pigmenti", mentre sono letali nei maschi.

Disordine linfoproliferativo legato al cromosoma X (XLP) è il nome dato ad una patologia pleiomorfa che deriva da mutazioni nel gene che codifica la proteina SH2D1A.⁴⁷ Questa fa parte di un gruppo di proteine che trasducono il segnale accoppiando una varietà di molecole di superficie dei leucociti con le vie di segnale intracellulari. Una delle manifestazioni più comuni di questa patologia è la mononucleosi infettiva fatale. Ulteriori

caratteristiche possono essere l'anemia aplastica, la granulomatosi linfoide polmonare con vasculite, il linfoma e la linfoproliferazione con emofagocitosi. In alcuni pazienti con XLP è stata erroneamente posta diagnosi di CVID.⁴⁸

DIFETTI DEI FAGOCITI

La classica forma di disfunzione fagocitaria è la malattia granulomatosa cronica (CGD), che si manifesta sia in forma legata al cromosoma X (che rende conto del 75% di tutti i casi) che autosomica recessiva.⁴⁹ Sono tutte forme causate da mutazioni che interessano elementi del complesso dell'ossidasi dei fagociti, necessario per produrre sostanze microbicide, quali perossido di idrogeno e radicali superossido (Fig. 1). Le manifestazioni cliniche includono una estrema suscettibilità ad infezioni da *S aureus* e *Aspergillus*, insieme ad un'inflammatione granulomatosa che può interessare ogni organo. Una variante della CGD è dovuta alla mutazione della GTPasi Rac2.⁴⁵

La sindrome di Chediak-Higashi è causata da mutazioni che interessano la proteina lisosomiale di trasporto LYST, coinvolta anche nel topo mutante beige.⁵⁰ Questo difetto impedisce la normale formazione dei fagolisosomi e dei melanosomi. In strisci di sangue periferico, i neutrofili presentano caratteristici lisosomi giganti, e si ha una associazione con albinismo parziale e difetti neurologici variabili. Il decorso clinico è caratterizzato da infezioni severe ricorrenti da *S aureus*, e può culminare nella così detta "fase accelerata" di linfoproliferazione con emofagocitosi, che è spesso fatale.

Ci sono due forme di deficit dell'adesione leucocitaria (LAD1 e 2).⁵¹ Il tipo 1 è dovuto a mutazioni nel gene che codifica CD18 o β_2 integrina. Questa molecola è un componente di tre eterodimeri: con CD11a (integrina α_L) forma la molecola 1 associata alla funzione leucocitaria (LFA-1); con CD11b (integrina α_M) forma la Mac-1 o recettore 3 per il complemento (CR3); e con CD11c (integrina α_X) forma il recettore 4 per il complemento (CR4). LFA-1 è il ligando per la molecola di adesione intercellulare 1 e media la stretta adesione dei leucociti alle cellule endoteliali prima della diapedesi. Senza LFA-1, i leucociti sono intrappolati in circolo e non possono raggiungere i siti di infezione. Gli ascessi cutanei e di altri organi non suppurano, e la conta dei leucociti nel sangue può raggiungere le 100000 cellule/mm³. La LAD di tipo 2 è dovuta a mutazioni in un trasportatore GDP-fucosio che trasporta il fucosio nell'apparato di Golgi per la fucosilazione post-traslazionale delle proteine di nuova sintesi. In assenza di questo trasportatore, non viene formata la molecola sialil-Lewis-X. Questa molecola è il ligando per la E-selettina; senza di essa i leucociti non possono effettuare l'iniziale adesione all'endotelio vascolare.

I granuli specifici dei neutrofili contengono importanti componenti microbicidi come il lisozima, la lattoferrina e la proteina che lega la vitamina B₁₂, così come gli enzimi che degradano le proteine della matrice extracellulare. In assenza del fattore di trascrizione C-EBP- ϵ , i

granuli specifici non si formano, dando luogo al deficit dei granuli specifici dei neutrofili, una rara sindrome clinica caratterizzata da piodermite e infezioni del tratto respiratorio.⁵²

Recentemente sono state descritte le basi genetiche della neutropenia ciclica. Il deficit di elastasi porta a livelli fluttuanti in modo regolare (circa ogni 21 giorni) dei neutrofili.⁵³ Nei periodi in cui la conta dei neutrofili è bassa, si verificano febbre, stomatiti, periodontiti e infezioni cutanee. La agranulocitosi congenita, o sindrome di Kostmann, è dovuta a mutazioni del gene che codifica il recettore per il fattore stimolante le colonie granulocitarie (G-CSFR).⁵⁴ Le caratteristiche cliniche includono la polmonite, l'otite media, la gengivostomatite e gli ascessi perineali.

Le mutazioni di G-CSFR non aboliscono completamente la funzione della proteina ed entrambi questi disordini rispondono alla terapia farmacologica con G-CSF.

Il difetto genetico alla base della sindrome da iper-IgE non è ancora stato descritto.⁵⁵ Questo disordine è caratterizzato da tratti facciali grossolani e asimmetrici con dermatite eczematosa cronica e con frequenti sovrainfezioni da *Stafilococco*. Sono comuni anche le infezioni polmonari da *Aspergillus* con formazione di pneumatocele. I livelli sierici di IgE sono di solito da migliaia a decine di migliaia di nanogrammi per millilitro e sono spesso presenti IgE che legano lo stafilococco. Comunque quest'ultimo dato non è patognomonico, in quanto si riscontra anche in alcuni pazienti con dermatite atopica severa.

DEFICIT DEL COMPLEMENTO

Sono stati descritti deficit di tutti i componenti solubili del complemento, tranne del fattore B.⁵⁶ I difetti dei componenti precoci della via classica di attivazione del complemento (C1q, C1r, C2, e C4) portano ad una patologia infiammatoria autoimmune che somiglia al lupus eritematoso sistemico. I deficit dei componenti terminali del complemento da C5 a C8 sono stati associati sia con infezioni ricorrenti da *N. meningitidis* che con la malattia reumatica. Alcuni pazienti con deficit di C9 sono sani, mentre è stato segnalato che alcuni presentano infezioni ricorrenti da *Neisseria*, come i pazienti privi dei componenti fattore D e properidina della via alternativa del complemento. L'assenza del componente centrale del complemento C3, insieme alle proteine regolatorie, fattore I e fattore H, è stata associata con complicazioni infettive ricorrenti simili a quelle osservate nei deficit di anticorpi. Anche la glomerulonefrite membranoproliferativa e la vasculite sono state associate con il difetto di C3. Queste caratteristiche riflettono una alterata clearance degli immunocomplessi, che dipende dal C3. Il difetto del fattore H è associato anche con la sindrome emolitica uremica familiare recidivante.⁵⁷

Esiste una terza via di attivazione del complemento, la via della lectina, iniziata dalla lectina legante il mannosio (MBL).⁵⁸ In alcuni pazienti, il deficit di MBL sembra essere associato con infezioni ricorrenti. I determinanti per la diagnosi di deficit clinicamente significativo di MBL non sono del tutto chiari.

Il deficit dell'inibitore esterasico del C1, un regolatore del complemento, non provoca immunodeficienza ma angioedema ereditario.⁵⁹ Questo disordine presenta una ereditarietà autosomica dominante ed è caratterizzato da attacchi ricorrenti di edema subepiteliale che interessa i genitali e le estremità, la mucosa intestinale, o la laringe e può essere fatale.

APPROCCIO CLINICO AD UNA SOSPETTA IMMUNODEFICIENZA

Storia

Come citato sopra, la maggioranza dei pazienti con immunodeficienza primaria giunge all'attenzione del medico a causa di una storia di infezioni con frequenza, cronicità o severità non usuale. Dovrebbe essere rivolta particolare attenzione alla storia familiare di episodi infettivi o di morti precoci. Dovrebbe essere studiata anche la possibilità di consanguineità.

Esame fisico

L'esame fisico di un paziente con immunodeficienza può fornire importanti indizi per la diagnosi. Alcuni esempi sono l'assenza di tonsille e di altro tessuto linfoide nell'agammaglobulinemia legata al cromosoma X, l'albinismo parziale della sindrome di Chediak-Higashi, le teleangectasie oculari precoci nella A-T e così via. A parte alcuni reperti, l'esame fisico più comunemente rivela semplicemente la presenza o le sequele di processi infettivi. Queste possono anche guidare il clinico verso un gruppo di possibilità diagnostiche piuttosto che un altro (ad es otite media o polmonite versus eczema sovrainfetto).

Valutazione radiologica

Anche queste indagini possono essere più comunemente richieste per studiare o documentare la progressione delle complicanze infettive dell'immunodeficienza. Comunque vi possono essere specifici reperti che possono aiutare nelle considerazioni diagnostiche precoci. Esempi includono: assenza dell'ombra timica nella radiografia del torace di un neonato con SCID o sindrome di DiGeorge completa, caratteristiche costole anteriori svasate e altri rilievi nell'ADAD, presenza di pneumatocele nella sindrome da iper-IgE, e così via.

Valutazione di laboratorio nell'immunodeficienza

La chiave per la diagnosi definitiva di immunodeficienza risiede nel laboratorio di immunologia clinica. Sebbene in molti casi la diagnosi definitiva sia possibile senza l'identificazione della specifica lesione molecolare (cioè la natura dell'alterazione genica nell'individuo), si dovrebbe cercare ove possibile di accumulare dati ulteriori riguardanti le correlazioni genotipo/fenotipo e di comprendere meglio, eventualmente, altre caratteristiche dell'individuo che possono modificare l'espressione di un particolare difetto genico. Dettagli riguardanti i meto-

di usati per valutare ognuno di questi meccanismi immuni si trovano nel capitolo 24.

La valutazione del deficit di anticorpi dovrebbe includere sia la determinazione delle classi di Ig sieriche (IgG, IgA, IgM) e delle sottoclassi di IgG che i livelli di anticorpi specifici per antigeni proteici e polisaccaridici. Questo perché questi tipi di antigeni vengono in parte trattati differentemente dal sistema immunitario, ed è possibile avere una immunodeficienza clinica con un difetto selettivo nella produzione di anticorpi per antigeni polisaccaridici, mentre le risposte agli antigeni proteici rimangono intatte (vedi sopra, SADNI).

Da notare che, come risultato della coniugazione di alcuni polisaccaridi batterici con proteine vettrici, la misurazione degli anticorpi per antigeni polisaccaridici in alcuni individui può essere indicativa di risposte ad antigeni proteici. Questa sarebbe la motivazione per la misurazione di anticorpi per poliribosio fosfato (PRP) nel ricevente di vaccino coniugato di *H influenzae* tipo B o di anticorpi per polisaccaridi capsulari sierotipo-specifici nel ricevente di un vaccino coniugato pneumococcico. La produzione di isoemoagglutinine sieriche specifiche per gli antigeni AB0 del gruppo sanguigno si verifica in risposta ai polisaccaridi della flora intestinale, e questi anticorpi possono servire come indicatori attendibili di risposta immunitaria ai polisaccaridi in individui non immunizzati a partire dai 6 mesi di età.

Riguardo agli antigeni proteici, vengono testati di routine gli anticorpi per i tossoidi di tetano e difterite. Possono essere misurate anche le risposte anticorpali contro altri tipi di vaccini quali il morbillo o la varicella, ma la sierconversione può non essere così costante nella popolazione generale. Da notare che lo stimolo per la produzione di anticorpi in un individuo può verificarsi anche tramite infezione naturale. Anche la determinazione del numero di cellule B può essere importante per la diagnosi di deficit di anticorpi. La quasi assenza di cellule B potrebbe essere indicativa di una forma di agammaglobulinemia, mentre un numero normale di cellule B con basse IgG potrebbe ad esempio concordare con la CVID o la XHIGM.

Se il pattern di infezioni o di altre caratteristiche (ad es. l'assenza dell'ombra timica) suggerisce la possibilità di una immunodeficienza cellulare o combinata, la valutazione sarà estesa, oltre la determinazione dello stato immunitario umorale, ad includere anche la determinazione del numero e della funzione delle cellule T (vedi Capitolo 24). Se le caratteristiche cliniche del paziente sono compatibili con disordini delle cellule fagocitarie o del sistema del complemento, è indicata una valutazione specifica di ognuna di queste aree (vedi anche Capitolo 24).

Identificazione del portatore e diagnosi prenatale

La grande maggioranza dei pazienti con immunodeficienza primitiva con ereditarietà autosomica recessiva sono omozigoti o eterozigoti composti per il difetto genetico sottostante, e i genitori sono portatori eterozigoti. D'altro canto, da un terzo alla metà dei casi di immunodeficienze legate al cromosoma X insorgono come nuove mutazioni.⁶⁰ Quindi l'identificazione del portatore assume grande importanza per una appro-

priata consulenza genetica. L'analisi del pattern di inattivazione del cromosoma X (lyonizzazione) può essere informativa a questo riguardo. Ad esempio in una donna portatrice eterozigote di SCID legata al cromosoma X, le cellule T non possono svilupparsi dalle cellule staminali ematiche che hanno lyonizzato il cromosoma X portatore della copia funzionale del gene IL2RG. Come risultato, tutte le cellule T avranno lo stesso cromosoma X attivo.⁶¹ La stessa cosa è vera per le cellule B nei portatori di XLA⁶² e per tutti i leucociti nei portatori di WAS.⁶³

L'analisi fenotipica e funzionale dei linfociti può essere effettuata su campioni di sangue di cordone ombelicale durante la gravidanza per porre diagnosi di immunodeficienze in gravidanza a rischio. Se sono noti il difetto genico o i markers del DNA cromosomico associati, possono essere applicati metodi genetici molecolari. Se viene fatta la scelta di proseguire la gravidanza, si possono fare tentativi per correggere il difetto prima della nascita, come il trapianto di midollo osseo o di cellule staminali.⁶⁴

TERAPIA DELL'IMMUNODEFICIENZA

Le infusioni regolari di immunoglobuline umane purificate per via sottocutanea o endovenosa (IVIG) sono il caposaldo della terapia per le agammaglobulinemie e l'immunodeficienza comune variabile.^{65,66} Le IVIG sono un importante componente della terapia per le immunodeficienze combinate quali WAS, A-T e sindrome da iper-IgM. Le IVIG dovrebbero essere somministrate a tutti i pazienti con SCID mentre essi vengono preparati per la terapia definitiva.

Molti pazienti con immunodeficienza anticorpale o combinata, richiederanno periodici trattamenti con antibiotici per le infezioni batteriche acute; la sinusite può essere particolarmente problematica.

Talora, la risposta alle IVIG non è completa, e può essere necessario mantenere anche una terapia antibiotica. IGAD, IGGSD, THI e SADNI possono frequentemente essere trattate inizialmente con una profilassi antibiotica. Le IVIG possono essere riservate ai pazienti più difficili per i quali la profilassi antibiotica non è sufficiente. Anche alcuni dei pazienti con questi disordini possono richiedere un trattamento sia con IVIG che con antibiotici.

Non esistono terapie sostitutive per i deficit cellulari che siano efficaci nella routine. Il trattamento è focalizzato principalmente su una terapia aggressiva delle complicanze infettive, quando si verificano, e sul trattamento preventivo quando è appropriato.⁴⁹ Alcuni pazienti con deficit parziale del recettore dell'interferon- γ o con difetti dell'IL-12 o dell'IL-12R possono beneficiare dell'iniezione sottocutanea di IFN- γ .

Come citato prima, la terapia sostitutiva con IVIG è indicata per il trattamento della componente di deficit anticorpale delle immunodeficienze combinate. Comunque questa terapia da sola non è sufficiente. Per decenni il trapianto di midollo osseo è rimasto l'unica speranza per la sopravvivenza a lungo termine in pazienti con SCID.^{22,67} Questo è ancora vero per la maggioranza di

queste patologie. In relazione all'età al momento del trapianto, al tipo di SCID, e al tipo di donatore (identico vs aploidentico vs non correlato), i successi vanno dal 50% circa al 100% dei casi. Il primo vero successo della terapia genica umana è stato recentemente riportato con la correzione di diversi pazienti con SCID legata al cromosoma X, tramite la trasduzione e la reinfusione di cellule staminali con una copia funzionale del gene γ_C .⁶⁸

La sostituzione enzimatica può essere usata per alcuni pazienti con ADAD. Può essere somministrata per via sottocutanea ADA bovina coniugata con polietilenglicole. La parziale ricostituzione della funzione delle cellule T può essere ottenuta dopo pochi mesi di terapia. Questo tipo di trattamento è attualmente meno utilizzato, grazie alla generale disponibilità del trapianto di midollo osseo. La terapia con IVIG è di routine nella WAS e la splenectomia è indicata in caso di trombocitopenia problematica.³⁷ La WAS è curabile anche con il trapianto di midollo osseo.

Nella sindrome da iper-IgM legata al cromosoma X è indicata la terapia sostitutiva con IVIG e la profilassi per PCP.⁴³ Per il trattamento della neutropenia può essere usato il G-CSF, ma la risposta è variabile. Anche la XHIGM è curabile con il trapianto di midollo osseo.

Nella sindrome di DiGeorge, poiché non c'è il timo nel quale le cellule staminali trapiantate possano svilupparsi in cellule T, l'unica cura possibile è il trapianto di timo o l'infusione di cellule T mature compatibili.⁶⁹

La A-T non è suscettibile al trapianto di midollo osseo a causa della tossicità della mieloablazione;³⁸ è possibile solo un trattamento di supporto.

Alcuni pazienti con CGD sono stati trattati con successo con trapianto di midollo osseo.⁴⁹ Gli altri possono essere trattati con una attenta igiene, con profilassi antibiotica e con iniezione di IFN- γ .

I deficit del complemento possono essere difficili da trattare. I fenomeni autoimmuni che si possono verificare possono essere resistenti alla terapia immunosoppressiva. I pazienti dovrebbero essere immunizzati in modo completo verso i patogeni comuni, e le patologie febbrili dovrebbero essere studiate e trattate aggressivamente, soprattutto tenendo presente l'elevata possibilità di infezioni batteriche.⁵⁶ Se i pazienti presentano infezioni frequenti, deve essere considerata la profilassi antibiotica.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Negli ultimi decenni si è assistito ad un esplosivo avanzamento nelle conoscenze molecolari di molte immunodeficienze precedentemente misteriose. Abbiamo acquisito un patrimonio di conoscenze sulla biologia del sistema immunitario che hanno aperto la strada a nuove terapie non solo per le immunodeficienze stesse ma anche per una varietà di disordini legati all'autoimmunità, all'infiammazione e ai trapianti. La velocità del progresso sta aumentando e il prossimo decennio probabilmente porterà ad una conoscenza più profonda dell'influenza dell'ambiente e di un gran numero di polimorfismi di geni immunologicamente importanti nell'espressione di queste malattie.

BIBLIOGRAFIA

1. Matamoros Flori N, Mila Llambi J, Espanol Boren T, Raga Borja S, Fontan Casariego G. Primary immunodeficiency syndrome in Spain: first report of the National Registry in Children and Adults. *J Clin Immunol* 1997;17:333-9.
2. Ryser O, Morell A, Hitzig WH. Primary immunodeficiencies in Switzerland: first report of the national registry in adults and children. *J Clin Immunol* 1988;8:479-85.
3. Rosen FS, Wedgwood RJP, Eibl M, Fischer A, Aiuti F, Notarangelo L, et al. Primary immunodeficiency diseases: report of a WHO scientific group. *Clin Exp Immunol* 1997;109(Suppl 1):1-28.
4. Conley ME, Rohrer J, Rapalus L, Boylin EC, Minegishi Y. Defects in early B-cell development: comparing the consequences of abnormalities in pre-BCR signaling in the human and the mouse. *Immunol Rev* 2000;178:75-90.
5. Durandy A, Honjo T. Human genetic defects in class-switch recombination (hyper-IgM syndromes). *Curr Opin Immunol* 2001;13:543-8.
6. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol* 1999;93:190-7.
7. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol* 1999;92:34-48.
8. Schroeder HW Jr, Zhu ZB, March RE, Campbell RD, Berney SM, Nedospasov SA, et al. Susceptibility locus for IgA deficiency and common variable immunodeficiency in the HLA-DR3, -B8, -A1 haplotypes. *Mol Med* 1998;4:72-86.
9. Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2001;21:303-9.
10. Koskinen S. Long-term follow-up of health in blood donors with primary selective IgA deficiency. *J Clin Immunol* 1996;16:165-70.
11. Sandler SG, Trimble J, Mallory DM. Coexistent IgG2 and IgA deficiencies in blood donors. *Transfusion* 1996;36:256-8.
12. Ekdahl K, Braconier JH, Svanborg C. Immunoglobulin deficiencies and impaired immune response to polysaccharide antigens in adult patients with recurrent community-acquired pneumonia. *Scand J Infect Dis* 1997;29:401-7.
13. Herrod HG. Follow-up of pediatric patients with recurrent infection and mild serologic immune abnormalities. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;79:460-4.
14. Pan Q, Hammarstrom L. Molecular basis of IgG subclass deficiency. *Immunol Rev* 2000;178:99-110.
15. Kowalczyk D, Mytar B, Zembala M. Cytokine production in transient hypogammaglobulinemia and isolated IgA deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:556-62.
16. Antall PM, Meyerson H, Kaplan D, Venglaric J, Hostoffer RW. Selective antipolysaccharide antibody deficiency associated with peripheral blood CD5+ B-cell predominance. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:637-41.
17. Javier FC III, Moore CM, Sorensen RU. Distribution of primary immunodeficiency diseases diagnosed in a pediatric tertiary hospital. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;84:25-30.
18. Doffinger R, Dupuis S, Picard C, Fieschi C, Feinberg J, Barcenas-Morales G, et al. Inherited disorders of IL-12- and IFN-gamma-mediated immunity: a molecular genetics update. *Mol Immunol* 2002;38:903-9.
19. Aaltonen J, Bjorsen P. Cloning of the APECED gene provides new insight into human autoimmunity. *Ann Med* 1999;31:111-6.
20. de Vries E, Koene HR, Vossen JM, Gratama JW, von dem Borne AE, Waaijer JL, et al. Identification of an unusual Fc gamma receptor IIIa (CD16) on natural killer cells in a patient with recurrent infections. *Blood* 1996;88:3022-7.
21. Fischer A. Severe combined immunodeficiencies (SCID). *Clin Exp Immunol* 2000;122:143-9.
22. Buckley RH, Schiff RI, Schiff SE, Markert ML, Williams LW, Harville TO, et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr* 1997;130:378-87.
23. Asao H, Okuyama C, Kumaki S, Ishii N, Tsuchiya S, Foster D, et al. Cutting edge: the common gamma-chain is an indispensable subunit of the IL-21 receptor complex. *J Immunol* 2001;167:1-5.
24. Notarangelo LD, Giliani S, Mazza C, Mella P, Savoldi G, Rodriguez-Perez C, et al. Of genes and phenotypes: the immunological and molecular spectrum of combined immune deficiency: defects of the gamma(c)-JAK3 signaling pathway as a model. *Immunol Rev* 2000;178:39-48.
25. Roifman CM. Human IL-2 receptor alpha chain deficiency. *Pediatr Res* 2000;48:6-11.
26. Roifman CM, Zhang J, Chitayat D, Sharfe N. A partial deficiency of interleukin-7R alpha is sufficient to abrogate T-cell development and cause severe combined immunodeficiency. *Blood* 2000;96:2803-7.
27. Villa A, Sobacchi C, Notarangelo LD, Bozzi F, Abinun M, Abrahamsen TG, et al. V(D)J recombination defects in lymphocytes due to RAG mutations: severe immunodeficiency with a spectrum of clinical presentations. *Blood* 2001;97:81-8.
28. Markert ML. Purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Immunodef Rev* 1991;3:45-81.
29. Tchilian EZ, Wallace DL, Wells RS, Flower DR, Morgan G, Beverley PC. A deletion in the gene encoding the CD45 antigen in a patient with SCID. *J Immunol* 2001;166:1308-13.
30. Thoenes G, Le Deist F, Fischer A, Griscelli C, Lisowska-Grospierre B. Immunodeficiency associated with defective expression of the T-cell receptor-CD3 complex. *N Engl J Med* 1990;322:1399.
31. Arnaiz-Villena A, Timon M, Corell A, Perez-Aciego P, Martin-Villa JM, Regueiro JR. Primary immunodeficiency caused by mutations in the gene encoding the CD3-gamma subunit of the T-lymphocyte receptor. *N Engl J Med* 1992;327:529-33.
32. Sharfe N, Arpaia E, Roifman CM. CD8 lymphocytopenia caused by ZAP-70 deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am* 2000;20:77-95.
33. Gadola SD, Moins-Teisserenc HT, Trowsdale J, Gross WL, Cerundolo V. TAP deficiency syndrome. *Clin Exp Immunol* 2000;121:173-8.
34. Reith W, Mach B. The bare lymphocyte syndrome and the regulation of MHC expression. *Annu Rev Immunol* 2001;19:331-73.
35. Moshous D, Callebaut I, de Chasseval R, Corneo B, Cavazzana-Calvo M, Le Deist F, et al. Artemis, a novel DNA double-strand break repair/V(D)J recombination protein, is mutated in human severe combined immune deficiency. *Cell* 2001;105:177-86.
36. Pignata C, Gaetaniello L, Masci AM, Frank J, Christiano A, Matrecano E, et al. Human equivalent of the mouse Nude/SCID phenotype: long-term evaluation of immunologic reconstitution after bone marrow transplantation. *Blood* 2001;97:880-5.

37. Stewart DM, Tian L, Nelson DL. Linking cellular activation to cytoskeletal reorganization: Wiskott-Aldrich syndrome as a model. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:525-33.
38. Xu Y. ATM in lymphoid development and tumorigenesis. *Adv Immunol* 1999;72:179-89.
39. Wu X, Ranganathan V, Weisman DS, Heine WF, Ciccone DN, O'Neill TB, et al. ATM phosphorylation of Nijmegen breakage syndrome protein is required in a DNA damage response. *Nature* 2000;405:477-82.
40. Gatti RA. The inherited basis of human radiosensitivity. *Acta Oncol* 2001;40:702-11.
41. Sullivan KE. DiGeorge syndrome/chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001;1:438-44.
42. Lindsay EA, Vitelli F, Su H, Morishima M, Huynh T, Pramparo T, et al. Tbx1 haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. *Nature* 2001;410:97-101.
43. Bonilla FA, Geha RS. CD154 deficiency and related syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:65-89.
44. Ferrari S, Giliani S, Insalaco A, Al-Ghonaum A, Sorensen AR, Loubser M, et al. Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:12614-9.
45. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998;16:225-60.
46. Orange JS, Brodeur SR, Jain A, Bonilla FA, Schneider LC, Kretschmer R, et al. Deficient natural killer cell cytotoxicity in patients with IKKgamma/NEMO mutations. *J Clin Invest* 2002;109:1501-9.
47. Morra M, Howie D, Grande MS, Sayos J, Wang N, Wu C, et al. X-linked lymphoproliferative disease: a progressive immunodeficiency. *Annu Rev Immunol* 2001;19:657-82.
48. Morra M, Silander O, Calpe S, Choi M, Oettgen H, Myers L, et al. Alterations of the X-linked lymphoproliferative disease gene SH2D1A in common variable immunodeficiency syndrome. *Blood* 2001;98:1321-5.
49. Johnston RB Jr. Clinical aspects of chronic granulomatous disease. *Curr Opin Hematol* 2001;8:17-22.
50. Huizing M, Anikster Y, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome and Chediak-Higashi syndrome: disorders of vesicle formation and trafficking. *Thromb Haemost* 2001;86:233-45.
51. Bunting M, Harris ES, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Leukocyte adhesion deficiency syndromes: adhesion and tethering defects involving beta 2 integrins and selectin ligands. *Curr Opin Hematol* 2002;9:30-5.
52. Gombart AF, Koeffler HP. Neutrophil specific granule deficiency and mutations in the gene encoding transcription factor C/EBP(epsilon). *Curr Opin Hematol* 2002;9:36-42.
53. Dale DC, Bolyard AA, Aprikyan A. Cyclic neutropenia. *Semin Hematol* 2002;39:89-94.
54. Zeidler C, Welte K. Kostmann syndrome and severe congenital neutropenia. *Semin Hematol* 2002;39:82-8.
55. Grimbacher B, Holland SM, Gallin JI, Greenberg F, Hill SC, Malech HL, et al. Hyper-IgE syndrome with recurrent infections: an autosomal dominant multisystem disorder. *N Engl J Med* 1999;340:692-702.
56. O'Neil KM. Complement deficiency. *Clin Rev Allergy Immunol* 2000; 19:83-108.
57. Taylor CM. Hemolytic-uremic syndrome and complement factor H deficiency: clinical aspects. *Semin Thromb Hemost* 2001;27:185-90.
58. Jack DL, Klein NJ, Turner MW. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunol Rev* 2001;180:86-99.
59. Nzeako UC, Frigas E, Tremaine WJ. Hereditary angioedema: a broad review for clinicians. *Arch Intern Med* 2001;161:2417-29.
60. Conley MA, Buckley RH, Hong R, Guerra-Hanson C, Roifman CM, Brochstein JA, et al. X-linked severe combined immunodeficiency: diagnosis in males with sporadic severe combined immunodeficiency and clarification of clinical findings. *J Clin Invest* 1990;85:1548-54.
61. Puck JM, Nussbaum RL, Conley ME. Carrier detection in X-linked severe combined immunodeficiency based on patterns of X chromosome inactivation. *J Clin Invest* 1987;79:1395-400.
62. Moschese V, Orlandi P, Plebani A, Arvanitidis K, Fiorini M, Speletas M, et al. X-chromosome inactivation and mutation pattern in the Bruton's tyrosine kinase gene in patients with X-linked agammaglobulinemia: Italian XLA Collaborative Group. *Mol Med* 2000;6:104-13.
63. Greer WLM, Kwong P, Peacocke M, Ip P. X-Chromosome inactivation in the Wiskott-Aldrich syndrome: a marker for detection of the carrier state and identification of cell lineages expressing the gene defect. *Genomics* 1989;4:60-7.
64. Flake AW, Roncarolo MG, Puck JM, Almeida-Porada G, Evans MI, Johnson MP, et al. Treatment of X-linked severe combined immunodeficiency by in utero transplantation of paternal bone marrow. *N Engl J Med* 1996;335:1806-10.
65. Busse PJ, Razvi S, Cunningham-Rundles C. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the prevention of pneumonia in patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:1001-4.
66. Quartier P, Debre M, De Blic J, de Sauverzac R, Sayegh N, Jabado N, et al. In childhood agammaglobulinemia: a retrospective survey of 31 patients. *J Pediatr* 1999;134:589-96.
67. Bertrand Y, Landais P, Friedrich W, Gerritsen B, Morgan G, Fasth A, et al. Influence of severe combined immunodeficiency phenotype on the outcome of HLA non-identical, T-cell-depleted bone marrow transplantation: a retrospective European survey from the European group for bone marrow transplantation and the European society for immunodeficiency. *J Pediatr* 1999;134:740-8.
68. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, Hue C, De Villartay JP, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med* 2002; 346:1185-93.
69. Markert ML, Boeck A, Hale LP, Kloster AL, McLaughlin TM, Batchvarova MN, et al. Transplantation of thymus tissue in complete DiGeorge syndrome. *N Engl J Med* 1999;341:1180-9.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

In questi anni il capitolo delle immunodeficienze primarie (PID) si è arricchito di molti aggiornamenti e conoscenze per:

1. la descrizione/riconoscimento di nuove mutazioni genetiche alla base di PID già note e/o non descritte in precedenza
2. lo sviluppo di nuove terapie sulla base dei diversi meccanismi molecolari o genetici responsabili delle PID
3. il miglioramento nelle procedure diagnostiche e di screening delle PID, lo sviluppo di nuove procedure diagnostiche e di screening che consentano anche il rapido inizio di efficaci programmi di trattamento, con molti articoli dedicati all'argomento nel corso degli ultimi 5 anni (numeri speciali di Journal of Allergy and Clinical Immunology nell'aprile del 2004 e del 2006, numeri dedicati alla diagnostica di laboratorio nell'agosto 2004, alla relazione tra immunità e infezioni nell'agosto 2005, alla terapia con immunoglobuline nell'ottobre 2005, ai T regolatori nel novembre 2005 ed ai meccanismi di difesa verso patogeni nel luglio 2007) e aggiornamenti annuali. Ogni due anni, infatti, il gruppo di esperti dedicati allo studio delle PID si riunisce per stabilire la migliore classificazione e definizione di queste patologie sulla base delle novità fisiopatologiche molecolari, cellulari o genetiche (Budapest 2005, Jackson Hole-Wyoming 2007).

Rispetto a quanto descritto nel capitolo, la classificazione attualmente proposta (RS Geha et al, JACI 2007; 120:776) pur non discostandosi in maniera significativa da quanto già noto, propone alcune interessanti novità suddividendo, dunque, le PID in:

- ID combinate a carico dei linfociti B e T (SCID)
- ID prevalentemente anticorpali
- Altre sindromi da ID ben definite
- Malattie da disregolazione immune
- Difetti congeniti del numero e/o della funzione fagocitaria
- Difetti dell'immunità innata
- Malattie autoinfiammatorie
- Deficienze complementari

proprio sulla base delle nuove conoscenze su:

- a. meccanismi differenziativi e sviluppo delle sottopopolazioni T (Th1, Th2, Th17),
- b. regolazione della tolleranza centrale e periferica
- c. geni coinvolti nella ricombinazione V(D)J, nella ricombinazione per lo *switch* isotipico e nei meccanismi riparativi del DNA
- d. meccanismi di citotossicità
- e. biologia delle cellule NK
- f. segnali di attivazione cellulare.

Diciassette diverse ID combinate sono attualmente conosciute. Come già noto, esse sono generalmente caratterizzate da assenza o marcata riduzione dei linfociti T e B, ma, in alcune forme, essi (T, B o entrambi) possono essere anche numericamente normali ma funzionalmente alterati per alterazioni recettoriali. Il riconoscimento dei difetti genetici responsabili della loro genesi e la scoperta di nuovi casi ha consentito di classificare in maniera parzialmente diversa rispetto al passato le PID combinate, con la distinzione in forme combinate caratterizzate da un insieme variabile di deficit genici e molecolari e in sindromi fenotipi correnti ben definite e caratterizzate.

	PID combinate T-B	Altre PID combinate ben definite
T ⁺ B ⁺ SCID	Deficit di γ c, JAK3, IL-7R α , CD45, CD38/CD3 ϵ /CD3 ζ ,	WAS
T ⁺ B ⁻ SCID	Deficit di RAG1/2, (Artemis), ADA, Disgenesia reticolare	DCLRE1C
	Deficit di riparazione del DNA	
Sn. Di Omenn		Atassia-teleangectasia e similari
Deficit di DNA ligasi IV		Sindrome della rottura di Nijmegen
Deficit di Cernunnos		Sindrome di Bloom
Deficit di CD40		Difetti timici, sindrome di Di George
Deficit di CD40L		Displasie Immuno-ossea
Deficit di PNP		Ipoplasia cartilagine-capelli
Deficit di CD3 γ		Sindrome di Schimke
Deficit di CD8		Sindromi da IperIgE (HIES) e loro varianti
Deficit di Zap-70		Candidiasi muco-cutanee croniche
Deficit di canali del Calcio		Malattia veno-occlusiva epatica con ID
Deficit di MHC I		Sindrome di Hoyerall-Hreidarsson
Deficit di MHC II		
Deficit di CD25		
Deficit di STAT5b		
Deficit di FOXN1		

Le ID a prevalente interessamento del compartimento umorale si sono arricchite di alcune entità, in modo particolare per il riconoscimento di mutazioni che sono alla base del difetto. Anche se nella maggior parte dei casi, la reale natura della forma più comune, l'immunodeficienza comune variabile (IDCV), non è stata correlata a difetti genetici ben riconosciuti, nella classificazione proposta nel 2007 emergono tre forme caratterizzate da mutazioni nei geni che codificano per CD19, ICOS e SH2D1A (legata al cromosoma X, considerata tra le forme combinate). Le mutazioni a carico di CD40 e CD40L, classificabili anche tra le forme combinate, si estrinsecano per lo più con il deficit di IgG ed IgA, ma aumento di IgM e variabili proporzioni dei linfociti B (normali o aumentati).

PID da deficit anticorpale	Sottotipi	Gene mutato
PID con deficit grave di tutti gli isotipi e linfociti B assenti o diminuiti	Deficit di BTK (Bruton) Deficit di catene pesanti μ Deficit di $\lambda 5$ Deficit di Ig α Deficit di Igb Deficit di BLNK Timoma con immunodeficienza Mielodisplasia	Bruton tirosin-chinasi Catena pesante μ $\lambda 5$ Ig α Ig β BLNK — Monosomia 7, trisomia 8, discheratosi congenita TACI, BAFF, Msh5, polimorfismi
IDCV	Deficit di ICOS Deficit di CD19 Sindrome linfoproliferativa legata al cromosoma X	ICOS CD19 SH2D1A
Riduzione severa di IgA ed IgG con IgM normali/elevate e normali linfociti B	Deficit di CD40L Deficit di CD40 Deficit di citidin-deaminasi Deficit di UNG	CD40L (TNFSF5 o CD154) CD40 (TNFRSF5) AICDA UNG
Deficit isotipico o di catene leggere con normali livelli di linfociti B	Delezione delle catene pesanti Ig Deficienza di catene k Deficit isolato di sottoclassi IgG Deficit di IgA con deficit fi sottoclasse IgG Deficit selettivo di IgA	Delezione cromosomica 14q32 Gene per la porzione costante k — — —
Deficit di anticorpi specifici (con Ig normali e normale livello di linfociti B)		—
Ipgammaglobulinemia transitoria dell'infanzia		—

La classificazione delle PID a carico dei fagociti e dell'immunità innata ha visto in questi anni aumentare notevolmente il numero di patologie riconosciute, sia per il sempre maggior interesse nei confronti dell'immunità innata che per la descrizione di sempre nuovi recettori attraverso i quali le cellule presentanti riconoscono i patogeni e per l'identificazione delle vie segnalatorie di sistemi di riconoscimento.

PPID a carico dei fagociti	Funzione alterata	Difetto genico
Neutropenia congenita severa	Differenziazione mieloide	ELA2, GF11, G-CSFR
Malattia di Kostmann	Differenziazione mieloide	HAX1
Neutropenia ciclica	?	ELA2
Neutropenia/mielodisplasia correlata al cromosoma X	?	WASP
Deficit di P14	Genesi dell'endosoma	MAPBP1P
Deficit di adesione leucocitaria (LAD) di tipo 1	Aderenza, rolling, chemotassi, endocitosi, citotossicità	ITGB2
Deficit di adesione leucocitaria (LAD) di tipo 2	Rolling, chemotassi	FUCT1, GDP-fucosio trasportatore
Deficit di adesione leucocitaria (LAD) di tipo 3	Aderenza	Cal DAG-GEF1
Deficit di Rac-2	Aderenza, motilità, produzione di radicali dell'ossigeno	RAC2
Deficit di β -actina	Motilità	ACTB
Periodontite localizzata giovanile	Chemotassi indotta da formil-peptide	FPR1
Sindrome di Papillon-Lefèvre	Chemotassi	CTSC
Deficit specifico di granuli	Chemotassi	C/EBPE
Sindrome di Shwachman-Diamond	Chemotassi	SBDS

Malattia granulomatosa cronica legata al cromosoma X	Killing	<i>CYBB</i>
Malattia granulomatosa cronica a trasmissione autosomica	Killing	<i>CYBA, NCF1, NCF2</i>
Deficit neutrofilo di G-6PD	Killing	<i>G-6PD</i>
Deficit di IL-12Rβ1 e IL-23Rβ1	Deficit di secrezione di IFN-γ	<i>IL-12Rβ1</i>
Deficit di IL-12p40	Deficit di secrezione di IFN-γ	<i>IL-12p40</i>
Deficit di IFN-γR1	Deficit di legame e segnalatorio di IFN-γ	<i>IFN-γR1</i>
Deficit di IFN-γR2	Deficit segnalatorio di IFN-γ	<i>IFN-γR2</i>
Deficit di STAT1 (2 forme)	Deficit segnalatorio di IFN-α/β/γ	
Deficit segnalatorio di IFN-γ <i>STAT1</i>		

PID dell'immunità innata	Cellule coinvolte	Deficit genico
EDA-ID	Linfociti + monociti	<i>NEMO</i>
EDA-ID	Linfociti + monociti	<i>IKα</i>
Deficit di IRAK4	Linfociti + monociti	<i>IRAK4</i>
WHIM	Granulociti + linfociti	<i>CXCR4</i>
Epidermodisplasia verruciforme	Cheratinociti e leucociti	<i>EVER1, EVER2</i>
Encefalite da HSV (2 forme)	Varie popolazioni	<i>UNC93B1, TLR3</i>

Infine, le malattie autoinfiammatorie, si sono arricchite in soli due anni (2005-2007) di un'ulteriore entità.

Malattie autoinfiammatorie	Funzione alterata	Difetto genico
Febbre mediterranea familiare	Granulociti maturi, monociti attivati dalla citochine	<i>MEFV</i>
TRAPS	PMN, monociti	<i>TNFRS1A</i>
Sindrome da IperIgD		<i>MVK</i>
Sindrome di Muckle-Wells	PMN, monociti	<i>C1AS1</i>
Sindrome autoinfiammatoria familiare da freddo	PMN, monociti	<i>C1AS1</i>
NOMID/CINCA	PMN, condrociti	<i>C1AS1</i>
Artrite piogenica sterile- ipoderma gangrenoso- acne sindrome	Tessuto emopoietico	<i>CD2BP1</i>
Sindrome di Blau	Monociti	<i>NOD2/CARD15</i>
Sindrome di Majeeed	Neutrofili, cellule del midollo osseo	<i>LP1N2</i>

Riferimenti bibliografici

Functional and molecular evaluation of lymphocytes

Fisher TA, Oliveira JB

August 2004 (Vol. 114, Issue 2, Pages 227-234)

Primary immunodeficiency diseases: An update

Notarangelo L, Casanova JL, Fisher A, Puck J, Rosen F, et al for the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases classification committee
September 2004 (Volume 114, Issue 3, Pages 677-687)

Primary immunodeficiencies: Looking backwards, looking forwards.

Shearer WT, Cunningham-Rundles C, Ochs HD

April 2004 (Volume 113, Issue 4, Pages 607-609)

From idiopathic infectious diseases to novel primary immunodeficiencies.

Casanova JL, Fieschi C, Bustamante J, Reichenbach J, Remus N, et al *pages* August 2005 (Vol. 116, Issue 2, Pages 239-474)

The discovery of gamma globulin therapy and primary immunodeficiency diseases at Boston Children's Hospital

Raif S. Geha

October 2005 (Vol. 116, Issue 4, Pages 937-940)

Role of regulatory cells in human diseases

Chatila T

November 2005 (Vol. 116, Issue 5, Pages 949-959)

*** Update on primary immunodeficiency diseases**

Bonilla FA, Geha RS.

Mini-Primer February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Supplement 2, Pages S435-441)

Molecular basis of common variable immunodeficiency

Castigli E, Geha RS

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages 723-966)

The last 80 years in primary immunodeficiencies: How far have we come, how far need we go?

Shearer WT, Fisher A

April 2006 (Volume 117, Issue 4, Pages 748-752)

Primary immunodeficiency or not? Making the correct diagnosis.

Buckley RH

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages 756-758)

An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. Meeting in Budapest, 2005.

Notarangelo L, Casanova JL, Conley ME, Chapel H, Fisher A, et al for the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases classification committee

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages 883-896)

Understanding how leading bacterial pathogens subvert innate immunity to reveal novel therapeutic targets

Victor Nizet

July 2007 (Vol. 120, Issue 1, Pages 13-22)

Primary immunodeficiency diseases: An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee

Geha RS, Notarangelo L, Casanova J-L, Chapel H, Conley ME, et al

October 2007 (Vol. 120, Issue 4, Pages 733-986)

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency

Leana Wen, John P Atkinson, Patricia C Giclas

April 2004 (Vol. 113, Issue 4, Pages 585-593)

Successes and risks of gene therapy in primary immunodeficiencies

Javier Chinen, Jennifer M Puck

April 2004 (Vol. 113, Issue 4, Pages 595-603)

Phagocyte immunodeficiencies and their infections

Sergio D Rosenzweig, Steven M Holland

April 2004 (Vol. 113, Issue 4, Pages 620-626)

Primary immunodeficiency diseases: An update

Luigi Notarangelo, Jean-Laurent Casanova, Alain Fischer, Jennifer Puck, Fred Rosen, Reinhard Seger, Raif Geha, For the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency diseases classification committee

September 2004 (Vol. 114, Issue 3, Pages 677-687)

*** Update on primary immunodeficiency diseases**

Francisco A. Bonilla, MD, PhD, Raif S. Geha, MD

Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, supplement 2, Pages S435-S441)

Use of intravenous immunoglobulin in human disease: A review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology

Jordan S. Orange, Elham M. Hossny, Catherine R. Weiler, Mark Ballow, Melvin Berger, et al

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages S525-S553)

Molecular basis of common variable immunodeficiency

Emanuela Castigli, Raif S. Geha

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages 740-746)

The Wiskott-Aldrich syndrome

Hans D. Ochs, MDa, Adrian J. Thrasher, MD, PhDa

April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages 725-738)

Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked: Forkhead box protein 3 mutations and lack of regulatory T cells

Troy R. Torgerson, Hans D. Ochs

October 2007 (Vol. 120, Issue 4, Pages 744-750)

13. Infezione da HIV-1

La presente trattazione si prefigge di fornire un prospetto essenziale sull'interazione dinamica tra HIV-1 e sistema immunitario, aspetto fondamentale per definire la patogenesi e il trattamento della Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS). L'infezione da HIV-1, causa dell'AIDS, è una pandemia mondiale con implicazioni profondamente negative sulla salute e sull'economia, in particolare nei paesi in via di sviluppo. L'HIV-1, trasmesso per via ematica e sessuale, ed evoluto dal virus dell'immunodeficienza della scimmia, infetta e si replica nei linfociti T helper e nei macrofagi, per l'ingresso nei quali utilizza la molecola CD4 come recettore principale ed un recettore per le chemochine come co-recettore.

L'immunodeficienza si verifica come risultato della progressiva deplezione delle cellule T CD4 indotta dal virus, che ha come conseguenza lo sviluppo di infezioni opportunistiche e neoplasie. In base al grado di immunodeficienza, è indicata la profilassi per le infezioni opportunistiche. La risposta immunitaria HIV-specifica appare in grado di controllare la replicazione virale e ritardare la progressione della malattia ma non di eliminare il virus. Il trattamento antiretrovirale si basa sull'impiego di farmaci inibitori dell'entrata del virus nella cellula bersaglio, della trascrittasi inversa e della proteasi virale. La terapia si è dimostrata efficace nel controllare la replicazione di HIV, nel favorire l'immunoricostituzione e nel ritardare la progressione della malattia, ma non è in grado di eradicare l'infezione, che dunque persiste cronicamente anche nei pazienti trattati. I farmaci antiretrovirali si sono dimostrati altamente attivi anche nel prevenire la trasmissione materno-fetale e nella profilassi post-esposizione. Diversi nuovi vaccini attualmente in via di sviluppo mirano sia a prevenire l'infezione che a ritardare la progressione della malattia.

L'EPIDEMIA GLOBALE DA HIV

Negli ultimi 20 anni l'infezione da HIV-1 e la sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) hanno assunto le proporzioni di una pandemia mondiale, con implicazioni politiche ed economiche che vanno oltre la salute pubblica. Nei paesi in via di sviluppo, dove l'epidemia è dilagante, l'impatto negativo della malattia dal punto di vista sociale ed economico non deve essere sottostimato.¹ Secondo la valutazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, oltre 40 milioni di persone nel mondo sono attualmente infette, e l'AIDS ha causato oltre 20 milioni di morti. La prevalenza dell'HIV-1 sta aumentando più rapidamente nell'Africa sub-Sahariana, dove nel 2001 è stato stimato che si siano verificate 4 milioni di nuove infezio-

Abbreviazioni utilizzate:

ART:	Terapia antiretrovirale
CTL:	Linfociti T citotossici
gp:	Glicoproteina
NNRTI:	Inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa
NRTI:	Inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa
PCP:	Polmonite <i>Pneumocystis carinii</i> /Pneumocystis carinii pneumonia
IP/PI:	Inibitore della proteasi/Protease Inhibitor
RT:	Trascrittasi inversa/Reverse transcriptase
SIV:	Virus dell'immunodeficienza della scimmia/Simian immunodeficiency virus

ni. L'incidenza sta inoltre aumentando in misura allarmante nel sud-est asiatico, dove è previsto per quest'anno oltre 1 milione di nuove infezioni. In generale, il virus si sta diffondendo più rapidamente nelle regioni geografiche in cui le infrastrutture per prevenire e trattare l'infezione sono più limitate. L'AIDS rappresenta la prima causa di morte in Africa e la quarta causa di morte in tutto il mondo. Un importante aspetto dell'epidemia è costituito dalle sue conseguenze sulla struttura familiare e sociale. L'infezione ha un impatto di grandi proporzioni sui giovani adulti e sui bambini, provocando la perdita, a causa della malattia o della morte, di quelle persone che possono dare il maggior contributo ai sistemi di supporto sociale e alla vitalità economica delle loro regioni.^{2,3}

L'HIV-1 è una malattia trasmessa per via ematica e sessuale. La trasmissione si verifica principalmente attraverso i rapporti sessuali attivi o passivi, la trasmissione verticale dalla madre al bambino o l'esposizione a sangue o a prodotti ematici infetti.⁴ Le persone a rischio più elevato sono quelle con partners sessuali infetti, i bambini nati da madri infette da HIV-1, i tossicodipendenti, che condividano aghi contaminati da HIV, e persone che ricevono prodotti ematici non adeguatamente controllati.⁵ L'AIDS è stato identificato per la prima volta negli Stati Uniti in un gruppo di omosessuali maschi che avevano sviluppato infezioni opportunistiche, principalmente la polmonite da *Pneumocystis Carinii* (PCP).⁶ In precedenza, la PCP veniva generalmente osservata in bambini affetti da immunodeficienza combinata severa e in pazienti con cancro, nei quali l'immunità era compromessa dalla chemioterapia.

Sfortunatamente, all'inizio dell'epidemia, molte delle stimate sociali associate alla malattia hanno ritardato l'attenzione degli enti preposti alla tutela della salute pubblica sulla necessità di esaminare approfonditamente le popolazioni a rischio negli Stati Uniti.^{7,8}

Traduzione italiana del testo di:

John W. Sleasman e Maureen Goodenow

J Allergy Clin Immunol 2003; 111:S582-92

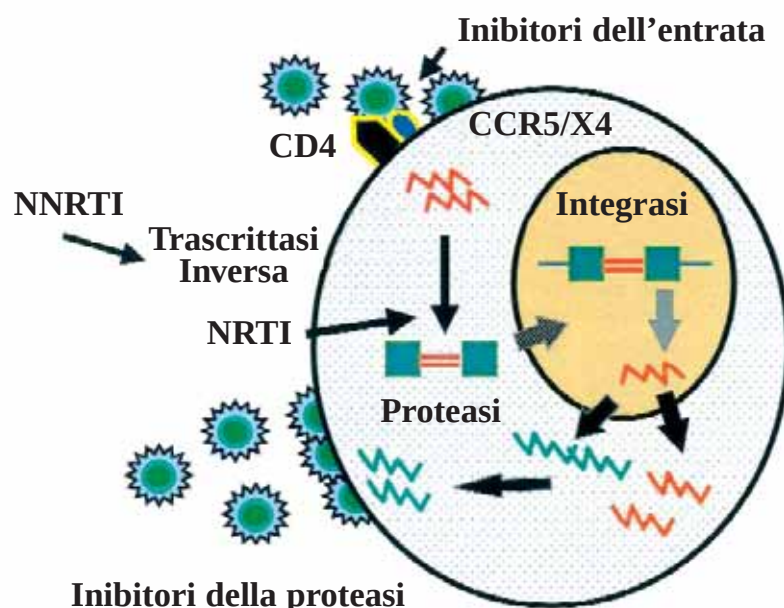


FIG 1. Ciclo vitale del virus HIV-1. Il primo passaggio nel ciclo vitale del virus è l'adesione della gp120 alla molecola CD4 sulla superficie delle cellule T helper o dei macrofagi, seguito dal legame al corecettore per il virus, CCR5 o CXCR4. Gli inibitori dell'entrata hanno lo scopo di bloccare l'attacco del virus alla cellula bersaglio. Dopo l'adesione, l'RNA virale entra nella cellula ed è trascritto in DNA a doppia catena ad opera della RT. Gli NNRTI si legano direttamente all'enzima per inibirne la funzione, mentre gli NRTI competono con i nucleotidi endogeni per completare la catena di DNA. Dopo la trascrizione inversa, il DNA provirale entra nel nucleo e viene integrato nel DNA ospite, grazie all'azione dell'enzima virale integrasi. La replicazione virale inizia con la trascrizione del DNA provirale in RNA genomico e mRNA, quest'ultimo tradotto in proteine virali. La proteasi di HIV cliva le poliproteine virali in peptidi funzionali durante il processo di assemblaggio e liberazione del virus. Gli IP bloccano il clivaggio, dando luogo a virioni non vitali.

Origine dell'HIV-1

HIV-1 è un retrovirus del sottogruppo dei lentivirus, molto probabilmente evolutosi dal virus dell'immunodeficienza delle scimmie (SIV), passando dai suoi ospiti principali (scimpanzè) agli esseri umani nella seconda metà del ventesimo secolo.^{9,10}

I lentivirus infettano molte specie differenti, con virulenza variabile. SIV possiede numerose varianti genetiche ed infetta diverse specie di scimmie. Analogamente, ci sono due ceppi di HIV attualmente riconosciuti, HIV-1 e HIV-2. HIV-2 è più strettamente correlato a SIV-1 ed è meno comune e meno virulento di HIV-1, la principale causa di AIDS nel mondo.¹¹

Ci sono molteplici gruppi e sottotipi di HIV-1, con differenti distribuzioni geografiche in relazione alla loro origine. Il gruppo M e i suoi sottotipi da A a J sono i più diffusi nel mondo, ma recentemente sono stati identificati due nuovi gruppi, N e O, in Africa e nell'Europa dell'est.¹²

I sottotipi più comuni nel gruppo M sono: B, che è il sottotipo predominante in America del nord, in Europa, in parte dell'America del sud e in India; C, che si trova prevalentemente nell'Africa sub-Sahariana ed E, che si rileva prevalentemente in Asia sud-orientale.

Ogni sottotipo è epidemiologicamente ed antigenicamente distinto, un aspetto che può avere implicazioni nello sviluppo di strategie vaccinali future.

VIROLOGIA DELL'HIV-1

Struttura ed organizzazione genetica dell'HIV-1

La conoscenza del ciclo vitale del virus e della sua regolazione a livello genico è essenziale per comprendere la storia naturale dell'infezione da HIV-1 e per sviluppare strategie in grado di fronteggiare la malattia. La Fig. 1 mostra uno schema del ciclo vitale del virus e delle fasi della sua replicazione, che rappresentano i potenziali bersagli della terapia antiretrovirale (ART). La struttura di base dell'HIV-1 è simile a quella di altri retrovirus. La particella virale è costituita da un rivestimento lipidico (envelope) derivato dalla cellula ospite, dalla cui superficie protrude una proteina fortemente glicosilata del rivestimento virale, la glicoproteina (gp) 120, la quale è ancorata alla gp 41 che attraversa la membrana lipidica. All'interno dell'envelope, le proteine strutturali circondano un nucleo centrale (core) che contiene enzimi e proteine, necessari per la replicazione del virus, e il genoma virale, costituito da due copie lineari identiche di RNA. Il genoma è approssimativamente delle dimensioni di 10.000 nucleotidi (10 kb) e comprende i geni prototipici *gag*, *pol* e *env*, caratteristici di tutti i retrovirus.¹³ Il gene *gag* codifica per le proteine strutturali del core, *env* codifica per le proteine gp120 e gp41 dell'envelope, essenziali per l'adesione e l'entrata del virus, e *pol* codifica per gli enzimi virali trascrittasi inversa (RT), integrasi e proteasi. Altri due geni essenziali per la replicazione

virale sono *tat*, il principale transattivatore del promoter virale all'interno delle long terminal repeats (LTR), e *rev*, che facilita la trascrizione genica. Inoltre i geni accessori *nef*, *vpu*, *vpr* e *vif*, sebbene non essenziali per la replicazione in vitro, contribuiscono alla capacità replicativa in vivo. Questi geni accessori sono presenti solo nei lentivirus e non compaiono nel genoma dei retrovirus oncogenici.¹⁴

Entrata del virus

HIV-1 utilizza due diversi tipi di recettori per l'adesione alle cellule e l'entrata.¹⁵ L'adesione iniziale del virus si verifica attraverso il legame tra la proteina gp120 dell'envelope e la molecola CD4, espressa prevalentemente sulla superficie dei linfociti T helper e dei macrofagi. Il legame del virus al CD4 è necessario ma non sufficiente a mediare l'entrata del virus nella cellula ospite. L'interazione tra CD4 e gp120 aumenta l'affinità del virus per le molecole co-recettoriali, che sono recettori chemochinici costituiti da sette domini transmembrana accoppiati alla proteina G, che di norma partecipano ai processi di migrazione cellulare nei siti di infiammazione. I due principali co-recettori per HIV-1, CCR5 e CXCR4, sono diversamente espressi nelle sottopopolazioni di cellule dotate della molecola CD4 di membrana, quali linfociti T, timociti, macrofagi e cellule dendritiche. I virus differiscono nella capacità di legarsi ai diversi co-recettori e possono essere definiti sulla base dell'uso del co-recettore.¹⁶ I virus che utilizzano CCR5 penetrano nei macrofagi e in un sottogruppo di linfociti T CD4 con fenotipo memoria; i virus che utilizzano CXCR4 possono infettare la maggior parte dei linfociti T CD4, i macrofagi e le cellule T trasformate o le linee monocitiche in cultura.¹⁷ Variazioni genetiche nei domini dell'envelope di HIV-1 comportano differenze fra i diversi ceppi virali nell'utilizzo del co-recettore. Polimorfismi genetici o delezioni del CCR5 riducono o abrogano il legame del virus al recettore, provocando una ridotta suscettibilità all'infezione e una più lenta progressione di malattia nei portatori di queste mutazioni.¹⁸ I virus che utilizzano CXCR4 sono in genere più patogeni di quelli che usano CCR5. Peraltro la maggioranza dei virus trasmessi da una persona ad un'altra sia per via sessuale che materno-fetale usa CCR5, anche se gli individui infetti hanno in circolo entrambi i tipi virali.

Trascrizione inversa

All'adesione fa seguito, nel processo infettivo, la penetrazione del virus. L'envelope virale lipidico con complessi trimerici di gp120-gp41, si fonde con la membrana lipidica della cellula bersaglio, consentendo l'ingresso del core virale, che contiene proteine, enzimi e RNA genomico, nel citoplasma della cellula. All'interno del citoplasma, l'enzima retrovirale RT esegue la trascrizione inversa dell'RNA virale in DNA a doppia catena, utilizzando nucleotidi cellulari endogeni. La ribonucleasi H associata con la RT degrada l'RNA in modo che venga sintetizzato un singolo provirus con DNA a doppia catena. I Lentivirus, in particolare HIV-1, presentano un'ampia variabilità genetica nel genoma virale, a causa di errori indotti dalla RT. Si verifi-

cano sostituzioni nucleotidiche con una frequenza di una ogni 10.000 nucleotidi, le quali possono introdurre nuove mutazioni genetiche in ogni ciclo di replicazione virale. Pressioni selettive sulla vitalità virale ed interazioni fra virus e sistema immune dell'ospite modulano l'estensione e la localizzazione della variabilità nel genoma. A causa di sostituzioni, delezioni, duplicazioni e del fenomeno della ricombinazione, l'HIV-1 in una persona infetta è in genere rappresentato da una "quasispecie" di numerosi virioni correlati geneticamente.^{19,20}

Inibitori dell'entrata

Concettualmente l'uso di agenti per bloccare l'ingresso del virus è una possibilità attraente nel trattamento dell'infezione da HIV-1.²¹ Purtroppo gli agenti studiati per bloccare il legame di gp120 a CD4 hanno avuto un successo limitato. Sono attualmente in via di sviluppo antagonisti che bloccano il legame virale al co-recettore CCR5, i quali hanno ottenuto risultati promettenti in vitro, mostrando una buona capacità di inibire l'entrata del virus nelle cellule bersaglio. È improbabile che gli antagonisti del CCR5 abbiano effetti avversi sull'immunità, in quanto persone con delezioni genetiche del CCR5 sembrano dotate di normale funzione immunitaria. Dopo che il virus ha legato i suoi recettori cellulari, la gp41 di HIV "arpiona" le cellule bersaglio per consentire la fusione e l'ingresso virale. Gli inibitori della fusione, come il T20, sono peptidi che bloccano la fusione legandosi direttamente alla gp41.²² Questi agenti sono in fase di avanzato sviluppo clinico.

Inibitori della RT

Dopo l'adesione e l'entrata del virus, la trascrizione inversa può essere bersaglio di farmaci antiretrovirali. Questi inibitori si dividono in due classi, gli inibitori nucleosidici e nucleotidici della trascrittasi inversa (NRTI) e gli inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI). Gli NRTI, che sono stati i primi farmaci anti-HIV usati in clinica, richiedono una fosforilazione intracellulare per essere attivati e competono con i nucleotidi endogeni per l'incorporazione nella catena di DNA nascente. Poiché gli NRTI sono privi di un terminale 3-idrossilico, quando vengono incorporati nel DNA, non si attua il successivo legame fosfodiesterico e la catena di DNA si interrompe. Gli NNRTI invece si legano direttamente alla RT di HIV-1, non richiedono fosforilazione intracellulare ed hanno un impatto limitato sugli altri enzimi cellulari. La classe degli NNRTI è molto efficace nel controllare la replicazione virale ed è la colonna portante di molte combinazioni di regimi antiretrovirali.²³

Integrazione del virus

Quando il DNA del virus è stato sintetizzato, un complesso di preintegrazione, che include il DNA virale, proteine ed enzimi, viene trasportato all'interno del nucleo cellulare. L'attività dell'integrasi codificata dal virus è essenziale per l'integrazione, che coinvolge legami covalenti tra le LTR che fiancheggiano il DNA virale lineare

e il DNA cromosomico dell'ospite. L'integrazione nel DNA dell'ospite sembra essere più o meno casuale, non in siti cromosomici peculiari, anche se la conformazione o la composizione nucleotidica del DNA dell'ospite possono fornire siti preferenziali per l'integrazione virale. L'integrasi di HIV-1 costituisce un altro potenziale bersaglio terapeutico e lo sviluppo di inibitori dell'integrasi è attualmente in corso.²⁴

Replicazione virale e assemblaggio

L'organizzazione genetica della forma provirale integrata del DNA di HIV-1 è colineare con l'RNA virale. Il DNA virale, come componente integrale del materiale genetico della cellula ospite, viene trascritto in RNA dall'apparato trascrizionale dipendente dalla RNA-polimerasi II della cellula stessa. La regolazione dell'espressione genica virale è controllata dalle LTR, che sono lunghe circa 650 nucleotidi e sono composte da alcuni elementi regolatori della trascrizione, comuni alle cellule eucariotiche.²⁵

I trascritti di mRNA virale vengono inizialmente tagliati (splicing) e trasportati nel citoplasma per la traduzione di Tat, Rev, Nef e altre proteine regolatorie.

Successivamente vengono trasportati e tradotti tutti i trascritti genomici di lunghezza intera, che servono come mRNA per la matrice di poliproteine Gag [p17^{MA}], per il capsido [p24^{CA}], il nucleocapsido [p7^{NC}], p6 o enzimi virali [RT, proteasi e integrasi], e i trascritti che codificano le glicoproteine dell'envelope. Le proteine virali strutturali formano un complesso con l'RNA virale a lunghezza intera e le glicoproteine dell'envelope, e vengono assemblate alla membrana citoplasmatica grazie ad una miristilazione all'estremità aminoterminale di Gag p17^{MA}. Le particelle virali gemmano quindi dalla superficie delle cellule infette e sono rivestite dalla membrana della cellula ospite.

Per divenire infettanti, i virioni di nuova generazione vanno incontro ad una successiva fase di maturazione, processo che comporta il clivaggio sistematico delle poliproteine Gag e degli enzimi da parte della proteasi codificata dal virus. La proteasi di HIV-1 è una proteasi aspartica omodimerica, composta da monomeri di 99 aminoacidi. La proteasi agisce come una forbice molecolare che taglia le poliproteine Gag e Gag-Pol in un processo preordinato durante la maturazione virale. Il sito attivo della proteasi contiene due residui catalitici di acido aspartico, che tagliano il legame tra due aminoacidi del substrato. Quando il substrato si lega nel sito attivo, l'enzima va incontro ad un cambiamento conformazionale e gli estremi si chiudono intorno al substrato legato. Dopo la catalisi, i lembi si aprono, le proteine clivate si dissociano e l'enzima viene riposizionato per un nuovo ciclo di attività.

Gli inibitori della proteasi (IP) competono coi substrati per il legame nel sito attivo. Quando si è legato, l'IP non si dissocia dall'enzima e si verificano la paralisi dell'attività proteasica e il blocco della maturazione del virione. Gli IP hanno impatto sulla infettività dei virioni più che sull'inibizione della produzione virale.²⁶

IL PROCESSO INFETTIVO DI HIV-1 IN VIVO

Infezione acuta negli adulti

La più comune modalità di infezione è la trasmissione sessuale, in cui il virus attraversa le superfici mucose per infettare le cellule suscettibili, quali i macrofagi ed i linfociti T esprimenti CD4. Sulla base di studi che hanno utilizzato l'inoculazione intravaginale di SIV, è stato scoperto che si verificano diversi scenari durante la fase precoce dell'infezione acuta. Il virus può aderire alle cellule dendritiche tramite il legame della gp120 ad un complesso molecolare di adesione chiamato *Dendritic Cell-specific, intercellular adhesion molecule-grabbing nonintegrin* (DC-SIGN).²⁷ Nonostante siano cellule infette non produttive, esse migrano ai linfonodi regionali, dove si verifica l'infezione delle cellule T CD4 tramite contatto diretto cellula-cellula. In alternativa i macrofagi e le cellule T CD4 della sottomucosa si infettano attraverso il contatto con virus libero o con cellule infette presenti nelle secrezioni del partner infetto.²⁸ Le barriere epiteliali locali sono efficaci nella protezione contro l'infezione, in quanto solo 1 su 400 persone circa esposte all'HIV-1 tramite contatto sessuale si infetta. È stato stimato che il rischio di infezione attraverso rapporti eterosessuali sia più elevato per le donne che per gli uomini.²⁹ Le coinfezioni che provocano ulcerazioni mucose, come l'infezione da herpes simplex virus o infezioni batteriche, aumentano la probabilità di infezione per via sessuale.³⁰ Interruzioni nella barriera mucosa facilitano infatti l'attraversamento dell'epitelio squamoso da parte di HIV-1, e l'infiammazione locale comporta un più alto livello di attivazione di cellule T, incrementando l'integrazione e la replicazione virale.

Le cellule dendritiche, i macrofagi e le cellule T CD4 che ospitano il virus, migrano nei tessuti linfoidi regionali in 3-5 giorni. Il contatto diretto tra le cellule che ospitano il virus e i macrofagi o le cellule T CD4 suscettibili all'interno dei centri germinativi dei linfonodi, provoca un rapido aumento della replicazione virale entro 14 giorni dall'esposizione.²⁸ Le conseguenti risposte infiammatorie locali facilitano la replicazione del virus e lo sviluppo di una fase acuta di viremia, provocando la disseminazione dell'infezione agli altri tessuti ed organi linfoidi. Dal punto di vista clinico, la sindrome retrovirale acuta può avere un ventaglio di manifestazioni che vanno dalla completa assenza di sintomi (solo un terzo dei pazienti infettati da HIV li manifesta) ad un complesso sintomatologico acuto che può essere costituito da febbre che perdura per oltre 3 giorni, intensa astenia e malessere, linfadenopatia e splenomegalia, rash cutaneo e meningoencefalite, della durata di 2 settimane circa, che si verifica in genere entro 6 mesi dall'esposizione all'HIV-1.³¹ Durante la fase acuta, la viremia plasmatica raggiunge elevati livelli, spesso maggiori di 10⁶ copie di RNA virale/ml. Le risposte HIV-specifiche di tipo anticorpale e cellulo-mediata (CTL) in questo periodo non si sono ancora sviluppate e il virus non è controllato. Anche se i test comunemente usati per diagnosticare l'infezione, basati sulla ricerca di anticorpi, possono dare risultati negativi in questa fase, i pazienti sono altamente infetti-

vi ed è possibile rilevare anomalie di laboratorio fra le quali leucopenia, trombocitopenia, alterazione della formula leucocitaria per aumento dei linfociti, moderato incremento degli enzimi epatici, ipergammaglobulinemia, indici di flogosi elevati e inversione del rapporto T CD4/CD8.³⁰

Infezione perinatale

L'infezione da HIV nei bambini si verifica principalmente tramite la trasmissione del virus da parte della madre. In assenza di ART volta ad interrompere la trasmissione, il 20 - 30% circa dei bambini nati da donne infette da HIV diventa a sua volta infetto.³² Questa percentuale è più elevata nelle regioni in cui l'allattamento al seno è comune. I bambini nati da madri infette possono, infatti acquisire l'infezione attraverso la trasmissione transplacentare, l'infezione perinatale che si verifica al momento della nascita o l'infezione postnatale tramite l'allattamento al seno.^{33,34} I bambini che acquisiscono l'infezione in utero (circa il 20%) hanno in generale un decorso clinico fulminante e la maggior parte progredisce in AIDS nei primi 2 anni di vita.³⁵ Rispetto ai bambini infettati in epoca perinatale, presentano livelli più elevati di viremia e mostrano un notevole aumento della carica virale durante l'infanzia.³⁶ L'infezione perinatale è la più comune, causa il 60-70%, delle infezioni pediatriche.³⁷ Si ritiene che la trasmissione si verifichi attraverso l'esposizione al virus presente nel sangue materno o tramite aspirazione di secrezioni materne infette.³⁹ I bambini infettati in epoca perinatale hanno livelli iniziali più bassi di replicazione virale, più lenta riduzione delle cellule T CD4 e una ritardata progressione di malattia, con un tasso stimato di progressione in AIDS dell'8% all'anno.⁴⁰ Un ulteriore 15-20% di infezioni si verifica attraverso l'ingestione di latte materno contenente virus. Sebbene non comune nei paesi sviluppati, dove il latte artificiale per uso pediatrico fornisce un'alternativa all'allattamento materno, questa è una fonte aggiuntiva rilevante di infezione nei paesi in via di sviluppo, dove le possibilità di nutrimento dei bambini sono limitate, contribuendo ad oltre il 15% delle infezioni pediatriche da HIV-1.⁴¹

Immunità specifica per HIV

La prima risposta immune specifica per HIV durante la fase acuta è la comparsa di CTL, seguita da quella di anticorpi anti-HIV, di solito 6-8 settimane dopo l'esposizione al contagio.⁴² I sintomi clinici scompaiono e il livello della viremia plasmatica si riduce in concomitanza con l'apparire di una risposta immune specifica per HIV. I CTL HIV-specifici forniscono il controllo più efficace della replicazione virale.⁴³ Gli epitopi antigenici virali che costituiscono i bersagli dei CTL sono più frequentemente localizzati nei peptidi env, gag, pol e nef.⁴⁴ Uno dei più grandi paradossi dell'infezione da HIV-1 è l'apparente incapacità degli anticorpi di attenuare o proteggere dall'infezione:⁴² gli anticorpi materni non sono in grado di proteggere il feto dall'infezione e la capacità degli anticorpi di controllare la repli-

cazione virale e di ritardare la progressione di malattia è controversa.⁴⁵⁻⁴⁸ Studi recenti con modelli animali basati sul virus delle scimmie e su anticorpi monoclonali o policlonali anti-SIV ad alta affinità, indicano tuttavia che gli anticorpi neutralizzanti possono essere efficaci nel prevenire la trasmissione sessuale e materna.^{49,50} Lo sviluppo di vaccini che inducono livelli elevati di anticorpi neutralizzanti è diventato un punto di attenzione centrale della strategia di immunizzazione verso l'HIV.⁵¹

La risposta anticorpale è diretta verso multipli peptidi di HIV-1, e costituisce la base dei test ELISA e Western Blot, usati nello screening per diagnosticare e confermare l'infezione da HIV-1 negli adulti, ma non nei bambini infettati in utero, a causa della presenza nel loro sangue di anticorpi materni acquisiti passivamente. Gli anticorpi contro l'HIV possono essere evidenziati nel sangue entro giorni o settimane dall'infezione acuta, anche se in casi rari la loro produzione può essere ritardata di alcuni mesi. Le persone esposte all'HIV-1 dovrebbero essere monitorate strettamente per la sierconversione nel primo anno dopo l'esposizione al virus.⁵² Nelle persone infette si sviluppa uno stato di equilibrio tra la capacità delle cellule T CD4 di produrre nuovo virus e l'eliminazione delle cellule infette da parte dei CTL o la clearance del virus ad opera degli anticorpi neutralizzanti. La capacità delle risposte immuni cellulare ed umorale di controllare la replicazione virale è il principale determinante del tasso di progressione di malattia. Durante l'infezione, fino al 10% della popolazione totale delle cellule T CD8 può essere attivato contro gli antigeni di HIV-1.⁵³ Questo abnorme livello di espansione clonale può condurre al fallimento dell'immunità CTL, favorendo lo sviluppo di anergia delle cellule T, inducendo anomalie nella maturazione dei T CD8 e provocando la delezione delle risposte delle cellule T HIV-specifiche.⁴³ La delezione delle cellule T indotta dal virus e l'esaurimento clonale dei CTL HIV-specifici rappresentano meccanismi simili a quelli che sono alla base della patogenesi dell'infezione da virus della coriomeningite linfocitaria nel topo.⁵⁴ Il fallimento delle cellule T CD8 citotossiche nel controllare la replicazione virale si concretizza attraverso vari meccanismi.⁵⁵ Il prodotto del gene nef di HIV riduce l'espressione dell'MHC di classe I, compromettendo il riconoscimento delle cellule infette da parte dei CTL. L'infezione modula in senso negativo i processi di signaling sulle cellule T, compresa l'interazione CD3/T-cell receptor e la costimolazione attraverso la molecola CD28. L'espressione cronica di molecole di attivazione sulla superficie cellulare danneggia l'homing linfocitario, alterando la normale espressione delle molecole di adesione coinvolte nel dirigere le cellule linfoidi ai siti di replicazione virale.

La replicazione virale sotto la pressione selettiva della risposta immune, unitamente alla variabilità genetica di HIV-1, porta alla rapida emergenza di varianti virali che sfuggono al riconoscimento del sistema immunitario, contribuendo allo stabilirsi di uno stato di replicazione cronica. HIV-1 può sfuggire al riconoscimento sia da parte dell'immunità cellulare che umorale attraverso mutazioni dei propri epitopi antigenici. Nel caso dei

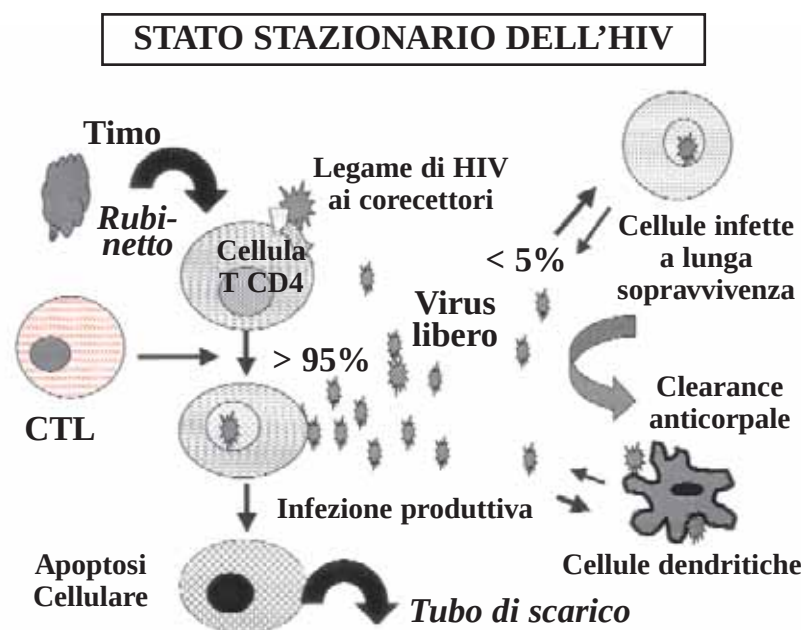


FIG 2. HIV allo stato stazionario. Nel modello rubinetto-tubo di scarico, il virus libero si lega al suo recettore (CD4), ed ai corecettori. Le cellule T CD4 produttivamente infette producono oltre il 95% del virus libero nel plasma prima di essere eliminate attraverso citolisi da parte dei CTL specifici per HIV o apoptosi cellulare. L'emivita di una cellula T CD4 infetta attivata è di circa 20 ore, ed un virione libero rimane nel plasma per circa 6 ore. Il livello delle cellule T CD4 allo stato stazionario viene mantenuto dalla produzione di nuove cellule T da parte del timo, il rubinetto, e dall'eliminazione delle cellule T CD4 ad opera della citolisi o dell'apoptosi, il tubo di scarico. Una minoranza, meno del 5%, del virus libero proviene dai macrofagi infetti, dalle cellule dendritiche e dalle cellule T CD4 infettate in modo latente. Queste ultime, capaci di sopravvivere a lungo, possono ospitare il virus per mesi o anni e non sono suscettibili agli effetti della ART.

CTL, le mutazioni alterano il legame dell'antigene con l'MHC di classe I. Epitopi alterati per i CTL, possono indurre la proliferazione senza innescare i meccanismi effettori citolitici. Come risultato, si verifica l'accumulo di cellule T CD8 memory HIV-specifiche che non sono in grado di differenziarsi in cellule T CD8 effettrici e quindi di provocare una citolisi efficace delle cellule infettate da HIV.⁴³ Complessivamente questi meccanismi contribuiscono al cronico mantenimento della replicazione di HIV che provoca il generale deterioramento dell'immunità HIV-specifica. Studi recenti hanno mostrato che i mutanti virali che sfuggono al legame con l'MHC di classe I possono essere trasmessi da una persona ad un'altra, il che ha possibili implicazioni sfavorevoli per lo sviluppo di future strategie vaccinali basate sull'induzione di risposte di tipo CTL.⁵⁶

Dinamiche virali e diminuzione delle cellule T CD4

Le cause che portano alla perdita delle cellule T CD4 e allo sviluppo dell'AIDS sono molteplici. La migliore descrizione concettuale della patogenesi del difetto immunitario che contraddistingue la malattia da HIV-1 è il modello "rubinetto e tubo di scarico" secondo il quale le nuove cellule T vengono prodotte dal midollo osseo e dal timo, il rubinetto, e le cellule T CD4 sono eliminate per effetto del danno indotto dal virus, il tubo di scarico.⁵⁷ L'equilibrio dinamico tra il rubinetto e il tubo di

scarico determina il livello e l'estensione del deficit immunitario. La carica virale ad uno stato stazionario e la progressione in AIDS riflettono sia la capacità del sistema immunitario di controllare la replicazione virale tramite l'eliminazione del virus libero sia il livello di produzione di nuovi virus da parte delle cellule infette in modo produttivo. Il numero delle cellule T CD4 è funzione della capacità del timo di produrre nuovi linfociti T e dell'entità di distruzione dei linfociti T CD4 indotta dal virus. Dopo l'infezione iniziale e il picco di viremia, il controllo della replicazione virale da parte del sistema immunitario dà luogo all'instaurarsi di un livello stazionario di viremia plasmatica (set point). Valori più elevati di set point generalmente riflettono un più scarso controllo immunitario della replicazione virale e predicono un esaurimento più rapido delle cellule T CD4 e una più veloce progressione verso l'AIDS.⁵⁸ La maggior parte del virus plasmatico (>95%) proviene dalle cellule T CD4 infettate di recente, mentre una quantità minore di virus circolante deriva da macrofagi e cellule dendritiche (<5%). Le cellule T infette hanno un'emivita breve, inferiore a 20 ore, durante la quale producono nuovi virioni prima di essere eliminate dai CTL o attraverso meccanismi di apoptosi indotti dal virus.⁵⁹ Il virus libero, che ha un'emivita plasmatica di circa 6 ore, viene eliminato attraverso il legame a nuove cellule bersaglio oppure da parte di anticorpi. Le dinamiche cellulari della carica virale allo stato stazionario sono illustrate nella Fig. 2.

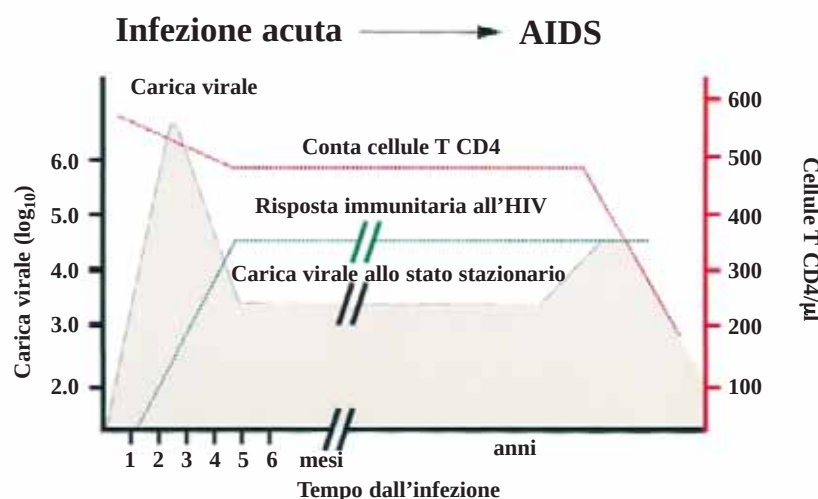


FIG 3. Storia naturale della malattia da HIV-1. Dopo l'infezione iniziale si osserva un picco di viremia, come rappresentato dall'area ombreggiata al di sotto della linea punteggiata. La carica virale plasmatica può superare i $6.0 \log_{10}$ di copie virali/ml, con un picco tra le 6 e le 12 settimane dopo l'esposizione. Durante l'infezione acuta, i pazienti sono altamente infettivi ma sono negativi ai test diagnostici che si basano sulla presenza di anticorpi anti-HIV, come i test ELISA e Western Blot. L'immunità anti-HIV è caratterizzata dalla comparsa di anticorpi anti-HIV e dalla risposta CTL, come rappresentato dalla linea punteggiata. Gli anticorpi anti-HIV restano rilevabili durante tutto il corso dell'infezione. I livelli della viremia cadono come risultato della risposta immunitaria all'HIV. L'efficacia della risposta immunitaria è il determinante principale del livello di replicazione virale allo stato stazionario. Elevati livelli allo stato stazionario portano ad una precoce caduta della conta delle cellule T CD4 e alla progressione verso l'AIDS in meno di 5 anni, mentre livelli più bassi si associano ad una più lenta progressione di malattia. Durante la fase acuta dell'infezione è evidente l'attivazione delle cellule T ed un aumento del numero di cellule T CD8, come evidenziato dall'inversione del rapporto CD4/CD8. Si giunge all'AIDS quando la distruzione dei T CD4 indotta dal virus conduce a livelli criticamente bassi di queste cellule e i pazienti contraggono infezioni opportunistiche o altre patologie che definiscono l'AIDS.

Dati clinici e di laboratorio nell'infezione da HIV-1

L'infezione da HIV-1 danneggia l'immunità T-mediata, dando luogo allo sviluppo di infezioni opportunistiche, ad un aumentato rischio di neoplasie e ad altre condizioni che sono tipiche dei pazienti con deficit dell'immunità cellulo-mediata. I bambini e gli adulti infettati da HIV hanno un aumentato rischio di neoplasie, di solito quelle associate ad infezioni virali, quali il sarcoma di Kaposi associato con l'herpesvirus umano 8 e il linfoma a cellule B derivato da EBV. Il virus può agire direttamente sugli organi bersaglio, provocando leucoencefalopatia multifocale progressiva, cardiomiopatia, nefropatia e disfunzione cronica di altri organi. La classificazione dei Centers for Disease Control and Prevention (CDC) per le condizioni cliniche associate all'infezione da HIV-1 nei bambini e negli adulti è riportata nella Tabella I.^{60,61}

La carica virale e la conta delle cellule T CD4, regolarmente monitorate, costituiscono i migliori marcatori per predire il rischio di sviluppo di condizioni associate all'HIV e di progressione in AIDS. Le persone con elevati livelli di replicazione virale allo stato stazionario (>35.000 copie/ml) hanno oltre il 60% di rischio di sviluppare AIDS entro 5 anni dall'infezione, mentre solo l'8% delle persone infette, con carica virale allo stato stazionario inferiori a 5.000 copie/ml, sviluppano AIDS nello stesso periodo di tempo (Fig. 3). La determinazione dell'entità del danno immunologico si basa principalmente sul conteggio delle cellule T CD4.⁶⁰ Ci sono differenze corre-

late all'età nella conta assoluta dei T CD4: neonati e bambini hanno fisiologicamente conteggi totali di linfociti più elevati rispetto agli adulti; pertanto un bambino infetto da HIV che ha una normale conta di cellule T CD4 rispetto ai parametri degli adulti, può essere in realtà fortemente immunodepresso e suscettibile ad infezioni opportunistiche. Le percentuali relative di cellule T CD4 usate per definire l'immunosoppressione "lieve, moderata o severa" sono costanti nei vari gruppi di età. Le persone infette con immunodepressione lieve ($>25\%$ di cellule T CD4) sono generalmente prive di sintomi, sebbene sia frequentemente aumentata l'incidenza di infezioni ricorrenti delle vie respiratorie superiori, di patologie allergiche, di candidiasi mucocutanea, di linfadenomegalie e di splenomegalia. I pazienti con immunodepressione moderata, definita da una conta di cellule T CD4 tra il 15 e il 24%, sono a rischio per pancitopenia, infezioni virali ricorrenti quali herpes simplex e varicella zoster, ed infezioni batteriche sistemiche. L'immunodepressione grave (conta di cellule T CD4 $<15\%$) comporta un alto rischio di polmonite interstiziale da *Pneumocystis Carinii* (PCP), di infezioni batteriche ricorrenti potenzialmente letali, di infezione extrapopolmonare da *criptococco* e di altre infezioni fungine sistemiche, di toxoplasmosi del sistema nervoso centrale, di infezioni micobatteriche disseminate. Nelle persone infettate da HIV con immunodepressione grave è necessaria la profilassi primaria per prevenire le infezioni opportunistiche più frequenti, in particolare la PCP, le infezioni da candida e da micobatteri.⁶²

TABELLA I. Categorie cliniche della patologia da HIV pediatrica, negli adolescenti e negli adulti dei Centri per il Controllo e la Prevenzione

	Età
Categoria N (assenza di sintomi)	
Infezione confermata	P
Categoria A (assenza di sintomi [adulti] o sintomi minimi [pediatrica])	
Linfoadenopatia o epatosplenomegalia	E
Dermatite	P
Parotite	P
Infezioni ricorrenti delle alte vie respiratorie	P
Sintomi costituzionali (febbre, diarrea >1 mese)	E
Pancitopenia	P
Trombocitopenia idiopatica	A
Malattia batterica sistemica	P
Angiomatosi bacillare	A
Candidiasi orofaringea	E
Candidasi vulvovaginale persistente scarsamente responsiva alla terapia	A
Displasia cervicale o carcinoma cervicale in situ	A
Leucoplachia orale a cellule capellute	A
Malattia infiammatoria pelvica	A
Listeriosi	A
Categoria B (sintomi moderati)	
Cardiomiopatia	P
Cytomegalovirus neonatale	P
Diarrea cronica	P
Stomatite, polmonite, esofagite da Herpes Simplex virus	P
Herpes zoster ricorrente	E
Leiomiomasarcoma	P
Polmonite linfoide interstiziale	P
Nefropatia	P
Nocardiosi	P
Neuropatia periferica	A
Toxoplasmosi congenita	P
Varicella disseminata	P
Categoria C (sintomi gravi, che definiscono l'AIDS)	
Infezioni batteriche multiple	E
Polmonite ricorrente	E
Coccidiomicosi disseminata	E
Criptococchi extrapolmonare	E
Diarrea da Criptosporidiosi	E
Diarrea da Isosporiasi cronica	E
Candidiasi dell'esofago, della trachea o dei polmoni	E
Cytomegalovirus disseminato (oltre che a fegato, milza e linfonodi)	E
Encefalopatia	E
Leucoencefalopatia multifocale progressiva	E
Carcinoma cervicale	A
Herpes simplex virus persistente	E
Istoplasmosi disseminata	E
Tubercolosi disseminata	E
Mycobacterium Avium Complex disseminato	E
PCP	E
Sepsi da <i>Salmonella</i>	E
Toxoplasmosi del sistema nervoso centrale	E
Wasting Sindrome	E
Conta delle cellule T CD4<200 cellule/mL o <15%	A
Neoplasie associate ad HIV	E
Sarcoma di Kaposi	
Linfoma del sistema nervoso centrale	
Linfoma a cellule B	
Linfoma immunoblastico	

P: condizione Pediatrica; A: condizione di Adolescenti/Adulti;
E: Entrambe (sia pediatrica che di adolescenti/adulti)

TRATTAMENTO E PREVENZIONE DELL'INFEZIONE DA HIV-1

Uso della ART

Attualmente il miglior ausilio nel trattamento dell'infezione da HIV-1 è l'uso di una terapia antiretrovirale (ART) di combinazione che abbia come bersagli varie tappe del ciclo vitale del virus. I regimi farmacologici che includono la combinazione di NRTI con un IP o con un NNRTI, possono avere un impatto significativo nel ritardare la progressione ad AIDS e nel prevenire o nel far regredire l'immunodeficienza.^{63,64} Come risultato, l'infezione da HIV-1 sia negli adulti che nei bambini si è trasformata da malattia progressiva, che conduceva a morte per infezioni opportunistiche o per neoplasie, ad una condizione cronica a lenta progressione, che richiede terapia per tutta la vita.⁶⁵ Le speranze iniziali che la ART di combinazione potesse eradicare l'infezione sono state disilluse, poiché il virus può persistere in forma latente nei *reservoirs* per molti anni nonostante una terapia efficace.^{66,67} Alla luce del fatto che i trattamenti attuali non sono in grado di ottenere la completa eliminazione del virus. In primo luogo, sebbene spesso descritte come malattie immunologiche con aspetti autoimmuni, una eziologia autoimmune non è stata dimostrata, i clinici hanno dovuto riconsiderare l'uso della ART tenendo conto della tossicità dei regimi di trattamento, del peso dell'uso quotidiano di numerosi farmaci sulla qualità di vita e delle capacità della maggioranza delle persone di aderire a complessi regimi terapeutici che durano per tutta la vita. Le complicazioni indotte dal trattamento antiretrovirale includono lo sviluppo di lipodistrofia, iperglicemia e di elevati livelli di trigliceridi e colesterolo, associato con l'uso di IP; lo sviluppo di anomalie metaboliche e di citopenie, associato con gli inibitori della RT; l'emergere di virus resistenti ai farmaci, che obbligano a cambiare ciclicamente la terapia, limitando alla fine la disponibilità di combinazioni di farmaci per il futuro.^{68,69} Inoltre i benefici a lungo termine delle terapie di combinazione e la durata del trattamento di mantenimento della soppressione virale sono incerti. Sebbene l'uso di ART di combinazione, che sopprime la replicazione virale a livelli non rilevabili, sia ancora considerato il trattamento clinico ottimale dell'infezione da HIV-1, le linee guida più recenti, che pesano rischi e benefici della terapia, suggeriscono che il suo inizio può essere ritardato fino a quando i livelli virali siano maggiori di 55.000 copie/ml o la conta delle cellule T CD4 cada al di sotto del 25% o di 350 cellule/ μ L.^{23,69}

Uno schema di ART che includa un IP o un NNRTI provoca una prima fase di declino logaritmico della carica virale entro 2 settimane di trattamento.^{57,70} Una seconda fase di declino, nella quale oltre l'80% dei pazienti ha livelli non rilevabili di virus, si verifica entro 8-12 settimane dall'inizio del trattamento.⁶⁷ La ART basata su IP o NNRTI è più efficace nell'ottenere una elevata e duratura soppressione della replicazione virale quando somministrata durante l'infezione acuta.⁷¹ Se la ART viene iniziata prima dell'instaurarsi dell'infezione cronica, l'immunità specifica per HIV può da sola mantenere una significativa soppressione della replicazione virale anche

in assenza di trattamento in alcuni pazienti;⁷¹ questa osservazione ha portato ad applicare interruzioni strutturate di terapia come strumento per stimolare risposte CTL specifiche per HIV in pazienti che hanno mantenuto livelli non rilevabili di replicazione virale. Tale strategia ha alcune potenzialità in persone che hanno ricevuto una ART efficace durante l'infezione acuta.⁷¹ La variabilità genetica dell'HIV-1 è direttamente correlata al tasso di replicazione virale; quindi una efficace soppressione virale, mediante il trattamento, rallenta l'emergere di varianti virali resistenti ai farmaci.²⁰ Sfortunatamente non tutte le persone infette da HIV che ricevono ART raggiungono o mantengono a lungo livelli non rilevabili di HIV-RNA nel plasma: la replicazione virale in presenza di una ART sub-ottimale seleziona varianti con accumulo di sostituzioni aminoacidiche nella RT o nella proteasi (resistenza genotipica) e riduce la sensibilità ai farmaci (resistenza fenotipica).⁷² In genere, i profili di resistenza genotipica e fenotipica sono concordanti, sebbene le multiple combinazioni di mutazioni di aminoacidi che possono svilupparsi con le diverse terapie possano richiedere approfondimenti per accertare i livelli di resistenza. Lo sviluppo di resistenza ad un determinato farmaco spesso implica una ridotta sensibilità anche ad altri farmaci della stessa classe, da cui l'utilità di effettuare un test per la valutazione delle resistenze genotipiche prima di eventuali cambi di terapia.⁷²

Quando la pressione selettiva del farmaco viene rimossa, il virus che replica in modo predominante appartiene in genere al genotipo e al fenotipo presente nel pre-terapia (*wild-type*), più sensibile ai farmaci e dotato di maggiore capacità replicativa (maggiore *fitness*) rispetto alle varianti resistenti ai farmaci. Alcuni virus resistenti ai farmaci, che si replicano sotto la pressione selettiva di ART, sembrano avere un minore impatto patogenetico sull'immunità.⁷³ Questo può essere dovuto ad una ridotta capacità replicativa nel timo, che preserva l'output timico e permette l'immunoricostruzione, nonostante i livelli persistentemente elevati di replicazione virale.⁷⁴⁻⁷⁶

Ricostituzione immune dopo ART

La riduzione della carica virale dopo ART revoca molti degli effetti avversi dell'infezione da HIV-1 sulla funzione immunitaria. Durante le prime settimane di trattamento, la quantità di virus nell'organismo si riduce ed i linfociti ricircolano dai tessuti linfoidi, come evidenziato dal rapido incremento nella conta dei linfociti del sangue periferico, che interessa prevalentemente le cellule T memory e le cellule B.⁷⁷ Nelle settimane successive, sia i bambini che gli adulti infettati da HIV mostrano una significativa capacità di ripristinare l'output timico, ristabiliscono una differenza nel repertorio delle cellule T e correggono la funzione di tali cellule.^{76,78,79}

La riduzione della carica virale è associata anche ad una diminuzione dei markers di attivazione delle cellule T e ad un miglioramento della risposta immune antigene-specifica da parte di esse.^{78,80,81}

Alcuni ampi studi clinici mostrano che la profilassi per la PCP può essere interrotta se il numero dei linfociti T CD4 incrementa in seguito ad ART.⁶² Più significativamente, la

riduzione della carica virale ripristina le risposte immuni specifiche per HIV-1, che a loro volta aiutano a mantenere la soppressione della replicazione virale.^{43,82}

Prevenzione dell'infezione da HIV-1 attraverso l'uso di ART

Attualmente la chemioprolifassi è l'unico strumento efficace per prevenire la trasmissione dell'HIV-1 da una persona ad un'altra. L'uso di ART a tale scopo è stato ampiamente studiato nell'ambito della trasmissione materno-fetale. La Zidovudina e altri inibitori della RT somministrati durante la gravidanza e il parto alle donne infettate da HIV, così come brevi cicli di trattamento somministrati ai neonati, riducono il tasso di infezione perinatale di oltre i due terzi.⁸³

Gli studi relativi al ruolo della ART nell'ambito della trasmissione materno-fetale costituiscono la base per tutte le strategie di trattamento per la profilassi post-esposizione.³² La ART riduce il rischio di trasmissione in due modi. In primo luogo, la probabilità di esposizione al virus è diminuita per effetto della più bassa carica virale nel sangue e nelle secrezioni. In secondo luogo, e più importante, le cellule suscettibili sono protette dall'infezione.⁶⁸ Nell'ambito della trasmissione materno-fetale, la zidovudina protegge efficacemente le cellule fetali dall'infezione anche quando la carica virale della madre è elevata.⁸⁴ NNRTI potenti, come la nevirapina, sono altamente efficaci nel prevenire l'infezione anche quando il trattamento è costituito da poche dosi somministrate alla madre e al bambino al momento della nascita.⁸⁵

Per gli operatori sanitari esposti a sangue contaminato da HIV-1 attraverso ferite con aghi o con altri strumenti, è raccomandata la profilassi post-esposizione con ART per prevenire l'infezione.⁵²

Vaccini contro HIV-1

L'entità dell'epidemia globale da HIV-1 ha creato la necessità urgente di produrre vaccini efficaci che proteggano contro l'infezione o che prevengano la progressione della malattia. Sia HIV che SIV hanno attributi unici che pongono difficoltà particolari per lo sviluppo di vaccini.⁸⁶ Analogamente alle infezioni da herpesvirus, dopo l'infezione acuta ed il contenimento della replicazione virale da parte della risposta immunitaria, il virus persiste allo stato latente. Diversamente dagli herpesvirus, la persistenza dell'HIV provoca alla fine malattia in tutte le persone infette. Inoltre errori della RT danno luogo al rapido sviluppo di varianti antigeniche che sfuggono al sistema immunitario. L'infezione cronica induce la persistente attivazione del sistema immunitario che, in presenza di replicazione virale continua, conduce paradossalmente al progressivo esaurimento del sistema immunitario stesso.⁸⁷ La maggior parte degli studi basati sul trasferimento di anticorpi o sull'immunizzazione tesa ad aumentare l'immunità delle mucose in modelli animali, non ha fornito una protezione adeguata nei confronti del virus. Lo sviluppo di vaccini è stato anche ostacolato dalla mancanza di una chiara identificazione delle caratteristiche della risposta immune che correlano meglio con la protezione.

Attualmente si impiegano diverse strategie nello sviluppo di vaccini, ma non vi è al momento alcuna certezza che i vaccini tradizionali basati su proteine possano fornire una adeguata risposta immunologica verso l'infezione.⁸⁸ Vi sono strategie vaccinali basate sul principio che l'infezione con ceppi di HIV-1 vivo non patogenico generano un'immunità protettiva verso la superinfezione da ceppi *wild type*.⁸⁹ Studi effettuati sulle scimmie utilizzando questo approccio hanno mostrato che il virus attenuato può ancora causare malattia.⁹⁰ Diversi vaccini candidati sono in fase avanzata di sviluppo clinico, compresi i vaccini in cui i peptidi antigenici di HIV-1 vengono espressi attraverso virus vaccinici o poxvirus modificati e resi non patogeni, in grado così di suscitare risposte CTL e anticorpali.⁹¹ È stato dimostrato che i vaccini a DNA sono sicuri e in grado di innescare risposte CTL virus-specifiche. Questi promettenti agenti sono in fase iniziale di sviluppo clinico.⁹² Nei modelli di scimmia, i vaccini a DNA, combinati con la stimolazione immuno-mediata delle risposte CTL, forniscono un efficace innescamento dell'immunità cellulo-mediata virus-specifica. Gli animali vaccinati infettati con un virus patogeno appaiono in grado di controllare la viremia e di prevenire la progressione della malattia verso l'AIDS.⁹³ Questo approccio vaccinale, volto ad attenuare la malattia piuttosto che a prevenire l'infezione, potrebbe essere una strategia più applicabile per fronteggiare la crescente epidemia mondiale. I recenti progressi nella comprensione dell'immunopatogenesi dell'infezione da HIV-1 hanno ampiamente contribuito a porre le premesse per lo sviluppo di un vaccino efficace nel prossimo futuro.

BIBLIOGRAFIA

- Piot P, Bartos M, Ghys PD, Walker N, Schwartzlander B. The global impact of HIV/AIDS. *Nature* 2001;410:968-73.
- Gayle HD, Hill GL. Global impact of human immunodeficiency virus and AIDS. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:327-35.
- Foster G. Supporting community efforts to assist orphans in Africa. *N Engl J Med* 2002;346:1907-10.
- Selik RM, Chu SY, Ward JW. Trends in infectious diseases and cancers among persons dying of HIV infection in the United States from 1987 to 1992. *Ann Intern Med* 1995;123:933-6.
- Centers for Disease Control and Prevention. Update: mortality attributable to HIV infection among persons aged 25-44 years—United States, 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996;45:121-5.
- Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305:1425-31.
- Otten MW Jr, Teutsch SM, Williamson DF, Marks JS. The effect of known risk factors on the excess mortality of black adults in the United States. *JAMA* 1990;263:845-50.
- Fleming PL, Wortley PM, Karon JM, DeCock KM, Janssen RS. Tracking the HIV epidemic: current issues, future challenges. *Am J Public Health* 2000;90:1037-41.
- Gao F, Bailes E, Robertson DL, Chen Y, Rodenburg CM, Michael SF, et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* 1999;397:436-41.
- Korber B, Theiler J, Wolinsky S. Limitations of a molecular clock applied to considerations of the origin of HIV-1. *Science* 1998;280:1868-71.
- Hahn BH, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science* 2000;287:607-14.
- Essex M. Human immunodeficiency viruses in the developing world. *Adv Virus Res* 1999;53:71-88.
- Steffy K, Wong-Staal F. Genetic regulation of human immunodeficiency virus. *Microbiol Rev* 1991;55:193-205.
- Trono D. HIV accessory proteins: leading roles for the supporting cast. *Cell* 1995;82:189-92.
- Broder CC, Collman RG. Chemokine receptors and HIV. *J Leukoc Biol* 1997;62:20-9.
- Luster AD. Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998;338:436-45.
- Garzino-Demo A, DeVico AL, Conant KE, Gallo RC. The role of chemokines in human immunodeficiency virus infection. *Immunol Rev* 2000;177:79-87.
- Paxton WA, Martin SR, Tse D, O'Brien TR, Skurnick J, VanDevanter NL, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposure. *Nat Med* 1996;2:412-7.
- Goodenow M, Huet T, Saurin W, Kwok S, Sninsky J, Wain-Hobson S.
- HIV-1 isolates are rapidly evolving quasispecies: evidence for viral mixtures and preferred nucleotide substitutions. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1989;2:344-52.
- Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995;267:483-9.
- Moore JP, Stevenson M. New targets for inhibitors of HIV-1 replication. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:40-9.
- Eckert DM, Kim PS. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Annu Rev Biochem* 2001;70:777-810.
- Carpenter CC, Cooper DA, Fischl MA, Gatell JM, Gazzard BG, Hammer SM, et al. Antiretroviral therapy in adults: updated recommendations of the International AIDS Society- USA Panel. *JAMA* 2000;283:381-90.
- Bushman FD. Integration site selection by lentiviruses: biology and possible control. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002;261:165-77.
- Greene WC. Regulation of HIV-1 gene expression. *Annu Rev Immunol* 1990;8:453-75.
- Dunn BM, Goodenow MM, Gustchina A, Wlodawer A. Retroviral proteases. *Genome Biol* 2002;3:REVIEWS3006.
- Baribaud F, Pohlmann S, Doms RW. The role of DC-SIGN and DCSIGNR in HIV and SIV attachment, infection, and transmission. *Virology* 2001;286:1-6.
- Zhang Z, Schuler T, Zupancic M, Wietgreffe S, Staskus KA, Reimann KA, et al. Sexual transmission and propagation of SIV and HIV in resting and activated CD4+ T cells. *Science* 1999;286:1353-57.
- Mastro TD, de Vincenzi I. Probabilities of sexual HIV-1 transmission. *AIDS* 1996;10 Suppl A:S75-82.
- Schacker T, Collier AC, Hughes J, Shea T, Corey L. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1996;125:257-64.
- Quinn TC. Acute primary HIV infection. *JAMA*

- 1997;278:58-62
33. Mofenson LM. Mother-child HIV-1 transmission: timing and determinants. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:759-84.
33. Leroy V, Newell ML, Dabis F, Peckham C, Van de Perre P, Bulterys M, et al. International multicentre pooled analysis of late postnatal mother-to-child transmission of HIV-1 infection. Ghent International Working Group on Mother-to-Child Transmission of HIV. *Lancet* 1998;352:597-600.
34. Van de Perre P, Simonon A, Msellati P, Hitimana DG, Vaira D, Bazubagira A, et al. Postnatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. A prospective cohort study in Kigali, Rwanda. *N Engl J Med* 1991;325:593-8.
35. Kalish LA, McIntosh K, Read JS, Diaz C, Landesman SH, Pitt J, et al. Evaluation of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 load, CD4 T cell level, and clinical class as time-fixed and time-varying markers of disease progression in HIV-1-infected children. *J Infect Dis* 1999;180:1514-20.
36. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, Lew JF, Mofenson L, Almy S, Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. Women and Infants Transmission Study Group. *N Engl J Med* 1997;336:1337-42.
37. Bertolli J, St Louis ME, Simonds RJ, Nieburg P, Kamenga M, et al. Estimating the timing of mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus in a breast-feeding population in Kinshasa, Zaire. *J Infect Dis* 1996;174:722-6.
38. Kliks SC, Wara DW, Landers DV, Levy JA. Features of HIV-1 that could influence maternal-child transmission. *JAMA* 1994;272:467-74.
39. Duliege AM, Amos CI, Felton S, Biggar RJ, Goedert JJ. Birth order, delivery route, and concordance in the transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mothers to twins. International Registry of HIV-Exposed Twins. *J Pediatr* 1995;126:625-32.
40. Diaz C, Hanson C, Cooper ER, Read JS, Watson J, Mendez HA, et al. Disease progression in a cohort of infants with vertically acquired HIV infection observed from birth: the Women and Infants Transmission Study (WITS). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;18:221-8.
41. Dunn DT, Newell ML, Ades AE, Peckham CS. Risk of human immunodeficiency virus type 1 transmission through breastfeeding. *Lancet* 1992;5;340:585-8.
42. Vergis EN, Mellors JW. Natural history of HIV-1 infection. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:809-25, v-vi.
43. McMichael AJ, Rowland-Jones SL. Cellular immune responses to HIV. *Nature* 2001;410:980-7.
44. Johnson RP, Walker BD. Cytotoxic T lymphocytes in human immunodeficiency virus infection: responses to structural proteins. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994;189:35-63.
45. Halsey NA, Markham R, Wahren B, Boulos R, Rossi P, Wigzell H. Lack of association between maternal antibodies to V3 loop peptides and maternal-infant HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992;5:153-7.
46. Gauduin MC, Safrit JT, Weir R, Fung MS, Koup RA. Pre- and postexposure protection against human immunodeficiency virus type 1 infection mediated by a monoclonal antibody. *J Infect Dis* 1995;171:1203-9.
47. Conley AJ, Kessler JA II, Boots LJ, McKenna PM, Schleif WA, et al. The consequence of passive administration of an anti-human immunodeficiency virus type 1 neutralizing monoclonal antibody before challenge of chimpanzees with a primary virus isolate. *J Virol* 1996;70:6751-8.
48. Robertson CA, Mok JY, Froebel KS, Simmonds P, Burns SM, Marsden HS, et al. Maternal antibodies to gp120 V3 sequence do not correlate with protection against vertical transmission of human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1992;166:704-9.
49. Baba TW, Liska V, Hofmann-Lehmann R, Vlasak J, Xu W, Ayejunie S, et al. Human neutralizing monoclonal antibodies of the IgG1 subtype protect against mucosal simian-human immunodeficiency virus infection. *Nat Med* 2000;6:200-6.
50. Nabel GJ, Sullivan NJ. Antibodies and resistance to natural HIV infection. *N Engl J Med* 2000;343:1263-5.
51. Haigwood NL, Zolla-Pazner S. Humoral immunity to HIV, SIV, and SHIV. *AIDS* 1998;12 Suppl A:S121-32.
52. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the management of health-care worker exposures to HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47:1-28.
53. Pantaleo G, Demarest JF, Schacker T, Vaccarezza M, Cohen OJ, Daucher M, et al. The qualitative nature of the primary immune response to HIV infection is a prognosticator of disease progression independent of the initial level of plasma viremia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:254-8.
54. Moskophidis D, Lechner F, Pircher H, Zinkernagel RM. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T cells. *Nature* 1993;362:758-61.
55. Lieberman J, Shankar P, Manjunath N, Andersson J. Dressed to kill? A review of why antiviral CD8 T lymphocytes fail to prevent progressive immunodeficiency in HIV-1 infection. *Blood* 2001;98:1667-77.
56. Goulder PJ, Brander C, Tang Y, Tremblay C, Colbert RA, Addo MM, et al. Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection. *Nature* 2001;412:334-8.
57. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-6.
58. Mellors JW, Rinaldo CR, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma [published erratum appears in *Science* 1997;275:14]. *Science* 1996;272:1167-70.
59. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996;271:1582-6.
60. Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994;43:1-12.
61. Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1992;41(RR-17):1-19.
62. 1999 USPHS/IDSA guidelines for the prevention of opportunistic infections in persons infected with human immunodeficiency virus. U.S. Public Health Service (USPHS) and Infectious Diseases Society of America (IDSA). U.S. Public Health Service (USPHS) and Infectious Diseases Society of America (IDSA). *MMWR*

- Morb Mortal Wkly Rep 1999;48(RR-10):1-59, 61-6.
63. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47(RR-4):1-43.
64. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1998;338:853-60.
65. Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J, Brady M, Johnson GM, Seage GR 3rd, et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. N Engl J Med 2001;345:1522-8.
66. Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. Nat Med 1999;5:512-7.
67. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, Vesanen M, Hurley A, Saksela K, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. Nature 1997;387:188-91.
68. Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. Lancet 1998;351:1881-3.
69. Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV. Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents: recommendations of the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR-7):155.
70. Deeks SG, Smith M, Holodniy M, Kahn JO. HIV-1 protease inhibitors: a review for clinicians. JAMA 1997;277:145-53.
71. Gandhi RT, Walker BD. Immunologic control of HIV-1. Ann Rev Med 2002;53:149-72.
72. Shafer RW. Genotypic testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. Clin Microbiol Rev 2002;15:247-77.
73. Nijhuis M, Deeks S, Boucher C. Implications of antiretroviral resistance on viral fitness. Curr Opin Infect Dis 2001;14:23-8.
74. Perez EE, Rose SL, Peyser B, Lamers SL, Burkhardt B, Dunn BM, et al. Human immunodeficiency virus type 1 protease genotype predicts immune and viral responses to combination therapy with protease inhibitors (PIs) in PI-naive patients. J Infect Dis 2001;183:579-88.
75. Stoddart CA, Liegler TJ, Mammano F, Linquist-Stepps VD, Hayden MS, Deeks SG, et al. Impaired replication of protease inhibitor-resistant HIV-1 in human thymus. Nat Med 2001;7:712-8.
76. Sleasman JW, Nelson RP, Goodenow MM, Wilfret D, Hutson A, Baseler M, et al. Immunoreconstitution after zidovudine therapy in children with human immunodeficiency virus infection involves multiple lymphocyte lineages. J Pediatr 1999;134:597-606.
77. Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. Science 1997;277:112-6.
78. Powderly WG, Landay A, Lederman MM. Recovery of the immune system with antiretroviral therapy: the end of opportunism? JAMA 1998;280:72-7.
79. Douek DC, Koup RA, McFarland RD, Sullivan JL, Luzuriaga K. Effect of HIV on thymic function before and after antiretroviral therapy in children. J Infect Dis 2000;181:1479-82.
80. Casazza JP, Betts MR, Picker LJ, Koup RA. Decay kinetics of human immunodeficiency virus-specific CD8+ T cells in peripheral blood after initiation of highly active antiretroviral therapy. J Virol 2001;75:6508-16.
81. Komanduri KV, Viswanathan MN, Wieder ED, Schmidt DK, Brecht BM, Jacobson MA, et al. Restoration of cytomegalovirus-specific CD4+ T lymphocyte responses after ganciclovir and highly active antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1. Nat Med 1998;4:953-6.
82. Rosenberg ES, Billingsley JM, Caliendo AM, Boswell SL, Sax PE, Kalams SA, et al. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. Science 1997;278:1447-50.
83. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. N Engl J Med 1994;331:1173-80.
84. Aleixo LF, Goodenow MM, Sleasman JW. Zidovudine administered to women infected with human immunodeficiency virus type 1 and to their neonates reduces pediatric infection independent of an effect on levels of maternal virus. J Pediatr 1997;130:906-14.
85. Guay LA, Musoke P, Fleming T, Bagenda D, Allen M, Nakabiito C, et al. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. Lancet 1999;354:795-802.
86. Fauci AS. The AIDS epidemic—considerations for the 21st century. N Engl J Med 1999;341:1046-50.
87. Nathanson N, Mathieson BJ. Biological considerations in the development of a human immunodeficiency virus vaccine. J Infect Dis 2000;182:579-89.
88. Heilman CA, Baltimore D. HIV vaccines—where are we going? Nat Med 1998;4:532-4.
89. Johnson RP, Desrosiers RC. Protective immunity induced by live attenuated simian immunodeficiency virus. Curr Opin Immunol 1998;10:436-43.
90. Baba TW, Jeong YS, Pennick D, Bronson R, Greene MF, Ruprecht RM. Pathogenicity of live, attenuated SIV after mucosal infection of neonatal macaques. Science 1995;267:1820-5.
91. Ho DD, Huang Y. The HIV-1 vaccine race. Cell 2002;110:135-8.
92. J Clin Invest 2002;110:15-20.
93. Barouch DH, Santra S, Schmitz JE, Kuroda MJ, Fu TM, Wagner W, et al. Control of viremia and prevention of clinical AIDS in rhesus monkeys by cytokine-augmented DNA vaccination. Science 2000;290:486-92.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Dal 1981, anno della descrizione di primi casi di AIDS, le conoscenze attorno alla malattia da HIV continuano ad evolvere a ritmo costante ed aumentano in modo così rapido da rendere arduo lo sforzo richiesto al medico, sia egli specialista o non, che desideri tenersi adeguatamente aggiornato in materia. Pur nella consapevolezza che poche pagine non possono avere la pretesa di approfondire in modo esauriente un argomento così complesso ed articolato, il presente capitolo rappresenta comunque un'occasione, soprattutto per il medico non specialista, di familiarizzare con i principali aspetti di questa importante, e purtroppo sempre più diffusa, malattia. Alcuni aspetti di rilievo sono emersi negli ultimi anni, ai quali si ritiene utile accennare brevemente.

Prima di farlo è tuttavia doveroso menzionare il *dato epidemiologico* relativo alla situazione Italiana che, sebbene non così drammatica come quella riguardante i Paesi in via di sviluppo, conta tuttavia oltre 56 mila casi di AIDS finora notificati, con una sostanziale stabilità del numero di nuove notifiche/anno dal 2001 in poi. A ciò va aggiunto che, a differenza del passato, la maggior parte delle nuove infezioni viene acquisita per via sessuale (omosessuale ed eterosessuale) cosicché la malattia da HIV sta divenendo a tutti gli effetti anche in Italia una malattia a trasmissione prevalentemente sessuale¹. Pur se non disponibile un dato nazionale preciso su prevalenza ed incidenza della malattia da HIV, si stima che il numero di infezioni occorre dal 1983 al 30 novembre 2006 sia compreso fra 140 e 180 mila (fonte: ISS); a tal proposito va purtroppo rilevato negli ultimi anni il netto calo di attenzione da parte dell'opinione pubblica sul problema della prevenzione dell'infezione che peraltro riguarda prevalentemente, anche se non esclusivamente, soggetti giovani, i più esposti e dunque i più colpiti da questa malattia.

Dal *punto di vista patogenetico* vanno menzionati i risultati di importanti studi recentemente condotti sia sulle scimmie che sull'uomo, che hanno evidenziato la rapida e massiccia infezione e distruzione delle cellule T CD4 con fenotipo memoria, che occorre nei tessuti mucosi nelle prime settimane successive al contagio²⁻⁶. Le dimensioni di questo fenomeno, caratteristico e rilevante nella patogenesi dell'infezione da HIV, appaiono in grado di condizionare il successivo andamento della malattia. A seguito di tali risultati è dunque tornato alla ribalta il concetto che il trattamento precoce dell'infezione da HIV, tendendo a limitare il danno immunologico iniziale, potrebbe garantire un più vantaggioso equilibrio HIV/ospite nella lunga fase asintomatica della malattia, potenzialmente in grado di rallentare la progressione verso l'AIDS⁷⁻⁹.

Nel campo della *diagnostica*, uno degli aspetti più degni di nota consiste nell'evoluzione dei test di screening, attualmente giunti alla quarta generazione. Rispetto a quelli utilizzati in passato, questi ultimi rivelano la presenza nel siero non solo degli anticorpi anti-HIV, ma anche dell'antigene p24, consentendo la riduzione del cosiddetto "periodo finestra" a circa un mese, dai sei dei test di prima e seconda generazione. Ciò ha consentito non solo di accelerare le procedure diagnostiche, ma anche di abbreviare i periodi di profilassi post-esposizione in seguito a contatto con materiale biologico potenzialmente o sicuramente infetto, oppure in seguito a rapporto sessuale non protetto con persona infetta nota o sospetta o sconosciuta.

La *terapia antiretrovirale* ha compiuto e sta compiendo tuttora passi importanti volti a rendere disponibili nuovi farmaci e strategie che, oltre ad una maggiore efficacia clinica, immunologica e virologica, siano anche dotati di migliori profili di tollerabilità, somministrabili secondo schemi che favoriscano l'aderenza, nonché attivi nei confronti di ceppi virali multiresistenti¹⁰. Si attende nel prossimo futuro l'arrivo di farmaci appartenenti a classi al momento non disponibili, quali gli anti-CCR5 e gli inibitori dell'integrasi di HIV¹¹. L'immane "rovescio della medaglia" è costituito dai problemi legati alla potenziale tossicità dei farmaci¹² e dal rischio di trasmissione di ceppi multiresistenti¹³.

Non altrettanto ben definita risulta la situazione per quanto riguarda i *vaccini*: dopo l'entusiasmo iniziale ed i relativi fallimenti¹⁴, sono attualmente al vaglio numerose strategie di immunizzazione, fra cui quella a cura dell'Istituto Superiore di Sanità¹⁵, dalle quali vi è speranza di poter ottenere in futuro prodotti in grado, se non di prevenire l'infezione, almeno di rallentare la progressione della malattia e migliorare l'assetto immunologico dei pazienti infetti¹⁶. Numerosi sono tuttavia gli ostacoli da superare, legati in particolare alle caratteristiche ed alla variabilità sia del virus che dell'ospite¹⁷.

Infine un cenno merita anche la problematica legata alle *interruzioni strutturate di terapia (STI)*. Le prime osservazioni, effettuate per lo più in soggetti trattati durante la fase acuta di malattia, avevano suggerito un possibile ruolo nell'aumentare il controllo della replicazione virale e nel potenziamento dell'immunità HIV-specifica, in quella che era stata definita come una sorta di "auto-vaccinazione"¹⁸. Tuttavia studi successivi, di dimensioni maggiori ed effettuati in soggetti in differenti fasi di malattia, hanno stemperato gli iniziali entusiasmi,¹⁹⁻²¹ soprattutto quando la STI venga effettuata in pazienti plurifalliti che albergano ceppi virali multiresistenti²². In definitiva, sebbene i risultati di alcune osservazioni sembrino abbastanza incoraggianti,²³⁻²⁴ tale strategia viene attualmente utilizzata nella pratica clinica più che altro come mezzo per ridurre l'esposizione ai farmaci, combattere eventuali effetti collaterali e contrastare i problemi di aderenza dovuti alla cosiddetta "therapy fatigue", nonché per abbattere i costi.²⁵

Riferimenti bibliografici

1. **Aggiornamento dei casi di AIDS notificati in Italia e delle nuove diagnosi di infezione da HIV – Dicembre 2005**
Reparto di Epidemiologia (COA)
Suligoi S, Boros S, Camoni L, Lepore D, Ferri M, Roazzi P

2. **Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in multiple tissues during acute SIV infection**
Mattipalli JJ, Douek DC, Hill B, et al
Nature 2005, 434:1093-1097
3. **Peak SIV replication in resting memory CD4+ T cells depletes gut lamina propria CD4+ T cells**
Li Q, Duan L, Estes JD, et al
Nature 2005, 434:1148-1152
4. **T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract**
Brenchley JM, Schacker TW, Fuff LE, et al
J Exp Med 2004, 200:749-759
5. **Severe CD4+ T cell depletion in gut lymphoid tissue during primary human immunodeficiency virus type 1 infection and substantial delay in restoration following highly active antiretroviral therapy**
Guadalupe M, Reay E, Sankaran S, et al
J Virol 2003, 77:11708-11717
6. **Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract**
Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, et al
J Exp Med 2004, 200:761-770
7. **HIV infection: first battle decides the war**
Hel Z, McGhee JR, Mestecky J
Trend Immunol 2006, 27:274-281
8. **In HIV-1 pathogenesis the die is cast during primary infection**
Centlivre M, Dala M, Wain-Hobson S, et al
AIDS 2007, 21:1-11
9. **Acute HIV infection: it takes more than guts**
Mattipalli JJ, Roederer M
Curr Opin HIV AIDS 2006, 1:10-15
10. **DHHS Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents - October 10, 2006**
11. **New targets in antiretroviral therapy 2006**
Wilkin A, Feinberg J
Curr Opin HIV AIDS 2006, 1:437-441
12. **Management of antiretroviral drug toxicity**
Feeney E, Muldoon E, Powderly WG
Curr Opin HIV AIDS 2006, 1:430-436
13. **Transmitted drug-resistance HIV-1 in primary HIV-1 infection; incidence evolution and impact on response to antiretroviral therapy**
Fox J, Dustan S, McClure M et al
HIV Med 2006, 7:477-483
14. **Randomized, double-blind, placebo-controlled efficacy trial of a bivalent recombinant glycoprotein 120 HIV-1 vaccine among injection drug users in Bangkok, Thailand**
Pitisuttithum P, Gilbert P, Gurwith M, et al
J Infect Dis 2006, 194:1661-1671
15. **Candidate HIV-Tat vaccine development: from basic science to clinical trials**
Ensoli B, Fiorelli V, Ensoli F, et al
AIDS 2006, 20:2245-2261
16. **Recent trends in clinical trials of vaccines to prevent HIV/AIDS**
Fast PE
Curr Opin HIV AIDS 2006, 1:267-271
17. **Brander C, Frahm N, Walker BD**
Curr Opin HIV AIDS 2006, 1:430-437.
18. **Immune control of HIV-1 after early treatment of acute infection**
Rosemberg ES, Altfeld M, Poon SH, et al
Nature 2000, 407:523-526

19. **CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment**
Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group
N Engl J Med 2006, 355:2283-2296
20. **CD4-guided structured antiretroviral treatment interruption strategy in HIV-infected adults in West Africa (Trivacan ANRS 1269 trial): a randomised trial**
Danel C, Moh R, Minga A, et al
Lancet 2006, 367:1981-1989
21. **Treatment interruption to boost specific HIV immunity in acute infection**
Kaufmann DE, Walker BD
Curr Opin HIV AIDS 2007, 2:21-25
22. **Treatment interruption in advanced failing patients**
Staszewski S
Curr Opin HIV AIDS 2002, 2:39-45
23. **CD4-guided scheduled treatment interruptions compared with continuous therapy for patients infected with HIV-1: results of the Staccato randomised trial**
Ananworanich J, Gayet-Ageron A, Le Braz M, et al
Lancet 2006, 368:459-465
24. **Predictors of HIV disease progression in patients who stop ART with CD4 counts>350/mm³**
Skiest D, Havlir D, Coombs R, et al
Program and abstracts of the 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006; Denver, CO; Abstract 101
25. **Treatment interruption for convenience, cost cutting and toxicity sparing**
Nüesch R, Hirschel B
Curr Opin HIV AIDS 2007, 2:31-38

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

HIV-1 superinfection

Todd M Allen, Marcus Altfeld
November 2003 (Vol. 112, Issue 5, Pages 829-835)

*** Secondary immunodeficiencies, including HIV infection**

Javier Chinen, William T. Shearer
Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S388-S392)

Critical issues in mucosal immunity for HIV-1 vaccine development

Barton F. Haynes, Robin J. Shattock
July 2008 (Vol. 122, Issue 1, Pages 3-9)

Pathogenic mechanisms of B-lymphocyte dysfunction in HIV disease

Susan Moir, Anthony S. Fauci
July 2008 (Vol. 122, Issue 1, Pages 12-19)

14. Malattie reumatiche infiammatorie

In questo capitolo vengono fornite al clinico le nozioni di base necessarie per porre diagnosi di malattie come il lupus eritematoso sistemico (LES) o l'artrite reumatoide (AR). Viene rivolta particolare attenzione all'esame obiettivo e agli esami di laboratorio di primo livello. Verranno analizzate solo le caratteristiche cliniche delle principali malattie reumatiche infiammatorie quali AR, LES, Sindrome di Sjogren, sclerodermia e polimiosite/dermatomiosite. Negli ultimi dieci anni il trattamento per l'AR è stato l'unico a riscontrare sostanziali miglioramenti; la terapia è stata, infatti, rivoluzionata dall'uso del methotrexate e, più di recente, dagli inibitori del tumor necrosis factor. L'obiettivo del trattamento della AR è, attualmente, quello di ottenere una completa remissione del processo patologico il più rapidamente possibile, sulla base del principio che "l'eliminazione della sinovite coincide con la riduzione della distruzione articolare". La speranza è che, se si riusciranno ad individuare e bloccare anche i mediatori principali della sindrome di Sjogren, del LES e della sclerodermia, come nel caso degli inibitori del TNF nella AR, si potrà disporre di strategie terapeutiche più specifiche. La AR è diventata, dunque, un modello eccellente, in quanto grazie all'identificazione dei principali mediatori, è stato possibile sviluppare nuovi agenti terapeutici altamente efficaci.

Nella trattazione che segue, saranno forniti al lettore alcuni principi generali sulle suddette patologie, per consentirne la classificazione nel contesto generale delle patologie autoimmuni e infiammatorie ad eziologia sconosciuta. In primo luogo, sebbene spesso descritte come malattie autoimmuni con caratteristiche immunologiche, una eziologia autoimmune non è stata dimostrata. Sono state chiamate in causa anche infezioni, tossine e farmaci, ma sul loro ruolo non c'è consenso unanime. La spiegazione eziopatogenetica comunemente riportata nei libri di testo si basa sulla interazione tra fattori genetici, ormonali, ambientali ed immunologici; probabilmente queste malattie possono essere descritte in modo più accurato considerandole come sindromi. Ogni categoria rappresenta un'entità autonoma dovuta ad una singola causa? Probabilmente si tratta di sindromi cliniche con fenotipo simile ma derivanti da cause differenti. Queste sindromi si sviluppano inoltre più spesso nelle donne che negli uomini e si manifestano nelle fasi precoci dell'età adulta. I fattori predisponenti ormonali o riproduttivi responsabili rimangono sconosciuti. Infine in queste

Abbreviazioni utilizzate:

ACA:	Anticorpi anti-centromero
ACR:	American College of Rheumatology
ANA:	Anticorpi antinucleo
Anti-SRP:	Anticorpi anti- particella di riconoscimento del segnale
APLS, ACLS:	Sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi o anti-cardiolipina
aPTT:	Tempo di tromboplastina parziale attivata
DMARDs:	Farmaci antireumatici che modificano il decorso di malattia
dRVVT:	Tempo del veleno di vipera Russel diluito
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay
IBM:	Miosite a corpi inclusi
IL:	Interleuchina
JRA:	Artrite reumatoide giovanile
KCS:	Cheratocongiuntivite secca
MCP:	Metacarpofalangea
FANS/NSAIDs:	Farmaci anti-infiammatori non steroidei
IFP/PIP:	Interfalangea prossimale
PM/DM:	Polimiosite/Dermatomiosite
AR/RA:	Artrite reumatoide
FR/RF:	Fattore reumatoide
LES/SLE:	Lupus eritematoso sistemico
SS:	Sindrome di Sjogren
TNF:	Tumor necrosis factor

patologie un ruolo importante è rivestito dagli autoanticorpi, il cui profilo di reattività antigenica è d'aiuto nella formulazione della diagnosi. Tuttavia, come già asserito, non c'è prova diretta che gli autoanticorpi abbiano un ruolo patogenetico o siano solo fenomeni concomitanti. Ad esempio non è neppure noto se un autoanticorpo contro il DNA nativo umano si sviluppi in risposta a DNA/RNA autologo, virale, batterico o anche ad altri materiali (fosfolipidi) che hanno analogie con la struttura del DNA autologo. Inoltre, nel 20% dei pazienti affetti da artrite reumatoide, la ricerca del fattore reumatoide risulta negativa. Solo il 40-50% dei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico (LES) presenta anticorpi anti-DNA, sebbene il 99% risulti positivo per gli anticorpi antinucleo (ANA).

Anche una discreta percentuale, circa un terzo, dei pazienti affetti da sindrome di Sjogren (SS), sclerodermia e polimiosite/dermatomiosite (PM/DM) risulta sierologicamente negativa. Questi dati portano ad ipotizzare che vi siano anticorpi non ancora identificati, o che questi non abbiano un ruolo fondamentale nelle patogenesi. Inoltre, una positività degli ANA o del FR si riscontra comunemente nelle maggior parte delle patologie infiammatorie. Una caratteristica comune di queste patologie è l'interessamento di uno specifico tipo di struttura

Traduzione italiana del testo di:

Richard D. Brasington, Lesile E. Kahl, Prabha Ranganathan, Kevin M. Latinis, Celso Velazquez e John P. Atkinson
J Allergy Clin Immunol 2003; 111: S593-601

TABELLA I. Criteri dell'ACR per la diagnosi di artrite reumatoide

1. Rigidità articolare mattutina. I pazienti presentano tipicamente rigidità mattutina che si protrae per oltre un'ora
2. Tumefazione di tre o più articolazioni (rilevata da un medico)
3. Distribuzione simmetrica
4. Coinvolgimento delle articolazioni delle mani, soprattutto dei polsi, delle metacarpofalangee e delle interfalangee prossimali, che risparmia le interfalangee distali
5. Positività del Fattore Reumatoide (rilevata nell'80% dei pazienti con AR)
6. Noduli reumatoidi sulle superfici estensorie dei tendini, soprattutto all'olecrano
7. Alterazioni radiografiche (in particolare osteopenia ed erosioni).

Per la diagnosi di AR, il paziente deve presentare almeno quattro dei sette criteri. I criteri dal numero 1 al 4 devono essere presenti da almeno sei settimane.

(AR, le articolazioni sinoviali; SS, le ghiandole esocrine; sclerodermia, la cute; PM/DM il muscolo).

Il profilo autoanticorpale, sebbene faciliti la classificazione delle patologie, non spiega la ragione per cui la cute è il principale bersaglio nella sclerodermia o le articolazioni sinoviali nella AR. Il LES ha invece caratteristicamente un interessamento multiorgano, probabilmente per la diffusa deposizione di immunocomplessi nelle strutture vascolari. Tutte queste patologie, fatta eccezione per la sclerodermia, rispondono bene ai farmaci antinfiammatori e agli immunosoppressori. Questa responsività, naturalmente, non indica che il sistema immunitario sia il primo responsabile, ma implica un ruolo dell'infiammazione immuno-mediata nella genesi del danno tissutale. Fattori favorenti potrebbero essere uno stimolo persistente, una risposta infiammatoria eccessiva o un difetto regolatorio a carico della componente innata o adattativa del sistema immunitario.

ARTRIDE REUMATOIDE

Informazioni generali

L'AR è una poliartrite infiammatoria simmetrica che interessa l'1% della popolazione e rende conto di un significativo grado di morbidità e di aumentati livelli di mortalità. L'AR ha distribuzione mondiale; la sua incidenza aumenta con l'età e colpisce il sesso femminile circa tre volte più di quello maschile. Sebbene la causa dell'AR sia sconosciuta, si hanno molte informazioni su come il meccanismo infiammatorio determini la distruzione articolare e su come si possa selettivamente intervenire su questo processo con il trattamento farmacologico.

Caratteristiche cliniche

L'esordio e il decorso dell'AR sono variabili. In genere i pazienti presentano un esordio subdolo con dolore articolare simmetrico, tumefazione e rigidità mattutina che peggiorano in alcune settimane. Malessere generale e stanchezza accompagnano l'infiammazione attiva. Il progressivo danno articolare dovuto ad una AR controllata in modo

sub-ottimale porta a deformità e progressiva invalidità.

Le caratteristiche cliniche dell'AR includono infiammazione articolare simmetrica precoce nel corso della malattia e manifestazioni di distruzione articolare nella fase cronica.

Calore, gonfiore, dolore, ridotta mobilità e tumefazione palpabile caratterizzano la sinovite attiva. Nelle articolazioni più profonde può essere possibile dimostrare solo una riduzione del grado di mobilità. Classicamente l'AR causa sinovite delle articolazioni metacarpofalangee (MCP) e interfalangee prossimali (PIP), con una distribuzione simmetrica.

Sul piano clinico questo si manifesta con gonfiore, calore, fragilità e riduzione del grado di mobilità e della forza prensile delle mani. L'AR di solito colpisce i piedi, i polsi e le ginocchia, la colonna cervicale, le spalle e le anche.

Manifestazioni extra-articolari di AR includono noduli reumatoidi sottocutanei, ulcerazioni vasculitiche della pelle, sintomi di secchezza oculare e orale, noduli polmonari, fibrosi polmonare interstiziale, mononeurite multipla e sindrome di Felty (triade costituita da AR, neutropenia e splenomegalia). Con la scoperta di trattamenti più efficaci, le manifestazioni extra-articolari dell'AR sono oggi meno comuni rispetto al decennio precedente.

Caratteristiche immunologiche e patogenesi della malattia

La principale causa dell'AR rimane non completamente nota. I dati riportati negli ultimi dieci anni supportano l'ipotesi di un processo immunomediato, che condurrebbe ad infiammazione e distruzione articolare. Studi genetici hanno dimostrato correlazioni con molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II, in particolare HLA-DR. Recentemente citochine pro-infiammatorie, tra le quali interleuchina (IL)-1, IL-6 e Tumor necrosis factor (TNF)- α , sono state poste in relazione alla AR, costituendo nuovi target terapeutici.¹

La patogenesi della distruzione articolare nella AR include il deposito sinoviale di immunocomplessi, l'infiltrazione di neutrofili, l'angiogenesi e l'attivazione delle cellule T.² Inoltre i leucociti, e anche i macrofagi, vengono successivamente attivati e contribuiscono a potenziare l'ambiente infiammatorio, ricco di citochine. La membrana sinoviale si ispessisce fino a formare il "panno" ed inizia ad invadere la cartilagine e l'osso. Infine la proliferazione del panno induce una distruzione più profonda della cartilagine, una erosione dell'osso sub-condrale e una lassità dei legamenti peri-articolari. L'attività degli osteoclasti, stimolata dalle citochine, determina erosione ed osteoporosi peri-articolare. La ricerca di meccanismi immunologici specifici ha determinato la scoperta di molti autoanticorpi in pazienti con AR. Oltre al classico fattore reumatoide (FR), costituito da autoanticorpi policlonali diretti contro il frammento Fc delle immunoglobuline IgG rilevato nella maggioranza dei pazienti affetti da AR, altri anticorpi associati all'AR includono quelli anti-filaggrina, anti-BiP, anti-citrullina, anti-calpastatina, anti-Sa, anti-Hsp60 e anti-hnRNP. Il ruolo di questi auto-anticorpi e dei loro rispettivi auto-antigeni nella patogenesi di malattia non è noto.

Diagnosi

L'American College of Rheumatology (ACR) ha fornito i criteri per la diagnosi di AR (Tabella I). Questi criteri sono stati stabiliti per l'inclusione dei pazienti in studi clinici e non per una diagnosi clinica di routine. Infatti un importante limite è che la formulazione di questi criteri deriva dall'osservazione di pazienti ospedalizzati con AR conclamata, mentre essi possono non essere sufficientemente sensibili per la diagnosi precoce di AR. Ad ogni modo, questi possono fungere da linee guida per la valutazione di pazienti con sospetta AR da parte di medici che non abbiano familiarità con la patologia.

In pratica un soggetto con poliartrite infiammatoria simmetrica delle piccole articolazioni delle mani e con positività del FR, molto probabilmente è affetto da AR.

Indicatori non specifici di infiammazione, quali velocità di eritrosedimentazione (VES) e livello di Proteina C Reattiva (PCR), possono essere aumentati e correlare con il grado di severità clinica.²

Studi recenti sostengono l'importanza della diagnosi precoce e del trattamento aggressivo della AR, al fine di prevenire le complicanze a lungo termine. Qualora vi sia sospetto clinico di AR, è consigliabile un tempestivo consulto di uno specialista reumatologo.³

Trattamento

Gli obiettivi della terapia dell'AR sono costituiti dal controllo dell'infiammazione, dalla prevenzione della progressiva distruzione articolare, dalla preservazione e dal miglioramento delle attività quotidiane e dall'alleviamento del dolore. Il trattamento medico include l'uso di farmaci antinfiammatori non-steroidi (FANS), farmaci antireumatici che modificano la malattia (DMARDs) e corticosteroidi. Il trattamento include anche una terapia non farmacologica, che consiste nell'educazione del paziente, nella terapia fisica, in quella occupazionale, nell'uso di orthotics (dispositivi ortopedici di supporto) e nel trattamento chirurgico. Le indicazioni attuali sono di iniziare il trattamento con i DMARDs entro tre mesi dalla diagnosi; questi farmaci sopprimono l'infiammazione immuno-mediata, riducendo l'attività delle cellule bersaglio (i linfociti) o interferendo sulle cascate citochiniche. I DMARDs più comunemente usati sono il methotrexate, la leflunomide, la sulfasalazina e l'idrossiclorochina. I farmaci biologici più recentemente introdotti, che hanno come bersaglio la cascata delle citochine, includono gli inibitori del TNF- α , etanercept e infliximab, e l'antagonista del recettore per IL-1, anakinra. Quando la dose massimale di un DMARD consente un controllo sub-ottimale della malattia, l'aggiunta di un altro DMARD spesso ne potenzia l'efficacia. Sono indispensabili esami di routine, per controllare l'attività della AR e la tossicità farmacologica. Basse dosi di corticosteroidi (10 mg di prednisone) sono estremamente efficaci nel ridurre prontamente i sintomi, ma deve essere sempre identificata e utilizzata la minima dose efficace. I corticosteroidi devono essere usati in pazienti con significative limitazioni delle loro attività quotidiane, soprattutto nella

fase precoce di malattia, in attesa dell'effetto dei DMARDs, che di solito agiscono più lentamente. I FANS, inclusi i nuovi inibitori selettivi della ciclo-ossigenasi (COX)-2, vengono comunemente aggiunti al regime terapeutico per ridurre il dolore e l'infiammazione.

ARTRITE REUMATOIDE GIOVANILE

Caratteristiche cliniche

L'artrite reumatoide giovanile (JRA) comprende una serie di malattie infiammatorie articolari che si manifestano prima dei 16 anni. Questa patologia può presentare tre diversi quadri clinici. La presentazione poliarticolare (5 o più articolazioni) simmetrica è spesso associata a positività del FR e la patologia può protrarsi fino all'età adulta. I pazienti negativi per il FR probabilmente presentano un quadro meno grave; i pazienti con coinvolgimento di un numero di articolazioni pari o inferiore a 4 sono classificati come affetti da forma pauciarticolare. Quest'ultima può essere ad esordio precoce, manifestandosi in giovani pazienti di sesso femminile con positività per gli ANA ed aumentato rischio di irite; la forma ad esordio tardivo colpisce tipicamente il sesso maschile e interessa soggetti prevalentemente HLA-B27, con caratteristiche muscoloscheletriche di spondilartrite.

La malattia ad esordio sistemico è caratterizzata da febbre, epatosplenomegalia, linfadenopatia, leucocitosi, pleuropericardite e dal classico "rash di Still": una eruzione cutanea debole, evanescente, color salmone che tende a comparire durante le fasi febbrili. Il fenomeno di Koebner si riferisce al fatto che il rash può essere indotto dallo strofinamento della cute. La malattia di Still dell'adulto è una sindrome simile, che interessa gli adulti. La diagnosi differenziale della JRA comprende il LES, la spondilartrite, le artriti infettive, la porpora di Schönlein-Henoch, le sindromi vasculitiche, le malattie infiammatorie croniche intestinali, la leucemia, l'anemia a cellule falciformi e l'emofilia.

Caratteristiche immunologiche

Il FR (vedi AR) è più frequentemente positivo in pazienti con malattia poliarticolare simmetrica. L'ANA (vedi LES) tende ad essere positivo nelle donne giovani con malattia pauciarticolare e patologia infiammatoria cronica dell'occhio.

Trattamento

I farmaci usati per il trattamento sono gli stessi di quelli usati per l'AR: FANS, prednisone, sulfasalazina, idrossiclorochina, methotrexate ed etanercept. È indicata la consultazione di un reumatologo pediatrico. Poiché l'iridociclite cronica nei pazienti con JRA è di solito asintomatica fino alla perdita del visus, è fondamentale che tutti i bambini siano sottoposti ad un esame oculare ogni 6-12 mesi.

TABELLA II. Criteri di classificazione ACR per il LES

1. Rash malare: eritema malare fisso, piano o rilevato
2. Rash discoide: chiazze eritematose rilevate con placche cheratotiche e occlusione follicolare
3. Fotosensibilità: rash cutaneo come reazione inconsueta alla luce solare
4. Ulcere orali o rinofaringee
5. Artrite: non erosiva
6. Sierosite: pleurite o pericardite
7. Alterazioni renali: proteinuria ($> 0.5 \text{ g/d}$ o $> 3+$) o cilindri cellulari
8. Alterazioni neurologiche: crisi comiziali o psicosi
9. Alterazioni ematologiche: anemia emolitica o leucopenia ($< 4000/\text{mL}$) o linfopenia ($< 1500/\text{mL}$) o trombocitopenia (< 100000)
10. Alterazioni immunologiche: anti-DNA a doppia elica o anti-Sm o positività per gli anticorpi anti-fosfolipidi basata su (1) un anormale livello sierico di anticorpi anticardiolipina IgG o IgM, (2) un risultato positivo al test per lupus anticoagulant con un metodo standard o (3) un test sierologico falsamente positivo per la sifilide per un minimo di sei mesi e confermato come falso dal test di immobilizzazione del *Treponema pallidum* o dal test di adsorbimento degli anticorpi fluorescenti anti-*Treponema*.
11. Titolo anormale di anticorpi antinucleo all'immunofluorescenza o ad un test equivalente in un qualsiasi momento della storia clinica ed in assenza di somministrazione di farmaci noti per indurre una sindrome lupica.

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

Informazioni generali

Il LES è una malattia multisistemica "autoimmune" che colpisce le articolazioni, la cute, il cuore, i polmoni, il SNC, i reni e il sistema ematopoietico e, nel 99% dei casi, è associata ad una positività degli ANA. Sono più frequentemente colpite le giovani donne in età riproduttiva; attualmente è più rara la forma secondaria all'assunzione di farmaci. L'errore più comune nella diagnosi di LES è l'eccessiva attenzione posta alla positività del test ANA, in assenza di caratteristiche cliniche di malattia.

Caratteristiche cliniche

Il lupus ha varie manifestazioni, e l'abilità clinica del medico risiede nella capacità di porre diagnosi.⁴ L'ACR ha formulato 11 criteri clinici, dei quali almeno 4 devono essere soddisfatti per la diagnosi. Tuttavia, questi criteri sono stati stabiliti allo scopo di includere i pazienti in studi clinici, piuttosto che per la diagnosi clinica; sebbene questi criteri possano servire come indicazione generale per l'individuazione delle manifestazioni del LES, il "conteggio" dei criteri non sostituisce il giudizio clinico nel porre diagnosi di malattia (Tabella II).

Alopecia, fenomeno di Raynaud e disturbi sistemici come febbre e astenia sono altre comuni manifestazioni di LES attivo. La sindrome da anticorpi antifosfolipidi (vedi oltre) si riscontra frequentemente in pazienti con LES, soprattutto in caso di malattia con manifestazioni tromboemboliche e neuropsichiatriche.

Aspetti immunologici

L'immunopatologia del LES è stata oggetto di molte ipo-

tesi sofisticate e complesse, impossibili da confutare o da dimostrare. C'è accordo generale sul fatto che il LES sia caratterizzato dal deposito di immunocomplessi, la cui più evidente dimostrazione è la glomerulonefrite. L'altra caratteristica centrale dell'immunopatologia del LES è la presenza di autoanticorpi; malgrado la loro presenza sia indiscutibile, non è ben chiaro se siano agenti patogenetici o rappresentino solo manifestazioni secondarie. La presenza degli autoanticorpi nel LES è probabilmente la caratteristica più confondente e meno compresa della patologia.⁵

Il test di fluorescenza per gli ANA più comunemente usato è così sensibile che la sua negatività esclude la diagnosi di LES; spesso questa tecnica rileva gli ANA a titoli bassi o moderati anche in caso di infiammazioni croniche e talora in soggetti sani: la bassa specificità è il prezzo da pagare per la sensibilità estremamente elevata del test. Maggiore è il titolo degli ANA, maggiori sono le probabilità di diagnosi di LES. Dunque il test ANA è estremamente utile per testare l'ipotesi clinica di lupus in un paziente, ed un suo risultato negativo esclude la diagnosi, mentre un risultato positivo indica la possibilità di diagnosticare un lupus, ma non ne accerta la presenza.

Se l'ANA è usato come test di screening per la patologia autoimmune, una sua positività ha tuttavia scarso significato, soprattutto in assenza di manifestazioni cliniche di LES. Una tecnica alternativa per misurare gli ANA è l'enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), metodica che usa antigeni altamente purificati, permettendo dunque la ricerca di ANA verso specifici antigeni nucleari. Tuttavia lo scarso repertorio di bersagli antigenici disponibili dà occasionalmente luogo a risultati falsamente negativi. Pertanto l'ELISA non gode ancora della stessa popolarità dell'ANA test.

Gli anticorpi contro il DNA a doppia elica, al contrario, hanno sensibilità inferiore ma alta specificità: un alto titolo di anticorpi anti-DNA rende molto probabile la diagnosi di LES, anche se un test negativo non esclude la diagnosi, poiché circa il 50% dei pazienti non sviluppa mai anticorpi anti-DNA. Vi sono due tecniche comuni per determinare gli anticorpi anti-DNA. La tecnica del *Crithidia luciliae* è un test di immunofluorescenza indiretta, analogo alla tecnica per la determinazione degli ANA esposta precedentemente. La *Crithidia* contiene un chinotoplasto composto di puro DNA a doppia elica, che diventa il bersaglio per gli anticorpi anti-DNA, quando gli organismi sono fissati su un vetrino da microscopio. L'altra tecnica è l'ELISA; i vantaggi dell'ELISA sono la capacità di dosare la quantità degli anticorpi anti-DNA e la possibilità di processare un gran numero di campioni rapidamente ed in modo automatico.

Un altro test altamente specifico per la diagnosi di LES è la determinazione degli anticorpi anti-Sm, che reagiscono con uno degli antigeni nucleari estraibili. Essi vengono rilevati in circa il 25% dei pazienti affetti da LES. In alcuni casi di lupus si possono rinvenire anticorpi anti-ribonucleoproteina, specialmente in caso di manifestazioni di miosite, ma tali autoanticorpi, se presenti ad alto titolo, sono classicamente associati alla connettivite mista. Gli anti-Ro (SSA) si osservano in circa il 25% dei pazienti affetti, specialmente in quelli con lupus cutaneo

subacuto, un rash eritematoso anulare che guarisce senza cicatrizzazione centrale, caratteristica che lo distingue dal rash del lupus discoide. Gli anti-Ro sono un marker sierologico del lupus neonatale, caratterizzato da arresto cardiaco congenito, trombocitopenia e rash anulare. Questo è un eccellente esempio della patogenicità degli anticorpi materni che attraversano la placenta ed inducono patologia nel neonato.

Paradossalmente, circa il 50% delle madri di neonati con lupus neonatale non hanno manifestazioni cliniche di LES ma sono solo portatrici degli autoanticorpi.

I livelli sierici dei fattori del complemento C3 e C4 possono essere ridotti in fase di malattia attiva a causa del consumo di complemento da parte degli immunocomplessi, specialmente in corso di glomerulonefrite attiva. I livelli possono tornare alla normalità con il miglioramento clinico. Il test del CH50 (attività emolitica del complemento al 50%) non è particolarmente sensibile per evidenziare un consumo di complemento, ma è utilizzabile per evidenziare il deficit di un componente isolato (C1q, C1r, C1s, C4 e C2), che di solito si manifesta con una sindrome simil-lupica

Trattamento

Un errore concettuale comune è che tutti i pazienti con LES richiedano una terapia con corticosteroidi sistemici quando, nella pratica comune, le manifestazioni più lievi della malattia possono essere trattate con medicinali meno potenti. Il rash può essere trattato in modo efficace con corticosteroidi topici, evitando, però l'uso di cortisonici fluorati sul volto, in quanto possono provocare atrofia subcutanea. L'idrossiclorichina può essere efficace sia per le alterazioni cutanee sia per le manifestazioni artriche. I FANS o basse dosi di prednisone (10-20 mg) possono alleviare le manifestazioni artriche e i casi più lievi di pleurite e pericardite, mentre i quadri più gravi richiedono dosi elevate di corticosteroidi (40-60 mg). Se la patologia interessa il rene e ne compromette la funzione, di solito viene istituito un trattamento con alte dosi di corticosteroidi e somministrazioni intermittenti di ciclofosfamide endovena.

Il Micofenolato Mofetile è usato in alcuni casi di nefrite lupica, mentre azatioprina e methotrexate sono spesso somministrati per consentire la riduzione della terapia steroidea. Il trattamento deve comunque essere adattato al singolo caso clinico.

SINDROME ANTIFOSFOLIPIDI

Aspetti generali

La sindrome anticardiolipina e antifosfolipidi (ACLS, APLS) può manifestarsi in associazione al LES oppure come entità isolata, idiopatica. Più del 15% dei pazienti con lupus ha la sindrome antifosfolipidi e circa il 50% dei pazienti con APLS è affetto da lupus. Per lungo tempo i marcatori sierologici di questa affezione protrombotica, sono stati riconosciuti tramite la falsa positività dei test biologici per la sifilide e il lupus anticoagu-

lant. Si dovette aspettare fino agli anni '80 affinché la positività di questi test fosse correlata alla sindrome clinica caratterizzata da eventi trombotici a livello venoso e arterioso, e da aborti ricorrenti. È paradossale che per una sindrome caratterizzata da ipercoagulabilità, il test diagnostico ancora maggiormente impiegato, sia il prolungamento del test di coagulazione, che lascerebbe intendere una condizione emorragica.

Clinica

In genere le pazienti sono donne giovani o di mezza età, con o senza lupus, ma con una anamnesi positiva per trombofilia.⁶⁻¹⁰ La seconda importante caratteristica è una storia di aborti ricorrenti, soprattutto tra il secondo e il terzo trimestre di gravidanza. La paziente può manifestare solo trombosi arteriosa o venosa o aborti o una combinazione di questi fattori. Il problema più comune è la trombosi venosa profonda, mentre a livello arterioso vi possono essere infarti e attacchi ischemici transitori.

Tuttavia, ogni vaso può essere coinvolto, portando ad infarti di intestino, cuore, surreni ed arti. Gli aborti sono probabilmente da correlarsi alla trombosi dei vasi placentari che determina infarto, insufficienza placentare e ridotto sviluppo fetale.

L'ispezione rivela in circa un terzo dei pazienti la precoce comparsa di livido reticularis. I pazienti con ACLS manifestano comunemente anche trombocitopenia, talora severa, ma di solito con valori delle piastrine compresi tra le 75.000-150.000 unità/mm³. Bisogna fortemente sospettare la diagnosi in giovani donne con trombosi senza spiegazioni cliniche alternative oppure con localizzazioni inusuali. La sindrome antifosfolipidica catastrofica si verifica (raramente) quando vi sono infarti acuti, multipli, diffusi, simultanei, ed ha spesso esito letale.¹¹

Fattori eziologici e patogenetici

Non si conosce il meccanismo attraverso il quale gli anticorpi antifosfolipidi inducono la trombosi. Sono state proposte varie ipotesi, supportate da test in vitro: l'inibizione dell'attivazione della proteina C, l'attivazione delle piastrine, alterazioni nella sintesi di prostaglandine, e la stimolazione di cellule endoteliali. In modelli murini, l'inoculazione di anticorpi antifosfolipidi umani provoca aborto, dovuto alla distruzione placentare da parte degli anticorpi e del complemento. Inoltre gli anticorpi facilitano la formazione dei trombi anche in altri organi murini.

Test di laboratorio

I due test raccomandati sono il lupus anticoagulant e l'ELISA per gli anticorpi antifosfolipidi. Oltre ad essere prolungato, il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT) non è corretto dal miscelamento con plasma normale (che consentirebbe di identificare un deficit del fattore di coagulazione) ma è normalizzato dall'aggiunta di fosfolipidi (per neutralizzare gli anticorpi); l'impossibilità di correggere l'aPTT prolungato con l'aggiunta di plasma normale e la sua correzione con l'aggiunta di plasma

ricco di piastrine, che rappresenta una fonte di fosfolipidi, rappresenta il fenomeno noto come "lupus anti-coagulante". Un altro test è il tempo del veleno di vipera Russel diluito (dRVVT). Questo è analogo al PTT, eccetto per il fatto che il veleno di vipera Russel sostituisce la tromboplastina attivata come stimolo per la via intrinseca della coagulazione. I vantaggi del dRVVT sono che è più sensibile per identificare piccole quantità di anticorpi antifosfolipidi rispetto all'aPTT e che può essere eseguito durante la terapia anticoagulante. Per la valutazione degli anticorpi antifosfolipidi, si usa il test ELISA, per identificare l'isotipo (IgG, IgA, IgM); titoli medio-elevati di IgG sono fortemente diagnostici. Attualmente sempre più spesso si usa un terzo test per la ricerca di anticorpi contro la $\beta 2$ glicoproteina-1 (2-GP1). Questa proteina plasmatica lega i fosfolipidi carichi negativamente: nei pazienti con sindrome antifosfolipidica, gli autoanticorpi sono spesso rivolti verso questa proteina, vettrice di tali lipidi. Tale proteina, grazie al suo legame con i fosfolipidi, può agire da anticoagulante, cosicché un'interferenza con la sua funzione potrebbe indurre trombosi. Infine il "VDRL falso positivo" (così detto perché il test FTA è negativo per la sifilide) riflette la presenza di anticorpi che reagiscono con la cardiopalina.

Trattamento

Poiché la recidiva è comune, i pazienti vengono trattati a tempo indeterminato con anticoagulanti orali. Sebbene alcuni sottogruppi di pazienti rispondano alla sola aspirina, la maggior parte richiede una terapia prolungata con warfarin, con l'obiettivo di raggiungere un INR di circa 3, anche se non vi è accordo su quanto dovrebbe essere alto il valore di INR. Il trattamento è di solito efficace nella prevenzione delle recidive. Per trattare gli aborti ricorrenti, si usano regimi di eparina, aspirina, Immuno Globuline Endovena (IVIG) e prednisone somministrati singolarmente o in varia combinazione.

Anche i pazienti con trombosi vascolari ricorrenti nonostante una adeguata terapia anticoagulante orale, vengono trattati in questo modo.

SINDROME DI SJÖGREN

Informazioni generali

La sindrome di Sjögren è una malattia infiammatoria cronica e linfoproliferativa con aspetti autoimmuni e caratterizzata da una progressiva infiltrazione di cellule mononucleari nelle ghiandole esocrine, in particolare le ghiandole lacrimali e salivari (esocrinopatia autoimmune). Si riconoscono due tipi di SS: primaria e secondaria. La SS primaria si verifica in pazienti senza altra evidenza di malattia autoimmune, mentre la SS secondaria si verifica come complicanza di un'altra malattia del tessuto connettivo, come AR, LES, PM, o sclerodermia. La SS ha un picco di incidenza nella quarta e quinta decade di vita, con un rapporto tra sesso femminile e maschile di 9:1.

Aspetti clinici

I sintomi più comuni sono correlati alla xerostomia e alla xeroftalmia (sicca complex). I pazienti possono lamentare una sensazione di sabbia negli occhi e difficoltà a mangiare cibi secchi. Il diminuito flusso salivare porta a frequenti carie dentarie e a patologia periodontale accelerata. Il più cospicuo segno visivo della SS è la tumefazione della ghiandola parotide, che può essere unilaterale o simmetrica, ed è spesso recidivante. I reperti cutanei nella SS includono secchezza cutanea, porpora palpabile, orticaria e lesioni anulari. Le artralgie sono comuni, ma un'artrite franca è più rara. Le manifestazioni polmonari includono frequenti infezioni sinusali, malattia ostruttiva delle vie aeree e polmoniti interstiziali che possono progredire fino alla fibrosi polmonare. I neonati di madri con SS ed alto titolo di anticorpi SSA/Ro, hanno un aumentato rischio di arresto cardiaco. Disfagia, membrane esofagee e/o dismotilità, gastrite cronica atrofica e raramente colite ischemica secondaria a vasculite sono le caratteristiche gastrointestinali della SS. Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale comprende perdita dell'udito immuno-mediata, vasculiti, manifestazioni neuropsichiatriche.

Mononeuriti multiple si verificano nei pazienti con SS, specialmente in associazione a vasculiti cutanee. In pazienti con SS è stato segnalato un rischio 33 volte superiore di linfoma, in particolare di tumori linfoidi associati alle mucose. I pazienti con SS primaria caratterizzata da adenopatia persistente, tumefazione parotidea ricorrente e ulcere vasculitiche agli arti inferiori hanno il più alto rischio di sviluppare linfoma.¹²

Aspetti immunologici

Gli autoanticorpi rivolti verso Ro/SSA e La/SSB sono i più specifici e clinicamente significativi nella SS primaria. Gli anti-La sono generalmente accompagnati dagli anti-Ro, data l'interazione fisica di queste molecole nelle particelle ribonucleoproteiche Ro/La, ma gli anti-Ro frequentemente si ritrovano in assenza degli anti-La. Gli anticorpi anti-Ro si ritrovano approssimativamente nel 60-75% dei pazienti con SS primaria, gli anti-La nel 40%. Gli anticorpi microsomiali antitiroidei e quelli rivolti verso le cellule parietali della mucosa gastrica si ritrovano in un terzo dei pazienti con SS primaria e secondaria. Gli altri autoanticorpi segnalati includono anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili con pattern perinucleare e anticorpi diretti contro l'anidrasi carbonica, le subunità proteosomali, l' α -fodrina e il recettore muscarinico M3.¹³ Tests positivi per gli ANA e il fattore reumatoide sono presenti nel 60-80% dei pazienti con SS primaria e un'ipergammaglobulinemia policlonale nel 50%. Non si sa cosa inneschi l'invasione linfocitica del tessuto ghiandolare esocrino o come, presumibilmente, i linfociti si sensibilizzino verso il tessuto ghiandolare/duttale. In seguito, però, la produzione locale di citochine, come il TNF- α e l'IL-1 β , può attivare gli enzimi proteolitici, che danneggiano le strutture dell'acino o del dotto delle ghiandole salivari. Le cellule T sensibilizzate e le cellule NK possono direttamente produrre danno tessutale.

TABELLA III. Classificazione della sclerodermia

Sclerosi sistemica
Sclerodermia diffusa
Sclerodermia limitata
Sclerodermia localizzata
Morfea
Sclerodermia lineare
Sindromi sclerodermia-simili
Graft-versus-host disease
Cheiroartropatia diabetica
Fascite eosinofila
Sclerodermia
Sindrome POEMS
Carcinoide
Farmaco-correlata
Bleomicina
Triptofano
Occupazionale e ambientale
Silice
Solventi
Tricloroetilene
Percloroetilene
Cloruro di vinile
Oli Tossici

POEMS, Polineuropatia, Organomegalia, Endocrinopatia, Mieloma e Alterazioni Cutanee

Si pensa che anche modifiche dei livelli dei segnali che promuovono la morte cellulare possano giocare un ruolo nel danno tessutale.¹⁴

Diagnosi

La formulazione dei criteri per la diagnosi di SS è stata controversa. Questo è essenzialmente dovuto alla presenza di differenti criteri proposti da vari gruppi, come quelli originali e rivisti dall'European Study Group, San Diego, e i criteri di San Francisco. In generale, si pone diagnosi di SS in pazienti che presentino (a) cheratocongintivite secca obiettiva (KCS) e xerostomia e (b) un campione biotipico di una ghiandola salivare minore che mostri un infiltrato linfocitico focale o autoanticorpi diretti contro gli antigeni SS-A (Ro) e SS-B (La). La KCS è spesso dimostrata con il test di Schirmer, nel quale una striscia standardizzata di carta filtro è posta per 5 minuti tra il bulbo oculare e la parte laterale della palpebra inferiore. Il test è positivo quando la lunghezza della parte bagnata della striscia è ≤ 5 mm/5 min. I tests per la produzione di saliva, considerati positivi quando tutta la saliva raccolta è ≤ 1.5 mL/15 min, sebbene più specifici per la SS primaria, vengono raramente eseguiti nella pratica clinica.

La SS può essere associata anche ad una cirrosi biliare primitiva e all'epatite C e al virus della immunodeficienza umana 1 (HIV 1), e di questo si dovrebbe tenere conto nella valutazione dei pazienti con diagnosi di SS.

Trattamento

L'uso regolare di lacrime artificiali è la terapia iniziale

TABELLA IV. Confronto tra sclerodermia limitata e diffusa

Manifestazioni	Limitata	Diffusa
Localizzazione cutanea	Solo distale e del volto	Distale e prossimale
Velocità di interessamento cutaneo	Lenta	Rapida
Teleangectasie	+++	+ (tardive)
Calcinosi	+++	+ (tardive)
Sfregamento tendineo	0	+++ (precoce)
Ipertensione polmonare	++	(+/-)
"Crisi Renale"	0	++
Anticorpi anticentromero	+++	0
Anti-scleroderma-70	0	+
Sopravvivenza (10 anni)	>70%	<50%

per la xeroftalmia. In pazienti con una risposta inadeguata alle lacrime artificiali, un piccolo intervento di occlusione realizzato da un oculista può aiutare a ritenere le lacrime artificiali instillate. Un'attenta igiene dentale e l'uso di fluoruri topici può ritardare la comparsa di carie dentarie e malattie periodontali. Due agonisti muscarinici, pilocarpina e cevimelina, sono approvati dalla FDA per il trattamento della bocca secca associata con la SS. La dose della pilocarpina è 5 mg 4 volte al giorno e della cevimelina 30 mg 3 volte al giorno. Gli effetti collaterali più comuni comprendono sudorazione e nausea. Questi farmaci possono anche essere d'aiuto per i sintomi oculari. Le artralgie possono rispondere ai FANS o agli anti-malarici. Gli steroidi sistemici e i citotossici sono maggiormente usati per il trattamento delle complicanze extraghiandolari, come le vasculiti e il coinvolgimento polmonare, renale e neurologico.^{13,15}

SCLERODERMIA

Informazioni generali

La sclerodermia è una patologia sistemica caratterizzata da un eccesso di deposizione di collagene nella cute e nei visceri, in associazione ad anomalie vascolari, inclusi vasospasmo e occlusione microvascolare. Ci sono due sottogruppi di sclerodermia, con differenti presentazioni cliniche e prognosi: la forma limitata e quella diffusa. Si può avere una forma localizzata della malattia, e una sclerodermia sistemica, dalla quale devono essere distinti alcuni disordini sclerodermia-simili (Tabella III). La patologia ha un picco di incidenza tra i 35 e i 65 anni ed un rapporto tra sesso femminile e maschile di circa 10:1.

Aspetti clinici

La caratteristica di entrambe le forme, limitata e diffusa, è l'ispessimento della cute. Nella malattia limitata questo è graduale all'esordio e, per definizione¹⁶, è limitato al volto e alle dita, distalmente alle articolazioni MCP/MTP (Tabella IV). Nella malattia diffusa, sia la velocità sia l'estensione dell'ispessimento cutaneo sono più gravi, con coinvolgimento tipico e completo degli arti, del tronco, della schiena, dell'addome e delle gambe. Calcinosi e tele-

Tabella V. Autoanticorpi miosite-specifici

Autoanticorpi	Manifestazioni cliniche associate	Risposta alla terapia	Frequenza nella miosite
Antisintetasi (il più comune è l'Anti-Jo-1)	Sindrome antisintetasi: miosite, artrite, febbre, malattia polmonare interstiziale, "mani da meccanico", sindrome di Raynaud	Moderata	20-30%
Anti-SRP	Mialgia e astenia severa con coinvolgimento cardiaco	Scarsa	<5%
Anti-Mi-2	Dermatomiosite classica	Buona	5-10%

SRP, Segnale di riconoscimento delle particelle

angectasie compaiono più tardi nel decorso della malattia. Gli aspetti muscolo scheletrici di questa malattia includono acroosteolisi, miositi e severe contratture in flessione per coinvolgimento di cute e tendini, soprattutto nella malattia diffusa. Il fenomeno di Raynaud interessa pressochè tutti i pazienti con sclerosi sistemica. Nella malattia limitata esso può precedere di mesi o anni le alterazioni cutanee, ma nella malattia diffusa la comparsa di entrambi i sintomi è quasi simultanea. Il fenomeno di Raynaud si verifica nel 10-20% della popolazione generale, nella maggior parte dei casi in assenza di malattie associate o sottostanti. La diagnosi differenziale deve comprendere sclerodermia e altre malattie del tessuto connettivo, esposizione a strumenti percussivi o vibranti, farmaci, come ergot-derivati e simpaticomimetici, e crioglobulinemia.

La dismotilità esofagea è la più comune manifestazione gastrointestinale e può essere accompagnata da disfagia, reflusso o costrizione. La diminuita motilità del piccolo intestino può comportare una maggiore crescita batterica, diarrea e malassorbimento. Il coinvolgimento del grosso intestino causa costipazione o pseudo-ostruzione. La fibrosi del parenchima polmonare è comune, ma spesso asintomatica. Circa il 10% dei pazienti con sclerodermia limitata ha ipertensione polmonare. Il coinvolgimento cardiaco comporta aritmie, ischemia microvascolare e insufficienza cardiaca congestizia. I pazienti con sclerodermia diffusa sono ad alto rischio di "crisi renali", con ipertensione, microangiopatia e insufficienza renale. La malattia cardiopolmonare è oggi la più comune causa di morte in entrambe le forme della malattia. La sclerodermia può anche verificarsi sovrapposta a PM, SS e LES.

Aspetti immunologici

La patogenesi è sconosciuta, ma meccanismi immuni sembrano giocare un ruolo. È comune il riscontro di un'ipergammaglobulinemia policlonale, come di positività per ANA e anticorpi antiendotelio. Circa l'80% dei pazienti presenta ANA con pattern centromerico o nucleolare. Un pattern ANA punteggiato suggerisce una malattia del connettivo indifferenziata o una sindrome da sovrapposizione. Gli anticorpi anticentromero (ACA) sono fortemente associati con la forma limitata di malattia; l'anti-scleroderma-70 è più comune in associazione con la malattia diffusa. C'è una maggiore frequenza di altre malattie autoimmuni, inclusi ipotiroidismo, cirrosi biliare primitiva e SS.

Diagnosi

La diagnosi di sclerodermia si basa su criteri clinici; il fenomeno di Raynaud e l'ispessimento cutaneo rappresentano indizi diagnostici. Anticorpi rivolti verso ACA o anti-scleroderma-70 possono essere usati per confermare il sospetto clinico. La biopsia cutanea è raramente necessaria. Occasionalmente, la diagnosi di "sclerodermia senza scleroderma" viene posta in caso di fenomeno di Raynaud e grave dismotilità esofagea senza ispessimento cutaneo, in particolare se gli ACA o gli anti-scleroderma-70 sono presenti. Tests di funzionalità polmonare ed ecocardiogrammi periodici possono essere utili nel monitorare la malattia e guidare il trattamento.

Trattamento

Il trattamento dei pazienti con sclerodermia è sintomatico e mirato ai problemi clinici. Il fenomeno di Raynaud può rispondere parzialmente ai bloccanti dei canali del calcio. Le ulcere ischemiche digitali possono essere trattate con il blocco simpatico cervicale, l'infusione di prostaciclina e terapie topiche accurate. Le artriti e le sierositi si verificano raramente, ma generalmente rispondono ai FANS (che devono essere usati con cautela) mentre i corticosteroidi sono riservati ai quadri resistenti. L'uso di moderate o alte dosi di steroidi può incrementare il rischio di crisi ipertensive. Questa complicanza è trattata con ACE-inibitori, che possono essere prescritti preventivamente in pazienti ad alto rischio, con malattia precoce diffusa e rapidamente progressiva. Gli inibitori di pompa protonica e i bloccanti H₂ vengono usati per i sintomi esofagei, eventualmente in associazione con procinetici. Non esiste un trattamento definitivo per l'ispessimento cutaneo. La terapia occupazionale è importante per preservare la funzionalità delle mani. L'ipertensione polmonare può rispondere alla terapia infusionale continua con epoprostenol¹⁷ o al bosentan, un nuovo agente che blocca il recettore per l'endotelina-1. I pazienti con malattia interstiziale infiammatoria polmonare possono beneficiare del trattamento con ciclofosfamide.¹⁸

POLIMIOSITE, DERMATOMIOSITE E MIOSITE A CORPI INCLUSI

Informazioni generali

PM, DM e miosite a corpi inclusi (IBM) sono le princi-

pali forme ben caratterizzate di miopatia infiammatoria idiopatica.¹⁹ Queste malattie si manifestano con infiammazione e debolezza del muscolo scheletrico. Le miopatie infiammatorie sono rare, con un'incidenza circa di 1:100.000. Altre categorie di miopatia infiammatoria includono la DM del bambino, PM e DM associate a neoplasia, e PM o DM associate con malattie del tessuto connettivo.

Aspetti clinici

PM e DM colpiscono più spesso le donne che gli uomini, generalmente dopo la seconda decade di vita. Le miopatie infiammatorie causano debolezza muscolare prossimale e simmetrica che progredisce in un periodo di settimane o mesi. I pazienti tipicamente hanno difficoltà a salire le scale, ad alzarsi dalla sedia, o a sollevare oggetti sopra la loro testa. Possono verificarsi debolezza dei flessori del collo e disfagia, ma il coinvolgimento dei muscoli facciali o oculari è raro. Le manifestazioni sistemiche (astenia, anoressia, febbre) sono comuni. Più del 50% dei pazienti ha un coinvolgimento extramuscolare, generalmente cardiaco (difetti di conduzione, cardiomiopatie) o polmonare (alveoliti, debolezza dei muscoli respiratori).

La DM ha delle caratteristiche cutanee che la distinguono da altre miopatie. Una discromia lilla delle palpebre (rash eliotropo), spesso con edema periorbitale e papule eritematose articolari (segno di Gottron) ai gomiti, alle ginocchia, alla parte superiore del torace e alla schiena sono caratteristici. Queste lesioni sono frequentemente fotosensibili. Anse capillari dilatate alla base delle unghie possono essere visualizzate attraverso un oftalmoscopio portatile settato a +40 diottrie. La cute delle dita può essere ruvida e fissurata, con linee scure, "sporche" ("mani da meccanico"). Le lesioni cutanee possono ritrovarsi anche senza l'evidenza di debolezza muscolare (DM amiotopica).

Al contrario della PM, l'IBM è più comune dopo i 50 anni e colpisce gli uomini con una frequenza doppia rispetto alle donne. L'IBM comunemente comporta debolezza e atrofia che possono essere distali e asimmetriche e progrediscono in mesi/anni. Questo tipo di miopatia non risponde bene al trattamento come la PM, ma può talvolta essere ottenuta una stabilizzazione o un moderato miglioramento della debolezza muscolare.

Aspetti immunologici

Gli autoanticorpi miosite-specifici definiscono gruppi di pazienti con caratteristiche cliniche e prognosi uniformi (Tabella V).^{20,21}

Sebbene questi autoanticorpi siano specifici per le miopatie infiammatorie, i loro bersagli antigenici sono comuni a tutte le cellule; essi possono essere evidenziati nei pazienti prima della comparsa della debolezza muscolare e i titoli possono variare con l'attività della malattia, ma non ci sono evidenze dirette a supporto di un loro ruolo nella patogenesi. I più comuni anticorpi miosite-specifici sono diretti verso l'aminoacil-tRNA sintetasi. Il più comune degli anti-sintetasi è l'anticorpo

anti-Jo-1. Altri anticorpi comuni comprendono l'anti-particella per il riconoscimento del segnale (anti-SPR), che riconosce un complesso ribonucleoproteico citoplasmatico ed è associato con coinvolgimento cardiaco e cattiva prognosi dopo trattamento. L'anti-Mi-2, che riconosce un'elicasa coinvolta nella regolazione della trascrizione, è associata con la DM. Altri aspetti immunologici comprendono la presenza nel siero di ANA, livelli elevati di immunoglobuline e infiltrazione linfocitaria del muscolo. In particolare, i campioni biotici muscolari dei pazienti con DM mostrano una precoce infiltrazione di cellule B, nell'ambito di un processo immunitario, che ha come bersaglio i vasi di piccolo calibro, mentre i pazienti con PM hanno un incrementato numero di cellule T CD8+ e nessuna evidenza di microangiopatia. La patogenesi delle miopatie infiammatorie è sconosciuta, ma il danno tissutale è probabilmente il risultato di un'attivazione immunitaria in pazienti geneticamente predisposti. Fattori ambientali, incluse infezioni e tossine, probabilmente giocano un ruolo nella genesi della malattia.

Diagnosi

La diagnosi delle miopatie infiammatorie si basa sull'anamnesi e sull'esame obiettivo, ponendo attenzione all'identificazione della debolezza muscolare prossimale, e sul rilievo laboratoristico di markers di infiammazione muscolare, in particolare la creatin-chinasi. L'elettromiografia rivela le alterazioni caratteristiche di una miopatia, come l'irritabilità inserzionale, onde positive appuntite, fibrillazioni e potenziali polifasici di piccola intensità dell'unità motoria. Un approccio comune è l'attuazione dell'elettromiografia unilaterale e di una biopsia muscolare controlateralmente, in corrispondenza della zona con reperti più anomali, per evitare l'artefatto dovuto alla presenza di cellule infiammatorie nel muscolo in cui è stato inserito l'ago per l'elettromiografia. Una biopsia muscolare con cellule infiammatorie, fibrosi e necrosi, rigenerazione e atrofia delle cellule muscolari conferma la diagnosi di PM. La biopsia nella DM ha maggiore probabilità di dimostrare l'infiltrazione perivascolare di linfociti T e B e l'atrofia perifascicolare. Nella miosite a corpi inclusi, la microscopia ottica mostra vacuoli basofili con orletto, mentre al microscopio elettronico sono visibili inclusioni citoplasmatiche.

Trattamento

I corticosteroidi sono il caposaldo del trattamento;²¹ vengono somministrate dosi iniziali di prednisone maggiori di 100 mg/die e il dosaggio viene poi regolato in accordo alla risposta clinica, ai livelli sierici di creatin-chinasi e agli effetti collaterali. Vengono anche usati methotrexate e azatioprina in caso di risposta inadeguata o come farmaci risparmiatori di steroidi. Più del 90% dei pazienti con PM/DM ha una risposta almeno parziale al trattamento. Anche l'IBM viene trattata con prednisone, methotrexate e azatioprina, ma con una più modesta aspettativa di miglioramento clinico.

Bibliografia

1. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001;344:907-16.
2. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2001;358:903-11.
3. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis 2002 update. American College of Rheumatology subcommittee on rheumatoid arthritis guidelines. *Arthritis Rheum* 2002;46:328-46.
4. ACR ad hoc committee on SLE guideline. Guidelines for referral and management of SLE in adults. *Arthritis Rheum* 1999;42:1785-95.
5. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:71-81.
6. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 2002;346:752-63.
7. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019-27.
8. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309-11.
9. Golan TD. Lupus vasculitis: differential diagnosis with antiphospholipid syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2002;4:18-24.
10. Hughes Syndrome: antiphospholipid syndrome. Khamashta MA, editor. London: Springer; 2000.
11. Asherson RA, Cervera R, Piette JC, Font J, Lie JT, Burcoglu A, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome: clinical and laboratory features of 50 patients. *Medicine (Baltimore)* 1998;77:195-207.
12. Valesini G, Priori R, Bavoillot D, Osborn J, Danieli MG, Del Papa N, et al. Differential risk of non-Hodgkin's lymphoma in Italian patients with primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 1997;24:2376-80.
13. Jonsson R, Haga H, Gordon T. Current concepts on diagnosis, autoantibodies and therapy in Sjogren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 2000;29:341-8.
14. Fox RI, Maruyama T. Pathogenesis and treatment of Sjogren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:393-9.
15. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980;23:581-90.
16. Badesch DB, Tapson VF, McGoon MD. Continuous intravenous epoprostenol for pulmonary hypertension due to the scleroderma spectrum of disease: a randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 2001;132:425-34.
17. White B, Moore WC, Wigley FM. Cyclophosphamide is associated with pulmonary function and survival benefit in patients with scleroderma and alveolitis. *Ann Intern Med* 2000;132:947-54.
18. Dalakas MC. Polymyositis, dermatomyositis and inclusion-body myositis. *N Engl J Med* 1991;324:1487-98.
19. Hengstman GJD, van Engelen BGM, Vree WTM. Myositis-specific autoantibodies: overview and recent developments. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:476-82.
20. Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas M, Plotz PH, et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogenous patient groups. *Medicine (Baltimore)* 1991;70:360-74.
21. Choy EHS, Isenberg DA. Treatment of dermatomyositis and polymyositis. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:7-13.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Negli ultimi anni è notevolmente cambiata la strategia che guida il trattamento dell'artrite reumatoide e si è andata affermando l'importanza di una precoce valutazione, diagnosi e terapia. È ormai condiviso che vi è una "finestra di opportunità" all'esordio della malattia, nella quale il trattamento di associazione tra farmaci di fondo e farmaci biologici può migliorare il decorso, contenere il danno articolare ed cambiare in meglio la qualità di vita dei soggetti affetti. Progressi si sono avuti anche nelle tecniche di imaging, come l'ecografia e la RMN, che hanno dimostrato la loro utilità nell'identificare una sinovite sin dalle prime fasi e questo anche in assenza di segni e sintomi o di alterazioni dei principali indici di valutazione della malattia come il Disease Activity Score (DAS)-28 e con una maggiore sensibilità nell'individuare erosioni ossee rispetto alla radiografia convenzionale.

Il tumour necrosis factor α (TNF- α) e l'interleuchina 1 (IL-1) sono citochine espresse in eccesso nella sinovia reumatoide e responsabili della flogosi e del danno articolare. Per "farmaci biologici" si intendono quegli agenti che bloccano il TNF- α come l'infliximab (anticorpo anti-TNF chimerico murino/umano; somministrazione per via e.v.), l'etanercept (proteina di fusione recettore del TNF α /IgFc, per via s.c.) e l'adalimumab (anticorpo monoclonale anti-TNF totalmente umano; per via s.c.). Il NICE raccomanda l'utilizzo degli agenti biologici in caso di AR severa refrattaria ad almeno due diversi regimi terapeutici con farmaci di fondo; è stato documentato che la risposta clinica a tali farmaci, talvolta spiccata, è efficace anche nel lungo termine. L'infliximab, in particolare, conferma la sua efficacia e tollerabilità anche nelle forme di AR attiva, refrattaria ai farmaci di fondo e di lunga durata. La terapia con agenti anti-TNF-alfa è risultata ben tollerata nella grande maggioranza dei soggetti. È sempre necessario controllare prima di intraprendere il trattamento, l'eventuale pregressa esposizione al *M tuberculosis*, nonché a HBV e HCV, dei quali è stata recentemente descritta riattivazione in corso di trattamento con farmaci biologici. Sebbene non sembri essere documentato un aumentato rischio di neoplasia, non sono ancora noti gli effetti collaterali a lungo termine di tali farmaci; sono tutt'ora in corso studi su *anakinra*, inibitore dell'IL-1, ed altri farmaci.

Lupus eritematoso sistemico

Gli ultimi anni hanno visto un perfezionamento, in campo clinico, della definizione e del trattamento di alcune manifestazioni cliniche del LES, come l'interessamento neurologico (in parte associato alla sindrome da anticorpi antifosfolipidi), l'interstiziopatia polmonare, caratteristica delle fasi tardive di malattia, e lo studio del rischio a lungo-termine di sviluppare malattie cardiovascolari ed osteoporosi.

In campo terapeutico, i farmaci immunosoppressori utilizzati nel LES per i quali esistono maggiore esperienza e consenso internazionale sono il Metotrexato, la Ciclofosfamide, l'Azatioprina, la Ciclosporina A e il Micofenolato mofetile. Di più recente impiego nel LES, il Micofenolato Mofetile trova indicazione nella nefrite lupica, nella quale ha dimostrato buona efficacia e minore incidenza di effetti collaterali rispetto all'azatioprina. L'utilizzo del Micofenolato, grazie alla sua efficacia, rappresenta una valida alternativa terapeutica nelle forme cliniche refrattarie alle terapie convenzionali.

La glomerulonefrite proliferativa lupica rappresenta ancora oggi la principale causa di morbidità e mortalità legata al LES. Sebbene il trattamento con ciclofosfamide (Cyc) ad alte dosi abbia dimostrato la sua importanza, il regime ottimale rimane ancora dibattuto per la durata, la dose cumulativa e la conseguente tossicità della Cyc. La risposta a parte di questi problemi viene dallo studio dell'Eurolupus nephritis trial, attivo dal 1997, che ha valutato l'efficacia e la tollerabilità della terapia con Cyc a basse dosi, rispetto al regime con Cyc ad alte dosi, nel trattamento della nefrite lupica di classe III, IV, Vc o Vd. I risultati ottenuti dall'ELNT dimostrano come l'uso di Cyc a basse dosi sia egualmente efficace, rispetto al tradizionale protocollo, nell'indurre la remissione nei soggetti con glomerulonefrite lupica. Sebbene non statisticamente significativa, si è inoltre osservata una netta prevalenza delle complicanze infettive nel gruppo trattato con dosi più elevate di immunosoppressore.

Ancor più interessanti sono i risultati degli studi sulla genetica nel LES. In questo campo, studi multicentrici europei ed americani hanno analizzato l'influenza di alcune mutazioni di osteopontina (fosfoproteina glicosilata comunemente presente nella matrice ossea e nei fluidi corporei che agisce come una citochina, risultando coinvolta in molteplici attività cellulari in particolare nella risposte infiammatorie) e di BANK 1 (B-cell scaffold protein with ankyrin repeats 1), una proteina "scaffold" del citoscheletro espressa prevalentemente nei linfociti B periferici circolanti che riveste un ruolo importante nella modulazione della risposta immunitaria mediata dalle cellule B. In soggetti con LES è stata documentata una maggior frequenza di mutazioni a carico di questi geni rispetto a soggetti non portatori di malattie autoimmuni. I dati, pubblicati su *Nature Genetics*, sono importanti, perché localizzare i diversi difetti genetici alla base del LES permetterà in futuro l'utilizzo di farmaci biologici mirati, così come è avvenuto per l'artrite reumatoide.

Sindrome di Sjogren

Per la Sindrome di Sjogren (SS), il problema è quello di identificare ed adottare criteri univoci di diagnosi. Lo sforzo dei ricercatori europei ed americani si è concretizzato nella stesura di criteri condivisi, quelli di Vitali et al. Anche se l'esame istologico delle ghiandole salivari minori rappresenta una metodica estremamente specifica e rimane il test di riferi-

mento, la diagnosi di sindrome di Sjögren e la successiva distinzione tra forme primarie e secondarie è talvolta problematica e non può essere praticata in base ai risultati forniti da un unico test diagnostico. Gli altri esami di imaging utilizzati sono la scialografia parotidea e la scintigrafia con Tc99m delle ghiandole salivari, che però presentano dei limiti in sensibilità e/o specificità e nessuno di essi, da solo, dimostra sufficiente accuratezza diagnostica.

I risultati recentemente ottenuti da nuovi studi sull'impiego dell'ecografia (US) ne giustificano l'utilizzo nello studio morfologico di patologie diffuse delle ghiandole salivari, come la SS. L'integrazione dell'US con l'ECD, associato all'impiego di mdc eco-amplificanti vascolari, permette inoltre di acquisire informazioni legate alla funzionalità ghiandolare, migliorando ulteriormente l'accuratezza diagnostica della metodica analizzata. Nei soggetti sani si è osservato un importante incremento dell'enhancement contrastografico durante lo stimolo scialogeno rispetto ai valori basali, tale incremento è stato invece molto scarso nei soggetti con SS.

Attualmente passi in avanti sono stati effettuati nel campo della fisioterapia, con tecniche di drenaggio e stimolazione, da effettuare anche in modo autonomo dopo adeguata educazione del soggetto affetto, che tendono ad aumentare la secrezione ed il flusso ematico e linfatico, in particolare a livello facciale, contribuendo al controllo della xeroftalmia e xerostomia, o riducendo la necessità o il dosaggio dei precedenti farmaci ad effetto sintomatico.

I farmaci immunosoppressori, come la ciclosporina per via topica, sembrano migliorare i segni ed i sintomi della cheratoconjuntivite secca riducendo sia il numero dei linfociti T infiltranti sia i livelli di interleuchina-6 nella congiuntiva, ma sono attualmente ancora in fase di studio. Al momento, negli animali da esperimento, viene esaminata la possibilità di conferire alle cellule duttali salivari la capacità di produrre fluidi mediante il trasferimento di geni per proteine deputate al trasporto dell'acqua, come le "aquaporine". In campo umano, alcuni trial, ancora in corso, valutano l'efficacia e la tollerabilità di infliximab, etanercept e anti-IFN-alfa, mentre nelle forme con associato linfoma, risultati promettenti vengono dall'impiego del rituximab, anticorpo monoclonale diretto contro CD20, che provoca deplezione dei linfociti B.

Sclerodermia

La sclerosi sistemica è caratterizzata da anomalie immunologiche, danno cellulare dell'endotelio e fibrosi della cute e degli organi interni.

Una visione complessiva della patogenesi della malattia non può prescindere dall'analisi di tre aspetti: la vasculopatia, l'immunità cellulo-mediata e umorale e la progressiva fibrosi viscerale e vascolare multiorgano.

Alla base della malattia vi è un abnorme stress ossidativo, che risulta correlato con l'attivazione dei fibroblasti. Partendo dall'osservazione che il platelet-derived growth factor (PDGF) stimola la produzione di reactive oxygen species (ROS) e che le IgG di soggetti con sclerodermia reagiscono con i fibroblasti umani, si è documentato che nel siero di sclerodermici sono presenti autoanticorpi che stimolano il recettore per PDGF (PDGFR) attivando così l'espressione di geni per il collagene. Questi autoanticorpi riconoscono il PDGFR nativo, inducendo fosforilazione della tirosina e accumulo di ROS. La stimolazione del PDGFR induce selettivamente la cascata Ha-Ras-ERK1/2 e di ROS e stimola l'espressione del gene per il collagene di tipo I e la conversione dei miofibroblasti in fibroblasti primitivi umani normali. In sintesi, autoanticorpi diretti contro il PDGFR sembrano un marcatore specifico di sclerodermia. La loro attività biologica sui fibroblasti indica come abbiano un ruolo centrale nella patogenesi della malattia.

Ulteriori progressi nell'ambito di tale patologia sono emersi in campo terapeutico, in particolare per quanto riguarda il recente utilizzo dell'inibitore della tirosin-kinasi Imatinib, già noto per il suo impiego nella terapia della LMC. L'imatinib, quale inibitore dell'attività tirosin-chinasica del recettore del PDGF, si è dimostrato efficace nel ridurre significativamente il rimodellamento vascolare polmonare responsabile dell'ipertensione polmonare, complicanza frequente nel soggetto sclerodermico. Sulla base di tali risultati sono stati pertanto avviati ulteriori studi per valutare l'efficacia di Imatinib quale agente antifibrotico.

Polimiosite e Dermatomiosite

La polimiosite e la dermatomiosite sono malattie infiammatorie del muscolo di origine sconosciuta, caratterizzate da debolezza e mialgie, facile affaticabilità, talvolta associate a manifestazioni cutanee (rash eliotropo, eritema periorbitario, papule di Gottron, microteleangetasie). Le due forme di miopatia hanno probabilmente una patogenesi diversa: nella polimiosite le alterazioni muscolari sono cellulo-mediate (l'infiltrato infiammatorio è costituito principalmente da linfociti T citotossici che esprimono in superficie molecole HLA di classe II), mentre nella dermatomiosite la lesione principale è una vasculite che determina una sofferenza ischemica delle fibre muscolari.

I principali obiettivi terapeutici sono rappresentati dalla risoluzione della sintomatologia muscolare e delle lesioni cutanee e dalla prevenzione della progressione della malattia e dell'insorgenza di eventuali complicanze (ad esempio l'interstiziopatia polmonare).

Le immunoglobuline endovena (IVIg) ad alto dosaggio rappresentano un importante, seppur controverso, presidio terapeutico, attivo in forme morbose diverse e a diversa eziopatogenesi. Le IVIg sono derivati del sangue in grado di operare a più livelli nell'ambito del sistema immunitario: agiscono molto rapidamente e portano ad un successo terapeutico in più dell'85% dei soggetti con nefrite, cerebrita, citopenia e neuropatia periferica. Nonostante consentano una riduzione della dose di steroidi e siano dotate di scarsi effetti collaterali, il loro impiego è limitato dalla brevità della loro efficacia e dall'elevato costo economico.

Nelle connettiviti e nelle vascoliti la loro efficacia è stata dimostrata nella dermatomiosite steroideo-resistente, [10] nella sindrome da immunità anti-fosfolipidica (in condizioni selezionate), nella malattia di Kawasaki, nella poliarterite associata a HBV e nelle vasculiti ANCA positive. In altre affezioni immuno-mediate vi è indicazione all'impiego delle IVIg solo in caso di fallimento delle terapie di prima scelta. Nella nostra esperienza, le IVIg hanno indotto una remissione completa in una larga percentuale (80%) dei soggetti affetti da polimiosite e dermatomiosite. Questi risultati positivi si sono osservati sia nei casi di steroideo-resistenza, steroideo-dipendenza o steroideo-intolleranza, sia come approccio di prima linea. Non è stato documentato alcun incremento nel numero e tipo di effetti collaterali. Le IVIg ad alte dosi possono essere quindi considerate presidi terapeutici sicuri ed efficaci nei soggetti con PM-DM.

Malattie autoimmuni e salute della donna

Per ragioni ancora solo in parte definite, *circa il 75% dei soggetti affetti da malattie autoimmuni è costituito da donne in età fertile*. L'assetto ormonale ha senz'altro un ruolo fondamentale poiché queste malattie ricorrono più frequentemente nel periodo gestazionale, possono aggravarsi o migliorare durante la gravidanza, peggiorare dopo il parto, ricorrere dopo la menopausa. È quindi importante conoscere i potenziali fattori di rischio per informare i soggetti suscettibili. Negli ultimi anni, sono stati definiti i protocolli di assistenza per le donne con malattie autoimmuni in gravidanza, così come le indicazioni all'impiego dei contraccettivi orali e della terapia ormonale sostitutiva in questa fascia di popolazione.

Riferimenti bibliografici

Persistent clinical response of infliximab therapy in patients with refractory rheumatoid arthritis over a 3-year period

Voulgari PV, Alamanos Y, Drosos AA
Curr. Clin Pharmacol. 2006; 1(1):103-8

Comparison of Methotrexate monotherapy with a combination of Methotrexate and Etanercept in active, early, moderate to severe Rheumatoid arthritis (COMET): a randomized, double blind, parallel treatment trial

Emery P, Breedveld FC, Hall S, Durez P, Chang DJ, et al
Lancet 2008; 372(9636):375-82

Tumor necrosis factor alpha drugs in Rheumatoid Arthritis: systematic review and metaanalysis of efficacy and safety

Alonso-Ruiz A, Pijoan JI, Ansuategui E, Urkaregi A, Calabozo M, et al
BMC Musculoskeletal Disord. 2008; 17;9:52

Mycophenolate mofetil for lupus nephritis

McCune WJ
New Engl J Med 2005; 335 (21): 2282-4

Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide

Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, Garrido Ed Ede R, et al
Arthritis Rheum 2002; 46(8): 2121-31, [IF 7.38]

Early response to immunosuppressive therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis: lessons from the long-term follow-up of the Euro-Lupus Nephritis Trial

Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, Garrido ER, et al
Arthritis Rheum 2004; 50 (12): 3934-40.

Two SNPs in the 5' and 3' end of the OPN (osteopontin) gene contribute to susceptibility to systemic lupus erythematosus

D'Alfonso S, Barizzzone N, Giordano M, Chiochetti A, Magnani C, et al
Arthritis Rheum 2005; 52 (2): 539-47

Functional variants in the B-cell gene BANK1 are associated with systemic lupus erythematosus

Kozyrev SV, Abelson AK, Wojcik J, Zaghlool A, Linga Reddy MV, et al
Nature Genet. 2008; 40(2): 211-6

Risk factors for Sjögren's syndrome: a case-control study

Priori R, Medda E, Conti F, Cassarà EA, Sabbadini MG, et al
Clin Exp Rheumatol. 2007; 25(3): 378-84.

Stimulatory autoantibodies to PDGF receptor in Systemic sclerosis (sclerodermia)

Svegliati Baroni S, Santillo M R, Bevilacqua F, Luchetti M, Spadoni P, et al
New England Journal of Medicine. 2006; 354:2667-76.

Platelet-derived growth factor and reactive oxygen species (ROS) regulate Ras protein levels in primary human fibroblasts via ERK. Amplification of ROS and Ras in Systemic sclerosis fibroblasts

Svegliati Baroni S, Cancellò R, Sambo P, Luchetti M, Padroncini P, et al
J Biol Chem 2005; 280:36474-82

Intravenous immunoglobulin treatment in autoimmune diseases

Danieli MG, Calcabrini L, Marchetti A, Calabrese V, Pettinari L, et al
Recenti Prog Med. 2007; 98(6): 322-6

Cyclosporin A and intravenous immunoglobulin treatment in polymyositis/dermatomyositis

Danieli MG, Malcangi G, Palmieri C, Logullo F, Salvi A, et al
Ann Rheum Dis 2002; 61(1): 37-41, [IF 3.87]

Autoimmunità, Gravidanza, Contraccezione, Terapia ormonale

Tranquilli AL, Danieli MG, Berluti B
Piccin Ed., 2007, pag. 68

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Targeting TNF- α : A novel therapeutic approach for asthma

January 2008 (Vol. 121, Issue 1, Pages 11-12)

15. Le vasculiti

La vasculite è caratterizzata sul piano istologico dalla presenza di infiammazione dei vasi sanguigni. Può essere osservata in un'ampia varietà di forme primarie o secondarie ad altri processi. Le vasculiti primitive sistemiche comprendono un ampio gruppo di entità patologiche che vengono identificate unicamente sulla base delle loro caratteristiche cliniche, istopatologiche o terapeutiche. Le singole malattie spesso colpiscono in maniera predominante vasi sanguigni di un particolare calibro, il quale ne influenza le manifestazioni cliniche e viene usato per la loro classificazione. Le vasculiti possono presentarsi con un ampio spettro di gravità di malattia, da forme che raramente portano a morte ad altre, costantemente fatali prima dell'avvento di una terapia efficace. Per il trattamento di molte malattie vasculitiche vengono usati agenti immunosoppressivi e citotossici. Sebbene questo approccio possa essere efficace, il trattamento a lungo termine potrebbe essere complicato da sequele croniche, dovute a danno d'organo, a ricaduta di malattia e ad effetti collaterali dei farmaci. Studi recenti hanno puntato l'attenzione sulla comprensione della fisiopatologia di queste malattie, che potrebbe condurre all'utilizzo di opzioni terapeutiche più efficaci e meno tossiche.

La vasculite è caratterizzata dall'evidenza istologica di infiammazione dei vasi sanguigni. Quando tale infiammazione si verifica, può condurre ad assottigliamento o a rottura del vaso stesso, provocando aneurismi o emorragie, oppure una stenosi con conseguente ischemia tissutale. Le vasculiti possono essere divise in due grandi gruppi: vasculiti secondarie, nelle quali l'infiammazione dei vasi si verifica nel contesto di una malattia sottostante o dell'esposizione a farmaci, e vasculiti primitive, nelle quali la patologia si presenta in assenza di cause note. Questo capitolo analizza le caratteristiche cliniche, la diagnosi e il trattamento delle vasculiti primitive.

CLASSIFICAZIONE

La prima segnalazione di una vasculite sistemica risale al 1866, quando Kussmaul e Meier pubblicarono un dettagliato rapporto su una patologia, caratterizzata da infiammazione nodulare delle arterie muscolari, che essi chiamarono periarterite nodosa (in seguito chiamata poliarterite nodosa [PAN]). Seguì la descrizione di altre vasculiti necrotizzanti, e nel 1952, Zeek propose il

Abbreviazioni utilizzate:

ANCA:	Anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili
BACNS:	Angioite benigna del sistema nervoso centrale/Benign angiitis of the central nervous system
CHCC:	Chapel Hill Consensus Conference
SNC/CNS:	Sistema nervoso centrale/Central nervous system
CSS:	Sindrome di Churg-Strauss
VES/ESR:	Velocità di eritrosedimentazione/erythrocyte sedimentation rate
GACNS:	Angioite granulomatosa del sistema nervoso centrale/Granulomatous angiitis of the central nervous system
GCA:	Arterite a cellule giganti/Giant Cell arteritis
HCV:	Virus dell'epatite C
HSP:	Porpora di Schönlein-Henoch/Henoch-schönlein purpura
IVIg:	Immunoglobuline endovena
MPA:	Poliangioite microscopica/Microscopic polyangiitis
MPO:	Mieloperossidasi
PACNS:	Angioite primitiva del sistema nervoso centrale/Primary angiitis of the central nervous system
PAN:	Poliarterite nodosa
PR3:	Proteinasi 3
GW/WG:	Granulomatosi di Wegener/Wegener's granulomatosis

primo sistema di classificazione. La nomenclatura e la classificazione delle vasculiti è ancora un processo in evoluzione, poichè continuano ad emergere nuove nozioni su tali patologie. Nel 1990 l'American College of Rheumatology ha introdotto i criteri di classificazione per sette forme di vasculite, allo scopo di fornire un sistema standardizzato per valutare e descrivere gruppi di pazienti in studi terapeutici, epidemiologici, o di altro tipo.¹ Nel 1994 poi sono stati proposti termini diagnostici e definizioni per le più comuni forme di vasculite durante la Chapel Hill Consensus Conference (CHCC)² (Tabella I). Sebbene questi rappresentino progressi significativi nel processo di standardizzazione delle vasculiti, non sono stati concepiti e non dovrebbero essere usati a fini diagnostici per i singoli pazienti.

FISIOPATOLOGIA E ANCA

La fisiopatologia delle vasculiti rimane poco nota e può variare tra le differenti forme.³ In ognuna di esse, comunque, i meccanismi immunologici sembrano avere un

Traduzione italiana del testo di:
Carol A. Langford e MHS Bethesda
J. Allergy Clin Immunol 2003; 111: S602-12

TABELLA I. Nomi e definizioni delle vasculiti adottati dalla Chapel Hill Consensus Conference per la Nomenclatura delle Vasculiti Sistemiche

Vasculiti dei vasi di grande calibro	
Arterite a cellule giganti (temporale)	Arterite granulomatosa dell'aorta e dei suoi rami maggiori, con una predilezione per i rami extra-cranici della carotide. Spesso interessa l'arteria temporale. Di solito colpisce pazienti di età superiore ai 50 anni ed è spesso associata a polimialgia reumatica
Arterite di Takayasu	Inflammazione granulomatosa dell'aorta e dei suoi rami maggiori. Di solito colpisce pazienti di età inferiore ai 50 anni
Vasculiti dei vasi di medio calibro	
Poliarterite nodosa (poliarterite nodosa classica)	Inflammazione necrotizzante delle arterie di medio o piccolo calibro senza glomerulonefrite o vasculite in arteriole, capillari o venule
Malattia di Kawasaki	Arterite che interessa arterie di grande, medio e piccolo calibro, associata a sindrome linfonodale mucocutanea. Sono spesso coinvolte le arterie coronarie. L'aorta e le vene possono essere interessate. Di solito colpisce i bambini
Vasculiti dei vasi di piccolo calibro	
Granulomatosi di Wegener	Inflammazione granulomatosa che interessa il tratto respiratorio e vasculite necrotizzante che colpisce i vasi di piccolo e medio calibro (capillari, venule, arteriole e arterie). La glomerulonefrite necrotizzante è comune
Sindrome di Churg-Strauss	Inflammazione ricca di eosinofili e granulomatosa che coinvolge il tratto respiratorio e vasculite necrotizzante che colpisce vasi di piccolo e medio calibro, associata ad asma ed eosinofilia
Poliangioite microscopica (poliarterite microscopica)	Vasculite necrotizzante, con scarsi o assenti depositi immuni, che colpisce i vasi di piccolo calibro (capillari, venule, o arteriole) Può essere presente una arterite necrotizzante che coinvolge arterie di piccolo e medio calibro. Una glomerulonefrite necrotizzante è molto comune. Spesso si verifica una capillarite polmonare
Porpora di Schönlein- Henoch	Vasculite, con depositi immuni prevalentemente ad Ig-A, che colpisce vasi di piccolo calibro (capillari, venule o arteriole). Coinvolge tipicamente cute, intestino e glomeruli, ed è associata ad artralgie o artrite
Vasculite crioglobulinemica essenziale	Vasculite, con depositi immuni di crioglobuline, che colpisce vasi di piccolo calibro (capillari, venule o arteriole) e associata a crioglobuline nel siero. Spesso sono coinvolti la cute e i glomeruli.
Vasculite cutanea leucocitoclastica	Angioite leucocitoclastica cutanea isolata senza vasculite sistemica o glomerulonefrite

Dalla referenza 2

ruolo attivo nel mediare l'inflammazione necrotizzante dei vasi sanguigni. Basandosi sulle conoscenze attuali della risposta infiammatoria, è possibile ipotizzare che il cambiamento nella espressione e nella funzione delle molecole di adesione, mediato dalle citochine, insieme ad una attivazione inappropriata dei leucociti e delle cellule endoteliali, siano i fattori chiave che influenzano l'inflammazione dei vasi e il loro danneggiamento. Sebbene gli eventi primari, che danno inizio a questo processo rimangano ampiamente sconosciuti, recenti progressi hanno consentito ai ricercatori di iniziare ad analizzare i meccanismi effettori coinvolti nella patogenesi di tali malattie (Tabella II).

Gli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) sono diventati un argomento focale nello studio delle vasculiti, non solo per la loro possibile influenza nella patogenesi, ma anche per le loro possibili applicazioni cliniche. Nei pazienti con vasculite sono stati identificati due tipi di ANCA: ANCA diretti contro la proteinasi 3 (PR3), la serin-proteasi dei neutrofili, che danno luogo ad un pattern di immunofluorescenza citoplasmatica nei neutrofili fissati con etanolo (cANCA), e ANCA diretti contro l'enzima mieloperossidasi (MPO) dei neutrofili, che generano un pattern di immunofluorescenza perinucleare (pANCA).⁴ Poiché la metodologia del test può influenzarne l'interpretazione, la positività degli ANCA, determinata mediante immunofluorescenza indiretta, dovrebbe essere confermata da test antigene-specifici per PR3 e MPO.

TABELLA II. Potenziali meccanismi di danno vascolare in sindromi vasculitiche primitive selezionate

Formazione di immunocomplessi
Poliarterite nodosa associata all'Epatite B
Porpora di Schönlein-Henoch
Crioglobulinemia mista essenziale
Produzione di anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili
Granulomatosi di Wegener
Poliangioite microscopica
Sindrome di Churg-Strauss
Risposte patogeniche dei linfociti T e formazione del granuloma
Arterite a cellule giganti (temporale)
Arterite di Takayasu
Granulomatosi di Wegener
Sindrome di Churg-Strauss

L'associazione più stretta tra malattia ed ANCA è quella tra la Granulomatosi di Wegener (GW) e PR3/cANCA.⁴ Gli ANCA sono stati descritti con frequenza variabile anche in altre vasculiti (Tabella III), alcune forme di vasculite, in particolare l'arterite a cellule giganti, l'arterite di Takayasu, e la malattia di Beçhet, non sono associate agli ANCA. È stato riportato che nella GW, la sensibilità dei PR3/cANCA oscilla tra il 28% e il 92%, mentre la specificità è elevata in modo riproducibile, oscillando tra l'80% e il 100%.^{5,6} Questo ha fatto sorgere la domanda se gli ANCA pos-

TABELLA III. Comparazione clinica di quattro forme di vasculite sistemica che colpiscono vasi di piccolo e/o medio calibro*

Caratteristiche	Granulomatosi di Wegener	Poliangiite microscopica	Poliarterite nodosa	Sindrome di Churg-Strauss
Malattia delle alte vie respiratorie	95%	No	No	Dal 50% al 60%
Malattia polmonare				
Asma	No	No	No	Dal 90% al 100%
Infiltrati/noduli alla radiografia	Dal 70% all'85%	Dal 15% al 70%	No	Dal 40% al 70%
Emorragia alveolare	Dal 5% al 15%	Dal 10% al 50%	No	< al 5%
Glomerulonefrite	Dal 70% all'80%	Dal 75% al 90%	No	Dal 10% al 40%
Coinvolgimento: gastrointestinale	<5%	30%	Dal 14% al 53%	Dal 30% al 50%
Sistema nervoso				
Periferico	Dal 40% al 50%	Dal 60% al 70%	Dal 38% al 72%	Dal 70% all'80%
Centrale	Dal 5% al 10%	Dal 10% al 15%	Dal 3% al 30%	Dal 5% al 30%
Cardiaco	Dal 10% al 25%	Dal 10% al 15%	Dal 5% al 30%	Dal 10% al 40%
Oculare	Dal 50% al 60%	<5%	<5%	<5%
Artralgia/artrite	Dal 60% al 70%	Dal 40% al 60%	Dal 50% al 75%	Dal 40% al 50%
Genitourinario	<2%	<5%	Dal 5% al 10%	<2%
Cute	Dal 40% al 50%	Dal 50% al 65%	Dal 28% al 60%	Dal 50% al 55%
ANCA				
PR3/cANCA	Dal 75% al 90%	Dal 10% al 50%	Rari	Dal 3% al 35%
MPO/pANCA	Dal 5% al 20%	Dal 50% all'80%	Rari	Dal 2% al 50%

* Le frequenze riflettono i dati ottenuti da diverse serie

sano essere usati al posto di una biopsia tissutale per la diagnosi di GW. In pazienti con sinusite, sedimento urinario positivo e noduli e/o infiltrati polmonari, nei quali sia stata esclusa una infezione, il valore predittivo dei PR3/cANCA per la GW può superare il 90%.⁷ Tuttavia, per altre presentazioni cliniche nelle quali la probabilità di GW potrebbe essere bassa, il valore predittivo degli ANCA è insufficiente a giustificare l'inizio di una terapia gravata da effetti indesiderati in assenza di una diagnosi istologica.

I livelli di ANCA variano durante il corso della GW e, da studi di coorte, è stato osservato che pazienti con malattia attiva hanno livelli di ANCA più alti rispetto a quelli in remissione.^{5,6} Tuttavia, non è stato dimostrato che i cambiamenti in misurazioni successive degli ANCA in un singolo paziente siano sempre attendibili per valutare l'attività di malattia o per predire delle ricadute. In una serie, il 44% dei pazienti che avevano un aumento di 4 volte del titolo anticorpale, non andavano incontro a ricadute.⁸ Data la tossicità della terapia immunosoppressiva, il suo inizio o la sua intensificazione non si dovrebbero basare su un aumento del titolo degli ANCA, ma quest'ultimo dovrebbe spingere ad una valutazione accurata e ad un monitoraggio frequente del paziente, al fine di evidenziare segni di malattia attiva.

SINGOLE MALATTIE VASCULITICHE

Arterite di Takayasu

L'arterite di Takayasu è una vasculite granulomatosa che colpisce l'aorta, i suoi rami principali e le arterie polmonari. Sebbene sia stata definita come una malattia che colpisce giovani donne di etnia orientale, la patologia è stata osservata in ogni parte del mondo e può avere uno

spettro clinico variabile nelle diverse popolazioni. I pazienti con arterite di Takayasu presentano sintomi sistemici e/o segni di compromissione vascolare. I sintomi sistemici comprendono affaticamento, malessere, perdita di peso, sudorazioni notturne, febbre, artralgie o mialgie, ma possono essere assenti dal 13% all'80% dei pazienti. Sintomi di ischemia tissutale sono correlati alla localizzazione della lesione/i, al grado di stenosi vasale, e alla circolazione collaterale (Tabella IV). L'esame fisico può rivelare soffi vascolari, pulsatilità ridotta, misurazioni asimmetriche della pressione sanguigna, rigurgito valvolare e fragilità delle arterie, particolarmente dei vasi sopra-carotidei. L'ipertensione arteriosa si riscontra nel 32- 93% dei pazienti e contribuisce al danno renale, cardiaco e cerebrale. L'arterite di Takayasu è una malattia cronica, nella quale il 45% dei pazienti presenta ricadute e il 23% non raggiunge mai la remissione, indipendentemente dalla terapia.⁹ La stima del tasso di sopravvivenza a 15 anni è dell'83%, ed il tasso di mortalità è influenzato dalla presenza di un decorso progressivo, della retinopatia di Takayasu, dell'ipertensione, del rigurgito aortico e di aneurismi.¹⁰

Un arteriogramma aortico completo, con visualizzazione di tutti i rami principali, è importante nella diagnosi e nella valutazione dell'estensione della malattia. I reperti includono stenosi vascolari, occlusioni e aneurismi (Fig. 1). L'attività di malattia si valuta tipicamente in base ai sintomi clinici, alla velocità di eritrosedimentazione (VES), alle alterazioni arteriografiche. Comunque questi non sono sempre attendibili e, in una serie di pazienti chirurgici, è stata osservata arterite attiva nel 44% dei soggetti che erano stati ritenuti quiescenti.⁹

Il trattamento iniziale dell'arterite di Takayasu generalmente consiste nella somministrazione di prednisone al dosaggio di 1mg/kg/die per 1-3 mesi, poi scalato a giorni alterni fino alla sospensione. I glicocorticoidi allevia-

no i sintomi sistemici del 25-100% dei pazienti e possono portare ad un aumento della portata sanguigna. È stato osservato che la terapia eseguita per la prima volta conduce a remissione il 52% dei pazienti; inoltre il 60% di quelli trattati con i soli glicocorticoidi ottiene la remissione almeno una volta.⁹

La terapia citotossica viene usata principalmente in pazienti che presentano persistenza di attività di malattia, nonostante il trattamento con glicocorticoidi, o in quelli nei quali i glicocorticoidi non possono essere ridotti.⁹ È stato osservato che il methotrexate ad un dosaggio da 15 a 20 mg/settimana, in combinazione con i glicocorticoidi, induce la remissione e consente di ridurre al minimo la terapia steroidea e la tossicità.¹¹ La ciclofosfamide dovrebbe essere riservata ai pazienti con malattia infiammatoria attiva che non possono ridurre i glicocorticoidi e in quelli non responsivi, intolleranti o impossibilitati ad assumere methotrexate.¹²

La terapia chirurgica ha un ruolo importante nel trattamento delle lesioni vascolari stabili, responsabili di ischemia significativa.¹³ Le indicazioni più frequenti alla chirurgia includono l'ipoperfusione cerebrale, l'ipertensione nefrovascolare, la claudicatio delle estremità, il trattamento di un aneurisma o l'insufficienza valvolare. L'angioplastica transluminale percutanea può essere efficace per controllare l'ipertensione collegata alla stenosi dell'arteria renale e può anche essere considerata nel trattamento di piccoli segmenti stenotici di altri rami dell'aorta.

ARTERITE A CELLULE GIGANTI

L'arterite (temporale) a cellule giganti (GCA) è una vasculite granulomatosa dei grossi vasi che colpisce preferenzialmente i rami extracranici delle arterie carotidi. È la più comune delle vasculiti sistemiche, che presenta una incidenza di 17.8 nuovi casi su 100.000 persone l'anno nell'Olmsted County, Minnesota.¹⁴ La GCA si manifesta quasi esclusivamente in persone di età superiore ai 50 anni, con un rapporto femmine/maschi pari a 2/1, ed si osserva prevalentemente nella popolazione di origine europea. I sintomi della GCA includono cefalea, claudicatio della mandibola o della lingua, fragilità del cuoio capelluto, sintomi costituzionali o febbre (Tabella V).¹⁵ Il coinvolgimento dei rami principali dell'aorta si riscontra nel 15% dei casi e può presentarsi con claudicatio degli arti.¹⁶ La polimialgia reumatica, che è caratterizzata da dolore e rigidità mattutina dei muscoli prossimali del cingolo pelvico e scapolare, si riscontra nel 40-50% dei pazienti con GCA. I reperti all'esame obiettivo includono presenza di noduli e debolezza, o assenza, di pulsazioni delle arterie temporali o di altri vasi coinvolti. La più temuta complicanza della GCA è la perdita della vista, causata da ischemia del nervo ottico, come conseguenza di una arterite che coinvolga i vasi del circolo oculare. Le alterazioni visive possono includere diplopia, ptosi e cecità transitoria o permanente. Sebbene la GCA sia caratteristicamente auto-limitante, il decorso può protrarsi per mesi o anni. La morte improvvisa per GCA non è comune, sebbene l'aneurisma dell'aorta toracica possa presentarsi come complicanza tardiva della malattia e possa andare incontro a rottura, portando a morte.¹⁷

Il sospetto di GCA sorge sulla base delle caratteristiche

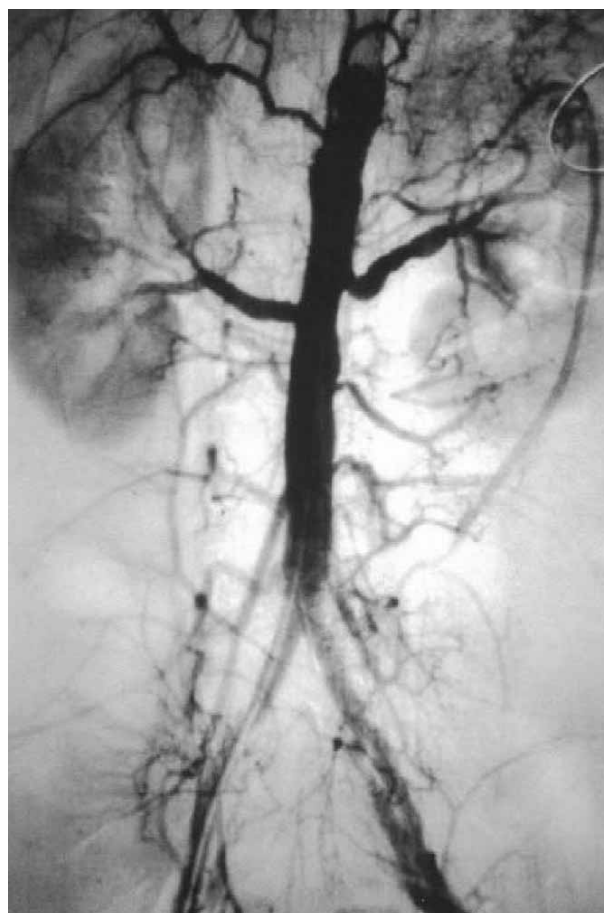


FIG 1. Arterite di Takayasu: arteriogramma. Si osserva irregolarità delle arterie renali e dell'aorta addominale, con stenosi delle arterie iliache.

cliniche, insieme alla dimostrazione di una VES elevata, che si rileva in oltre l'80% dei pazienti. La diagnosi è confermata dalla biopsia dell'arteria temporale, che mostra un'infiltrato pan-murale di cellule mononucleate, che può avere aspetto granulomatoso, con istiociti e cellule giganti (Fig. 2). Per aumentare le probabilità diagnostiche, la lunghezza del campione biotico dovrebbe essere di almeno 3 o 5 cm, e si dovrebbero ottenere campioni in più sedi. I risultati della biopsia sono positivi dal 50% all'80% dei casi e, se la prima biopsia è negativa, dovrebbe essere presa in considerazione l'esecuzione di una biopsia dell'arteria controlaterale. In un paziente con un forte sospetto di GCA, il trattamento dovrebbe essere istituito immediatamente per proteggere la vista, mentre viene predisposta tempestivamente la biopsia dell'arteria temporale. I glicocorticoidi portano un rapido miglioramento dei sintomi sistemici e cranici e prevengono le complicanze visive. In uno studio è stato calcolato che la probabilità di perdere la vista è solo dell'1% dopo l'inizio della terapia steroidea.¹⁸ Usualmente il prednisone viene somministrato inizialmente ad una dose tra 40 e 60 mg/die; se la dose iniziale è di 60 mg/die, questa può essere solitamente ridotta a 50 mg/die dopo 2 settimane, e a 40 mg/die dopo 4 settimane. Dopo questo tempo la dose viene ridotta approssimativamente del 10% di quella giornaliera totale ogni 1 o 2 settimane.¹⁴

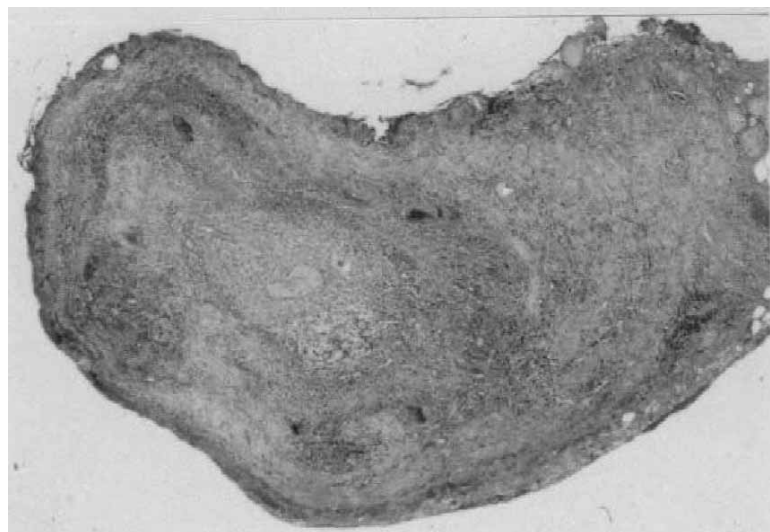


FIG 2. Arterite a cellule giganti. Le biopsie dell'arteria temporale mostrano occlusione del lume vasale, presenza di cellule giganti e infiltrato infiammatorio pan-murale

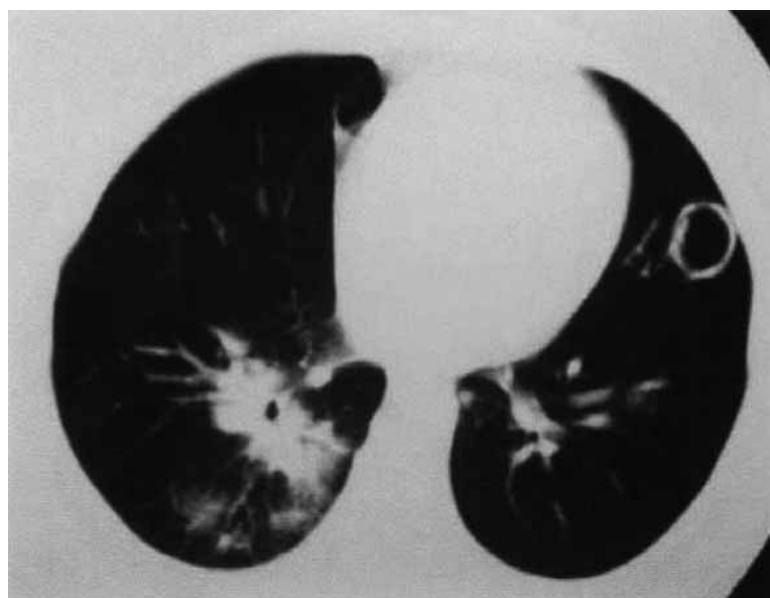


FIG 3. Tomografia computerizzata del torace di un paziente affetto da Granulomatosi di Wegener, che mostra la presenza di un infiltrato nodulare e di una lesione cavitaria.

Sebbene la riduzione della VES generalmente si verifichi entro il primo mese, può rimanere elevata in alcuni pazienti e non è del tutto attendibile per stimare l'attività di malattia o per guidare la terapia. Le ricadute che necessitano dell'incremento o della reintroduzione del prednisone, si verificano dal 26% al 90% dei pazienti. La maggior parte di essi necessita di prednisone per oltre 2 anni e molti ricevono il trattamento per più di 4 anni. In pazienti con perdita acuta della vista, frequentemente si somministra solumedrol al dosaggio di 1 gr/die per 3-5 giorni, per proteggere la funzionalità visiva residua. Sebbene i glicocorticoidi siano efficaci, è stato valutato che dal 36 al 65% dei pazienti presentano uno o più effetti collaterali a causa di questa tera-

pia. La capacità del methotrexate di ridurre le recidive e la necessità di assunzione di glicocorticoidi è stata valutata in due studi randomizzati, che tuttavia hanno prodotto risultati conflittuali.^{19,20} Ad oggi, ne' l'aggiunta di methotrexate ne' di un altro agente citotossico si è mostrata efficace nel consentire la riduzione dell'uso di prednisone in modo sufficiente a diminuire il rischio di effetti collaterali.

GRANULOMATOSI DI WEGENER

La GW è una vasculite necrotizzante granulomatosa che colpisce vasi di piccolo e medio calibro. La malattia può

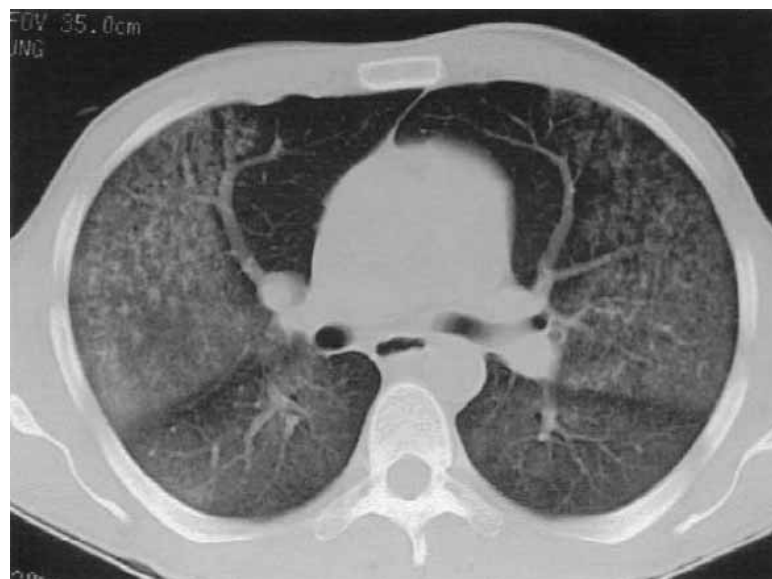


FIG 4. Tomografia computerizzata del torace che mostra infiltrati a vetro smerigliato, suggestivi di emorragia alveolare, come si osserva nella Granulomatosi di Wegener o nella Poliangerite microscopica

TABELLA IV. Frequenza delle anomalie arteriografiche e dei potenziali sintomi dovuti al coinvolgimento delle arterie nella arterite di Takayasu

Arteria	Frequenza delle alterazioni arteriografiche	Sintomi potenziali
Succlavia	93%	Claudicatio del braccio, Raynaud
Carotide comune	58%	Alterazioni della vista, sincope, attacchi ischemici transitori, stroke
Aorta addominale	47%	Dolore addominale, nausea, vomito (spesso asintomatico)
Renale	38%	Ipertensione, insufficienza renale
Arco o radice aortica	35%	Insufficienza aortica, insufficienza cardiaca congestizia
Vertebrale	35%	Alterazioni visive, vertigini
Asse celiaco	18%	Dolore addominale, nausea, vomito (spesso asintomatico)
Mesenterica superiore	18%	Dolore addominale, nausea, vomito (spesso asintomatico)
Iliaca	17%	Claudicatio degli arti inferiori
Polmonare	Dal 10 al 40%	Dolore toracico atipico, dispnea
Coronararie	<10%	Dolore toracico, infarto del miocardio

presentarsi a qualsiasi età e sembra colpire uomini e donne in ugual proporzione.

Si tratta di una malattia multisistemica che coinvolge preferenzialmente il tratto respiratorio superiore o inferiore e i reni (Tabella III).^{21,22} Più del 90% dei pazienti, in prima istanza, giunge all'osservazione del medico per sintomi legati alle vie respiratorie superiori e/o inferiori. L'infiammazione della mucosa dei seni paranasali e del naso può provocare ischemia della cartilagine, con perforazione del setto nasale e/o deformità della sella nasale. Le anomalie radiografiche polmonari possono includere noduli o infiltrati singoli o multipli, cavità (Fig. 3) e infiltrati a vetro smerigliato (Fig. 4). La glomerulonefrite è presente nel 20% dei pazienti al momento della diagnosi, ma nell'80% dei casi si sviluppa durante il decorso della malattia. Il coinvolgimento renale, evidenziato dalla presenza di un sedimento urinario, con ematuria microscopica e cilindri ematici, può essere rapidamente progressivo e asintomatico. Prima dello sviluppo del trattamento, i pazienti avevano una sopravvivenza media di

5 mesi, e la morte si verificava per insufficienza polmonare o renale. Sebbene una efficace terapia abbia potenziato la sopravvivenza a lungo termine, ricadute si verificano almeno nel 50% dei pazienti.^{21,22} La diagnosi di GW si pone con la biopsia: il tessuto non-renale mostra la presenza di infiammazione granulomatosa, di necrosi, spesso con aggregati di neutrofili, e di vasculite necrotizzante o granulomatosa.²¹ I campioni biotipici del parenchima polmonare alterato, ottenuti chirurgicamente, mostrano alterazioni diagnostiche nel 91% dei casi. La biopsia delle vie aeree superiori è meno invasiva ma mostra caratteristiche diagnostiche solo nel 21% dei casi. Il reperto istologico renale caratteristico è quello di una glomerulonefrite focale, segmentaria, necrotizzante, a semilune, con scarsi o assenti immunocomplessi. Le applicazioni cliniche degli ANCA nella GW vengono trattate in una sezione separata di questa rassegna. I glicocorticoidi da soli non sono efficaci nella GW attiva che colpisce un organo maggiore come il polmone, il rene, il sistema nervoso o l'occhio; devono pertanto esse-

TABELLA V. Manifestazioni cliniche di arterite a cellule giganti (temporale)

Manifestazioni	% of Pazienti affetti
Cefalea	68
Perdita di peso/Anoressia	50
Claudicatio della mandibola	45
Febbre	42
Malessere/affaticamento/debolezza	40
Polimialgia reumatica	39
Altro dolore muscoloscheletrico	30
Disturbi visivi transitori	16
Sinovite	15
Anomalie del sistema nervoso centrale	15
Sintomi visivi fissi	14
Faringodinia	9
Claudicatio della deglutizione /disfagia	8
Claudicatio della lingua	6
Claudicatio degli arti	4

Dalla referenza 15.

re associati ad un agente citotossico.²¹ I pazienti che hanno una GW attiva, che pone ad immediato rischio la vita, dovrebbero essere trattati con ciclofosfamide al dosaggio di 2 mg/kg al giorno in combinazione col prednisone alla dose di 1 mg/kg al giorno.^{21,23,24} Con l'uso di tale terapia, il 91% dei pazienti ha manifestato un marcato miglioramento, il 75% ha ottenuto una completa remissione, ed è stato osservato un tasso di sopravvivenza dell'80%.²¹ In caso di malattia fulminante, può essere somministrato 1 gr/die di solumedrol diviso in più dosi, per un periodo di 3 giorni, in combinazione con 3 o 4 mg/kg al giorno di ciclofosfamide per 3 giorni, che viene poi ridotta a 2 mg/kg al giorno.²³ Dopo le prime 4 settimane di trattamento, se c'è evidenza di miglioramento, il prednisone viene ridotto ad uno schema a giorni alterni e interrotto entro 6-12 mesi. Nel primo regime studiato, la ciclofosfamide veniva data per 1 anno dopo la remissione, e dopo questo periodo veniva scalata e poi interrotta.²³ Sebbene la ciclofosfamide sia molto efficace, è associata ad una sostanziale tossicità che si manifesta con soppressione midollare, danno vescicale, infertilità, malattia mieloproliferativa e carcinoma a cellule di transizione della vescica. Recenti studi hanno valutato un approccio a tappe, nel quale la ciclofosfamide viene data fino alla remissione, che solitamente si verifica entro 3-6 mesi, dopo di che viene sostituita con un farmaco dotato di minore tossicità per il mantenimento della remissione. I due agenti di mantenimento per i quali è disponibile una maggiore esperienza sono il methotrexate a una dose di 20-25 mg/settimana o l'azatioprina ad un dosaggio di 2 mg/kg al giorno.²⁶ Questi farmaci vengono somministrati per 1 o 2 anni; dopo questo periodo, se il paziente rimane in remissione, vengono ridotti e poi interrotti. In pazienti che hanno malattia attiva ma non sono in pericolo di vita, o in pazienti che non tollerano la ciclofosfamide, è stato riscontrato che il prednisone, somministrato insieme al methotrexate alla dose di 20-25 mg/settimana, è in grado di indurre remissione.²⁷ Il methotrexate non dovrebbe essere somministrato a pazienti con funzionalità renale compromessa (clearance della creatinina <35 ml/min) o con epatite cronica.

POLIANGIOITE MICROSCOPICA

Come definito dalla CHCC, la poliangioite microscopica (MPA) è caratterizzata da vasculite necrotizzante con pochi o assenti depositi immuni, che colpisce i piccoli vasi. A causa della sua recente distinzione dalla PAN, sono ancora limitati i dati sulla MPA come entità nosologica specifica.²⁸ La MPA ha molte similitudini con la GW, la quale ha fornito utili spunti per la diagnosi e la gestione, in attesa di ulteriori studi.

Le caratteristiche fondamentali dell'MPA includono: glomerulonefrite, emorragia polmonare (Fig. 4), mononeurite multipla e febbre (Tabella III).²⁸ La presentazione dell'MPA può essere acuta e grave; in una casistica, il tasso stimato di sopravvivenza a 5 anni era del 74%.²⁸ Dati attuali suggeriscono che le ricadute si verificano in almeno il 34% dei pazienti. La diagnosi di MPA si basa sulla dimostrazione biotipica di vasculite necrotizzante di piccoli vasi o di arterie di piccolo o medio calibro, nelle quali l'infiammazione granulomatosa è assente. I campioni biotipici di tessuto polmonare, in caso di emorragia polmonare mostrano capillarite, emorragia nello spazio alveolare e assenza di immunofluorescenza lineare, come si osserverebbe nella malattia da autoanticorpi anti-membrana basale glomerulare (sindrome di Goodpasture). L'istologia renale è simile a quella osservata nella GW, con glomerulonefrite necrotizzante focale segmentaria e pochi o assenti immunocomplessi.

I pazienti con malattia, che pone a rischio la vita e che coinvolge polmoni, reni o sistema nervoso,^{29,30} dovrebbero essere trattati con 2mg/kg al giorno di ciclofosfamide e 1mg/kg al giorno di prednisone, secondo il programma delineato per la GW. L'evidenza a sostegno di tale trattamento è derivata dalla sua efficacia nella GW e da dati retrospettivi, che dimostrano la riduzione del tasso di mortalità in pazienti con MPA trattati con un agente citotossico.^{28,30}

POLIARTERITE NODOSA

Sebbene la PAN sia stata la prima delle vasculiti sistemiche ad essere descritta, i cambiamenti di nomenclatura hanno influito sulla nostra comprensione della natura e del trattamento di questa malattia. Esaminando le caratteristiche dei pazienti precedentemente classificati come affetti da PAN, per alcuni di loro oggi dovrebbe essere posta, sulla base delle definizioni della CHCC, la diagnosi di MPA.

Le più comuni manifestazioni cliniche di PAN includono ipertensione, febbre, sintomi muscoloscheletrici e vasculite che coinvolge i nervi, il tratto gastroenterico, la cute, il cuore e i vasi renali non glomerulari (Tabella III).³¹ Il tasso stimato di sopravvivenza a 5 anni con trattamento è dell'80%, l'exitus è influenzato dalla gravità di malattia.³² Le ricadute non sono frequenti e sono state osservate in <10% dei pazienti.³²

La PAN viene diagnosticata mediante biopsia o arteriografia. I campioni biotipici mostrano infiammazione necrotizzante, che coinvolge le arterie di medio e picco-

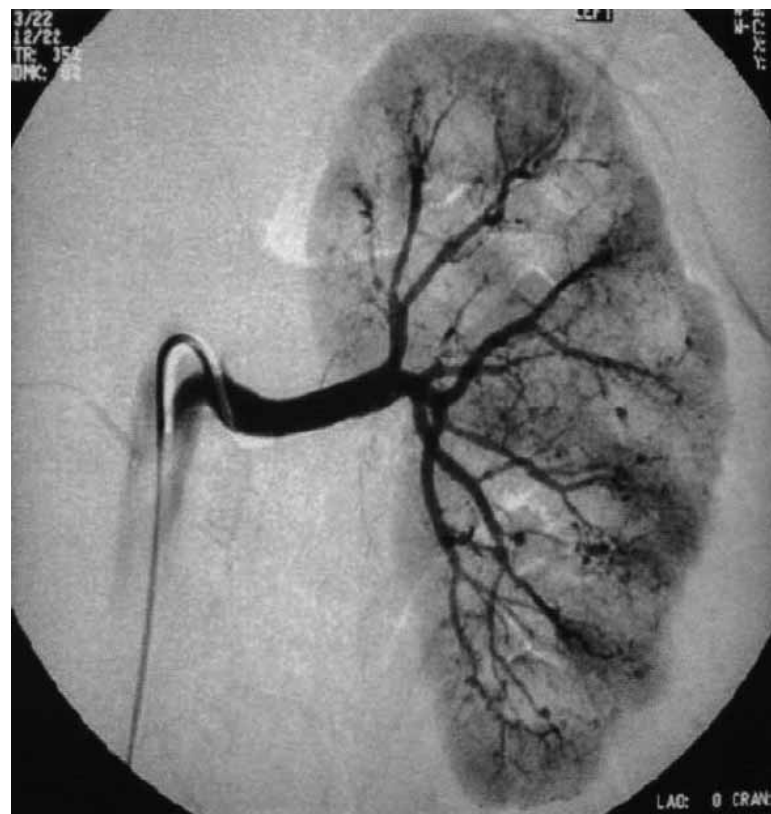


FIG 5. Arteriogramma renale in un paziente con poliarterite nodosa. Sono presenti microaneurismi e stenosi vascolari.

lo calibro con abbondante infiltrato di neutrofili, alterazioni fibrinoidi e distruzione della lamina elastica interna. Nella maggior parte dei casi l'arteriografia viene eseguita per studiare la circolazione viscerale e renale; il quadro arteriografico può suggerire la diagnosi se mette in evidenza la presenza di microaneurismi, di stenosi o di un aspetto a rosario causato dal restringimento e dalla dilatazione delle arterie (Fig. 5).

I pazienti con malattia che ponga ad immediato rischio di vita e che colpisca il sistema gastrointestinale, il cuore o il sistema nervoso centrale (SNC), dovrebbero essere trattati con 2mg/kg al giorno di ciclofosfamide e glicocorticoidi.^{29,32} Nei pazienti in cui le manifestazioni di malattia non pongono ad immediato rischio la vita, o la funzione degli organi principali, i glicocorticoidi da soli possono essere impiegati come terapia iniziale, e la ciclofosfamide può essere aggiunta in coloro che continuano ad avere evidenza di malattia attiva, o nei quali non si riesce a ridurre il prednisone.

La PAN può essere osservata anche in pazienti affetti da epatite B, epatite C o virus dell'immunodeficienza umana (HIV).³³⁻³⁵ In caso di epatite B o C, una agente antivirale dovrebbe fare parte del regime di trattamento, allo scopo di contenere la replicazione virale e favorire la sieroconversione. Alcuni ricercatori sostengono anche l'uso della plasmateresi.^{33,34} Per raggiungere il controllo iniziale della vasculite attiva, questi pazienti possono avere bisogno di glicocorticoidi, da soli, o in combinazione con ciclofosfamide, a seconda della gravità di malattia. Non appena vengono rilevati miglioramenti cli-

nici, queste terapie dovrebbero essere rapidamente sospese, mentre la terapia antivirale deve essere continuata poiché il virus persiste e si replica in corso di immunosoppressione.

SINDROME DI CHURG-STRAUSS

La sindrome di Churg-Strauss (CSS) è una malattia rara caratterizzata da asma, febbre, ipereosinofilia e vasculite sistemica.³⁶⁻³⁸ Si stima che colpisca circa tre persone su un milione e si osserva in ogni fascia di età e con uguale incidenza nei due sessi. Si ritiene che la CSS presenti tre fasi: una fase prodromica, con rinite allergica e asma; una fase caratterizzata da eosinofilia periferica ed infiltrati tissutali eosinofili e, in ultimo, la fase vasculitica che può coinvolgere nervi, polmoni, cuore, tratto gastroenterico e reni (Tabella III).³⁶⁻³⁸ Sebbene questa sequenza aiuti a definire in modo didattico la malattia, essa non può essere identificata in tutti i pazienti e spesso le diverse fasi non si riscontrano in successione. La CSS è caratterizzata da frequenti esacerbazioni di asma; la vasculite si riscontrano almeno nel 26% dei pazienti.³⁸ La prognosi è influenzata dalla presenza di localizzazioni di malattia a cuore, tratto gastrointestinale, SNC e rene. In uno studio è stata riscontrata una sopravvivenza del 63% nei pazienti che avevano ≥ 2 queste localizzazioni rispetto ad una sopravvivenza dell'88% in quelli che non ne avevano nessuna.³⁸ Il coinvolgimento cardiaco è la principale causa di morte ed è un segno prognostico negativo.

Tra le caratteristiche istologiche della CSS vi sono gli infiltrati tissutali eosinofili, i granulomi extravascolari "allergici" e la vasculite necrotizzante dei piccoli vasi. Può essere difficile diagnosticare definitivamente la vasculite e questo rende le manifestazioni cliniche di particolare importanza per la diagnosi di CSS.

La somministrazione di prednisone al dosaggio di 1 mg/Kg al giorno è efficace per molte delle manifestazioni della malattia. Spesso l'asma persiste dopo la remissione della vasculite e questo può limitare la possibilità di scalare e poi sospendere la somministrazione di prednisone. L'uso di una terapia combinata a base di glicocorticoidi e ciclofosfamide (2 mg/kg/die) è riservato a quei pazienti che presentano un quadro che pone a rischio la vita.

VASCULITE CUTANEA LEUCOCITOCLASTICA

La vasculite cutanea è la manifestazione vasculitica più comunemente incontrata nella pratica clinica. Le lesioni hanno le sembianze di una porpora palpabile, sebbene siano osservabili anche papule necrotiche e lesioni ulcerative. Essa è caratterizzata sul piano istologico dall'infiammazione dei piccoli vasi del derma, spesso con leucocitoclasia.

Il coinvolgimento dei vasi di medio calibro può essere osservato nella PAN cutanea. In più del 70% dei casi, la vasculite cutanea si verifica nell'ambito di un processo sottostante come l'esposizione ad un farmaco, una infezione, una neoplasia, una malattia del tessuto connettivo, o come manifestazione di una vasculite sistemica primaria.^{39,40} Una diagnosi di vasculite cutanea idiopatica dovrebbe essere posta solo dopo aver escluso altre cause. Il decorso della forma idiopatica varia da un singolo breve episodio a ricadute multiple e protratte. La progressione verso la vasculite sistemica non si verifica frequentemente.

Se viene identificata una patologia sottostante o l'esposizione ad un farmaco potenzialmente responsabile, il trattamento di questa condizione costituisce il fondamento della gestione della vasculite cutanea. La forma idiopatica dovrebbe invece essere trattata usando un regime terapeutico che associ l'efficacia alla minore tossicità possibile. I glicocorticoidi vengono usati frequentemente, ma presentano schemi di dosaggio non ottimali. Tra gli altri agenti utilizzati vi sono gli antinfiammatori non steroidei, gli antistaminici, il dapson e la colchicina. Gli agenti citotossici dovrebbero essere riservati a casi molto selezionati, ovvero a quei pazienti con malattia non responsiva ad altri farmaci o quando i glicocorticoidi non possono essere scalati. La ciclofosfamide dovrebbe essere usata solo raramente per il trattamento della vasculite cutanea isolata.⁴¹

VASCULITE CRIOGLOBULINEMICA

Le crioglobuline sono immunoglobuline mono- o policlonali che precipitano col freddo, che possono essere riscontrate in una varietà di processi morbosi, incluse le neoplasie linfoidi o a plasmacellule, le infezioni croniche e le malattie infiammatorie.⁴² In alcune casistiche, dal

34% al 71% dei pazienti presentava crioglobuline circolanti in assenza di una malattia ben definita, e questa condizione è stata definita crioglobulinemia mista essenziale. Con la scoperta del virus dell'epatite C (HCV), è stato dimostrato che la maggior parte dei casi di crioglobulinemia mista essenziale era connessa all'infezione da HCV. La crioglobulinemia può essere associata a malattia vasculitica caratterizzata da porpora palpabile, artrite, neuropatia e glomerulonefrite.^{42,43} Sebbene la presenza di glomerulonefrite sia associata ad una prognosi infausta, la progressione verso l'insufficienza renale fatale non è di riscontro comune. La terapia combinata con interferone- α e ribavirina costituisce la scelta più idonea per ottenere un miglioramento della vasculite crioglobulinemica associata ad HCV, ma la risoluzione a lungo termine è limitata a quei pazienti che hanno una risposta virologica sostenuta.⁴⁴ È stata usata anche la plasmaferesi, che ha fornito risposte di breve durata, tale trattamento inoltre non è pratico per la gestione a lungo termine.

Sono stati utilizzati anche i glicocorticoidi, la ciclofosfamide, l'azatioprina e il methotrexate, particolarmente in caso di malattia grave.⁴⁵ Sebbene il trattamento con farmaci immunosoppressori possa transitoriamente migliorare le manifestazioni infiammatorie della vasculite crioglobulinemica, questi agenti possono causare un aumento della viremia di HCV.

PORPORA DI SCHÖNLEIN-HENOCH

La porpora di Schönlein-Henoch (HSP) è una vasculite dei piccoli vasi, che colpisce in modo predominante i bambini.⁴⁶ Sebbene anche gli adulti possano presentare la HSC, il 75% dei casi si riscontra prima degli 8 anni di età. Due terzi dei pazienti riferisce una precedente infezione del tratto respiratorio superiore, anche se non sono stati identificati microrganismi predominanti.

Le 4 manifestazioni cardinali della HSP sono la porpora palpabile, l'artrite, il coinvolgimento gastrointestinale e la glomerulonefrite. I sintomi gastrointestinali includono il dolore addominale di tipo colico, il vomito e una possibile intussuscezione. La malattia renale, caratterizzata da ematuria e proteinuria, viene osservata nel 20-50% dei bambini affetti, dei quali il 2-5% progredisce verso l'insufficienza renale. Le ricadute si verificano in oltre il 40% dei casi, spesso entro i primi tre mesi dall'episodio iniziale. La prognosi di solito è eccellente, e la morte correlata a malattia si verifica nell'1-3% dei casi. La HSP dell'adulto è meno conosciuta, anche se diversi studi suggeriscono che la glomerulonefrite può essere più grave e condurre all'insufficienza renale nel 13% dei casi.

La diagnosi di HSP si basa sul caratteristico complesso di manifestazioni cliniche, ma può essere meno certa se le lesioni cutanee sono precedute da altri sintomi. La biopsia cutanea mostra vasculite leucocitoclastica con deposizione di IgA nella parete dei vasi sanguigni, ma in molti casi non è necessaria. La biopsia renale raramente è necessaria, ma può avere utilità prognostica.

La HSP è tipicamente una patologia che si autolimita e raramente richiede trattamento.⁴⁷ I glicocorticoidi possono

ridurre l'edema tissutale, l'artrite, o il dolore addominale e l'incidenza dell'intussuscezione; tuttavia, non è provata la loro efficacia nella patologia cutanea e renale e non sembra che riducano la durata o la probabilità delle ricadute.⁴⁸

Studi non controllati suggeriscono che i glicocorticoidi, in combinazione con un agente citotossico, possono apportare benefici ai pazienti con glomerulonefrite attiva e insufficienza renale progressiva.

MALATTIA DI KAWASAKI

La malattia di Kawasaki è una vasculite acuta dell'infanzia e rappresenta la principale causa di malattia cardiaca acquisita nei bambini, in USA e in Giappone.⁴⁹ L'80% dei casi si manifesta prima dei 5 anni di età e i maschi sono colpiti 1,5 volte in più rispetto alle femmine.

La malattia di Kawasaki esordisce come una forma febbrile acuta che è seguita, entro i primi 1-3 giorni, da rash, iniezione congiuntivale e alterazioni della mucosa orale. Alterazioni delle estremità, caratterizzate da irrigidimento muscolare, si riscontrano precocemente nella malattia e dal 50% al 70% dei pazienti presenta adenopatia cervicale. Insieme alla febbre, queste 5 caratteristiche costituiscono i criteri sui quali si basa la diagnosi.⁵⁰ Le lesioni delle arterie coronarie sono responsabili della maggior parte della morbidità e della mortalità correlate alla malattia. Gli aneurismi si manifestano da 1 a 4 settimane dall'inizio della febbre e si sviluppano nel 15-25% dei bambini affetti, che non ricevono immunoglobuline endovena (IVIg).

È stato dimostrato che una singola infusione di IVIg (2g/kg) è in grado di prevenire la formazione di aneurismi delle coronarie, ridurre la febbre e l'infiammazione del miocardio.⁵¹ In associazione viene somministrata aspirina (80-100 mg/kg al giorno). Per monitorare lo sviluppo di aneurismi delle coronarie, è raccomandata l'esecuzione di un elettrocardiogramma nella prima settimana di malattia e dovrebbe essere eseguito un ecocardiogramma bidimensionale al momento della diagnosi e dopo 2 e 4 settimane dall'esordio della malattia. I bambini con aneurismi multipli, aneurismi giganti o ostruzione delle arterie coronarie richiedono uno stretto follow-up e possibilmente una terapia anticoagulante a lungo termine.

MALATTIA DI BEHÇET

La malattia di Behçet è una malattia infiammatoria multisistemica, con manifestazioni vascolari che possono colpire vasi di tutte le dimensioni.⁵² La prevalenza è maggiore in persone di età compresa tra i 20 e i 35 anni, di discendenza asiatica o provenienti dall'area del mediterraneo dell'est; la distribuzione per sesso è influenzata dal background etnico.

La malattia di Behçet è caratterizzata da ulcere aftose orali ricorrenti e da almeno 2 o più dei seguenti segni: ulcerazioni genitali ricorrenti, lesioni oculari, lesioni cutanee o una positività al pathergy test.⁵³ Tra le manifestazioni più gravi vi sono l'infiammazione e l'ulcera

gastrointestinale, l'infiammazione oculare che può portare a cecità e l'interessamento del SNC con meningoencefalite. Grandi lesioni venose o arteriose si riscontrano dal 7% al 38% dei pazienti ed inducono trombosi ed occlusione dei vasi, come pure aneurismi delle arterie polmonari o periferiche. La malattia di Behçet ha la caratteristica di andare in remissione e di recidivare frequentemente. La morte si verifica nel 4% dei casi, generalmente come conseguenza di una perforazione intestinale, di una rottura vascolare o di interessamento del SNC.

Il trattamento si basa sulle manifestazioni di malattia. Le lesioni aftose e l'interessamento muco-cutaneo possono essere trattati con glicocorticoidi topici o intralesionali, dapsona o colchicina. Anche la talidomide può dare benefici, sebbene serie implicazioni teratogeniche e neurotossiche ne abbiano limitato l'uso. L'interessamento oculare e del SNC richiedono invece una terapia immunosoppressiva aggressiva, per la quale gli agenti più comunemente utilizzati sono ciclofosfamide, azatioprina e clorambucil.

ANGIOITE PRIMARIA DEL SNC

L'angioite primaria dell'SNC (PACNS) è una malattia non comune, caratterizzata da interessamento limitato al SNC, con segni minimi o assenti di vasculite sistemica. Sono state proposte due varianti: l'angioite granulomatosa del SNC (GACNS) e l'angioite benigna del SNC (BACNS).^{54,55}

La BACNS sembra avere un decorso monofasico e si osserva generalmente in giovani donne che presentano cefalea acuta severa o deficit neurologici focali, con arteriogramma anormale. In contrasto, la GACNS è una malattia lentamente progressiva, caratterizzata da deficit neurologici focali, cefalea cronica, alterazioni delle funzioni corticali più alte o lesioni infiammatorie del midollo spinale.

Oltre il 90% dei pazienti con GACNS avrà anomalie del liquor cerebrospinale con pleiocitosi mononucleare, elevato livello di proteine e normale livello di glucosio. Le immagini in risonanza magnetica presentano quasi sempre anomalie, riflettendo danni vascolari multifocali di epoche differenti. L'arteriogramma cerebrale può rivelare stenosi ed ectasie in più del 40% dei pazienti. In tutti i casi, deve essere eseguita un'accurata valutazione per escludere altri processi, che possono dare questo aspetto, tra cui spasmi vascolari, aterosclerosi, infezioni, neoplasie e alterazioni indotte da farmaci. La biopsia tissutale del SNC è la modalità diagnostica d'elezione, ma i risultati possono essere falsamente negativi in oltre un quinto dei pazienti. La probabilità diagnostica può essere incrementata prelevando campioni biotipici da entrambe le leptomeningi e dalla corteccia sottostante.

La GACNS è caratteristicamente una malattia fatale e progressiva, ma può rispondere a 1 mg/kg al giorno di prednisone e 2 mg/kg al giorno di ciclofosfamide. Nella BACNS 1mg/kg al giorno di prednisone per due-tre mesi può essere sufficiente. Per il 50% dei pazienti con PACNS, che non rientrano nelle categorie della BACNS e della GACNS, il trattamento si basa sulla gravità delle manifestazioni di malattia e sul grado di progressione.

SINDROME DI COGAN

La sindrome di Cogan è una malattia rara che si riscontra in giovani adulti, senza prevalenza di sesso. Le manifestazioni includono cheratite interstiziale e disfunzione vestibolouditiva che può portare a perdita permanente dell'udito. I pazienti possono anche avere aortite o altre manifestazioni di vasculite dei grandi vasi. Il prednisone (1 mg/kg al giorno) è indicato nel caso di malattia oculare grave, malattia vestibolouditiva e vasculite. L'inizio del trattamento al primo segno di perdita dell'udito fornisce la migliore opportunità di prevenire ulteriori danni e di favorire il potenziale recupero della funzione uditiva.

BIBLIOGRAFIA

1. Hunder GG, Bloch DA, Michel BA, Stevens MB, Arend WP, Calabrese LH, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of giant cell (temporal) arteritis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1122-8.
2. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides: proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994;37:187-92.
3. Sneller MC, Fauci AS. Pathogenesis of vasculitis syndromes. *Med Clin North Am* 1997;81:221-42.
4. Hoffman GS, Specks U. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Arthritis Rheum* 1998;41:1521-37.
5. Van der Woude FJ, Lobatto S, Permin H, Giessen MvD, Rasmussen N, Wiik A. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985;1:425-9.
6. Rao JK, Weinberger M, Oddone EZ, Allen NB, Landsman P, Feussner JR. The role of antineutrophil cytoplasmic antibody (c-ANCA) testing in the diagnosis of Wegener granulomatosis: a literature review and metaanalysis. *Ann Intern Med* 1995;123:925-32.
7. Langford CA. The diagnostic utility of c-ANCA in Wegener's granulomatosis. *Cleve Clin J Med* 1998;65:135-40.
8. Kerr GS, Fleisher TA, Hallahan CW, Leavitt RY, Fauci AS, Hoffman GS. Limited prognostic value of changes in antineutrophil cytoplasmic antibody titer in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* 1993;36:365-71.
9. Kerr GS, Hallahan CW, Giordano J, Leavitt RY, Fauci AS, Rottem M, et al. Takayasu arteritis. *Ann Intern Med* 1994;120:919-29.
10. Ishikawa K, Maetani S. Long-term outcome for 120 Japanese patients with Takayasu's disease: clinical and statistical analyses of related prognostic factors. *Circulation* 1994;90:1855-60.
11. Hoffman GS, Leavitt RY, Kerr GS, Rottem M, Sneller MC, Fauci AS. Treatment of glucocorticoid-resistant or relapsing Takayasu arteritis with methotrexate. *Arthritis Rheum* 1994;37:578-82.
12. Shelhamer JH, Volkman DJ, Parillo JE, Lawley TJ, Johnston MR, Fauci AS. Takayasu's arteritis and its therapy. *Ann Intern Med* 1985;103:121-6.
13. Giordano JM, Leavitt RY, Hoffman GS, Fauci AS. Experience with surgical treatment for Takayasu's disease. *Surgery* 1991;109:252-8.
14. Hunder GG. Giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Med Clin North Am* 1997;81:195-219.
15. Calamia KT, Hunder GG. Clinical manifestations of giant cell (temporal) arteritis. *Clin Rheum Dis* 1980;6:389-403.
16. Brack A, Martinez-Taboada V, Stanson A, Goronzy JJ, Weyand CM. Disease pattern in cranial and large-vessel giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:311-7.
17. Evans JM, Bowles CA, Bjornsson J, Mullany CJ, Hunder GG. Thoracic aortic aneurysm and rupture in giant cell arteritis: a descriptive study of 41 cases. *Arthritis Rheum* 1994;37:1539-47.
18. Aiello PD, Trautmann JC, McPhee TJ, Kunselman AR, Hunder GG. Visual prognosis in giant cell arteritis. *Ophthalmology* 1993;100:550-5.
19. Jover JA, Hernandez-Garcia C, Morado IC, Vargas E, Banares A, Fernandez-Gutierrez B. Combined treatment of giant-cell arteritis with methotrexate and prednisone: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2001;134:106-14.
20. Hoffman GS, Cid MC, Hellman DB, Guillevin L, Stone JH, Schousboe J, et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of adjuvant methotrexate treatment for giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:1309-18.
21. Hoffman GS, Kerr GS, Leavitt RY, Hallahan CW, Lebovics RS, Travis WD, et al. Wegener granulomatosis: an analysis of 158 patients. *Ann Intern Med* 1992;116:488-94.
22. Reinhold-Keller E, Beuge N, Latza U, de Groot K, Rudert H, Nolle B, et al. An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener's granulomatosis: long-term outcome in 155 patients. *Arthritis Rheum* 2000;43:1021-32.
23. Fauci A, Haynes B, Katz P, Wolff S. Wegener's granulomatosis: prospective clinical and therapeutic experience with 85 patients for 21 years. *Ann Intern Med* 1983;98:76-85.
24. Langford CA, Sneller MC. Update on the diagnosis and treatment of Wegener's granulomatosis. *Adv Intern Med* 2001;46:177-206.
25. Langford CA, Talar-Williams C, Barron KS, Sneller MC. A staged approach to the treatment of Wegener's granulomatosis: induction of remission with glucocorticoids and daily cyclophosphamide switching to methotrexate for remission maintenance. *Arthritis Rheum* 1999;42:2666-73.
26. Jayne D. Update on the European Vasculitis Study Group trials. *Curr Opin Rheumatol* 2001;13:48-55.
27. Sneller MC, Hoffman GS, Talar-Williams C, Kerr GS, Hallahan CW, Fauci AS. An analysis of forty-two Wegener's granulomatosis patients treated with methotrexate and prednisone. *Arthritis Rheum* 1995;38:608-13.
28. Guillevin L, Durand-Gasselin B, Cevallos R, Gayraud M, Lhote F, Callard P, et al. Microscopic polyangiitis: clinical and laboratory findings in eighty-five patients. *Arthritis Rheum* 1999;42:421-30.
29. Langford CA. Treatment of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome: where do we stand? *Arthritis Rheum* 2001;44:508-12.
30. Hogan SL, Nachman PH, Wilkman AS, Jennette JC, Falk RJ. Prognostic markers in patients with antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated microscopic polyangiitis and glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:23-32.
31. Lhote F, Guillevin L. Polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome: clinical aspects and treatment. *Rheum Dis Clin North Am* 1995;21:911-47.
32. Gayraud M, Guillevin L, le Toumelin P, Cohen P, Lhote F, Casassus P, et al. Long-term follow-up of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome: analysis of four prospective trials including 278 patients. *Arthritis Rheum* 2001;44:666-75.

33. Guillevin L, Lhote F, Cohen P, Sauvaget F, Jarrousse B, Lortholary O, et al. Polyarteritis nodosa related to hepatitis B virus: a prospective study with long-term observation of 41 patients. *Medicine* 1995;74:238-53.
34. Guillevin L, Lhote F, Gherardi R. The spectrum and treatment of virus-associated vasculitides. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:31-6.
35. Cacoub P, Maisonneuve T, Thibault V, Gatel A, Servan J, Musset L, et al. Systemic vasculitis in patients with hepatitis C. *J Rheumatol* 2001;28:109-18.
36. Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to Churg-Strauss syndrome. *Medicine* 1984;63:65-81.
37. Chumbley LC, Harrison EG, DeRemee RA. Allergic granulomatosis and angiitis (Churg-Strauss Syndrome): report and analysis of 30 cases. *Mayo Clin Proc* 1977;52:477-84.
38. Guillevin L, Cohen P, Gayraud M, Lhote F, Jarrousse B, Casassus P. Churg-Strauss syndrome: clinical study and long-term follow-up of 96 patients. *Medicine (Baltimore)* 1999;78:26-37.
39. Gibson LE. Cutaneous vasculitis: approach to diagnosis and systemic associations. *Mayo Clin Proc* 1990;65:221-9.
40. Lotti T, Ghersetich I, Comacchi C, Jorizzo JL. Cutaneous small-vessel vasculitis. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:667-87.
41. Cupps TR, Springer RM, Fauci AS. Chronic, recurrent small-vessel cutaneous vasculitis: clinical experience in 13 patients. *JAMA* 1982;247:1994-8.
42. Lamprecht P, Gause A, Gross WL. Cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2507-16.
43. Agnello V, Romain PL. Mixed cryoglobulinemia secondary to hepatitis C virus infection. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:1-21.
44. Ferri C, Marzo E, Longombardo G, Lombardini F, La Civita L, Vanacore R, et al. Interferon-alpha in mixed cryoglobulinemia patients: a randomized, crossover-controlled trial. *Blood* 1993;81:1132-6.
45. Vassilopoulos D, Calabrese LH. Hepatitis C virus infection and vasculitis: implications of antiviral and immunosuppressive therapies. *Arthritis Rheum* 2002;46:585-97.
46. Saulsbury FT. Henoch-Schönlein purpura in children. Report of 100 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1999;78:395-409.
47. Allen DM, Diamond LK, Howell DA. Anaphylactoid purpura in children (Schönlein-Henoch syndrome). *Am J Dis Child* 1960;99:833-54.
48. Meadow SR, Glasgow EF, White RHR, Moncrieff MW, Cameron JS, Ogg CS. Schönlein-Henoch nephritis. *Q J Med* 1972;41:241-58.
49. Barron KS, Shulman ST, Rowley A, Taubert K, Myones BL, Meissner HC, et al. Report of the National Institutes of Health Workshop on Kawasaki Disease. *J Rheumatol* 1999;26:170-90.
50. Kawasaki T, Kosaki F, Okawa S, Shigematsu I, Yanagawa H. A new infantile acute febrile mucocutaneous lymph node syndrome (MLNS) prevailing in Japan. *Pediatrics* 1974;54:271-6.
51. Newburger JW, Takahashi M, Beiser AS, Burns JC, Bastian J, Chung KJ, et al. A single intravenous infusion of gamma globulin as compared with four infusions in the treatment of acute Kawasaki syndrome. *N Engl J Med* 1991;324:1633-9.
52. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's disease. *N Engl J Med* 1999;341:1284-91.
53. International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990;335:1078-80.
54. Calabrese LH, Duna GF, Lie JT. Vasculitis in the central nervous system. *Arthritis Rheum* 1997;40:1189-201.
55. Hajj-Ali R, Furlan A, Abou-Chebel A, Calabrese L. Benign angiopathy of the central nervous system (BACNS): cohort of 16 patients with clinical course and long-term follow-up. *Arthritis Rheum* 2002;47:662-9.
56. St Clair EW, McCallum RM. Cogan's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 1999;11:47-52.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Il presente capitolo prende in esame le vasculiti fornendo una rassegna delle caratteristiche cliniche, della patogenesi e della terapia di ciascuna forma.

Recenti studi riguardanti le vasculiti di piccolo calibro hanno analizzato il ruolo degli ANCA nella diagnosi, valutando il loro potenziale impiego nel controllo delle vasculiti ANCA-associate che interessano i vasi di piccolo calibro. Birck et al. hanno recentemente prodotto una revisione sistematica, per valutare l'associazione tra modificazione dei livelli sierici degli ANCA ed attività di malattia concludendo che, mentre il ruolo di tali anticorpi è utile nella diagnosi, non sono presenti sufficienti evidenze per stabilire un legame tra livelli sierici degli ANCA ed attività di malattia o eventuale recidiva della stessa.¹ Queste osservazioni portano gli Autori a raccomandare di non lasciarsi guidare dal titolo degli ANCA nell'aggiustamento della terapia immunosoppressiva.

Due recenti studi hanno valutato l'associazione tra prevalenza degli ANCA nella sindrome di Churg-Strauss e le eventuali correlazioni cliniche. Nel primo studio la prevalenza degli ANCA era pari al 37,6% e si riscontrava in presenza di coinvolgimento renale,² emorragia polmonare e, in minor misura, di localizzazione cutanea e nel sistema nervoso periferico. Il coinvolgimento del parenchima polmonare o cardiaco era invece più frequente nelle forme ANCA-negative. Nel secondo studio,³ gli ANCA erano presenti nel 38% dei soggetti affetti da Churg-Strauss; anche in questo caso la loro presenza si associava a coinvolgimento renale, neuropatia periferica e coinvolgimento cutaneo, mentre una loro negatività risultava associata ad un coinvolgimento cardiaco e febbre.

Questi dati suggeriscono l'esistenza di due varianti di Churg-Strauss: una ANCA positiva caratterizzata da vasculite necrotizzante dei piccoli vasi con glomerulonefrite e l'altra ANCA negativa, contraddistinta dalla presenza di infiltrato eosinofilo.⁴ Ulteriori studi sono necessari per stabilire se le differenze nel decorso clinico e nella prognosi nei due sottogruppi siano tali da dover influire nella scelta terapeutica. Sulla base di tali dati, inoltre, gli Autori ipotizzano che gli ANCA possano influire nel rischio di localizzazione in determinati organi, nei pazienti affetti da vasculiti dei piccoli vasi. Infine gli ANCA sono stati riscontrati anche nei soggetti affetti da Sclerosi sistemica, nei quali la loro presenza si associa a danno renale con glomerulonefrite proliferativa a semilune, che ha suoi peculiari caratteri istopatologici, differenti rispetto a quelli che si documentano nel rene in corso di crisi renale sclerodermica.⁵ È per tale motivo che Kallemberg et al. suggeriscono di ricercare gli ANCA in tutti i soggetti sclerodermici con insufficienza renale.

Altro punto focale riguarda la possibilità di seguire o predire l'attività della vasculite e la risposta alla terapia attraverso il titolo degli ANCA. Un ampio studio prospettico effettuato a tale proposito ha documentato che nel 71% dei casi nei quali si riscontrano elevati livelli di ANCA si verifica seguentemente una recidiva; ciò significa che il 29% dei soggetti con elevati livelli di ANCA non avrà una recidiva.⁶

Non di minor importanza il riscontro di una associazione tra ANCA e risposta al trattamento: un recente studio del *Glomerular Disease Collaborative Network*⁷ ha analizzato una coorte di 334 pazienti con vasculite, evidenziando una resistenza al trattamento nel 23% dei soggetti; tutti i soggetti avevano una forma di vasculite PR3-ANCA associata (dimostrata anche all'esame istologico dopo biopsia renale).

Recenti progressi riguardano anche l'imaging nelle malattie infiammatorie dei vasi, in particolare per quanto riguarda il ricorso a RMN, angio-RMN e PET. Desai et al.⁸ hanno riscontrato che, nei soggetti affetti da arterite di Takayasu, un enhancement ritardato in RMN si associa ad un enhancement ritardato nelle pareti dell'aorta, riflettendo quindi lo stato di infiammazione della parete vascolare. Questo reperto correla, inoltre, con la presenza di un incremento degli indici di flogosi come VES e PCR, fornendo un utile mezzo per monitorare l'attività di malattia. Bley et al.⁹ hanno evidenziato che la RMN ad alta risoluzione può essere utile nella valutazione dell'attività di malattia anche per le vasculiti dei vasi di piccolo-medio calibro, come le arterie temporali, in pazienti con arterite giganto-cellulare. La RMN ad alta risoluzione, inoltre, possiede una elevata sensibilità e specificità, se confrontata con l'esame istologico, per la diagnosi di arterite temporale, alla luce dei criteri dell'American College of Rheumatology.¹⁰ Anche la PET risulta un utile mezzo di valutazione dell'attività di malattia, con il vantaggio di una maggiore sensibilità rispetto alla RMN soprattutto negli stadi precoci di malattia;^{11,12} tuttavia non vi sono ancora dati definitivi sul suo utilizzo.

Ulteriori progressi concernono la terapia delle vasculiti: il ruolo fondamentale del TNF-alfa è stato evidenziato in seguito al riscontro di elevati livelli sierici in un sottogruppo di pazienti affetti da arterite giganto-cellulare resistente alla terapia con steroide. L'infliximab in monoterapia si è dimostrato efficace come alternativa agli steroidi e/o agli immunosoppressori convenzionali¹³. Accanto alle forme resistenti, ve ne sono altre ad andamento più mite; Ter Borg et al. [14] hanno classificato le arteriti giganto-cellulari diagnosticate mediante biopsia in tre sottogruppi: forma classica, atipica e forma a guarigione facile. L'arterite a guarigione facile può essere identificata come un sottotipo relativamente benigno e può essere trattata con una dose minore di steroide sin dall'inizio.

Riferimenti bibliografici

1. **Serial ANCA determination for monitoring disease activity in patients with ANCA-associated vasculitis: systematic review**
Birck R, Schmitt WH, Kaelsch IA, et al
Am J Kidney Dis 2006; 47:15-23.

2. **Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome**
Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, et al
Arthritis Rheum 2005; 52:2926-35
3. **Antineutrophil cytoplasmic antibodies and the Churg-Strauss syndrome**
Sable-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A, et al
Ann Intern Med 2005; 143:632-8
4. **Curr Opin Rheumatol**
Pagnoux C, Guilpain P, Guillevin L. Churg-Strauss syndrome
2007 Jan;19(1):25-32
5. **Antineutrophil cytoplasmic antibody-positive crescentic glomerulonephritis in scleroderma—a different kind of renal crisis**
Kamen DL, Wigley FM, Brown AN
J Rheumatol. 2006;33:1886-8
6. **Disease-specific quality indicators, guidelines, and outcome measures in vasculitis**
Mukhtyar C, Luqmani R
Clin Exp Rheumatol. 2007; 25:120-9
7. **Predictors of relapse and treatment resistance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated small-vessel vasculitis**
Hogan SL, Falk RJ, Chin H, et al
Ann Intern Med. 2005;143: 621-31
8. **Delayed contrast enhanced MRI of the aortic wall in Takayasu's arteritis: Initial experience**
Desai MY, Stone JH, Foo TKF, et al
Am J Roentgenol 2005; 184:1427-31
9. **Inflammatory hyperenhancement persists in delayed high-resolution MRI in giant cell arteritis**
Bley TA, Markl M, Wieben O, et al
Am J Roentgenol 2006; 186:1197-8
10. **Assessment of the cranial involvement pattern of giant cell arteritis with 3T magnetic resonance imaging**
Bley TA, Wieben O, Uhl M, et al
Arthritis Rheum 2005; 52:2470-7
11. **Giant cell arteritis revealed by positron emission tomography**
Loeb JM, Engelstad B, Creek W
Arthritis Rheum 2006; 54:1710-5
12. **Molecular imaging of Takayasu's arteritis and other large-vessel vasculitis with 18F-FDG PET**
Webb M, Al-Nahhas A
Nucl Med Commun 2006; 27: 547-9
13. **Infliximab as monotherapy in giant cell arteritis**
Uthman I, Kanj N, Atweh S
Clin Rheumatol 2005; 25: 109-10
14. **Relationship between histological subtypes and clinical characteristics at presentation and outcome in biopsy-proven temporal arteritis**
Ter Borg EJ, Haanen HCM, Seldenrijk CA
Identification of a relatively benign subgroup. Clin Rheumatol; 2007; 26: 529-32

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

*** Autoimmunity, vasculitis, and autoantibodies**

Susan J. Lee, MD, Arthur Kavanaugh, MD

Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, supplement 2, Pages S445-S450)

16. Le affezioni immunologiche del polmone

Questo capitolo riassume le recenti scoperte relative a patogenesi, diagnosi, e trattamento delle patologie immunologiche del polmone. Piuttosto che eseguire una analisi dettagliata, si è scelto di porre l'attenzione su disturbi selezionati, di particolare rilevanza nella pratica medica; gli argomenti sono stati organizzati sulla base dei meccanismi immunologici dominanti che caratterizzano le patologie. A causa della ridondanza che caratterizza il repertorio del sistema immunitario dei mammiferi, questo sistema di classificazione inevitabilmente crea sovrapposizioni ma facilita l'inquadramento di ciò che altrimenti si presenterebbe come una raccolta disordinata di patologie. I principali meccanismi immunitari a livello polmonare sono, molto in generale, suddivisi in processi immuni innati e acquisiti. L'immunità innata include tra gli agenti effettori i neutrofili e il complemento che sono importanti in patologie quali la polmonite o la sindrome da distress respiratorio acuto; l'immunità acquisita include i linfociti T e B capaci di riconoscere singoli antigeni. Le risposte immunitarie acquisite Th1 e Th2-dipendenti sono alla base di alcune tra le più comuni ed importanti affezioni polmonari, quali la tubercolosi e l'asma rispettivamente. Altri importanti processi immunopatologici includono l'infiammazione granulomatosa che caratterizza la Sarcoidosi e la Vasculite di Churg-Strauss, e l'autoimmunità, che è caratteristica della malattia anti-membrana basale glomerulare e di altre patologie autoimmuni.

La patogenesi della maggior parte delle patologie polmonari comprende, sia primariamente che secondariamente, meccanismi immuni o infiammatori. Le eziologie specifiche delle patologie polmonari immuno-mediate sono numerose, e includono agenti infettivi, non infettivi e idiopatici che complicano l'organizzazione sistematica di queste sindromi.

Per contro, i meccanismi infiammatori che sono alla base della patologia indotta da numerosi agenti differenti sono abbastanza simili, consentendo un sistema più schematico per la classificazione di malattia. La gamma di risposte immuni nell'uomo è limitata, ma le risposte specifiche usano tipicamente elementi ridondanti. In questo modo, la stessa risposta immune può affrontare efficientemente molti agenti differenti. Questi ultimi, interagendo in modo selettivo con alcuni componenti del repertorio immunologico determinano la risoluzione o la progressione della malattia.

In questo capitolo si considerano le cause delle patologie

Abbreviazioni utilizzate:

ACE:	Enzima di conversione dell'angiotensina
ANCA:	Anticorpo anti-citoplasma dei neutrofili
ARDS:	Sindrome da distress respiratorio acuto
BAL:	Lavaggio broncoalveolare
BPCO/COPD:	Broncopneumopatia cronica ostruttiva/ chronic obstructive pulmonary disease
IFN:	Interferone
IL:	Interleuchina
Th:	T helper
TLR:	Recettore simil-Toll/ Toll-like receptor
TNF:	Tumor necrosis factor
TRALI:	Danno polmonare acuto dovuto a trasfusione

del polmone in base ai più importanti tipi di risposte immuni. Vengono sottolineati cinque principali tipi di risposte immunologiche del polmone e si discutono esempi clinici selezionati per ognuna di esse (Tabella I). I meccanismi infiammatori innati, che sono alla base di molti tipi di polmoniti acquisite in comunità e della sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), includono processi mediati dal complemento e/o dai neutrofili, senza interessamento significativo delle cellule del sistema immunitario acquisito (cellule T e B). In altre patologie polmonari, i principali determinanti immunologici della patologia sono rappresentati dalle cellule T, incluse le cellule Th1 secernenti interleuchina-2 (IL-2) e interferone- γ (IFN- γ), e le T helper 2 (Th2), che secernono IL-4, IL-5, IL-13 e altre citochine. I meccanismi infiammatori granulomatosi possono essere sia Th1 che Th2-dipendenti, ma sono sufficientemente distinti dal punto di vista patologico e fisiopatologico da permettere una loro classificazione separata. Alla base di tutte le precedenti entità nosologiche vi sono sia agenti infettivi (tubercolosi, polmoniti acquisite in comunità) sia non infettivi (polmonite da ipersensibilità, berilliosi) acquisiti attraverso il contatto ambientale. In contrasto, gli antigeni endogeni sono alla base dei processi autoimmuni, nonostante le influenze ambientali siano probabilmente abbastanza importanti anche in questo caso.

MECCANISMI INFIAMMATORI INNATI

Polmonite acquisita in comunità

Si intende per polmonite una infezione primaria che produce sintomi tipici (ad esempio febbre, tosse produttiva, dolore toracico da impegno pleurico) o segni (ad esempio consolidamento, rantoli polmonari) riferibili al pol-

Traduzione italiana del testo di:

Joseph E. Prince, Farrah Kheradmand e David B. Corry
J. Allergy Clin Immunol 2003; 111: S613-23

TABELLA I. Classificazione immunopatologica delle patologie infiammatorie polmonari

Meccanismi infiammatori innati
-polmonite acquisita in comunità
-ARDS
-TRALI
-Danno polmonare acuto da ischemia/riperfusion
Meccanismi infiammatori correlati a cellule Th1
-polmonite da ipersensibilità
-BPCO
Meccanismi infiammatori correlati a cellule Th2
-asma
-sindromi eosinofile polmonari
Meccanismi infiammatori granulomatosi
Correlati a cellule Th1
-tubercolosi
-berilliosi
-sarcoidosi
Correlati a cellule Th2
-vasculite di Churg-Strauss
Meccanismi autoimmuni
-Granulomatosi di Wegener
-malattia anti-membrana basale glomerulare

monite. La polmonite acquisita in comunità viene diagnosticata esclusivamente in persone che contraggono la patologia in ambiente non ospedaliero e usualmente è causata da batteri patogeni comuni, quali *Mycoplasma Pneumoniae*, *Streptococcus Pneumoniae*, o *Haemophilus Influenzae*, e da alcuni virus. Malgrado una ricerca accurata, un agente eziologico specifico non viene individuato nella maggior parte dei casi di polmonite acquisita in comunità; comunque, un test sierologico retrospettivo nei confronti dei suddetti patogeni può migliorare l'efficacia diagnostica.

Nonostante la disponibilità di potenti antimicrobici ad ampio spettro, la polmonite resta un peso economico significativo, e una importante causa di morbidità e mortalità. La polmonite, con qualunque eziologia, è la settima causa di morte negli Stati Uniti, e quella acquisita in comunità rappresenta il 10% della mortalità per le persone dai 65 anni in su.¹ L'età avanzata e la presenza di comorbidità polmonari, quali l'enfisema, sono importanti cause di mortalità e di invalidità da polmonite.

Per lungo tempo si è ritenuto che neutrofili, complemento e macrofagi proteggessero le vie aeree dalla colonizzazione e dall'invasione dei batteri, ma recenti studi hanno evidenziato l'importanza di molte nuove famiglie di proteine difensive per il polmone. Le β -Defensine sono piccoli peptidi cationici prodotti dall'epitelio polmonare dell'uomo e del topo e, almeno in vitro, hanno proprietà battericide dirette. Le defensine inoltre richiamano cellule dendritiche e cellule T nei siti di infiammazione e possono così attivare l'immunità acquisita contro una grande varietà di agenti patogeni polmonari.² Un altro gruppo di interessanti molecole dell'immunità innata è la famiglia dei recettori Toll-simili (TLR) che include 10 omologhi umani. TLR 2, 3, 4, 5, 6 e 9 sono recettori per molecole specifiche derivate da virus o batteri, e, come le Defensine, promuovono sia le risposte immunitarie innate che quelle specifiche. Specifiche mutazioni

nel gene del TLR 4 possono predisporre a sviluppare shock settico da germi gram-negativi, indicando che TLR 4 è importante per l'immunità protettiva nei confronti di questo gruppo di patogeni.³ Anche se l'utilizzo di antibiotici rimane il cardine della terapia antimicrobica nella polmonite, progressi promettenti sono stati ottenuti nello sviluppo di nuove terapie basate sull'uso delle difese endogene e sui TLRs.

Sindrome da distress respiratorio acuto

L'ARDS resta una patologia di difficile trattamento e poco conosciuta, che colpisce soggetti con patologie critiche, in particolare pazienti con sepsi. La sindrome da distress respiratorio acuto è caratterizzata da difficoltà nella respirazione, tachipnea, e tosse, di solito accompagnati da ipossiemia severa e da alterazioni dei radiogrammi toracici, che tipicamente rivelano un consolidamento alveolare. L'ARDS colpisce vari organi oltre il polmone; la presenza di disfunzioni in altri organi, quali il fegato, i reni e il cervello, e il tasso di mortalità, stimato attorno al 35%, sono di solito il risultato di una insufficienza pluriorgano. La mortalità per ARDS è scesa negli ultimi 20 anni, ma resta forse la causa singola più comune di morte nelle unità di terapia intensiva.

L'ARDS è il risultato di una risposta infiammatoria sistemica incontrollata, iniziata da un'ampia varietà di stimoli nocivi. Nel liquido di lavaggio broncoalveolare (BAL) e nel siero dei soggetti affetti si riscontra un aumentato livello di proteine del surfattante circolanti e di fattore di Von Willebrand⁴, normalmente confinato a livello dell'endotelio vascolare, e questo indica un danno a carico sia dell'epitelio alveolare che dell'endotelio vasale. Comunque, il reperto caratteristico dell'ARDS, che è alla base dei principali sintomi e segni di malattia, è il riempimento degli spazi alveolari con liquido di edema polmonare, ed è presumibilmente la conseguenza di una aumentata permeabilità dell'endotelio vascolare alveolare. Il diffuso e omogeneo consolidamento degli spazi aerei, visibile alla radiografia toracica, è spesso più irregolare se analizzato con la tomografia computerizzata del torace, che mostra il riempimento e il collasso degli alveoli; quest'ultimo è ritenuto conseguenza di una deficitaria produzione di surfattante.

Recentemente sono stati fatti significativi passi avanti nel rivelare le basi immunopatologiche dell'ARDS. Le cellule infiammatorie più spesso implicate nella sindrome sono i neutrofili; le chemochine specifiche dei neutrofili, in special modo IL-8, sono inoltre fortemente iperesprese nel BAL dei soggetti affetti. Anche Transforming growth factor alfa (TGF- α), Fattore di inibizione della migrazione (MIF), IL-2 e IL-6 sono presenti nel liquido delle vie aeree di questi pazienti, e il fattore di trascrizione proinfiammatorio NF- κ B è fortemente attivato nei macrofagi alveolari. Inoltre, l'inibizione di IL-8 riduce l'incidenza dell'ARDS nei modelli sperimentali.⁵ Nonostante questi dati, manca una dettagliata comprensione della fisiopatologia della sindrome: anche i pazienti neutropenici sviluppano l'ARDS, e questo indica l'esistenza di altri importanti meccanismi alla base della patologia; inoltre, almeno parte dell'infiammazione è effettivamente dovuta alla ventilazione meccanica.⁶

Recenti studi clinici hanno puntato l'attenzione sui potenziali effetti benefici derivanti dalla somministrazione di antinfiammatori, che limitano il danno polmonare indotto dalla ventilazione meccanica. Un recente studio ha documentato l'inefficacia di terapia con corticosteroidi, somministrata nella fase precoce di ARDS. Invece la somministrazione di metilprednisolone endovena, in fase più avanzata di malattia, in presenza di presumibili esiti cicatriziali e fibrosi, ha mostrato un significativo giovamento per quanto riguarda la sopravvivenza e lo svezamento precoce dalla ventilazione meccanica.⁷ Le complicanze infettive erano comunque comuni, e gli effetti benefici richiedono la conferma in uno studio prospettico più ampio. Anche la parziale ventilazione liquida con perflubron probabilmente attenua l'infiammazione, e simultaneamente migliora l'ossigenazione.⁸ Questi effetti possono consentire un tempo di ventilazione ridotto e una più rapida interruzione della ventilazione meccanica, ma alcuni effetti collaterali della terapia con perflubron, tra cui ipossiemia transitoria, bradicardia, pneumotorace e la formazione di tappi di muco, sono abbastanza preoccupanti. È necessaria una maggiore esperienza con questa terapia innovativa prima di raccomandarla nella gestione dell'ARDS.

Probabilmente il progresso più importante nella terapia dell'ARDS è stata la scoperta che la modifica dei protocolli di ventilazione meccanica tradizionale migliora sostanzialmente gli esiti clinici. La ventilazione ad alta frequenza di oscillazione e la ventilazione ad alta pressione migliorano l'ossigenazione e possono ridurre sia i tempi della ventilazione meccanica sia i giorni in unità di terapia intensiva, anche se non sono chiari i risultati riguardo la sopravvivenza assoluta.⁹ Comunque un ampio studio randomizzato controllato ha recentemente confermato che i pazienti che ricevono una ventilazione meccanica convenzionale basata sul volume, usando piccoli volumi correnti (6 ml/kg) e picchi ottimali di pressione a fine espirazione, hanno il 23% di sopravvivenza in più rispetto ai pazienti che ricevono maggiori volumi correnti, indipendentemente dalle sottostanti condizioni cliniche.¹⁰ Conseguentemente, la ventilazione basata sul volume, che usa piccoli volumi correnti insieme a pressioni di fine espirazione ottimali, è attualmente la modalità ventilatoria di scelta per l'ARDS.

È stato dimostrato che terapie aggiuntive nell'ARDS sono in grado di migliorare alcuni esiti clinici rilevanti. Questi trattamenti includono l'uso dell'ossido nitrico, delle prostaglandine E1 e I2, del surfactante,¹¹ e una dieta povera di carboidrati e ricca di antiossidanti e olio di pesce.¹² Comunque nessuna di queste terapie ha mostrato di migliorare la sopravvivenza e il loro ruolo nella gestione di routine rimane incerto.

Danno polmonare acuto post-trasfusionale

La malattia polmonare acuta post-trasfusionale (TRALI), è una importante variante dell'ARDS, osservabile nel corso di una trasfusione di qualsiasi emoderivato. I pazienti sviluppano i segni e i sintomi tipici

dell'ARDS in fase precoce, entro minuti dall'inizio della trasfusione e spesso richiedono una ventilazione meccanica. La TRALI è responsabile di un 6% di mortalità e ha un'incidenza approssimativamente dello 0,2% per paziente trasfuso, ma la sindrome probabilmente è sottodiagnosticata. La patogenesi della TRALI è legata alla trasfusione di anticorpi anti-granulociti, e forse di altre sostanze, inclusi lipidi bioattivi,¹³ che determina il sequestro di neutrofili e monociti nei vasi capillari. La susseguente attivazione dei granulociti e del complemento culmina nel danno endoteliale.¹⁴ Possono essere osservati episodi ricorrenti di TRALI e tali episodi hanno una maggiore probabilità di verificarsi con la trasfusione di prodotti ematici derivati da donatrici pluripare.¹⁵ In aggiunta alla terapia di supporto (non è ancora stata identificata nessuna terapia specifica), occorrerebbe prestare particolare attenzione ad evitare prodotti ematici derivati da donatrici pluripare in pazienti con precedenti episodi di TRALI e che restino trasfusione-dipendenti.

MALATTIA POLMONARE DA ISCHEMIA/RIPERFUSIONE

Un danno polmonare ARDS-simile si osserva anche nel quadro di riperfusione vascolare di tessuti ischemici. La sindrome è associata con l'ischemia, specialmente dell'intestino e del polmone,¹⁶ e può anche essere osservata come complicanza di un intervento di chirurgia vascolare su una occlusione prolungata di un'arteria. Si pensa che la patogenesi sia correlata all'attivazione del complemento e dei neutrofili, con il conseguente danneggiamento dell'endotelio vascolare, che culmina nello stravasamento di liquidi. Così come nell'ARDS, il trattamento è prevalentemente di supporto, ma dati preliminari indicano che la sindrome può essere evitata con l'uso di agenti che inibiscono l'adesione dei neutrofili all'endotelio, mediata dalle selectine.¹⁷

MECCANISMI INFIAMMATORI Th1-CORRELATI

La polmonite da ipersensibilità

La polmonite da ipersensibilità è causata dalla ripetuta esposizione per via inalatoria ad antigeni derivati da funghi (*Actynomices*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*) e da derivati epidermici e piume di volatili. I pazienti tipicamente manifestano tosse e dispnea ed infiltrati interstiziali polmonari di solito reversibili. Se i pazienti non vengono allontanati dall'antigene scatenante, la distruzione permanente del parenchima e la compromissione respiratoria sono inevitabili. Nei pazienti con polmonite da ipersensibilità, sono state descritte cellule Th1-simili che mostrano un repertorio ristretto alfa/beta del recettore per l'antigene e che producono IFN- γ ;¹⁸ si ritiene che le reazioni di ipersensibilità ritardata siano importanti nella patogenesi della malattia. In aggiunta alla rimozione dell'antigene, il trattamento tipicamente include l'uso di corticosteroidi per via sistemica.

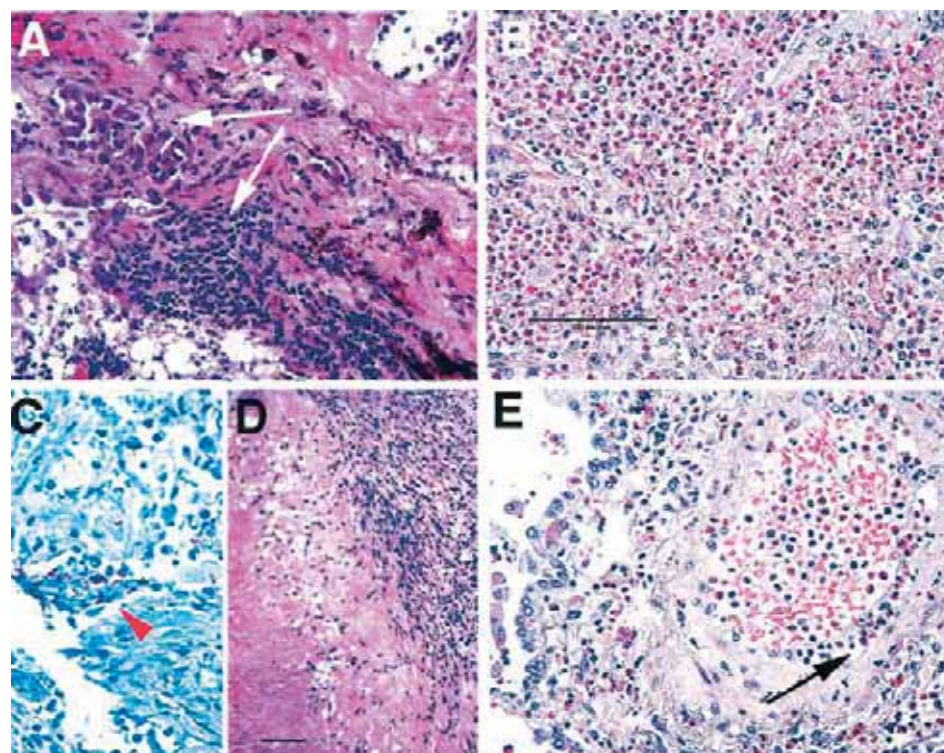


FIG 1. Aspetto istopatologico di alcune patologie polmonari immunologiche. Infiammazione marcata con infiltrati mononucleari (freccia superiore) e neutrofili (freccia inferiore) nel polmone di un paziente con BPCO all'ultimo stadio (A). Tappeto di eosinofili (citoplasma rosso granulare) in un altro paziente con polmonite eosinofila acuta idiopatica (B). Tubercolosi polmonare caratterizzata dalla presenza, nel tessuto infetto, del microrganismo responsabile, il *Mycobacterium tuberculosis*, come mostrato dalla colorazione acid-fast (Kinyoun) (C, punta di freccia). Il *M tuberculosis* viene evidenziato più facilmente nei granulomi caseificanti (D), che sono caratterizzati da aree circoscritte di necrosi (in alto a sinistra) circondate da istiociti disposti a palizzata. Al contrario, la vasculite di Churg-Strauss, altra sindrome granulomatosa polmonare, è caratterizzata da invasione infiammatoria delle pareti vascolari (freccia) e dalla presenza di abbondanti eosinofili (E). Le dimensioni relative sono indicate dalle barre 100- μ m in B e E. Tutte le sezioni eccetto la C sono colorate con ematossilina ed eosina. (Microfotografie cortesemente concesse dal Dr. Linda Green, Houston Veteran Affairs Medical Center).

Malattia ostruttiva cronica polmonare

La caratteristica fondamentale della malattia ostruttiva cronica polmonare (BPCO) è l'infiammazione delle vie aeree periferiche (Fig. 1,A), a cui consegue un flusso espiratorio prolungato e una perdita di ritorno elastico, causati dalla distruzione del parenchima polmonare; tali fenomeni vengono complessivamente definiti enfisema.¹⁹ Quando è grave, la BPCO può aumentare significativamente il lavoro respiratorio, riducendo simultaneamente l'efficienza del sistema cardiovascolare, a causa della perdita di tessuto vascolare polmonare. Il risultato finale di questi processi è la comparsa di dispnea debilitante e di insufficienza cardiaca congestizia. Poiché questi segni e sintomi sono talvolta aspecifici, la diagnosi può essere difficile e si fonda sul riscontro di riduzione del flusso aereo (tipicamente valutato dal FEV1 registrato con spirometria) insieme alla riduzione della capacità di diffusione alveolare del monossido di carbonio (DL_{CO}), un indice di efficienza dello scambio dei gas a livello polmonare. Il rilievo di espansione enfisematosa del polmone, mediante tomografia computerizzata o radiografia del torace, può supportare la diagnosi.

La BPCO è attualmente la quarta causa di morte negli Stati Uniti, la dodicesima maggiore patologia nel mondo, ed è destinata a salire al quinto posto nelle prossime 2 decadi.²⁰ Il fumo di tabacco è chiaramente il più importante fattore eziologico universale della BPCO, ma in alcuni gruppi di pazienti sono importanti altri agenti irritanti per via inalatoria e fattori genetici, specialmente il deficit di alfa-1-antitripsina. Recenti studi patogenetici riportano un marcato aumento nel numero dei neutrofili e macrofagi nelle vie aeree di uomini e animali esposti al fumo di sigaretta, e molte ipotesi propongono che la BPCO e l'enfisema siano mediati dall'attivazione di queste cellule, indotta dal fumo di sigaretta (Fig. 1, A). Secondo la teoria patogenetica del bilancio proteasi/antiproteasi, i macrofagi e neutrofili attivati rilasciano enzimi degradanti la matrice (metallo-, serino-, cisteino- proteasi della matrice) che causano la distruzione del parenchima polmonare alla base dell'enfisema.²¹ A supporto di queste ipotesi, modelli sperimentali hanno mostrato una correlazione tra il reclutamento di neutrofili e macrofagi nelle vie aeree e la dose di fumo di sigaretta inalato; inoltre la somministrazione di proteasi con attività elastolitica può, da sola, indurre enfisema.²² Più recentemente,

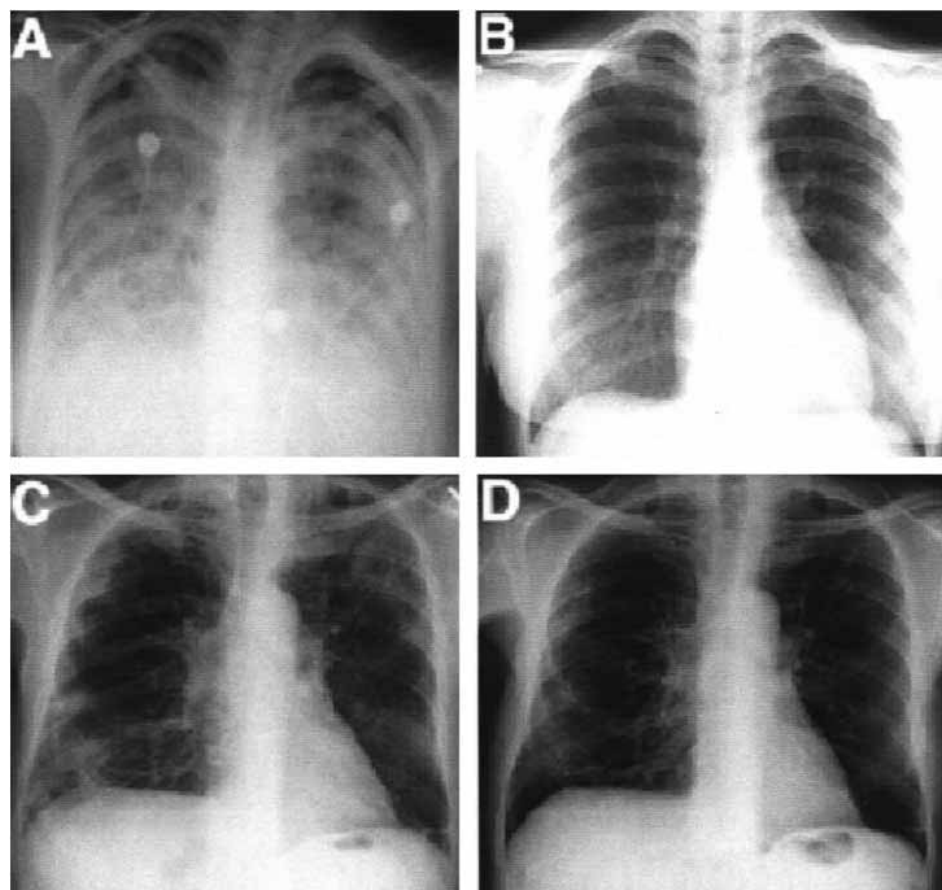


FIG 2. Aspetto radiologico di alcune patologie polmonari immunologiche. **A**, Caso grave di polmonite eosinofila idiopatica acuta, con infiltrati alveolari bilaterali diffusi e versamento pleurico, che si sono risolti dopo 7 giorni dall'inizio della terapia corticosteroidea (**B**). **C**, Sindrome di Churg-Strauss non trattata, che mostra infiltrati irregolari bilaterali, interstiziali ed alveolari. La terapia corticosteroidea ha determinato un drammatico miglioramento di queste lesioni (**D**). (C-D, cortesemente concesse dal Dr. Renzi Bag, Baylor College of Medicine.)

è stato proposto un ruolo per le cellule T nella patogenesi della BPCO, specialmente per le Th1,²³ anche se il ruolo di neutrofili e macrofagi non dovrebbe essere ridimensionato, in quanto essi sono gli effettori finali della patologia, per la loro peculiare abilità di sintetizzare e secernere un gran numero di molecole capaci di degradare la matrice extracellulare.²²

Il trattamento della BPCO si limita all'uso di broncodilatatori e alla cessazione dell'abitudine tabagica, mentre il trapianto polmonare e l'uso di alfa-1-antitripsina ricombinante sono limitati a pazienti altamente selezionati. Recentemente sono stati pubblicati i risultati di numerosi trials clinici che hanno valutato i risultati della terapia antinfiammatoria nella BPCO. In questi studi, il trattamento con corticosteroidi per via inalatoria, non ha mostrato effetti sul grave declino della funzione respiratoria. Quindi, una volta stabilitasi una forte riduzione della funzionalità polmonare il trattamento con antinfiammatori gioca un ruolo minimo, se non nullo, nel rallentamento del declino funzionale. Sebbene anche il trattamento sistemico con corticosteroidi apporti un modesto miglioramento nei pazienti ospedalizzati per esacerbazioni acute di BPCO,²⁵ le raccomandazioni correnti dell'American Thoracic Society includono l'uso di corti-

costeroidi per via inalatoria per i pazienti con BPCO moderata o severa.²⁰

MECCANISMI INFIAMMATORI Th2-MEDIATI

Asma

L'asma è una delle più comuni e debilitanti patologie polmonari nel mondo industrializzato ed è fortemente legata alla presenza di cellule Th2 nel polmone e ad altri fenomeni atopici. Questa importante patologia respiratoria è discussa in maniera approfondita nel Capitolo 6.

Sindromi polmonari eosinofile

Diverse patologie polmonari (Tabella II) sono comunemente riunite in questo gruppo, in relazione all'aumentata presenza di eosinofili tissutali o nel BAL (oltre il 20% di tutte le cellule infiammatorie). Non è chiaro se gli eosinofili realmente contribuiscano alla patogenesi, ma l'evidente ruolo della IL-5 e delle cellule Th2 nello sviluppo e nel reclutamento degli eosinofili, indica una base immunopatologica comune per molte delle sindromi. Le

TABELLA II. Sindromi polmonari eosinofile**Primarie o idiopatiche:**

Polmonite eosinofila idiopatica acuta
 Polmonite eosinofila idiopatica cronica
 Sindrome ipereosinofila
 Sindrome di Churg-Strauss

Reazioni secondarie a:

Antigeni inalatori (asma, polmonite da ipersensibilità)
 Ipersensibilità a miceti (micosi broncopolmonare allergica)
 Farmaci o tossine
 Infezioni primarie del polmone
 Neoplasie
 Malattia del collagene vascolare
 Sarcoidosi

patologie che determinano le sindromi eosinofile sono discusse altrove in questo capitolo o in questo testo; la forma idiopatica e la micosi broncopolmonare allergica sono discusse qui di seguito.

Polmonite eosinofila idiopatica

I pazienti con la forma acuta di questa sindrome rapidamente progressiva si presentano con tosse, febbre, dispnea, dolore toracico di tipo pleurico, e mialgie diffuse. L'ipossiemia è comune e può evolvere rapidamente verso insufficienza respiratoria, che richiede la ventilazione meccanica. Le radiografie del torace rivelano tipicamente opacità alveolari o interstiziali bilaterali, diffuse, migranti; sono invariabilmente presenti versamenti pleurici in alcune fasi della patologia (Fig. 2,A).²⁶ La forma cronica della polmonite eosinofila idiopatica è simile alla variante acuta, ma i pazienti presentano un decorso prolungato, sono più spesso atopici, e sono in maniera predominante di sesso femminile. La radiografia del torace nella forma cronica spesso mostra opacità alveolari e interstiziali periferiche e versamenti pleurici; una possibile sequela ritardata è l'esito cicatriziale parenchimale.²⁷ In aggiunta agli eosinofili, che sono presenti nel BAL e nel parenchima polmonare (Fig. 1,B), il BAL dei pazienti con polmonite eosinofila idiopatica contiene linfociti, IgA, IL-5, e chemochine specifiche per gli eosinofili.²⁸ Inoltre, rari pazienti che mostrano la polmonite eosinofila idiopatica in associazione con linfomi cutanei a cellule T, esibiscono un profilo citochinico predominante di tipo Th2.²⁹

Il trattamento della polmonite eosinofila idiopatica si basa su glucocorticoidi orali o per via endovenosa in associazione a una terapia di supporto, qualora necessaria. Tutti i pazienti in cui è posta correttamente la diagnosi, rispondono usualmente con una remissione completa. Le recidive sono comuni solo nella forma cronica, ma sono prontamente controllate con cicli ripetuti di corticosteroidi.³⁰

Sindrome ipereosinofila

In contrasto con la relativa benignità della polmonite eosinofila idiopatica, la sindrome ipereosinofila è spesso una condizione maligna o premaligna, che comporta l'infiltrazione di molti organi, ma specialmente di polmoni, cute, nervi periferici e miocardio, da parte di cellule Th2.

L'eosinofilia è probabilmente il risultato di una produzione disregolata di IL-5.

Gli steroidi si mostrano occasionalmente efficaci, l'IFN- α e il trapianto di midollo osseo sono stati usati con successo.³¹

Micosi broncopolmonare allergica

A parte l'asma, la micosi broncopolmonare allergica è probabilmente la causa più comune di eosinofilia polmonare nei climi temperati ed è associata ad una specie di funghi, in particolare *Aspergillus fumigatus*, capace di colonizzare la superficie epiteliale del parenchima polmonare. L'esatta incidenza e prevalenza della micosi broncopolmonare allergica è sconosciuta, ma recenti studi clinici indicano che la sindrome è sottodiagnosticata.³²

In aggiunta all'asma, che è quasi invariabilmente associata alla micosi broncopolmonare allergica, i criteri diagnostici comprendono il rilievo delle precipitine e il prick test cutaneo positivo per le specie *Aspergillus*, l'eosinofilia ematica, e la presenza di infiltrati parenchimali variabili e ricorrenti nelle radiografie del torace. I criteri diagnostici minori comprendono elevati livelli sierici di IgE totali, colture di espettorato positive per *Aspergillus*, cilindri bronchiali all'esame dell'espettorato, e bronchiectasie.

La micosi broncopolmonare allergica è sempre più riconosciuta come una complicanza della fibrosi cistica, e può essere difficile da diagnosticare in questo ambito. I pazienti con IgE specifiche e prick tests positivi, insieme con anticorpi precipitanti per il microrganismo sospetto, hanno maggiore probabilità di essere affetti da tale patologia.³³ Per la maggioranza dei pazienti affetti da fibrosi cistica con sovrapposta patologia allergica polmonare causata da *A. fumigatus*, la positività del prick test cutaneo per due determinanti antigenici ricombinanti, Asp f 4 e Asp f 6, distingue in modo affidabile i pazienti sensibilizzati da quelli con vera e propria patologia.³⁴ La broncoscopia con biopsia del parenchima sta acquisendo sempre maggiore rilevanza quale utile strumento diagnostico aggiuntivo in casi particolarmente difficili.³⁵

Nonostante la sua eziologia infettiva, il trattamento della micosi broncopolmonare allergica ha tradizionalmente tratto beneficio dall'uso dei corticosteroidi per via sistemica. Comunque uno studio clinico recente ha dimostrato che l'aggiunta, sotto attento controllo, dell'agente antifungino itraconazolo ai glucocorticoidi, fornisce un beneficio clinico ulteriore nei pazienti infetti da *A. fumigatus*.³² Questo approccio terapeutico combinato, in grado anche di ridurre l'incidenza di affezioni fungine invasive, che possono complicare la monoterapia con glucocorticoidi, dovrebbe essere applicato in tutti i pazienti con micosi broncopolmonare allergica.

MECCANISMI INFIAMMATORI GRANULOMATOSI

I granulomi sono risposte immunologiche distinte, non limitate al polmone ma caratteristiche di alcune tra le più importanti e interessanti affezioni polmonari. La mag-

TABELLA III. Caratteristiche delle patologie polmonari granulomatose

Patologie polmonari granulomatose	Aspetto radiologico	Antigeni principali
Sarcoidosi	Variabile	Non noti*
Tubercolosi	Lobare (forma primaria)	Antigeni secreti 85A/B, SL-1, glicolipidi,
	Lobi superiori (riattivazione)	DAT, PPD
Micosi (inclusa la granulomatosi broncocentrica)	Lobare; infiltrati caratteristici della malattia	Numerosi
	“air crescent”: aspergillosi invasiva	
Polmonite da ipersensibilità	Interstiziale reticolonodulare	Funghi, batteri, proteine animali, Au, isocianato
Berilliosi (altri metalli tra cui Al, Ni, Zr, Ti)	Simile alla sarcoidosi	Be solubile†

* Tra gli antigeni proposti vi sono agenti infettivi batterici e micobatterici occulti, superantigeni di micobatteri, metalli pesanti

† Limite obbligatorio di esposizione occupazionale <2.0*g/m³; tuttavia non è noto il valore soglia per la patologia – sono stati riportati casi a <2*g/m³.

gior parte dei granulomi è costituita da raccolte organizzate di cellule T e B, circondate da istiociti (macrofagi con limiti cellulari indistinti) e, se causati da una eziologia infettiva, grandi cellule giganti multinucleate, situate usualmente al centro del granuloma (Fig. 1, D). Un tipico granuloma ha un diametro di 0,5-1,5 mm ed è sostenuto da uno stroma di connettivo lasso. I granulomi si formano sia in risposta alla persistente esposizione ad un antigene, sia per la presenza di un antigene particolato indigeribile, ma il meccanismo molecolare di formazione e persistenza del granuloma rimane tuttora ampiamente sconosciuto.

Che siano localizzate a livello polmonare o in altri organi, le malattie granulomatose di qualsiasi tipo condividono molte caratteristiche comuni. Quando l'antigene viene inalato, esso viene fagocitato dai macrofagi alveolari residenti, provocandone l'attivazione. Una volta attivati, i macrofagi secernono varie molecole, tra cui l'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE), la 1,25-diidrossivitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃), l'osteopontina e il fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF-α), che promuovono formazione del granuloma, risposta immunitaria, o entrambe.

Sebbene sia un marker di presenza di patologia granulomata e della sua attività, ACE manca di specificità per la patologia, e ha una utilità diagnostica e terapeutica limitata. Analogamente, gli alti livelli sierici di 1,25-(OH)₂D₃ sono una caratteristica comune delle patologie granulomatose e si pensa inducano l'ipercalcemia comune a tali malattie. L'IFN-γ, probabilmente prodotto dalle cellule Th1, è forse il più importante stimolo per la sintesi di 1,25-(OH)₂D₃ da parte dei macrofagi.³⁶ In aggiunta alla sua funzione nel metabolismo del calcio, 1,25-(OH)₂D₃ probabilmente gioca un duplice e complesso ruolo nell'immunità, in quanto è in grado di aumentare l'attività microbica macrofagica, ma simultaneamente di inibire le risposte Th1-specifiche.

L'osteopontina è una glicoproteina multifunzionale, secreta da molte cellule del granuloma, che è implicata nella regolazione della chemiotassi, nello sviluppo delle cellule T e nell'adesione cellulare – tutti elementi essenziali alla formazione del granuloma stesso. Sulla base di osservazioni condotte su modelli murini, l'osteopontina sta inoltre emergendo come stimolo importante per lo sviluppo delle cellule Th1.³⁷ Anche la citochina TNF-α è fondamentale per lo sviluppo del granuloma e ha un ruolo importante nel contenimento del più noto agente

infettivo induttore di granuloma: il *Mycobacterium Tuberculosis*, agente eziologico della tubercolosi. Una aumentata suscettibilità alla tubercolosi³⁸ e ad altri microrganismi intracellulari che inducono granulomi, è stata osservata in pazienti sottoposti a terapia con l'inibitore del TNF-α, infliximab. Il riconoscimento di un'aumentata suscettibilità, specialmente per la tubercolosi, ha condotto a un recente consenso per lo screening e la profilassi di pazienti a rischio o con tubercolosi precedentemente attiva, prima dell'inizio del trattamento con anti-TNF.³⁹ Nel loro complesso, queste scoperte indicano che la formazione del granuloma è un meccanismo necessario al controllo di alcune infezioni patogene, e che l'importanza del TNF-α nel loro controllo si basa su un suo ruolo nella formazione del granuloma stesso.

Molte importanti patologie ad eziologia infettiva e non infettiva hanno come caratteristica rilevante granulomi polmonari (Tabella III). Queste includono sia le patologie correlate ad una risposta da parte delle cellule Th1, quali tubercolosi, sarcoidosi e berilliosi, che la sindrome di Churg-Strauss, vasculite correlata alle cellule Th2.

Tubercolosi

Causata dal patogeno intracellulare *M. Tuberculosis*, la tubercolosi umana è un flagello antico ed estremamente diffuso. La tubercolosi primaria è spesso silente, ma la malattia sintomatica usualmente si presenta come un processo pneumonico febbrile e spesso doloroso (pleurite) che coinvolge i lobi polmonari inferiori, frequentemente complicato da versamenti pleurici sterili o da empiema tubercolare. In assenza di trattamento, la maggior parte dei pazienti alla fine guarisce spontaneamente dalla tubercolosi primaria, entrando in una fase di malattia quiescente o latente, per poi sviluppare più avanti nella vita una riattivazione della malattia, specialmente dopo terapie immunosoppressive, infezioni, neoplasie, o terapie farmacologiche. A differenza del periodo primario, la riattivazione tubercolare di solito coinvolge i lobi superiori. In assenza di trattamento i pazienti possono progredire verso una delle tre forme cliniche, che includono: la risoluzione spontanea, la malattia progressiva fibrocavitaria del parenchima, con estesa distruzione tissutale locale, e la disseminazione diffusa dell'infezione, teoricamente a qualsiasi organo. Dall'avvento della pastorizzazione del latte e dei suoi derivati, la tubercolosi primaria gastrointestinale non è più molto comune.

Indipendentemente dalla presentazione, la tubercolosi viene diagnosticata con l'identificazione dell'organismo nell'espettorato o nel tessuto infetto (Fig. 1, C), o con una amplificazione del DNA di *M. Tuberculosis* tramite PCR.

La mortalità per tubercolosi negli Stati Uniti e in Europa è diminuita vistosamente, passando da 500/100000 abitanti agli inizi del 19esimo secolo in Inghilterra all'attuale tasso di mortalità negli Stati Uniti che risulta inferiore a 1/100000. In forte contrasto, i tassi annui stimati di incidenza della tubercolosi stanno aumentando nell'Africa sub-Sahariana e in altri Paesi.⁴⁰ Nel 2000, nel mondo, si stimava che la prevalenza di malattia con positività dell'espettorato fosse di oltre 6 milioni di casi, e circa un terzo della popolazione mondiale potrebbe avere una infezione latente.

Dopo l'inalazione di una dose infettiva di *M. Tuberculosis* (anche solo 1-5 bacilli), il microrganismo viene fagocitato dalle cellule alveolari residenti e quindi inizia un periodo di latenza che può durare per molti anni. Studi di contatti diretti di persone con tubercolosi sono stati molto utili per analizzare le risposte precoci dopo l'esposizione. Il test Enzyme-linked immunosorbent spot (ELISA) su campioni di BAL di contatti familiari di pazienti con tubercolosi attiva e positività della prova diretta e dell'esame colturale dell'espettorato, hanno mostrato frequenze più alte di cellule produttrici IFN- γ , con specificità per l'antigene 85 secreto dal *M. tuberculosis*.⁴¹ Comunque, lo studio delle risposte immunitarie umane nel periodo immediatamente successivo all'infezione è ovviamente difficile, e a causa della natura asintomatica dell'infezione latente, il progresso nella conoscenza di questa importante fase della malattia è carente. Tradizionalmente si ritiene che la latenza insorga nel quadro di una risposta ipossica dell'ospite. Il granuloma (Fig. 1, D) può fornire esso stesso un ambiente adeguatamente anaerobico, sebbene il DNA di *M. Tuberculosis*, presumibilmente isolato da organismi latenti, sia stato identificato in tessuti apparentemente normali. La virulenza del micobatterio è associata alla resistenza all'ossido nitrico e all'1,25-(OH) $_2$ D $_3$, due importanti fattori nella risposta immune dell'ospite. Attualmente sono stati identificati importanti geni specifici dei micobatteri, specialmente i fattori sigma, che sono responsabili della virulenza della malattia.⁴²

L'importanza delle cellule CD4⁺ nella risposta antitubercolare dell'ospite è illustrata molto chiaramente nei pazienti con AIDS, con marcata deplezione di questo subset di cellule T. Bassi livelli di T CD4⁺ nel sangue periferico sono stati correlati con un deficit delle risposte di ipersensibilità ritardata e con aumenti della patologia polmonare ed extrapolmonare associati a positività dell'espettorato. In qualunque stadio della patologia, una produzione di citochine a pattern predominante Th1 (ad esempio IFN- γ) è associata a risposte protettive, contrariamente a quelle non protettive, come la malattia fibrocavitaria, nella quale si riscontra una fenotipo predominante di tipo Th2.⁴³

La chemioterapia multifarmacologica, basata su regimi con isoniazide e rifampicina, prescritte sotto diretto controllo medico, ove possibile, è la pietra miliare del trattamento moderno della tubercolosi polmonare. Gli studi clinici attuali sono focalizzati sulla sperimentazione di regimi terapeutici che portino al massimo la compliance

senza compromettere l'efficacia. Uno dei mezzi per ottenere questo risultato, può essere la riduzione della frequenza di somministrazione del farmaco, una promettente strategia basata sull'uso di farmaci più recenti, come la rifapentina, che hanno più lunga emivita sierica.

Sarcoidosi

La Sarcoidosi è una patologia ad eziologia ignota, caratterizzata dalla presenza di granulomi multipli non caseificanti, che provocano una disfunzione d'organo multipla ma che coinvolgono specialmente il polmone. L'alta prevalenza di linfadenopatia ilare e di malattia asintomatica nella popolazione Afro-Americana indica chiaramente una base genetica, e sono state identificate molte associazioni con aplotipi HLA. Nonostante sia di scarsa utilità nella definizione della progressione o della gravità della malattia, la seguente classificazione radiografica è largamente usata tra i clinici: stadio 0: nessuna lesione apparente; stadio 1: linfadenopatia ilare; stadio 2: linfadenopatia ilare e anomalie interstiziali parenchimali; stadio 3: anomalie interstiziali parenchimali; stadio 4: patologia fibrocavitaria. L'esame della funzionalità polmonare di solito mostra restrizione, ma la sarcoidosi è una delle poche patologie polmonari che può avere un quadro funzionale misto, restrittivo e ostruttivo.

Istologicamente, la sarcoidosi è caratterizzata dalla presenza di granulomi perilinfatici non caseificanti con un abbondante orletto di linfociti perigranulomatosi. La popolazione di linfociti perigranulomatosi contiene entrambi i tipi linfocitari, CD4⁺ e CD8⁺, e i profili di colorazione intracellulare per le citochine mostrano un pattern predominante di tipo Th1 (IFN- γ).⁴⁴ La diagnosi di sarcoidosi si basa sul riscontro del caratteristico granuloma nel polmone, o anche in altri tessuti, in assenza di agenti noti per indurre granulomi. Nonostante siano state formulate diverse ipotesi su una possibile eziologia infettiva (per es. correlazione con *M. tuberculosis*) o da esposizione professionale (ad es al berillio), studi accurati hanno identificato un ampio gruppo di pazienti in cui non è possibile identificare una eziologia. I corticosteroidi per via orale sono utilizzati normalmente per le forme sintomatiche di malattia, ma probabilmente non migliorano l'esito a lungo termine.⁴⁵ L'importanza del TNF- α nella formazione del granuloma fornisce una strategia terapeutica addizionale. L'Infliximab, un anticorpo modificato anti-TNF- α umano, è stato usato con successo come trattamento per la sarcoidosi refrattaria, ma seri effetti collaterali potrebbero precluderne un uso diffuso.

Berilliosi

La berilliosi è clinicamente identica alla sarcoidosi, ma deriva dall'esposizione ambientale al berillio, spesso in ambito lavorativo. L'Istituto per la Sicurezza e la Salute sul lavoro stabilisce un limite di esposizione tollerabile sul posto di lavoro < 2mg/m³ per 8 ore lavorative. Dal momento che livelli più bassi di esposizione sono stati correlati a patologia sintomatica si suggerisce di ridurre ulteriormente i limiti di esposizione (vedi http://www.osha.gov/dts/hib/hib_data/hib19990902.html).

Come la sarcoidosi, la berilliosi è associata ad un ampio spettro di anomalie polmonari, che vanno da opacità radiografiche irregolari ad una patologia interstiziale polmonare diffusa.

L'aumentata frequenza di casi di polmonite da ipersensibilità e di berilliosi in pazienti portatori di alcuni polimorfismi MHC e TNF- α , suggerisce un legame patogenetico tra queste distinte malattie polmonari. Il trattamento della berilliosi si fonda sull'allontanamento del paziente dall'esposizione ambientale. I corticosteroidi vengono comunemente usati come terapia aggiuntiva, ma studi randomizzati sulla loro efficacia non sono stati conclusivi, e il loro uso resta controverso.

Sindrome di Churg-Strauss

La Sindrome di Churg-Strauss, una vasculite necrotizzante con caratteristiche autoimmuni, è caratterizzata da ostruzione delle vie aeree, eosinofilia, e presenza di autoanticorpi, anti mieloperossidasi e anti citoplasma dei neutrofili (p-ANCA).⁴⁶ Gli organi più comunemente coinvolti sono i polmoni, la cute, e il sistema nervoso, e la diagnosi si formula sulla base di una combinazione di manifestazioni cliniche, che includono un radiogramma toracico anomalo (Fig. 2, C), tests sierologici positivi per p-ANCA, e il quadro istologico caratteristico (Fig. 1, E). Poiché la Sindrome di Churg-Strauss si riscontra esclusivamente in pazienti con una storia di asma e allergie, e la caratteristica patologica preminente è il riscontro di granulomi vascolari e tissutali necrotizzanti, viene usato come sinonimo il termine "granulomatosi e vasculite allergica".

Il significato dei p-ANCA nella patogenesi della Sindrome di Churg-Strauss non è chiaro, ma il legame di questi auto-anticorpi alle cellule endoteliali nei vasi di piccolo e medio calibro può dare inizio all'infiammazione vascolare, che può progredire verso la vasculite.⁴⁷ La produzione di pattern di citochine da parte di linee cellulari T clonate da pazienti con Sindrome di Churg-Strauss, indica la presenza di entrambi i tipi, Th1 e Th2, anche se le Th2 sembrano predominare.⁴⁸

La sindrome di Churg-Strauss è stata segnalata in pazienti che assumono vari prodotti farmaceutici, inclusi antileucotrieni, corticosteroidi e antibiotici macrolidi, anche se il ruolo preciso di questi farmaci nella patologia rimane controverso.^{49,50} Il trattamento della sindrome di Churg-Strauss è basato sull'utilizzo dei corticosteroidi sistemici e sull'interruzione dei possibili farmaci scatenanti; tali interventi conducono alla risoluzione della malattia nella maggior parte dei casi. La resistenza ai corticosteroidi è di solito superata con l'aggiunta di ciclofosfamide o di altri immunosoppressori.

LA PATOLOGIA AUTOIMMUNE DEL POLMONE

Molte vasculiti sistemiche e disordini reumatologici autoimmuni (analizzati nei Capitoli 14 e 15) colpiscono il polmone in qualche momento del loro decorso, spesso causando seri danni fisiologici. Le patologie autoimmuni che colpiscono il polmone possono essere divise in

TABELLA IV. Malattie autoimmuni/reumatologiche del polmone

Con vasculite	Senza vasculite
Granulomatosi di Wegener	Sindrome di Goodpasture
Sindrome di Churg-Strauss	Lupus Eritematoso Sistemico
Vasculite linfocitica	Malattia reumatoide del polmone
Sindrome di Sjögren	Sclerosi sistemica (Sclerodermia)
Polimiosite/Dermatomiosite	Spondilite anchilosante
Poliangiite microscopica	
Poliarterite nodosa	
Malattia di Behçet	

quelle che si presentano con vasculite e quelle che non danno luogo ad infiammazione dei vasi sanguigni (Tabella IV).⁵¹ Questa classificazione rimane utile; comunque, nuovi studi indicano che le stesse sindromi possono essere classificate funzionalmente, in base a criteri immunopatologici. Per esempio, mentre la vasculite di Churg-Strauss, discussa sopra, è associata prevalentemente alla produzione locale di citochine Th2, un'altra sindrome granulomatosa polmonare, la granulomatosi di Wegener, è caratterizzata dalla presenza di cellule di tipo Th1.⁵² Altre sindromi autoimmuni del polmone, come la malattia anti-membrana basale glomerulare (sindrome di Goodpasture), sono prevalentemente anticorpo-mediate, con fenotipo T-cellulare non definito.

Granulomatosi di Wegener

Le lesioni della granulomatosi di Wegener sono caratterizzate dalla presenza di vasculite necrotizzante, dalla formazione di microascessi, e dall'infiammazione granulomatosa dovuta all'azione di neutrofili e cellule di tipo Th1, che producono IFN- γ .⁵¹ Queste lesioni frequentemente inducono sintomi riferibili alle alte e basse vie respiratorie e ai reni (la classica triade), ma sono anche frequentemente coinvolti altri organi come l'occhio e la pelle.⁵³ Gli ANCA sono presenti nel siero della maggioranza dei pazienti con granulomatosi di Wegener.^{54,55} Il pattern di colorazione perinucleare degli autoanticorpi antineutrofili (p-ANCA) si basa sulla reattività a mieloperossidasi, antigeni nucleari, elastina e/o lattoferrina ma, con l'eccezione della mieloperossidasi, il loro ritrovamento non è specifico di vasculite.⁵⁶ Un pattern di colorazione citoplasmatico degli autoanticorpi antineutrofili (c-ANCA) è specifico per la proteinasi lisosomiale 3 ed è più fortemente associato con altre forme vasculitiche. In assenza del classico coinvolgimento d'organo nei pazienti c-ANCA-positivi, la diagnosi di granulomatosi di Wegener viene stabilita con la biopsia tissutale. L'eziologia della granulomatosi di Wegener è sconosciuta, ma gli autoanticorpi diretti contro le proteine dei granulati dei neutrofili e le cellule Th1 attivate sono fortemente associati con la malattia attiva. È stato suggerito un modello, secondo il quale, in individui suscettibili, antigeni ambientali inducono un eccessivo rilascio di IL-12 dai monociti, che scatena la crescita delle cellule Th1, le quali, a loro volta, orchestrano la conseguente infiammazione, il danno tissutale, e la risposta anticorpale alle proteine rilasciate dalle cellule distrutte.⁵⁷ Un recente studio

clinico longitudinale ha determinato la sopravvivenza, il danno d'organo, e i fattori predittivi di questi esiti, in un gruppo di pazienti con granulomatosi di Wegener. Il trattamento con ciclosporina A e corticosteroidi consentiva un tasso di sopravvivenza, a 10 anni, del 75 %, ma non preveniva danni d'organo gravi. La presenza iniziale di disfunzioni d'organo e la terapia prolungata con più di 20 mg/al giorno di prednisone erano indicatori di cattiva prognosi.⁵⁸

Sindrome di Goodpasture

La Sindrome di Goodpasture (malattia anti-membrana basale glomerulare) è clinicamente caratterizzata da diffusa emorragia polmonare e glomerulonefrite, che spesso si presentano simultaneamente, in associazione con anticorpi anti-membrana basale glomerulare circolanti.⁵⁹ La Sindrome di Goodpasture ha una incidenza negli Europei di 0.5 casi per milione per anno e colpisce prevalentemente i maschi bianchi.⁵⁹ I caratteristici anticorpi anti-membrana basale glomerulare legano un antigene endogeno: aminoacido 235 carbossi-terminale del dominio noncollagenico del collagene di tipo IV, normalmente presente nelle membrane basali alveolari e glomerulari.⁶⁰ Perché questa molecola diventi il bersaglio dell'attacco autoimmunitario non è chiaro, ma l'antigene umano maggiore di istocompatibilità di classe II DR15, che è fortemente associato con la Sindrome di Goodpasture, ha la peculiare capacità di legare molte sequenze peptidiche all'interno del dominio noncollagenico del collagene di tipo 4.⁶⁰ Così, la formazione di anticorpi anti-membrana basale glomerulare può, almeno in parte, riflettere la perdita di tolleranza per alcuni antigeni della membrana basale, e la presentazione aberrante di specifici peptidi della membrana basale al sistema immunitario.

Gli anticorpi autoreattivi nella Sindrome di Goodpasture sono la probabile causa della malattia, poiché il loro legame selettivo, con conseguente distruzione delle membrane basali di polmoni e reni, determina la glomerulonefrite e l'emorragia alveolare. Quest'ultima, se particolarmente grave può esitare nel dissanguamento, o più comunemente, nell'asfissia, ed è la principale causa di morte nella Sindrome di Goodpasture.⁵⁹

La diagnosi di Sindrome di Goodpasture si basa sul rilievo di anticorpi anti-membrana basale glomerulare circolanti in pazienti con una presentazione clinica compatibile con la diagnosi.⁶¹ L'allontanamento degli autoanticorpi scatenanti tramite plasmaferesi e l'inibizione della ulteriore produzione di autoanticorpi attraverso l'immunosoppressione sono i cardini della terapia. Basandosi sull'esperienza clinica, Ball et al. suggeriscono l'immediata somministrazione di terapia di plasma-exchange (4 L di plasma exchange a giorni alterni) e steroidi sistemici (2 mg/kg di metilprednisolone endovena ogni 8 ore) in pazienti che presentano emorragia polmonare o renale.⁵⁹ Una volta che è stata stabilita la presenza di anticorpi anti-membrana basale glomerulare, si inizia la ciclofosfamide (2 mg/kg) e la posologia viene adattata per mantenere la conta dei globuli bianchi al di sopra dei 5000/mm³, per un totale di 6 mesi. Complessivamente, nonostante un trattamento precoce aggressivo, la prognosi dei pazienti con

Sindrome di Goodpasture dipende dal grado di interessamento renale: la presenza di semilune in meno del 50% dei glomeruli alla biopsia renale è predittiva di una risposta favorevole al trattamento.⁵⁹

RIASSUNTO

Le malattie immunologiche del polmone rappresentano il gruppo più ampio ed importante di patologie polmonari. Negli ultimi 5 anni, la miglior comprensione dell'immunopatogenesi di molte di queste sindromi, specialmente l'ARDS, la malattia polmonare granulomatosa e la BPCO, ha favorito significativi miglioramenti terapeutici. Sembra ragionevole prevedere che analoghi progressi saranno compiuti nei prossimi 5 anni consentendo ulteriori importanti ricadute terapeutiche.

BIBLIOGRAFIA

- Kaplan V, Angus DC, Griffin MF, Clermont G, Scott Watson R, Linde-Zwirble WT. Hospitalized community-acquired pneumonia in the elderly: age- and sex-related patterns of care and outcome in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:766-72.
- Schutte BC, McCray PB Jr. [beta]-Defensins in lung host defense. *Annu Rev Physiol* 2002;64:709-48.
- Lorenz E, Mira JP, Frees KL, Schwartz DA. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002;162:1028-32.
- Ware LB, Conner ER, Matthay MA. von Willebrand factor antigen is an independent marker of poor outcome in patients with early acute lung injury. *Crit Care Med* 2001;29:2325-31.
- Matsumoto T, Yokoi K, Mukaida N, Harada A, Yamashita J, Watanabe Y, et al. Pivotal role of interleukin-8 in the acute respiratory distress syndrome and cerebral reperfusion injury. *J Leukoc Biol* 1997;62:581-7.
- Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, De Tullio R, Dayer JM, Brienza A, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999;282:54-61.
- Meduri GU, Headley AS, Golden E, Carson SJ, Umberger RA, Kelso T, et al. Effect of prolonged methylprednisolone therapy in unresolving acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:159-65.
- Croce MA, Fabian TC, Patton JH, Jr, Melton SM, Moore M, Trentham LL. Partial liquid ventilation decreases the inflammatory response in the alveolar environment of trauma patients. *J Trauma* 1998;45:273-80; discussion 80-2.
- Putensen C, Zech S, Wrigge H, Zinserling J, Stuber F, Von Spiegel T, et al. Long-term effects of spontaneous breathing during ventilatory support in patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:43-9.
- Anonymous. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 2000;342:1301-8.
- Gregory TJ, Steinberg KP, Spragg R, Gadek JE, Hyers TM, Longmore WJ, et al. Bovine surfactant therapy for patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1309-15.
- Gadek JE, DeMichele SJ, Karlstad MD, Pacht ER, Donahoe M, Albertson TE, et al. Effect of enteral feeding with eicosapentaenoic acid, gamma-linolenic acid, and

- antioxidants in patients with acute respiratory distress syndrome. Enteral Nutrition in ARDS Study Group. *Crit Care Med* 1999;27:1409-20.
13. Lenahan SE, Domen RE, Silliman CC, Kingsley CP, Romano PJ. Transfusion-related acute lung injury secondary to biologically active mediators. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:523-6.
 14. Lucas G, Rogers S, Evans R, Hambley H, Win N. Transfusion-related acute lung injury associated with interdonor incompatibility for the neutrophil-specific antigen HNA-1a. *Vox Sang* 2000;79:112-5.
 15. Palfi M, Berg S, Emerudh J, Berlin G. A randomized controlled trial of transfusion-related acute lung injury: is plasma from multiparous blood donors dangerous? [see comments.] *Transfusion* 2001;41:317-22.
 16. Williams EA, Quinlan GJ, Goldstraw P, Gothard JW, Evans TW. Postoperative lung injury and oxidative damage in patients undergoing pulmonary resection. *Eur Respir J* 1998;11:1028-34.
 17. Kerr KM, Auger WR, Marsh JJ, Comito RM, Fedullo RL, Smits GJ, et al. The use of cylexin (CY-1503) in prevention of reperfusion lung injury in patients undergoing pulmonary thromboendarterectomy. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:14-20.
 18. Yamasaki H, Ando M, Brazer W, Center DM, Cruikshank WW. Polarized type 1 cytokine profile in bronchoalveolar lavage T cells of patients with hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1999;163:3516-23.
 19. Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2000;343:269-80.
 20. Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1256-76.
 21. Cawston T, Carrere S, Catterall J, Duggleby R, Elliott S, Shingleton B, et al. Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Novartis Found Symp* 2001;234:205-18.
 22. Lim S, Roche N, Oliver BG, Mattos W, Barnes PJ, Fan Chung K. Balance of matrix metalloprotease-9 and tissue inhibitor of metalloprotease-1 from alveolar macrophages in cigarette smokers. Regulation by interleukin-10. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1355-60.
 23. Di Stefano A, Capelli A, Lusuuardi M, Caramori G, Balbo P, Ioli F, et al. Decreased T lymphocyte infiltration in bronchial biopsies of subjects with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 2001;31:893-902.
 24. Pauwels RA, Lofdahl CG, Laitinen LA, Schouten JP, Postma DS, Pride NB, et al. Long-term treatment with inhaled budesonide in persons with mild chronic obstructive pulmonary disease who continue smoking. European Respiratory Society Study on Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 1999;340:1948-53.
 25. Niewoehner DE, Erbland ML, Deupree RH, Collins D, Gross NJ, Light RW, et al. Effect of systemic glucocorticoids on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. Department of Veterans Affairs Cooperative Study Group. *N Engl J Med* 1999;340:1941-7.
 26. King MA, Pope-Harman AL, Allen JN, Christoforidis GA, Christoforidis AJ. Acute eosinophilic pneumonia: radiologic and clinical features. *Radiology* 1997;203:715-9.
 27. Durieu J, Wallaert B, Tonnel AB. Long-term follow-up of pulmonary function in chronic eosinophilic pneumonia. Groupe d'Etude en Pathologie Interstitielle de la Societe de Pathologie Thoracique du Nord. *Eur Respir J* 1997;10:286-91.
 28. Kurashima K, Mukaida N, Fujimura M, Yasui M, Shinagawa T, Matsuda T, et al. A specific elevation of RANTES in bronchoalveolar lavage fluids of patients with chronic eosinophilic pneumonia. *Lab Invest* 1997;76:67-75.
 29. Hirshberg B, Kramer MR, Lotem M, Barak V, Shustin L, Amir G, et al. Chronic eosinophilic pneumonia associated with cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Hematol* 1999;60:143-7.
 30. Marchand E, Reynaud-Gaubert M, Lauque D, Durieu J, Tonnel AB, Cordier JF. Idiopathic chronic eosinophilic pneumonia. A clinical and follow-up study of 62 cases. The Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies "Orphelines" Pulmonaires (GERM"O" P). *Medicine* 1998;77:299-312.
 31. Yoon TY, Ahn GB, Chang SH. Complete remission of hypereosinophilic syndrome after interferon-alpha therapy: report of a case and literature review. *J Dermatol* 2000;27:110-5.
 32. Stevens DA, Schwartz HJ, Lee JY, Moskovitz BL, Jerome DC, Catanzaro A, et al. A randomized trial of itraconazole in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *N Engl J Med* 2000;342:756-62.
 33. Skov M, Koch C, Reimert CM, Poulsen LK. Diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) in cystic fibrosis. *Allergy* 2000;55:50-8.
 34. Hemmann S, Menz G, Ismail C, Blaser K, Cramer R. Skin test reactivity to 2 recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens in A fumigatus-sensitized asthmatic subjects allows diagnostic separation of allergic bronchopulmonary aspergillosis from fungal sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:601-7.
 35. Aubry MC, Fraser R. The role of bronchial biopsy and washing in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Mod Pathol* 1998;11:607-11.
 36. Vidal M, Ramana CV, Dusso AS. Stat1-vitamin D receptor interactions antagonize 1,25-dihydroxyvitamin D transcriptional activity and enhance stat1-mediated transcription. *Mol Cell Biol* 2002;22:2777-87.
 37. O'Regan AW, Hayden JM, Body S, Liaw L, Mulligan N, Goetschkes M, et al. Abnormal pulmonary granuloma formation in osteopontin-deficient mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:2243-7.
 38. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, et al. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001;345:1098-104.
 39. Furst DE, Keystone EC, Breedveld FC, Kalden JR, Smolen JS, Antoni CE, et al. Updated consensus statement on tumor necrosis factor blocking agents for the treatment of rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases (April 2001). *Ann Rheum Dis* 2001; 60 Suppl 3:iii2-5.
 40. Harries AD, Hargreaves NJ, Kemp J, Jindani A, Enarson DA, Maher D, et al. Deaths from tuberculosis in sub-Saharan African countries with a high prevalence of HIV-1. *Lancet* 2001;357:1519-23.
 41. Schwander SK, Torres M, Carranza CC, Escobedo D, Tary-Lehmann M, Anderson P, et al. Pulmonary mononuclear cell responses to antigens of *Mycobacterium tuberculosis* in healthy household contacts of patients with active tuberculosis and healthy controls from the community. *J Immunol* 2000;165:1479-85.
 42. Kaushal D, Schroeder BG, Tyagi S, Yoshimatsu T, Scott C, Ko C, et al. Reduced immunopathology and mortality despite tissue persistence in a *Mycobacterium tuberculosis* mutant lacking alternative sigma factor, SigH. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:8330-5.
 43. van Crevel R, Karyadi E, Preyers F, Leenders M, Kullberg BJ, Nelwan RH, et al. Increased production of interleukin 4 by CD4+ and CD8+ T cells from patients with tuberculosis is related to the presence of pulmonary cavities. *J Infect Dis* 2000;181:1194-7.
 44. Wahlstrom J, Katchar K, Wigzell H, Olerup O, Eklund A,

- Grunewald J. Analysis of intracellular cytokines in CD4+ and CD8+ lung and blood T cells in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:115-21.
45. Paramothayan S, Jones PW. Corticosteroid therapy in pulmonary sarcoidosis: a systematic review. *JAMA* 2002;287:1301-7.
46. Gross WL. Churg-Strauss syndrome: update on recent developments. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:11-4.
47. Meller S, Jagiello P, Borgmann S, Fricke H, Epplen JT, Gencik M. Novel SNPs in the CD18 gene validate the association with MPO-ANCA+ vasculitis. *Genes Immun* 2001;2:269-72.
48. Kiene M, Csernok E, Muller A, Metzler C, Trabandt A, Gross WL. Elevated interleukin-4 and interleukin-13 production by T cell lines from patients with Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum* 2001;44:469-73.
49. Cuellar ML. Drug-induced vasculitis. *Curr Rheumatol Rep* 2002;4:55-9.
50. Jamaledine G, Diab K, Tabbarah Z, Tawil A, Arayssi T. Leukotriene antagonists and the Churg-Strauss syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2002;31:218-27.
51. Colby TV. Pulmonary pathology in patients with systemic autoimmune diseases. *Clin Chest Med* 1998;19:587-612, vii.
52. Komocsi A, Lamprecht P, Csernok E, Mueller A, Holl-Ulrich K, Seitzer U, et al. Peripheral blood and granuloma CD4(+)CD28(-) T cells are a major source of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in Wegener's granulomatosis. *Am J Pathol* 2002;160:1717-24.
53. Luqmani RA. Assessing disease activity in the systemic vasculitides. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:23-8.
54. Falk RJ, Nachman PH, Hogan SL, Jennette JC. ANCA glomerulonephritis and vasculitis: a Chapel Hill perspective. *Sem Nephrol* 2000;20:233-43.
55. McLaren JS, Stimson RH, McRorie ER, Coia JE, Luqmani RA. The diagnostic value of anti-neutrophil cytoplasmic antibody testing in a routine clinical setting. *QJM* 2001;94:615-21.
56. Harper L, Savage CO. Pathogenesis of ANCA-associated systemic vasculitis. *J Pathol* 2000;190:349-59.
57. Ludviksson BR, Sneller MC, Chua KS, Talar-Williams C, Langford CA, Ehrhardt RO, et al. Active Wegener's granulomatosis is associated with HLA-DR+ CD4+ T cells exhibiting an unbalanced Th1-type T cell cytokine pattern: reversal with IL-10. *J Immunol* 1998;160:3602-9.
58. Koldingsnes W, Nossent H. Predictors of survival and organ damage in Wegener's granulomatosis. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:572-81.
59. Ball JA, Young KR Jr. Pulmonary manifestations of Goodpasture's syndrome. Antiglomerular basement membrane disease and related disorders. *Clin Chest Med* 1998;19:777-91, ix.
60. Phelps RG, Jones VL, Coughlan M, Turner AN, Rees AJ. Presentation of the Goodpasture autoantigen to CD4 T cells is influenced more by processing constraints than by HLA class II peptide binding preferences. *J Biol Chem* 1998;273:11440-7.
61. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J. Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCA: an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1863-8.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Il capitolo affronta un ampio spettro di affezioni polmonari di ambito immunologico, descritte secondo un criterio classificativo patogenetico.

Nell'ambito dello studio delle patologie infettive, è stato evidenziato che il polmone è in grado di produrre numerosi peptidi e proteine, denominati peptidi dotati di attività antimicrobica (APM, antimicrobial peptides) e immunomodulante ed importanti non solo per la difesa dagli agenti infettivi ma anche per la regolazione della risposta immunitaria contro di essi. I nuovi sviluppi nello studio degli AMP permetteranno una loro potenziale applicazione nel trattamento delle infezioni polmonari.¹ Ulteriori progressi si sono avuti nello studio della suscettibilità alle infezioni polmonari, che può almeno in parte essere spiegata con la predisposizione genetica.² In particolare sono state identificate specifiche mutazioni o polimorfismi di singoli nucleotidi in grado di condizionare la suscettibilità alle polmoniti: mutazioni della lectina legante il mannosio interferiscono nel riconoscimento antigenico; polimorfismi degli antagonisti recettoriali di IL-10 e IL-11 sono implicati nella risposta anti-infiammatoria. Anche disfunzioni d'organo come la ARDS e la CID possono essere legate a polimorfismi di specifici geni effettori. Studi degli ultimi anni hanno confermato il ruolo della terapia aggiuntiva nell'ARDS: ossido nitrico, prostaglandine E1 e I2, surfactante e una dieta ad hoc sono tutti in grado di migliorare alcuni parametri clinici, ma solo in parte la sopravvivenza.

La malattia polmonare acuta post-trasfusionale (TRALI) rappresenta oggi la causa più frequente di decesso e di morbidità grave associata alla trasfusione. Una completa ed esaustiva revisione è apparsa recentemente sul *British Journal of Haematology*.³ In questa sono riportati i criteri diagnostici codificati nel 2004 e si propone un modello che chiarisca le interazioni tra le cellule chiave della reazione patogena: i neutrofili e le cellule endoteliali. Senza neutrofili non vi sarebbe TRALI. Al priming dei neutrofili e/o delle cellule endoteliali da parte di fattori intrinseci di co-morbidità nel soggetto (mediatori rilasciati in corso di reazione infiammatoria, intervento chirurgico o infezione) fa seguito l'attivazione delle stesse cellule da parte di componenti presenti nella trasfusione, con innesco della reazione patogena a carico del polmone. Lo stesso lavoro tratta la prevenzione della TRALI e discute il ruolo delle emotrasfusioni provenienti da donatrici pluripare.

Due importanti studi presentano un aggiornamento su dati epidemiologici, fattori di rischio, quadro clinico, metodologia diagnostica e trattamento dell'aspergillosi polmonare.^{4,5} L'aspergillo è in causa in diverse patologie, la cui espressività clinica è condizionata dallo stato di immunocompetenza e dall'eventuale co-morbidità polmonare del soggetto. Così con il progredire dello stato di immunodepressione si va dall'aspergillosi cronica necrotizzante sino all'aspergillosi invasiva, che si osserva nei casi più severamente compromessi. Per il danno d'organo è importante identificare la presenza di eventuali cavità broncopolmonari legate a tubercolosi attiva o pregressa, bronchiectasie, sarcoidosi o BPCO. Anche fattori in grado di pregiudicare le difese locali, come il tabacco, sono importanti. Infine un ruolo non trascurabile ha il ricorso pregresso o concomitante ai glucocorticoidi, anche per via inalatoria. Nei soggetti con ipersensibilità all'*Aspergillus* compare l'aspergillosi broncopolmonare allergica, entità ancora poco riconosciuta. Oggi sono stati sviluppati nuovi agenti anti-fungini, come nuovi derivati degli azoli (voriconazolo) e le echinocandine, che possono modificare significativamente il decorso clinico.

Nella sarcoidosi, il ricorso all'approccio proteomico, basato sulle proprietà fisicochimiche del reagente di Kveim, impiegato un tempo per la diagnosi della malattia, ha permesso di identificare piccole proteine antigeniche, la cui successiva analisi spettrometrica ne ha consentito l'identificazione con la proteina catalasi-perossidasi del *Mycobacterium tuberculosis* (mKatG).⁶ Anticorpi diretti contro mKatG sono stati documentati, dallo stesso gruppo, nel 50% dei soggetti con malattia sarcoidea, confermandone così l'eziologia micobatterica. Questo dato, anche se riferito a parte, e non a tutta la popolazione affetta da sarcoidosi, pone ulteriori limiti al ricorso ai farmaci inibitori di TNF- α .⁷

Mycobacterium tuberculosis infetta un terzo della popolazione mondiale causando, ogni anno, 8,8 milioni di nuovi casi e circa 2 milioni di decessi; recentemente è stata identificata una nuova proteina, MDP1, iper-prodotta nella tubercolosi quiescente e persistente, che ha un ruolo chiave nella progressione di malattia e costituisce un promettente bersaglio per la formulazione di farmaci e vaccini diretti contro *M. tuberculosis*. Un ampio studio clinico sta attualmente valutando la sensibilità e la specificità di un test immunoenzimatico che rileva anticorpi anti-glicopeptolipide specifico. La British Thoracic Society ha recentemente rivisto le linee guida per il trattamento dell'infezione asintomatica (www.brit-thoracic.org.uk). Soggetti candidati alla chemioprolifassi sono gli adulti con recente positività del test cutaneo, giovani immigrati (16-34 anni) positivi alla Mantoux, non precedentemente vaccinati. La chemioprolifassi permette di uccidere i microrganismi infettanti e prevenire la progressione tardiva di malattia. Il trattamento si basa sull'assunzione di uno o due dei farmaci anti-tubercolari per periodi più brevi rispetto a quelli della malattia attiva; farmaci promettenti sono i nuovi derivati nitroimidazolici.

Nell'ambito delle malattie autoimmuni, nuovi dati sono stati forniti da Danieli MG e coll. per quanto riguarda la terapia della vasculite di Churg-Strauss.⁸ La sindrome di Churg-Strauss è una vasculite necrotizzante dei vasi di piccolo e medio calibro, con comparsa di interessamento sistemico, principalmente a carico del polmone, delle alte vie

respiratorie e del sistema nervoso periferico, associato a eosinofilia e positività della ricerca di anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA). Il trattamento di riferimento, basato sull'impiego di corticosteroidi ed immunosoppressori è efficace nel 90% dei casi, ma gli effetti avversi e la possibilità di forme particolarmente gravi spingono alla ricerca di schemi terapeutici meno tossici ma altrettanto efficaci. L'infusione di immunoglobuline endovena ad alte dosi (IVIg), costituisce un'alternativa al trattamento convenzionale, soprattutto nelle vasculiti associate ad ANCA. È stata valutata l'efficacia e la tollerabilità delle IVIg, associate allo steroide, in uno studio aperto in 22 soggetti affetti da sindrome di Churg-Strauss. Nei soggetti trattati con IVIg si è assistito ad una remissione completa, clinica e funzionale, in tutti i casi e ad una significativa riduzione dell'indice di severità globale della malattia (BVAS), senza comparsa di recidiva in un periodo medio di osservazione di 48 mesi. Le IVIg hanno permesso un recupero motorio completo, come dimostrato dalla valutazione del Rankin score modificato, il cui valore medio è ridotto in maniera statisticamente significativa rispetto ai controlli, e dallo studio EMG-ENG che ha documentato un graduale processo di reinnervazione. La terapia di associazione steroide-IVIg consente quindi di ottenere un soddisfacente controllo clinico-funzionale della malattia di Churg-Strauss e una riduzione delle recidive con una minore incidenza di effetti collaterali legati al minor consumo di steroide.

Riferimenti bibliografici

1. Endogenous pulmonary antibiotics
Gibbons MA, Bowdish DM, Davidson DJ, et al
Scott Med J 2006
2. Genetic susceptibility to pneumonia
Waterer GW, Wunderink RG
Clin Chest Med 2005; 26 (1): 29-35
3. The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI)
Bux J, Sachs UJH
Brit J Haem 2007; 136: 788-99
4. Pulmonary aspergillosis: a clinical update
Zmeili OS, Soubani AO
Q J M 2007; 100(6): 317-34
5. Bronchopulmonary aspergillosis infections in the non-immunocompromised patient
Camuset J, Lavolé A, Wisler M, et al
Rev Pneumol Clin 2007; 63(3): 155-66. (in francese)
6. Potential etiologic agents in sarcoidosis
Moller DR
Proc Am Thor Soc 2007; 4(5): 465-8
7. Sarcoidosis, role of TNF inhibitors and other biological agents, past, present and future concepts
Sweiss NJ, Curran J, Baughman RP
Clin Dermatol 2007; 24 (3): 341-6
8. Long-term effectiveness of intravenous immunoglobulin in Churg-Strauss syndrome
Danieli MG, Cappelli M, Malcangi G, et al
Ann Rheum Dis 2004; 63:1649-54

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Eosinophilic disorders, 13 April 2007
Dagmar Simon, Hans-Uwe Simon
June 2007 (Vol. 119, Issue 6, Pages 1291-1300)

*** Immunologic lung disease**
Paul A. Greenberger
Mini primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S393-S397)

17. Malattie endocrine immunologiche

La distruzione o la disregolazione tissutale immuno-mediata sono la causa di molteplici malattie endocrine, che includono il diabete di tipo I, la malattia di Graves, la tiroidite di Hashimoto e la malattia di Addison. Ciascuna di queste affezioni può riconoscere vari fattori causali a partire dalla suscettibilità genetica, dagli eventi ambientali scatenanti e dalla attivazione autoimmune, fino alle anomalie metaboliche associate alla malattia clinicamente evidente. Frequentemente la presenza di una suscettibilità genetica viene suggerita dalla coesistenza di una serie di disordini nello stesso individuo e nei suoi familiari. La porzione genomica maggiormente implicata nella suscettibilità genetica si trova nella regione HLA, ma in alcune patologie, alla base della suscettibilità alla malattia, vi sono mutazioni di geni che codificano per fattori di trascrizione (come le poliendocrinopatie X-linked, la immunodeficienza associata a diarrea, la sindrome poliendocrina autoimmune di tipo I). Con l'avanzare delle conoscenze immunologiche e patogenetiche, è oggi possibile prevedere il diabete di tipo I A, e sono disponibili eccellenti test di screening basati sul dosaggio di autoanticorpi. Queste conoscenze, combinate con studi su modelli animali, hanno aperto la strada a programmi per la prevenzione del diabete. Inoltre, reazioni immunologiche aberranti (ad esempio autoanticorpi anti-insulina post terapia insulinica, malattia di Graves dopo terapia con anticorpi monoclonali anti-cellule T nella sclerosi multipla) possono costituire complicanze di terapie standard e sperimentali. Si ritiene dunque che la conoscenza dell'immunogenetica e dell'immunopatogenesi delle malattie endocrine possa contribuire alla prevenzione della morbidità e della mortalità delle patologie associate.

Per un numero crescente di endocrinopatie si riconosce attualmente una patogenesi immuno-mediata. Le terapie immunologiche possono indurre patologie endocrine immuno-mediate, e le terapie standard per le malattie endocrine possono dar origine a complicanze, causate da risposte immunologiche dannose. La presenza di malattie autoimmuni costituisce un marcatore biologico di rischio per coesistenza di ulteriori malattie autoimmuni, sia nell'individuo affetto che nella sua famiglia. In questi casi la diagnosi precoce può evitare la morbidità e perfino la morte. Verranno riesaminati i disturbi endocrini immunologici, con particolare attenzione alle aree nelle quali una conoscenza dei fattori patogenetici immunologici o della immunoterapia può influire sulle cure cliniche standard e sperimentali.

Traduzione italiana del testo di:
Devasenan Devendra, e George S. Eisenbarth
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S624-36

Abbreviazioni utilizzate:

AAD:	Malattia di Addison autoimmune
ACTH:	Ormone adrenocorticotropo
ADA:	Associazione americana diabete/ american diabetes association
AIRE:	Regolatore autoimmune
APS-1:	Sindrome autoimmune poliendocrina di tipo I
BABY DIAB:	Studio sul diabete infantile/ Baby Diabetes study
BB:	Biobreeding
cAMP:	Adenosina monofosfato ciclica
CTLA:	Antigene associato ai linfociti T citotossici
DAISY:	Studio dell'autoimmunità nel diabete giovanile/ Diabetes Autoimmunity Study in the Young
GAD:	Decarbossilasi dell'acido glutammico
HT:	Tiroidite di Hashimoto
IA-2:	Antigene associato alle insule (ICA512)
IDDM:	Diabete mellito insulino-dipendente
IH:	Ipoparatiroidismo idiopatico
IL:	Interleuchina
MHC:	Complesso maggiore di istocompatibilità
MIC-A:	Molecola A correlata al MHC di classe I
NOD:	Diabetico non obeso
POEMS:	Polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, proteina monoclonale sierica, alterazioni cutanee
POF:	Insufficienza ovarica prematura
PTH:	Ormone paratiroideo
TG:	Tireoglobulina
TGA:	Transglutaminasi
TPO:	Perossidasi tiroidea
TSAb:	Anticorpo stimolante la tiroide
TSH:	Ormone tiro-stimolante
TSHR:	Recettore per l'ormone tiro-stimolante
VNTR:	Numero variabile di ripetizioni nucleotidiche in tandem (tandem nucleotide repeats)
XLAAD:	Sindrome da disregolazione allergica dell'autoimmunità legata al cromosoma X
XPID:	Poliendocrinopatia legata al cromosoma X, disfunzione immunitaria e diarrea

IL DIABETE MELLITO

Premessa

Come conseguenza dell'aumento delle conoscenze sulla patogenesi del diabete di tipo I, si susseguono periodici aggiornamenti dei criteri diagnostici. Una commissione di esperti dell'American Diabetes Association (ADA) ha pubblicato i nuovi criteri diagnostici, stabiliti in relazione alle cause di diabete.¹ I termini "insorgenza giovanile" e "diabete mellito insulino-dipendente" (IDDM) non

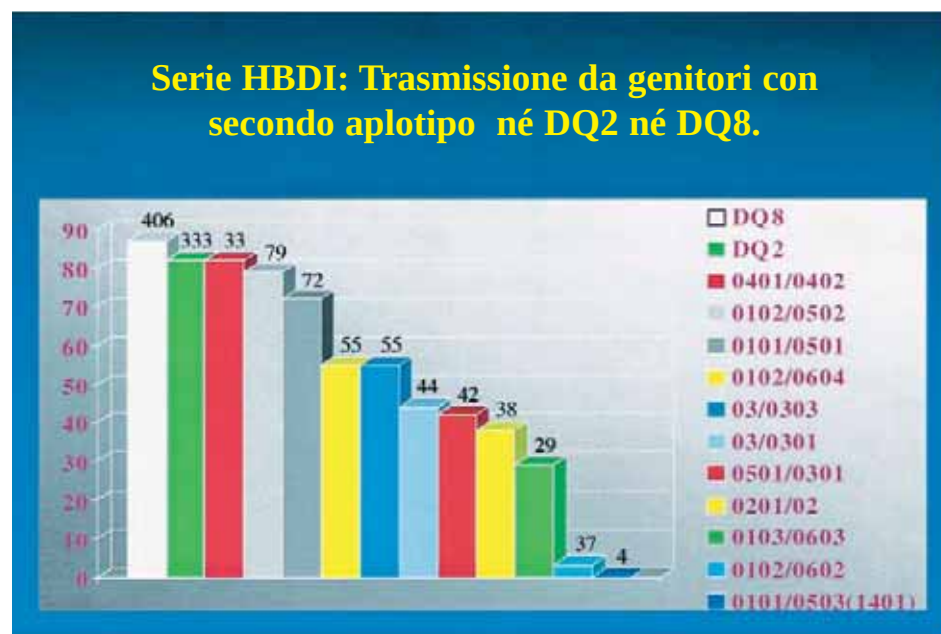


FIG 1. Serie HBDI (Interscambio Biologico Umano di Malattia): Trasmissione da parte di genitori con secondo aplotipo né DQ2 né DQ8.

vengono più utilizzati. La commissione dell'ADA ha raccomandato l'uso del termine "diabete di tipo I A" per il diabete immuno-mediato, generato dalla distruzione delle isole di cellule β del pancreas. Il diabete non immuno-mediato, con grave deficit di insulina, è chiamato diabete di tipo I B. Il diabete di tipo I A è una delle più comuni malattie croniche dell'infanzia, che negli Stati Uniti ha una incidenza di oltre 11.000 nuovi casi all'anno, e colpisce da 2 a 3 bambini su 1000, entro l'età di 20 anni. Più del 90% dei bambini bianchi con diabete soffre di questo tipo di patologia, mentre quasi il 50% dei bambini ispanici e neri con diabete non ha alcuna delle caratteristiche del diabete di tipo I A (non avendo, per esempio, anticorpi anti-insula o alleli HLA ad alto rischio). Altrettanti adulti sono affetti da diabete di tipo I A. La maggior parte degli adulti diabetici ha il diabete di tipo 2, la cui incidenza aumenta drammaticamente con l'età. Gli adulti affetti da diabete di tipo 2 (precedentemente chiamato diabete non insulino-dipendente) ma che presentano anticorpi anti-insule (approssimativamente dal 5% al 20%) hanno un accelerato deficit nella secrezione di insulina, motivo per cui la condizione è stata definita "diabete autoimmune latente dell'adulto". Al giorno d'oggi, l'insorgenza di un diabete di tipo I A costringe a vita ad una terapia estremamente tediosa e solo in parte efficace.

Suscettibilità genetica

La concordanza per il diabete tipo I A è approssimativamente del 50% per i gemelli monozigoti, e il rischio per un parente di primo grado è approssimativamente del 5%. I maggiori determinanti genetici del diabete sono all'interno del complesso maggiore di istocompatibilità (chiamato IDDM 1), nel quale polimorfismi di moltepli-

ci loci genici contribuiscono al rischio (Tabella I).² Più del 90% dei pazienti affetti da diabete di tipo I A presenta questi due aplotipi DR3,DQ2 (DQ2 = DQA1*0501, DQB1*0201) o DR4,DQ8 (DQ8=DQA1*0301, DQB1*0302), mentre una percentuale compresa approssimativamente tra il 40 e il 50% della popolazione bianca presenta uno o l'altro di questi aplotipi. Più drammaticamente, tra il 30 e il 50% dei pazienti con diabete di tipo I A è eterozigote per DR3,DQ2/DR4,DQ8 rispetto al 2,4% della popolazione generale. La presenza di eterozigosi DR3/DR4 è più alta nei bambini con diabete prima dei 5 anni di età (50%) e più bassa in adulti con diabete di tipo I A (<30%). Alleli specifici DR e DQ presenti in modo autosomico dominante possono proteggere dall'insorgenza di diabete di tipo I A. La più comune molecola protettiva, DQA1*0102, DQB1*0602, è presente in circa il 20% della popolazione di controllo rispetto a meno dell'1% dei bambini con diabete di tipo I A.³ Sebbene alcuni individui con allele DQB1*0602 possano avere un diabete di tipo I A positivo per autoanticorpi, la probabilità è abbastanza bassa e pertanto dovrebbero essere prese in considerazione forme rare di diabete in pazienti con questo allele. Gli alleli DQA1*0201 con DQB1*0303 (su un aplotipo DR7) come pure DRB1*1401, forniscono uguale protezione ma sono molto meno frequenti rispetto a DQA1*0102,DQB1*0602. Come mostrato in Fig. 1, l'analisi di trasmissione di aplotipi dai genitori ad un figlio diabetico mostra una ampia variabilità, da una alta suscettibilità con elevata trasmissione, alla trasmissione di alleli protettivi.

Il diabete di tipo I A è una malattia eterogenea e/o poligenica, per cui sono stati descritti multipli (approssimativamente 20) loci non HLA.⁴ È stato identificato con certezza solo un gene non HLA, IDDM2 sul cromosoma 11p5.5, che contribuisce approssimativamente al 10%

dell'aggregazione familiare del diabete tipo I A.⁵ Questo locus è una regione polimorfica, che mappa dopo un numero variabile di ripetizioni in tandem di nucleotidi (VNTR) 5' del gene dell'insulina.⁶ La forma lunga di VNTR (≥ 100 ripetizioni, classe III) è associata con la protezione dal diabete. La modesta influenza del locus del gene dell'insulina può essere correlata alla variazione dell'espressione dell'insulina all'interno del timo. Le VNTR protettive sono associate ad una maggiore espressione di RNA messaggero all'interno del timo.⁷ Un altro locus associato al diabete di tipo I A, in alcune popolazioni, è IDDM12, presente sul cromosoma 2q33 con polimorfismi dell'antigene 4 associato ai linfociti T citotossici (CTLA-4).⁸ Ad oggi non è noto quanti dei loci attualmente riportati rappresentino "falsi-positivi", a causa della difficoltà di definire il contributo dei geni in disordini complessi.

Malattie autoimmuni associate al diabete

Morbo celiaco. Approssimativamente un paziente su 10 (11,6%) con diabete di tipo I A esprime autoanticorpi IgA anti-transglutaminasi (TGA), e in più della metà di questi individui è stata identificata una malattia celiaca attraverso biopsia intestinale (ad es. m/z 21 di 30).^{9,10} La determinazione degli autoanticorpi anti-endomisio (mediante immunofluorescenza indiretta) è un'analisi meno sensibile di quella per identificare autoanticorpi anti-TGA. Un'alta prevalenza di autoanticorpi anti-TGA è presente anche nei parenti di primo grado di pazienti affetti da diabete tipo I A, non direttamente associati con l'espressione di autoanticorpi anti-insule.¹¹ Una biopsia positiva è associata ad alti livelli di autoanticorpi anti-TGA (ad esempio, un livello $>0,5$ con un indice di normalità al 99° percentile pari a circa 0,05). È consigliabile una biopsia per ottenere un campione di tessuto intestinale in un tempo ravvicinato rispetto alla determinazione di positività degli anticorpi, poiché il loro livello può fluttuare notevolmente, data la breve emivita delle IgA. L'aplotipo DR3,DQ2 è un forte fattore di rischio per la malattia celiaca, circa il 20% dei pazienti con malattia di tipo I con DR3,DQ2, e 1/3 dei pazienti omozigoti DR3,DQ2 con diabete di tipo I A, esprimono autoanticorpi anti-TGA⁹ (Fig. 2). La grande maggioranza dei pazienti in cui viene diagnosticato il morbo celiaco attraverso biopsia dopo lo *screening* per gli autoanticorpi anti-TGA (o anti-endomisio), ha un morbo celiaco "asintomatico", nonostante la presenza alla biopsia di marcato infiltrato linfocitario e di appiattimento dei villi. Il trattamento di questi pazienti "asintomatici" varia in base al giudizio medico, dato che i trials clinici di eliminazione del glutine non hanno dimostrato un effetto preventivo, ad esempio, sulla neoplasie del tratto gastrointestinale, come invece è stato dimostrato nella malattia sintomatica. Al Centro Barbara-Devis per Bambini Diabetici, gli autoanticorpi anti-TGA vengono determinati di routine ogni anno; la biopsia è raccomandata nei pazienti affetti da diabete tipo I con elevati titoli di autoanticorpi, e una dieta senza glutine viene prescritta a coloro che presentano biopsia positiva. Questa raccomandazione è basata sulla conoscenza dei rischi associati a malattia celiaca

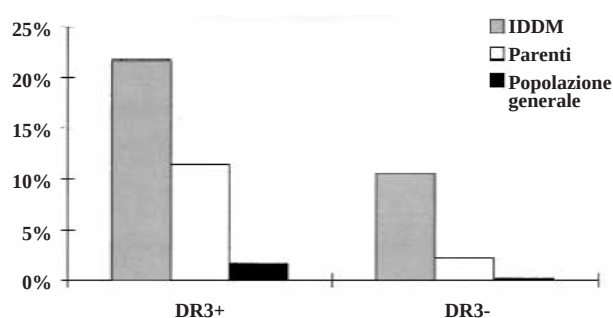


FIG 2. Prevalenza di autoanticorpi anti-transglutaminasi, in base all'HLA-DR, in pazienti con diabete mellito di tipo 1, parenti di pazienti con diabete mellito, e popolazione generale. (Diapositive didattiche, Diabete di tipo 1: immunologia cellulare, molecolare e clinica. Eisenbarth GS, editore. www.barbaradaviscenter.org).

sintomatica (per esempio osteoporosi, anemia, patologia gastrointestinale maligna) e sul fatto che la patologia intestinale è reversibile grazie alla eliminazione di alimenti contenenti glutine.

Morbo di Addison. Il Morbo di Addison si riscontra approssimativamente in un individuo su 10.000 negli Stati Uniti. Circa un paziente su 50 affetto da diabete di tipo I ha autoanticorpi anti-21-idrossilasi, e approssimativamente 1/4 di questi individui presenta una patologia che evolve verso una malattia di Addison clinicamente evidente. Nonostante la disponibilità di una terapia steroidea sostitutiva, è comune per i pazienti con malattia di Addison, avere un iposurrenalismo per anni o persino morire per una crisi iposurrenalica prima della diagnosi¹², e pertanto si consiglia di ricercare routinariamente la possibile presenza di autoanticorpi anti-21-idrossilasi in pazienti affetti da diabete di tipo I A. In caso di riscontro di autoanticorpi anti-21-idrossilasi, viene eseguita annualmente la valutazione di ACTH, e cortisolo ematici (anche attraverso test all'ACTH, utilizzato per valutare la riserva funzionale corticosurrenalica), allo scopo di evidenziare precocemente una eventuale insufficienza surrenalica.

Malattia Tiroidea. Il Belgian Diabetes Registry ha riscontrato una prevalenza del 22% di anticorpi antitireoperossidasi in pazienti affetti da diabete di tipo I.¹³ Può essere frequente il riscontro di autoanticorpi antitiroide, che possono essere presenti per anni senza essere associati a malattia tiroidea evidente. Per questo motivo viene raccomandata la determinazione annuale dei livelli plasmatici di ormone ipofisario stimolante la tiroide (TSH), come screening utile in termini di costo-beneficio per i pazienti affetti da diabete tipo I A.¹⁴ In alternativa, alcuni endocrinologi valutano gli anticorpi antitiroide e misurano poi i livelli plasmatici di TSH solo in quei pazienti con autoanticorpi positivi.

Anemia Perniciosa. Il Belgian Diabetes Registry ha rilevato una prevalenza del 18% di autoanticorpi anti-cellule parietali in pazienti affetti da diabete di tipo I. La ridotta secrezione acida gastrica può verificarsi nel diabete di tipo I come risultato di atrofia gastrica autoimmune o anemia perniciosa.

TABELLA I. Loci di suscettibilità per il diabete di tipo 1

HLA-DR	DQA1	DQB1	DRB1	Suscettibilità
DR2	0102	0602	1501	Protettivo
DR2	0102	0502	1601	Predisponente
DR2	0103	0601	1502	Neutrale
DR3	0501	0201	0301	Predisponente
DR4	0301	0302	0401	Predisponente
DR4	0301	0302	0401	Predisponente
DR4	0301	0302	0402	Predisponente
DR4	0301	0302	0403	Neutrale
DR4	0301	0302	0404	Neutrale
DR4	0301	0302	0405	Neutrale
DR4	0301	0301	0401	Neutrale
DR4	0301	0301	0403	Neutrale
DR7	0201	0303	0701	Positivo
DR6	0101	0503	1401	Protettivo

Riportato da: Pugliese A, Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus of man: Genetic susceptibility and resistance.

In: Eisenbarth GS, editor. Type 1 diabetes: Cellular, molecular and Clinical immunology. www.barbaradaviscenter.org. 2002.

Vitiligine. È stata documentata una associazione tra vitiligine e diabete di tipo I, benché la vitiligine sia associata ad una larga serie di malattie autoimmuni.¹⁵

Allergia Insulinica e Resistenza Insulinica. Essenzialmente, ogni paziente trattato con insulina sottocutanea (inclusa l'insulina umana) produce autoanticorpi anti-insulina, anche se solo un sottogruppo di questi sviluppa una vera e propria reazione allergica all'insulina. Livelli estremamente alti di questi autoanticorpi (>0,2 micromolare o 30.000 microunità/ml della massima capacità legante dell'insulina [l'insulina circolante è approssimativamente da 5 a 500 microunità/ml]) sono associati ad una resistenza insulinica che richiede terapia con >200 unità di insulina/die. Con l'insulina umana e gli analoghi sintetici attualmente disponibili, le reazioni di ipersensibilità non sono comuni. In un paziente con ipersensibilità insulinica, spesso il problema si supera cambiando la preparazione da somministrare (per esempio, insulina umana modificata geneticamente), somministrando insulina complessata con zinco al posto della proteina neutra di Hagedon e attuando una desensibilizzazione. Può essere anche utile somministrare, insieme all'iniezione di insulina, piccole quantità di desametasone (per reazioni localizzate) oppure farmaci antistaminici.

Fattori Ambientali

Nonostante decenni di ricerche volte a caratterizzare fattori ambientali in grado di generare il diabete tipo I, solo la rosolia congenita è stata associata in maniera decisiva con la malattia. I pazienti con rosolia congenita sono a rischio di una serie di malattie autoimmuni e, in particolare, tiroiditi e diabete tipo I. Il Diabetes Autoimmunity Study of the Young (DAISY), seguendo i neonati dalla nascita, non ha dimostrato che l'assunzione di latte bovino, le infezioni enterovirali o le vaccinazioni possano contribuire al rischio di diabete, anche se esistono evidenze conflittuali riguardo ai primi due fattori ambienta-

li.¹⁶ In particolare, studi eseguiti in Finlandia hanno dimostrato per latte di mucca, enterovirus e consumo di vitamina D un ruolo possibile quale fattori di rischio per la malattia.¹⁷⁻¹⁹ Sono stati segnalati vari casi di individui con autoanticorpi anti-insulina e quindi diabete tipo I (come pure altre malattie endocrine autoimmuni) dopo trattamento con interferone- α .²⁰ In modelli animali, farmaci come il poly-IC che inducono interferone- α , possono generare patologia infiammatoria delle insule e diabete, rafforzando l'associazione tra induzione del diabete e interferone- α .²¹

Patogenesi

Autoimmunità umorale. La presenza di autoanticorpi anti-insulina, anti-GAD e anti-IA-2 facilitano la diagnosi e la previsione di diabete di tipo I A, tanto che essi sono marcatori utilizzati per selezionare pazienti da includere in trials operativi. Con l'uso di dosaggi radioimmunometrici per questi tre autoanticorpi, uno o più vengono rilevati in oltre il 90% dei pre-diabetici o dei pazienti con inizio recente di diabete di tipo I A, ciò accade quando il test è calibrato per definire positivi i valori $\geq 99^{\circ}$ percentile dei controlli normali. I test di rilevamento di autoanticorpi contro antigeni definiti sono facilmente standardizzabili, mentre la determinazione di ICA citoplasmatico (immunofluorescenza indiretta su sezioni di pancreas) si è dimostrata difficile da standardizzare ed è spesso riservata alla ricerca. In circa il 30% dei giovani pazienti con diabete tipo II è dimostrabile un processo autoimmune mediante l'espressione di autoanticorpi anti-insulina, e questi pazienti di solito entro tre anni progrediscono a tal punto da richiedere la somministrazione di insulina.

Cellule T e Markers Infiammatori. Dettagliati studi sul ruolo dell'autoimmunità nel diabete si basano in primo luogo sulla disponibilità di modelli animali, come il topo Bio Breeding (BB) e il topo diabetico non-obeso (NOD). Vi sono numerose evidenze dirette a dimostrare che le cellule T mediano la distruzione delle cellule β in questi modelli animali. Le prime evidenze che linfociti e cellule T fossero coinvolte nella distruzione delle cellule β umane sono state fornite dallo studio di pancreas di soggetti con recente diagnosi di diabete, che presentavano flogosi insulare²² e in particolare un'invasione delle insule da parte di cellule T CD8+. Sutherland et al. osservarono che nell'arco di mesi dal trapianto di una porzione di pancreas da un gemello monozygote non diabetico al gemello diabetico, nel pancreas inizialmente normale si sviluppava l'insulite e si manifestava il diabete. L'infiltrato di cellule mononucleari nelle insule pancreatiche (insulite) e la riduzione delle cellule β produttrici di insulina sono le caratteristiche patologiche fondamentali che si osservano nel pancreas di un paziente affetto da diabete tipo I in corso di autopsia. La recente dimostrazione dello sviluppo di diabete tipo I in un paziente con agammaglobulinemia legata al cromosoma X, suggerisce che la formazione di autoanticorpi non rappresenti un passaggio indispensabile sia per l'inizio che per la progressione del diabete di tipo I.²³ Un progetto stimolante è rappresentato dall'isolamento di cloni di cellule T insu-

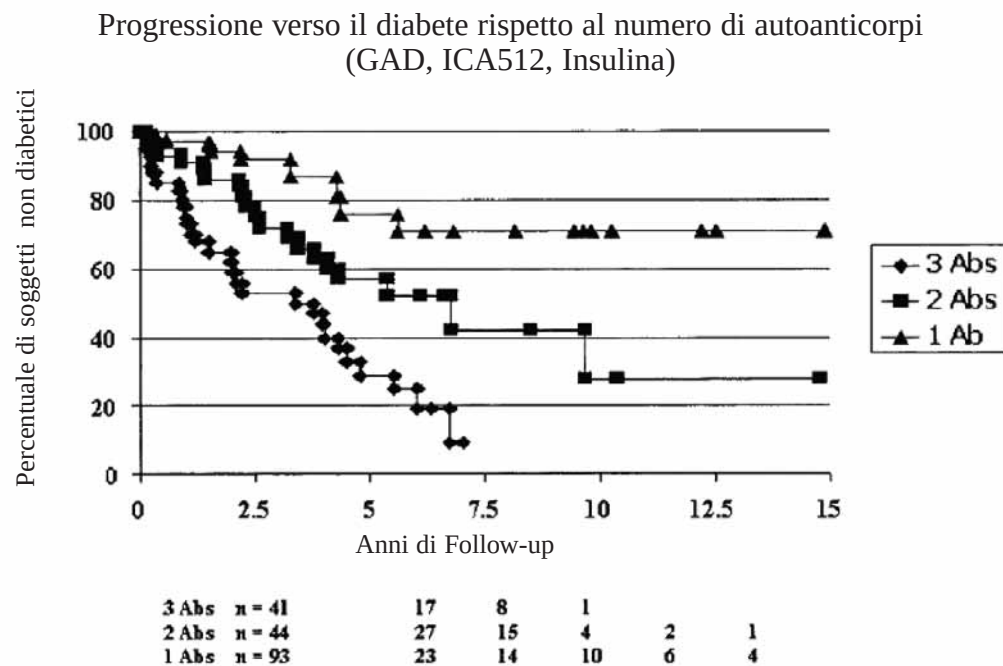


FIG 3. Progressione verso il diabete rispetto al numero di autoanticorpi (GAD, ICA512 [IA-2], Insulina). Copyright ©1996, American Diabetes Association. Da Diabetes, Vol 45. 1996. p. 926-33. Riprodotto con il permesso dell'American Diabetes Association.

TABELLA II. Esempi di interventi sperimentali sul sistema immunitario, mirati alla prevenzione di diabete di tipo 1 in modelli animali

Strategia	Specificità	Animale	Conclusione
Immunosoppressione	Nessuna	NOD e BB	La soppressione non specifica dell'immunità cellulo-mediata previene il diabete di tipo 1, ma una immunosoppressione a lungo termine non è accettabile
Anti-CD4	Cellule T CD4 ⁺	NOD	Gli anticorpi monoclonali anti-CD4 prevengono il diabete
Anti-CD3	Cellule T CD3 ⁺	NOD	Gli anticorpi monoclonali anti-CD3 reversiono il diabete alla fase iniziale, con lunga durata di effetto
Trapianto	Nessuna	NOD e BB	Effetto protettivo del trapianto di midollo, di cellule dendritiche, di fegato fetale e di timo
Stimolazione immunitaria	Nessuna	NOD	Effetto protettivo dell'attivazione immunitaria da parte di agenti come il BCG
Vaccinazione immunologica	Insulina/GAD/HSP60	NOD	Meccanismi multipli, potenziale attivazione delle cellule T regolatorie
Tolleranza orale	Insulina	NOD	La deviazione immune ritarda il diabete
Dieta con proteine idrolizzate	Non nota	NOD	Rimozione di radicali, effetto protettivo nutrizionale specifico (ad es. carenza di peptidi)
Galattosilceramide	Cellule NK	NOD	Attivazione delle cellule ristrette per CD1
Citochine	IL-10, TNF, IL-4	NOD	Effetto complesso, spesso dipendente dal tempo di Rx
Terapia genica (ad es gene dell'insulina, dell'IL-10)	Antigeni/citochine	NOD	Bersagli potenziali multipli

NOD, topo diabetico non obeso; BB, topo bio-Breeding; NK, natural killer; IL, interleuchina; TNF, Tumor Necrosis Factor. Riportato in Chase HP, Hayward AR, Eisenbarth GS. Clinical trials for the prevention of type 1 diabetes. In: Eisenbarth GS, editore. Type 1 diabetes: Cellular, molecular and clinical immunology. www.barbaradaviscenter.org. 2002

le-specifiche dal sangue periferico dell'uomo. I ricercatori impegnati in questo progetto hanno valutato la reattività delle cellule T a prodotti delle cellule β , attraverso analisi di proliferazione, anche se gruppi di lavoro internazionali ipotizzano che la maggior parte di queste analisi non possano essere in grado di differenziare pazienti affetti da diabete rispetto ai controlli. In modelli animali, multipli cloni di cellule T anti-insulina, sia CD4⁺ che CD8⁺, sono in grado di trasferire il diabete a riceventi affetti da immunodeficienza.

za. Questi cloni di cellule T reagiscono con molteplici antigeni differenti, inclusi insulina e GAD. Quando il peptide insulinico B:9-23 viene somministrato a topi Balb/C normali, può indurre sia la formazione di autoanticorpi anti-insulina che insulite²¹ e diabete nei ceppi suscettibili. Lo studio delle isole di Langerhans durante l'insulite suggerisce che l'apoptosi Fas-mediata possa costituire un meccanismo di distruzione delle cellule β . L'interazione tra Fas su tali cellule e Fas-ligando sulle cellule infiltranti, potrebbe scatenare.

TABELLA III. Associazioni immunogenetiche della tiroidite autoimmune

Razza	Genotipo
Britannici (bianchi)	DQB1*0201, DRB1*0201
Nord Americani (bianchi)	DR5
Tedeschi	DR3, DQB1*0201, DQB1*0301
Giapponesi	A2, DRB4*0101
Turchi	DQA1*0301

re meccanismi cellulari apoptotici in grado di indurre selettivamente morte delle cellule β delle insule infiammate.²⁴ È probabile che anche le citochine giochino un ruolo importante nella distruzione delle cellule β .²⁵

Diagnosi e Fattori Predittivi

Vi sono alcune situazioni in cui la determinazione degli autoanticorpi può essere clinicamente rilevante, incluso quando la diagnosi di diabete tipo I A è poco chiara (ad es. bambini con iperglicemia transitoria, bambini neri o americani ispanici con diabete e adulti bianchi che sembrano essere diabetici tipo II). Molti bambini con iperglicemia transitoria possono rimanere normali, ma una certa percentuale svilupperà il diabete tipo I A. Se sono presenti autoanticorpi anti-GAD, anti-insulina, o anti-IA-2 (ICA512) in un bambino con sospetta iperglicemia transitoria, questo bambino avrà enorme probabilità di progredire verso un diabete di tipo I A e in questi casi è quindi raccomandato un intenso *follow-up* metabolico.²⁶ Indipendentemente dalla presenza di autoanticorpi anti-insule, il monitoraggio routinario della glicemia è importante per prevenire un grave scompenso metabolico che può verificarsi in molte forme di diabete.

È ora possibile prevedere lo sviluppo del diabete tipo I A con ragionevole precisione e, in diversi paesi, sono stati istituiti programmi di screening generale. In particolare sono stati studiati in dettaglio i parenti di bambini affetti che, a loro volta, progredivano verso il diabete. L'espressione di due o più autoanticorpi (tra autoanticorpi anti-GAD65, anti-IA-2 o anti-insulina) ha un valore predittivo positivo per il diabete tipo I, essendo presente in oltre il 90% dei parenti di pazienti con diabete tipo I (Fig. 3). La presenza di un singolo autoanticorpo riduce il rischio approssimativamente al 20%. Sembra che la presenza di più autoanticorpi anti-insula rappresenti un indice predittivo nella popolazione generale, come lo è nei parenti di pazienti. Lo studio DAISY (Denver, Colorado), indica che gli autoanticorpi anti-insule spesso compaiono in bambini con il più alto rischio (eterozigoti DR3/4), approssimativamente intorno ai 9 mesi dalla nascita, e gli autoanticorpi anti-insulina (ugualmente ai risultati dello studio Baby Diabetes [BABY DIAB] condotto in Germania) frequentemente sono i primi autoanticorpi a svilupparsi. Una significativa percentuale degli individui nei quali è stata rilevata la presenza di autoanticorpi anti-insula risulterà positivo per diabete al suo primo test da carico con glucosio orale. Il tempo di progressione verso il diabete correla con la perdita della prima fase di secrezione insulinica dopo somministrazione di glucosio per via endovenosa.²⁷

Trattamento

L'insulina rappresenta ancora la terapia essenziale per il diabete tipo I. Diversi analoghi dell'insulina umana, recentemente introdotti sul mercato, diminuiscono la variabilità di assorbimento dell'insulina stessa (ad esempio azione rapida o azione prolungata) e hanno migliorato le strategie terapeutiche.²⁸ Progressi nel monitoraggio prolungato della glicemia (da 12 a 72 ore) sono stati ottenuti mediante sensori sottocutanei per il glucosio e strumenti che impiegano il principio della ionoforesi.^{29,30} Nonostante questi progressi, una volta che la maggior parte delle cellule β è stata distrutta, la gestione del diabete risulta difficile e sono possibili molte complicanze acute e croniche.

In modelli animali, vaccini non tradizionali (per esempio peptidi di insulina o GAD) che modificano la risposta immune potenzialmente autoreattiva e distruttiva, possono prevenire o ritardare l'insorgenza clinica del diabete (Tabella II). In topi NOD, iniezioni di insulina possono prevenire il diabete, mentre recentemente il Diabetes Prevention Trial ha riscontrato che una terapia insulinica parenterale a basso dosaggio non era in grado di ritardare l'insorgenza del diabete. La Ciclosporina, quando somministrata nelle fasi iniziali del diabete, è in grado di mantenere la secrezione di Peptide-C (una misura dell'attività funzionale delle cellule β rimanenti nelle insule) migliorando il controllo metabolico.³¹⁻³⁴ Se somministrata dopo l'inizio del diabete, la ciclosporina non impedisce il deterioramento del metabolismo glicidico. A causa del modesto indice terapeutico la ciclosporina non viene utilizzata per prevenire la distruzione delle cellule β a livello delle insule. Vi sono *trials*, sia in corso che in programma, che utilizzano altri farmaci immunomodulatori ed immunosoppressori. Il trapianto di pancreas e, il più recente, trapianto di insule sono rilevanti solo per gruppi di pazienti selezionati, affetti da diabete tipo I, che presentano complicazioni gravi come l'ipoglicemia intrattabile e ricorrente. Entrambe queste strategie terapeutiche possono indurre una scomparsa immediata dalla condizione iperglicemica e prevenire le ipoglicemie, che costituiscono una minaccia per la vita. Non sono ancora disponibili sufficienti dati sul *follow-up* a lungo termine per quanto concerne il trapianto di insule, ma recenti risultati, pubblicati nell'ambito del protocollo Edmonton, indicano che in associazione ad immunosoppressione, può essere ottenuta una significativa funzione insulinare per un anno in oltre l'85% dei pazienti.³⁵ Poiché sia il trapianto di pancreas che di insule richiedono immunosoppressione, possono accedere a queste tecniche solo pazienti già in terapia immunosoppressiva (per esempio trapiantati renali) o a pazienti in pericolo di vita per instabilità metabolica.

LA SINDROME INSULINICA AUTOIMMUNE

La Sindrome Insulinica Autoimmune è causata da autoanticorpi che reagiscono contro l'insulina e può essere classificata a seconda che gli anticorpi siano monoclonali o policlonali. I pazienti di solito presentano ipoglicie-

mia ricorrente. Una risposta monoclonale è associata a tumori dei linfociti B. La risposta policlonale è invece strettamente associata al fenotipo DRB1*0406 e solitamente fa seguito a terapie con farmaci contenenti sulfidriolo come il metimizolo (utilizzato per il trattamento del morbo di Graves).³⁶

LA PATOLOGIA TIROIDEA AUTOIMMUNE

Morbo di Graves

Premessa. Robert Graves nel 1835 per primo scoprì l'associazione tra gozzo, palpitazioni ed esoftalmo. Il morbo di Graves-Basedow è definito come una forma di ipertiroidismo associato ad un gozzo iperplastico diffuso, dovuta alla stimolazione del recettore del TSH (TSHR) da parte di autoanticorpi anti-TSHR, conosciuti come anticorpi tiroide-stimolanti (TSAb). Questi anticorpi legano ed attivano il recettore del TSH a livello delle cellule follicolari della tiroide. Il morbo di Graves si può presentare sia come patologia isolata che come patologia associata ad una tiroidite (vedi oltre). Può manifestarsi anche con un interessamento oculare (oftalmopatia di Graves o basedowiana) o cutaneo (dermatopatia localizzata o mixedema), ma le cause di queste componenti della malattia non sono state del tutto chiarite.

Patogenesi e Genetica. Il morbo di Graves-Basedow, come la tiroidite, sembra insorgere in individui geneticamente suscettibili e sia una prevalenza nel sesso femminile. Il tasso di concordanza per il morbo di Graves è approssimativamente del 20% tra gemelli monozygoti ed è molto più basso tra gemelli dizigoti. Nei bianchi, i loci HLA-DR3 e HLA-DQA1*0501 sono associati alla patologia, mentre l'HLA-DRB1*0701 è protettivo.^{37,38} Il morbo di Graves è anche associato a polimorfismi del gene CTLA-4 in diversi gruppi razziali. L'analisi di linkage di geni candidati ha identificato loci sui cromosomi 14q31, 20q11.2 e Xq21 che sono associati con la suscettibilità alla malattia.³⁹⁻⁴¹

I pazienti col morbo di Graves hanno una infiltrazione linfocitaria diffusa della ghiandola tiroidea e una sensibilizzazione ad un certo numero di antigeni tiroidei, in particolare alla perossidasi tiroidea, al recettore per il TSH (TSHR), alla tireoglobulina e al co-trasportatore sodio-iodio nel tessuto tiroideo.⁴² Gli autoanticorpi coinvolti includono i TSAbs, gli anticorpi inibitori della tiroide e gli anticorpi bloccanti la stimolazione della tiroide. L'ipertiroidismo clinico si sviluppa se i TSAbs predominano in circolo. È interessante notare che nell'ultima decade sono emersi altri fenomeni immunologici, responsabili di fluttuazione della sintomatologia clinica tra ipotiroidismo e ipertiroidismo (funzione tiroidea yoyo), che sottolineano l'importanza di testare la funzione tiroidea periodicamente in pazienti ipotiroidi in terapia sostitutiva.⁴³ I TSAbs vengono dosati valutando la capacità delle immunoglobuline del siero di stimolare la produzione di cAMP, in colture di cellule tiroidee umane. Gli anticorpi inibitori (bloccanti) vengono misurati valutando il grado di inibizione, da parte delle immunoglobuline sieriche, della stimolazione della produzione di cAMP

in cellule tiroidee umane in coltura da parte del TSH. La determinazione dei TSAbs viene utilizzata anche per predire la tirotossicosi neonatale.

Altri disordini endocrini hanno una simile etiopatogenesi autoanticorpo-mediata. Flier et al.⁴⁴ hanno descritto un gruppo di autoanticorpi in grado di bloccare l'azione dell'insulina, legandone il recettore e causando così insulino-resistenza. Questa situazione è simile a quella dell'ipotiroidismo, in cui autoanticorpi inibitori del TSH possono generare una resistenza all'azione del TSH e dunque un incremento dei suoi livelli plasmatici. Sono stati descritti anche anticorpi anti-recettore insulinico che stimolano, più che bloccano, il recettore dell'insulina.⁴⁴ Non è noto come autoanticorpi, di uno stesso paziente, possano avere una duplice funzione. Solo frammenti Fab anticorpali legati tra loro sono in grado di stimolare il recettore insulinico, mentre frammenti Fab monomerici ne inducono il blocco.⁴⁴

La produzione di TSAbs avviene ad opera di linfociti T che riconoscono epitopi multipli del TSHR.⁴⁵ Sebbene i TSAbs causino l'ipertiroidismo di Graves, la concentrazione di questi autoanticorpi nel siero può essere bassa o persino indeterminabile in un piccolo numero di pazienti affetti. Questo può esser dovuto a un metodo analitico scarsamente sensibile, a erronea diagnosi o a produzione intra-tiroidea di anticorpi.⁴² Alcuni farmaci possono precipitare l'ipertiroidismo. Ad esempio esso si sviluppa in un terzo dei pazienti affetti da sclerosi multipla trattati con Campath 1-H⁴⁶ (anticorpo monoclonale anti-CD52). L'associazione tra ipertiroidismo e oftalmopatia di Graves suggerisce che entrambi possano originare da una risposta autoimmune ad uno o più antigeni, localizzati rispettivamente nella tiroide e nell'occhio. Il TSHR può essere espresso da una sottopopolazione preadipocitica di fibroblasti orbitali,⁴⁷ e in un modello animale di oftalmopatia è stata dimostrata la produzione di IL-4 e IL-10 in risposta a cellule T⁴⁸. È possibile che una forma di TSHR o una proteina simile sia espressa nell'orbita e possa servire come target di cross-reazione per TSAbs.⁴⁸ Il fumo rappresenta un forte fattore di rischio per lo sviluppo di oftalmopatia di Graves.⁴⁹ Approssimativamente l'1% dei pazienti con morbo di Graves svilupperà anche una miastenia grave, dimostrando che può coesistere in questi pazienti una autoimmunità verso molteplici organi.⁴⁹

Diagnosi e Prognosi. Più del 50% dei pazienti con ipertiroidismo da morbo di Graves, presenta una recidiva dopo un trattamento di 12 mesi con farmaci antitiroidei, percentuale che varia in base al quotidiano introito di iodio. La valutazione quantitativa di auto-anticorpi anti TSHR, attraverso un dosaggio radiorecettoriale competitivo o un'analisi biologica delle cellule tiroidee, può rappresentare un utile fattore predittivo di recidiva o remissione.⁵⁰

La validità della misurazione dell'attività biologica degli autoanticorpi anti TSHR della madre, per predire il morbo di Graves neonatale, è stata ben documentata. Un alto titolo nel terzo trimestre di gravidanza rappresenta un buon indicatore predittivo di ipertiroidismo neonatale, o, in caso di autoanticorpi bloccanti, di ipotiroidismo.⁵¹ La gravidanza è un periodo durante il quale il livello degli

autoanticorpi anti-tiroidei generalmente diminuisce a causa della secrezione di fattori trofoblastici ad azione immunosoppressiva, mentre è comune il riscontro di una autoimmunità tiroidea post-partum.

La diagnosi di ipertiroidismo da morbo di Graves si basa generalmente sulle manifestazioni cliniche e biochimiche di ipertiroidismo. Con le odierne analisi ultrasensibili per TSH, possono essere diagnosticate sia l'iperfunzione (basso TSH) che l'ipofunzione (alto TSH) della tiroide. Poiché un alto livello sierico di tiroxina può esser dovuto ad un morbo di Graves o ad una distruzione ghiandolare in corso di tiroidite, la presenza di TSAb può aiutare nella diagnosi, così come la valutazione della captazione del radioiodio (testabile solo in pazienti non in gravidanza e non in corso di allattamento). Il dosaggio della tiroxina libera può essere di aiuto nella diagnosi, in condizioni nelle quali esiste un incremento delle molecole che legano gli ormoni tiroidei (per esempio in caso di terapia con estrogeni).

Terapia. Attualmente il trattamento dell'ipertiroidismo di Graves si basa sull'uso di farmaci anti-tiroide, iodio radioattivo ed exeresi chirurgica. I farmaci anti-tiroidei sono efficaci, ma spesso si verifica una recidiva alla sospensione della terapia. Esistono differenti regimi di trattamento: i più importanti metodi consistono in un regime di blocco e di sostituzione ed in un regime riduttivo: tra loro non esistono grandi differenze sul piano dell'esito clinico.⁵² Negli Stati Uniti la terapia di elezione per gli adulti consiste nella somministrazione di iodio radioattivo. L'ablazione della tiroide è efficace ma esita poi in un ipotiroidismo iatrogeno. Il trattamento dell'oftalmopatia di Graves rimane insoddisfacente. L'uso di corticosteroidi fornisce alcuni benefici, mentre meno efficaci sembrano altri agenti immunosoppressivi.

Tiroidite

Premessa. La tiroidite è uno delle più comuni malattie autoimmuni del sistema endocrino. La tiroidite cronica autoimmune progressiva, conosciuta come tiroidite di Hashimoto (HT), colpisce in modo preponderante donne di mezza età. Questa forma di tiroidite dovrebbe essere differenziata dalle sindromi tiroiditiche transitorie associate al post-partum, dalla tiroidite di de Quervain, o da altre tiroiditi rare. La presenza di elevati livelli di anticorpi anti-tiroide e la sintomatologia clinica (per esempio la tiroidite piogenica caratterizzata da dolore tiroideo e febbre) sono generalmente sufficienti per la diagnosi anche se, per ottenere la certezza diagnostica, dovrebbe essere effettuata la biopsia. Questi disordini esitano in genere in un ipotiroidismo transitorio senza poi condurre ad una disfunzione tiroidea cronica.⁵³ L'HT è caratterizzata invece da un denso accumulo intratiroideo di linfociti, plasmacellule ed occasionalmente di cellule giganti multinucleate. Le cellule epiteliali sono ingrandite, con un caratteristico citoplasma eosinofilo, a causa dell'aumentato numero di mitocondri (cellule di Hurthle).

Patogenesi. La tiroidite sembra verificarsi in popolazioni geneticamente suscettibili, ma l'assenza di consistenza delle associazioni con un alotipo HLA è anomala (Tabella III), rispetto, ad esempio, all'associazione

dell'HLA col diabete di tipo I A che è consistente per gli aplotipi HLA, DR e DQ in differenti popolazioni.⁵⁴ È stato postulato che numerosi virus stimolino l'autoimmunità nella tiroide, come ad esempio il virus umano linfotropico per le cellule T di tipo1.⁵⁵

Le cellule T giocano un ruolo critico nello sviluppo dell'HT, interagendo con le cellule follicolari della tiroide e con la matrice extracellulare. Le cellule T possono distruggere il tessuto tiroideo mediante citotossicità diretta o, indirettamente, attraverso la secrezione di citochine. Cloni di cellule T, capaci di uccidere le cellule follicolari della tiroide in modo ristretto per l'HLA di I classe, sono stati isolati da diversi pazienti con HT. Durante la tiroidite, vengono prodotte citochine, incluse IL-1 β , IL-6, IL-2, IL-8 e IL-10.⁵¹ Possono inoltre giocare un ruolo chiave molecole di adesione, come la molecola di adesione intercellulare di tipo 1, hermes-1, la molecola di tipo 3 associata alla funzione dei linfociti e la molecola di adesione delle cellule neuronali.

La maggior parte dei pazienti con ipotiroidismo autoimmune causato da HT hanno anticorpi sierici rivolti verso la tireoglobulina (TG) e la perossidasi tiroidea (TPO) e occasionalmente verso il TSHR (Tabella IV). Sebbene anticorpi anti-TG siano riscontrabili principalmente in pazienti con malattia tiroidea autoimmune, essi sono stati anche ritrovati in individui normali o in seguito ad infezioni virali. Sembra che la sola positività per gli anticorpi anti-tireoglobulina non sia sufficiente per causare disfunzione tiroidea, ma non può essere escluso un ruolo di questi anticorpi nel mantenimento della malattia. La perossidasi tiroidea è un autoantigene maggiore, e gli anticorpi anti-TPO sono strettamente associati con l'attività di malattia. Non è chiaro se la risposta immune a questi antigeni dia inizio alla tiroidite o se tali autoanticorpi siano secondari alla distruzione della tiroide. Un autoantigene recentemente identificato è il co-trasportatore sodio/iodio, la proteina, tiroide-specifica, responsabile della captazione dello Iodio.⁵⁶

Diagnosi e Terapia. La diagnosi e il trattamento della tiroidite cronica sono cambiati molto poco nell'ultimo decennio. L'aggiunta di triiodotironina alla terapia sostitutiva con tiroxina è stata recentemente suggerita al fine di migliorare i sintomi neurocomportamentali dell'ipotiroidismo. Un citoaspirato tiroideo (FNAC) può essere utilizzato per escludere un tumore tiroideo, in particolare in pazienti con sospetto gozzo. I pazienti ipotiroidici che assumono terapia sostitutiva con tiroxina e che vogliono iniziare una terapia con estrogeni, dovrebbero essere sottoposti a valutazione della funzione tiroidea in modo più regolare, in quanto gli estrogeni influenzano la fisiologia della globulina che lega la tiroxina.⁵⁸ Un continuo monitoraggio della funzione tiroidea è essenziale per evitare un eccesso di terapia sostitutiva, perché esso può dare complicanze quali l'osteoporosi e le aritmie cardiache.

MORBO DI ADDISON

Premessa

Nel 1849 Thomas Addison descrisse un gruppo di pazienti che erano morti per una severa anemia associata

a patologia delle ghiandole surrenali. Il morbo di Addison è una malattia cronica della corteccia surrenale, caratterizzata da deficit nella produzione degli ormoni surrenalici, associata ad un aumento della secrezione di ormone adrenocorticotropo (ACTH). L'esame istologico delle ghiandole surrenali nel morbo di Addison autoimmune mostra fibrosi con infiltrato di cellule mononucleari, occasionalmente plasmacellule e rari centri germinativi.⁵⁹ Nei paesi sviluppati, la causa più comune di insufficienza surrenalica primaria è l'autoimmunità (75-80% dei casi di insufficienza surrenalica), mentre la tubercolosi è la seconda causa. Circa il 50-60% dei pazienti con morbo di Addison autoimmune (AAD) manifesterà durante la vita altre patologie autoimmuni. L'AAD può presentarsi in tre principali forme cliniche: nell'ambito della sindrome autoimmune poliendocrina di tipo 1 (APS-1), della sindrome autoimmune poliendocrina di tipo 2 (APS-2), o come malattia isolata. Il diabete di tipo I si sviluppa approssimativamente nel 10% dei pazienti con morbo di Addison. Un paziente con diabete di tipo I, che successivamente svilupperà il morbo di Addison, solitamente avrà una riduzione della necessità di insulina e frequenti reazioni ipoglicemiche. Nonostante la presenza di grave insufficienza surrenalica, responsabile dell'ipoglicemia, l'iperpigmentazione può essere assente.

Patogenesi e Genetica

La presenza di autoanticorpi verso l'enzima 21-idrossilasi della corteccia surrenalica è caratteristica del morbo di Addison. La presenza di tali autoanticorpi può essere riscontrata in più del 90% dei pazienti con malattia di recente insorgenza. Sebbene il ruolo di questi autoanticorpi nella patogenesi dell'AAD non sia noto, il loro riscontro in circolo è utile sul piano clinico in quanto essi hanno un'elevata accuratezza diagnostica. Una falsa positività per anticorpi anti-21-idrossilasi è stata riscontrata in alcuni tumori surrenalici, in caso di infezioni⁶⁰ come la tubercolosi, e di adrenoleucodistrofia (anomalie del metabolismo degli acidi grassi associato a malattia del sistema nervoso centrale e necrosi surrenalica); in genere, in questi pazienti i dosaggi con metodi routinari risultano negativi.⁶¹ Invece di morbo di Addison, la diagnosi di adrenoleucodistrofia è probabile nel caso di un paziente maschio giovane, con insufficienza surrenalica, negatività degli anticorpi anti-21-idrossilasi, paraparesi spastica progressiva e aumentata concentrazione urinaria di acidi grassi C22-26. Per quanto riguarda i geni legati all'MHC, esiste un generale consenso che, nel caso della AAD, la più frequente associazione sia con HLA-B8 e DR3, anche quando i pazienti con AAD vengono analizzati separatamente da coloro che hanno altre malattie autoimmuni. Uno studio recente ha mostrato un significativo incremento nella frequenza di trasmissione dell'aplotipo HLA-DR4 (DRB1*0404,DQ8) da genitori a bambini affetti da AAD (indipendentemente dalla concomitante presenza o assenza di diabete tipo I o di anticorpi anti-insule) rispetto a bambini non affetti.⁶² Il genotipo con il più alto rischio per il morbo di Addison è simile a quello del diabete tipo 1, con DR3/4, DQ2/DQ8 sia in

TABELLA IV. Associazione delle patologie endocrine autoimmuni con HLA e autoantigeni

Malattia	Associazione HLA	Autoantigene
Malattia di Graves	DR3	Recettore per il TSH
Sindrome insulinica autoimmune	DR4, DRB*0406	Insulina
Morbo celiaco	DR3, DR2, DQ8	Transglutaminasi
Diabete di tipo 1	DR3/4, DQ 2/8	Insulina, GAD, IA-2
Morbo di Addison	DR3, DR4	21-Idrossilasi
Tiroidite, vedi Tabella II		Tireoglobulina, perossidasi

Norvegia che negli Stati Uniti. Il morbo di Addison si sviluppa approssimativamente in 1 su 10.000 individui negli Stati Uniti, ma i soggetti che presentano DR3, DQ2/DR4,DQ8 hanno un rischio compreso tra 1:500 e 1:200.⁶³ Quasi la metà dei pazienti con morbo di Addison negli Stati Uniti presenta questo genotipo, rispetto al 2,4% della popolazione generale. Anche MIC-A, una molecola HLA atipica (correlata all'MHC di classe I), è associata al morbo di Addison.⁶⁴

Diagnosi e Terapia

In pazienti sintomatici, la AAD è diagnosticata sulla base di un mancato incremento del cortisolo sierico dopo test di stimolazione con ACTH, in presenza di livelli basali di ACTH elevati; generalmente (>90%) sono inoltre presenti autoanticorpi anti-21-idrossilasi. Tipicamente gli autoanticorpi anti-21-idrossilasi vengono ricercati nei pazienti con diabete tipo 1, ipoparatiroidismo e disordini poliendocrini autoimmuni; se sono presenti, viene eseguita una valutazione annuale dell'ACTH e della risposta del cortisolo alla somministrazione di ACTH. I pazienti con AAD necessiteranno per tutta la vita di terapia sostitutiva con idrocortisone per via orale e fluoridrocortisone e dovranno essere sottoposti costantemente a valutazioni volte ad evidenziare malattie potenzialmente associate, come la tiroidite autoimmune, l'anemia perniciosa, il diabete tipo 1 e così via.

IPOPARATIROIDISMO IDIOPATICO

Premessa

L'ipoparatiroidismo idiopatico (IH) è causato da un deficit di secrezione dell'ormone paratiroideo (PTH) senza una causa identificabile.⁶⁵ Questa malattia è una componente abituale dell'APS-1 in neonati o bambini piccoli. Essa può anche presentarsi sporadicamente negli adulti, più spesso in donne affette da HT. È stata suggerita una causa autoimmune per l'IH, in base alla sua associazione con altre condizioni autoimmuni.⁶⁶

Patogenesi

Neufeld e colleghi⁶⁵ sono stati i primi a segnalare degli autoanticorpi anti-ghiandole paratiroidee, ma studi succes-

sivi hanno rilevato che questi autoanticorpi sembrano essere spesso diretti contro antigeni mitocondriali. Poiché gli anticorpi anti-mitocondriali sono comuni in una ampia varietà di malattie autoimmuni,⁶⁷ la loro specificità nel contesto dell'IH è dubbia. La funzione degli anticorpi anti-paratiroidi è stata mostrata più chiaramente da Posillico et al.,⁶⁸ che sono stati in grado di inibire la secrezione di PTH inducendo il legame degli anticorpi alla superficie delle cellule paratiroidi umane. Inoltre è stato rilevato che autoanticorpi sierici di pazienti affetti da IH sono citotossici per cellule paratiroidi bovine in coltura, attraverso un meccanismo di citotossicità anticorpo-mediata dipendente da fissazione e attivazione del complemento. Esistono anche evidenze di anticorpi diretti verso il recettore calcio-sensibile. Come in molte altre condizioni autoimmuni, l'autoantigene che dà inizio alla reazione nell'ipoparatiroidismo rimane sconosciuto.

INSUFFICIENZA OVARICA PREMATURA

Premessa

Questa è una condizione di insufficienza ovarica che può presentarsi prima o dopo la pubertà.⁶⁹ Le ragazze dovrebbero non essere prepuberi fino ai 13 anni d'età e dovrebbero essere mestruate entro 5 anni dall'inizio della pubertà. L'insufficienza ovarica prematura è definita da amenorrea, livelli elevati di gonadotropine e ipoestrogenismo prima dei 40 anni. La stima dell'incidenza dell'insufficienza ovarica prematura (POF) è approssimativamente dell'1%. È stata stabilita una associazione della POF con varie condizioni autoimmuni, con una frequenza del 17%.⁷⁰ Possono essere identificati due scenari clinici distinti nell'ambito di questa patologia, che vengono descritti di seguito.

POF idiopatica con autoimmunità surrenalica. Approssimativamente un quarto delle donne con malattia di Addison presenta amenorrea nel corso della malattia e il 10% ha una insufficienza ovarica. Gli autoanticorpi anti-cellule steroidee, rilevati durante la malattia di Addison, cross-reagiscono con gli strati della teca interna e della granulosa dei follicoli ovarici e la loro presenza rappresenta un marker dell'associazione tra malattia di Addison e insufficienza ovarica. Le pazienti affette da malattia di Addison con autoanticorpi anti-cellule steroidee non associati a insufficienza ovarica, hanno un alto rischio di sviluppare tale patologia, sebbene il periodo di latenza possa essere lungo.⁷¹ L'ooforite linfocitaria è un reperto costante in pazienti con insufficienza ovarica positiva per anticorpi anti-cellule steroidee e questo sembra supportare l'etiopatogenesi autoimmune della insufficienza ovarica idiopatica. L'espressione di MHC di classe II sulla superficie delle cellule della granulosa di pazienti con insufficienza ovarica può consentire ai linfociti T di potenziare la risposta autoimmune locale.

POF idiopatica con manifestazioni esclusive di autoimmunità ovarica. La grande maggioranza (90-98%) delle donne con insufficienza ovarica non ha malattia di Addison né presenta autoanticorpi anti-cellule steroidee.⁷⁰ Rimane controverso se l'autoimmunità sia la causa di questa condizione, perché l'infiltrazione linfocitaria è costantemente

assente. Approssimativamente il 14% di queste pazienti ha evidenza di autoimmunità tiroidea. In circa il 10% delle pazienti con insufficienza ovarica isolata, senza malattia di Addison, persistono numerosi follicoli ovarici. Queste pazienti sono classificate come affette da una sindrome ovarica resistente, insensibile alle terapie di induzione dell'ovulazione con gonadotropine esogene.

Terapia

La donazione di oociti rappresenta il trattamento di scelta per l'infertilità nelle donne affette da POF. Bisogna essere consapevoli del fatto che l'insufficienza ovarica autoimmune è una malattia che presenta un andamento clinico oscillante, suscettibile a fasi di remissione spontanea durante le quali è possibile concepire naturalmente. È opportuno che pazienti affette da insufficienza ovarica prematura idiopatica siano sottoposte ad esami diagnostici per altre endocrinopatie autoimmuni (per esempio malattia di Addison, tiroidite autoimmune, anemia perniziosa) che possono coesistere con questa sindrome.

IPOFISITE LINFOCITARIA

Premessa

L'ipofisite linfocitaria è una rara lesione infiammatoria della ghiandola pituitaria. Sono stati descritti poco più di 100 casi dalla segnalazione iniziale nel 1962. Questa condizione è più frequente nelle donne e colpisce durante l'ultima fase della gravidanza o nel periodo post-parto. È strettamente associata con altre condizioni autoimmuni.^{72,73}

Patogenesi

Le caratteristiche morfologiche dell'ipofisite somigliano a quelle di altre endocrinopatie autoimmuni. L'assenza di granulomi all'esame microscopico consente di distinguere questa condizione dall'ipofisite granulomatosa osservata in associazione alla tubercolosi, alla sifilide, alla sarcoidosi e al granuloma a cellule giganti. Anticorpi anti-ghiandola pituitaria sono stati isolati solo in una minoranza di pazienti affetti da questa malattia.⁷³⁻⁷⁶

Diagnosi e Terapia

A causa della mancanza di specificità dei *markers* di malattia, la diagnosi può essere confermata solo mediante esame istologico. Le manifestazioni cliniche dei pazienti possono essere dovute all'effetto massa dovuto all'aumento di volume della ghiandola pituitaria, che può essere diagnosticato con la risonanza magnetica. Quasi il 40% dei pazienti ha iperprolattinemia, e circa il 65% dei pazienti presenta un ipopituitarismo anteriore.⁷³ Poiché questa condizione può essere transitoria, il trattamento conservativo può essere sufficiente e può eliminare la necessità del trattamento neurochirurgico dell'ipofisi.

SINDROMI POLIENDOCRINE AUTOIMMUNI

Premessa

Le sindromi poliendocrine autoimmuni sono una costellazione di patologie caratterizzate da malattie autoimmuni multiple, caratterizzate da insufficienza o iperattività funzionale delle ghiandole endocrine (per esempio il morbo di Graves). Sono già state descritte precedentemente in modo più dettagliato alcune delle componenti delle sindromi. Le sindromi comprendono 1) la APS-1, 2) la APS-2, 3) la disfunzione immune poliendocrina legata al cromosoma X, associata a diarrea (sindrome XTID), 4) l'autoimmunità non organo specifica (per esempio il lupus eritematoso sistemico) associata ad anticorpi anti-recettore insulinico, 5) i tumori timici con endocrinopatia associata, 6) la malattia di Graves associata a sindrome insulinica autoimmune, 7) la sindrome caratterizzata dalla presenza di polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, presenza di proteina monoclonale sierica e alterazioni della cute (POEMS). Di seguito tratteremo APS-1, APS-2, XPID e sindrome POEMS (Tabella V).

Sindrome poliendocrina autoimmune di tipo 1

Premessa. La prima descrizione di associazione tra ipoparatiroidismo e candidosi è stata pubblicata nel 1929⁷⁷ e l'associazione di queste due affezioni con l'insufficienza surrenalica idiopatica è stata riportata nel 1946.⁷⁸ La APS 1 è una malattia rara, le cui maggiori componenti sono candidosi muco-cutanea cronica, ipoparatiroidismo e insufficienza surrenalica autoimmune. In passato, per definire questa sindrome, dovevano essere presenti come minimo due di queste patologie.^{65,79} Poiché è stato identificato un ruolo delle mutazioni del gene AIRE (regolatore autoimmune) nella patogenesi, il loro riscontro può contribuire alla diagnosi precoce. In generale, la prima manifestazione si verifica solitamente in età infantile, e la completa evoluzione delle tre principali alterazioni ha luogo di solito entro i primi 20 anni di vita. Le malattie possono continuare ad esprimersi clinicamente sino alla 5ª decade.⁶⁵ Lo spettro delle manifestazioni cliniche minori associate include altre endocrinopatie autoimmuni, malattie gastro-intestinali autoimmuni o immuno-mediate, l'epatite cronica attiva, le malattie autoimmuni della cute, la distrofia ectodermica, la cheratocongiuntivite, difetti immunologici, asplenia, colelitiasi, e neoplasie delle mucose.

Patogenesi e Genetica. Il gene correlato alla APS di tipo 1 è stato clonato (AIRE) ed è stato dimostrato che la mutazione R257X è responsabile dell'82% degli alleli rinvenuti nell'APS-1 in Finlandia.⁸⁰ DQB1*0602 fornisce qualche protezione dalla progressione verso il diabete di tipo 1.⁸¹

Terapia. Lo sostituzione ormonale rimane il principale trattamento per le varie insufficienze endocrine. La candidosi muco-cutanea viene trattata con farmaci antimicotici come il fluconazolo e il ketoconazolo. Poiché il ketoconazolo è un inibitore del citocromo P 450, tutti i pazienti con APS-1 dovrebbero essere monitorati attentamente per la comparsa di qualunque segno di scompenso adrenocorticale. Negli individui affetti è necessario inoltre lo scree-

TABELLA V: Comparazione tra APS-1 e APS-2

Tipo 1	Tipo 2
Malattia di Addison: dal 60 al 72%	Malattia di Addison: 70%
Autosomica recessiva	Ereditarietà poligenica
Gene regolatore autoimmune (AIRE)	(alcune componenti di malattia associate con DQ2/DQ8)
(cromosoma 21q22.3)	
Uguale incidenza nei due sessi	Preponderanza nel sesso femminile
Esordio nell'infanzia	Picco di incidenza tra i 20 e i 60 anni
Candidosi mucocutanea	Assenza di Candidosi mucocutanea
Comune l'ipoparatiroidismo	Raro l'ipoparatiroidismo
Diabete mellito di tipo 1: frequenza nell'arco della vita del 14%	Diabete mellito di tipo 1: circa nel 50% dei casi

Riportato in Eisenbarth GS. Autoimmune polyendocrine syndromes. In: Eisenbarth GS, editore. Type 1 diabetes: Cellular, molecular and clinical immunology. www.barbaradaviscenter.org. 2002

ning per la possibile insorgenza di altre malattie. È raccomandato il dosaggio annuale degli autoanticorpi (anti-21-idrossilasi, anti-insula, anti-tiroide), degli elettroliti, del calcio, dell'ormone tiroideo, degli enzimi epatici e della vitamina B12. In un sottogruppo di questi pazienti si verifica asplenismo; i pazienti con corpi di Jolly-Howell dovrebbero essere analizzati per asplenismo, e, se presente, dovrebbero essere sottoposti a profilassi per infezioni (vaccinazione per meningococco, haemophilus, e pneumococco [se non si verifica risposta anticorpale all'immunizzazione con pneumococco, deve essere eseguita profilassi antibiotica giornaliera]). La candidosi orale richiede una terapia aggressiva, poiché si ritiene che il carcinoma mucoso possa essere prevenuto con terapia antimicotica (losanghe di amfotericina da applicare nel cavo orale, tempestiva biopsia della lesione sospetta, eliminazione di punte dentali taglienti che costituiscono stimoli irritativi cronici e posizionalmento di materiale plastico protettivo a livello della bocca).

Sindrome poliendocrina autoimmune di tipo 2

Premessa/genetica. La APS-2, anche conosciuta come sindrome di Schimdt, è la più comune delle immunoendocrinopatie. Essa si verifica più frequentemente nel sesso femminile e viene comunemente diagnosticata tra i 20 e i 40 anni.⁸² La APS-2 è generalmente definita dalla presenza, nello stesso individuo, di 2 o più delle seguenti patologie: AAD, diabete di tipo 1 e tiroidite autoimmune. Anche altre malattie endocrine e non endocrine sono associate ad APS-2 (Tabella V).

Patogenesi e Genetica. Sebbene questa condizione tenda a presentare una maggiore incidenza in alcune famiglie, non vi è un pattern di ereditarietà distinguibile. Molti dei disordini della APS-2 sono associati ad un aplotipo esteso dell'HLA, formato da HLA-A1, HLA-B8, MICA-5.1, HLA DR3, DQA1*0501, DQB1*0201.

Recentemente Yu et al. hanno messo in evidenza l'associazione tra DRB1*0404 e l'aplotipo DQ2/DQ8, che

probabilmente giustifica una significativa quota dell'associazione tra malattia di Addison e diabete mellito tipo 1.⁶² L'allele MICA-5.1 è strettamente associato con la malattia di Addison.⁶⁴ Un certo numero di studi ha riportato un'associazione tra polimorfismi del gene dell'antigene 4 dei linfociti T citotossici (CTLA) e i disordini che compongono la APS-2.⁸³⁻⁸⁵

Terapia. Il trattamento dell'APS-2 include la diagnosi precoce dei disordini associati, e un *follow-up* a lungo termine. Pazienti con sospetta malattia di Addison e ipotiroidismo dovrebbero essere valutati e trattati per l'insufficienza surrenalica prima della terapia sostitutiva con ormoni tiroidei, per evitare crisi Addisoniane. È stato segnalato un caso interessante di un paziente con autoanticorpi anti-21-idrossilasi, trattato per oftalmopatia di Graves con glucocorticoidi per sei mesi. In questo paziente, gli autoanticorpi anti-21-idrossilasi si sono negativizzati e la funzione surrenalica è stata riportata alla normalità. È stato segnalato all'ultimo *follow-up* che la remissione è stata mantenuta per cento mesi.⁸⁶

Sindrome XPID

La sindrome XPID, estremamente rara, viene anche chiamata XLAAD (sindrome da disregolazione allergica dell'autoimmunità legata al cromosoma X). Il gene mutato nella XPID è lo stesso mutato nei topi Scurfy, e la mutazione nell'uomo produce un'autoimmunità neonatale grave, che include il diabete di tipo 1. Per i topi Scurfy, il trapianto di midollo osseo è una terapia efficace, e vi è una segnalazione che anche nell'uomo il trapianto di midollo osseo possa correggere questa affezione. Sia per APS-1 che per XPID i geni mutati codificano per fattori di trascrizione.

Sindrome POEMS

La sindrome POEMS è associata a plasmocitomi e a lesioni osteosclerotiche. I fattori eziologici di questa costellazione di patologie non sono ben definiti, ma la radio-terapia su lesioni localizzate è spesso utile e c'è una segnalazione che il trapianto di cellule emopoietiche autologhe sia stato di giovamento per un paziente con malattia refrattaria.⁸⁷

CONCLUSIONI

I test immunometrici e le terapie hanno una crescente importanza per un ampio spettro di malattie endocrine. In particolare, il diabete di tipo 1 A è una delle più studiate patologie autoimmuni organo-specifiche. Per il diabete, c'è la possibilità di predire la malattia nell'uomo, e di prevenirla in modelli animali. Per questo motivo esiste un grande sforzo comune rivolto allo sviluppo di terapie preventive anche nell'essere umano. Attualmente ci si pongono quesiti simili per molte altre malattie autoimmuni, e si spera che il miglioramento delle conoscenze di base, possa consentire a lungo termine, di prevenire e, a breve termine, di trattare, in modo migliore il gruppo dei malati autoimmuni che affligge i pazienti con diabete e le loro famiglie.

BIBLIOGRAFIA

1. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
2. Pugliese A, Eisenbarth GS. Type 1 Diabetes Mellitus of Man: Genetic Susceptibility and Resistance. *Type 1 Diabetes: Molecular, Cell Clin Immunol* [2]. 2002. Ref Type: Electronic Citation.
3. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 Diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001;358:221-9.
4. Cox NJ, Wapelhorst B, Morrison VA, Johnson L, Pinchuk L, Spielman RS, et al. Seven regions of the genome show evidence of linkage to type 1 diabetes in a consensus analysis of 767 multiplex families. *Am J Hum Genet* 2001;69:820-30.
5. Bennett ST, Todd JA. Human type 1 diabetes and the insulin gene: principles of mapping polygenes. *Annu Rev Genet* 1996;30:343-70.
6. Pugliese A, Zeller M, Fernandez A, Zalcberg LJ, Bartlett RJ, Ricordi C, et al. The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlate with allelic variation at the INS VNTR-IDD M2 susceptibility locus for type I diabetes. *Nat Genet* 1997;15:293-7.
7. Pugliese A, Brown D, Garza D, Zeller M, Redondo MJ, Eisenbarth GS, et al. Self-antigen presenting cells expressing islet cell molecules in human thymus and peripheral lymphoid organs: phenotypic characterization and implications for immunological tolerance and type 1 diabetes. *J Clin Invest* 2001;107:555-64.
8. Nistico L, Buzzetti R, Pritchard LE, van der Auwera B, Giovannini C, Bosi E, et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *Belgian Diabetes Registry. Hum Mol Genet* 1996;5:1075-80.
9. Bao F, Yu L, Babu S, Wang T, Hoffenberg EJ, Rewers M, et al. One third of HLA DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease associated transglutaminase autoantibodies. *J Autoimmun* 1999;13:143-8.
10. Hoffenberg EJ, Bao F, Eisenbarth GS, Uhlhorn C, Haas J, Sokol RJ, et al. Transglutaminase antibodies in children with a genetic risk for celiac disease. *J Pediatr* 2000;137:356-60.
11. Williams AJ, Norcross AJ, Lock RJ, Unsworth DJ, Gale EA, Bingley PJ. The high prevalence of autoantibodies to tissue transglutaminase in firstdegree relatives of patients with type 1 diabetes is not associated with islet autoimmunity. *Diabetes Care* 2001;24:504-9.
12. Brewer KW, Parziale VS, Eisenbarth GS. Screening patients with insulindependent diabetes mellitus for adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 1997;337:202.
13. De Block CE, De LI, Van Gaal LF. High prevalence of manifestations of gastric autoimmunity in parietal cell antibody-positive type 1 (insulindependent) diabetic patients: the Belgian Diabetes Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4062-7.
14. Gerstein HC. Incidence of postpartum thyroid dysfunction in patients with type I diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1993;118:419-23.
15. Macaron C, Winter RJ, Traisman HS, Kahan BD, Lasser AE, Green OC. Vitiligo and juvenile diabetes mellitus. *Arch Dermatol* 1977;113:1515-7.
16. Norris JM, Beaty B, Klingensmith G, Yu L, Hoffman M, Chase HP, et al. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and bcell autoimmunity: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA* 1996;276:609-14.

17. Kimpimaki T, Erkkola M, Korhonen S, Kupila A, Virtanen SM, Ilonen J, et al. Short-term exclusive breastfeeding predisposes young children with increased genetic risk of Type I diabetes to progressive beta-cell autoimmunity. *Diabetologia* 2001;44:63-9.
18. Sadeharju K, Lonnrot M, Kimpimaki T, Savola K, Erkkila S, Kalliokoski T, et al. Enterovirus antibody levels during the first two years of life in prediabetic autoantibody-positive children. *Diabetologia* 2001;44:818-23.
19. Hyponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358:1500-3.
20. Murakami M, Iriuchijima T, Mori M. Diabetes mellitus and interferon- γ therapy. *Ann Intern Med* 1995;123:318.
21. Moriyama H, Wen L, Abiru N, Liu E, Yu L, Miao D, et al. Induction and acceleration of insulinitis/diabetes in mice with a viral mimic (polyinosinic-polycytidylic acid) and an insulin self-peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:5539-44.
22. Foulis AK, McGill M, Farquharson MA. Insulinitis in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in man - macrophages, lymphocytes, and interferon-gamma containing cells. *J Pathol* 1991;165:97-103.
23. Martin S, Wolf-Eichbaum D, Duinkerken G, Scherbaum WA, Kolb H, Noordzij JG, et al. Development of type 1 diabetes despite severe hereditary B-lymphocyte deficiency. *N Engl J Med* 2001;345:1036-40.
24. Moriawaki M, Itoh N, Miyagawa J, Yamamoto K, Imagawa A, Yamagata K, et al. Fas and Fas ligand expression in inflamed islets in pancreas sections of patients with recent-onset Type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999;42:1332-40.
25. Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helqvist S, Andersen HU, Pociot F, Reimers JJ, et al. On the pathogenesis of IDDM. [Review]. *Diabetologia* 1994;37(Suppl 2):S82-9.
26. Herskowitz RD, Wolfsdorf JJ, Ricker AT, Vardi P, Dib S, Soeldner JS, et al. Transient hyperglycemia in childhood: identification of a subgroup with imminent diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1988;9:161-7.
27. Chase HP, Dolan LM, Krischer JP, White N, Wolfsdorf JJ, Cuthbertson DD, et al. First phase insulin release during the intravenous glucose tolerance test as a risk factor for type 1 diabetes. *J Pediatr* 2001;138:244-9.
28. Garg SK, Anderson JH, Perry SV, Mackenzie T, Keith P, Jennings MK, et al. Long-term efficacy of humalog in subjects with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 1999;16:384-7.
29. Mastroiuto JJ. The MiniMed continuous glucose monitoring system. *Diabetes Technol Ther* 2000;2(Suppl 1):S13-8.
30. Garg SK, Potts RO, Ackerman NR, Fermi SJ, Tamada JA, Chase HP. Correlation of fingerstick blood glucose measurements with GlucoWatch biographer glucose results in young subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1708-14.
31. Assan R, Feutren G, Debray-Sachs M, Quiniou-Debré M, Laborie C, Thomas G, et al. Metabolic and immunological effects of cyclosporine in recently Type I diabetes mellitus. *Lancet* 1985;1:67-71.
32. Stiller CR, Dupre J, Gent M, Jenner MR, Keown PA, Laupacis A, et al. Effects of cyclosporine immunosuppression in insulin-dependent diabetes mellitus of recent onset. *Science* 1984;223:1362-7.
33. Dyrberg T, Nakhooda AF, Baekkeskov S, Lernmark Å, Poussier P, Marliss EB. Islet cell surface antibodies and lymphocyte antibodies in the spontaneously diabetic BB Wistar rat. *Diabetologia* 1982;31:278-81.
34. Blasi C, Pierelli F, Rispoli E, Saponara M, Vingolo E, Andreani D. Wolfram's syndrome: a clinical, diagnostic, and interpretative contribution. *Diabetes Care* 1986;9:521-8.
35. Ryan EA, Lakey JRT, Rajotte RV, Korbitt GS, Kin T, Imes S, et al. Clinical outcomes and insulin secretion after islet transplantation with the Edmonton Protocol. *Diabetologia* 2001;50:710-9.
36. Uchigata Y, Hirata Y. Insulin Autoimmune Syndrome (IAS, Hirata Disease). In: Eisenbarth G, editor. *Molecular mechanisms of endocrine and organ specific autoimmunity*. Austin, Tex: RG Landes; 1999. p. 133-48.
37. Rapoport B, Chazenbalk GD, Jaume JC, McLachlan SM. The thyrotropin (TSH) receptor: interaction with TSH and autoantibodies. *Endocrinol Rev* 1998;19:673-716.
38. Chen QY, Huang W, She JX, Baxter F, Volpe R, Maclaren NK. HLADRB1*08, DRB1*03/DRB3*0101, and DRB3*0202 are susceptibility genes for Graves' disease in North American Caucasians, whereas DRB1*07 is protective. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3182-6.
39. Tomer Y, Barbesino G, Greenberg DA, Concepcion E, Davies TF, International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease. Linkage analysis of candidate genes in autoimmune thyroid disease, III: detailed analysis of chromosome 14 localizes Graves' disease-1 (GD-1) close to multimodular goiter-1 (MNG-1). *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:4321-7.
40. Barbesino G, Tomer Y, Concepcion ES, Davies TF, Greenberg DA. Linkage analysis of candidate genes in autoimmune thyroid disease, II: selected gender-related genes and the X-chromosome: International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3290-5.
41. Geuder KI, Marx A, Witzemann V, Schalke B, Kirchner T, Müller-Hermelink HK. Genomic organization and lack of transcription of the nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in myasthenia gravis-associated thymoma. *Lab Invest* 1992;452:458.
42. Weetman AP. Graves' disease. *N Engl J Med* 2000;343:1236-48.
43. Gillis D, Volpe R, Daneman D. A young boy with a thyroid yo-yo. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998;11:467-70.
44. Flier JS, Kahn CR, Roth J, Bar RS. Antibodies that impair insulin receptor binding in an unusual diabetic syndrome with severe insulin resistance. *Science* 1975;190:63-5.
45. Martin A, Nakashima M, Zhou A, Aronson D, Werner AJ, Davies TF. Detection of major T cell epitopes on human thyroid stimulating hormone receptor by overriding immune heterogeneity in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3361-6.
46. Coles AJ, Wing M, Smith S, Coraddu F, Greer S, Taylor C, et al. Pulsed monoclonal antibody treatment and autoimmune thyroid disease in multiple sclerosis. *Lancet* 1999;354:1691-5.
47. Bahn RS, Dutton CM, Natt N, Joba W, Spitzweg C, Heufelder AE. Thyrotropin receptor expression in Graves' orbital adipose/connective tissues: potential autoantigen in Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:998-1002.
48. Many MC, Costagliola S, Detrait M, Deneff F, Vassart G, Ludgate MC. Development of an animal model of autoimmune thyroid eye disease. *J Immunol* 1999;162:4966-74.
49. Bartalena L, Bogazzi F, Tanda ML, Manetti L, Dell'Unto E, Martino E. Cigarette smoking and the thyroid. *Eur J Endocrinol* 1995;133:507-12.
50. Davies TF, Roti E, Braverman LE, DeGroot LJ. Thyroid controversy: stimulating antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3777-85.
51. Zakarija M, McKenzie JM, Eidson MS. Transient neonatal hypothyroidism: characterization of maternal antibodies to the thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1239-46.

52. Leech NJ, Dayan CM. Controversies in the management of Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;49:273-80.
53. Kloos RT. Thyroiditis. In: Robert ER, editor. *Conn's current therapy*. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 2002. p. 634-41.
54. Park Y, She J-X, Babu S, Wang T, Noble JA, Erlich H, et al. Transracial evidence for the influence of the homologous HLA DR-DQ haplotype on transmission of HLA DR4 haplotypes to diabetic children. *Tissue Antigens* 2001;57:185-91.
55. Mine H, Kawai H, Yokoi K, Akaike M, Saito S. High frequencies of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) infection and presence of HTLV-II proviral DNA in blood donors with anti-thyroid antibodies. *J Mol Med* 1996;74:471-7.
56. Endo T, Kogai T, Nakazato M, Saito T, Kaneshige M, Onaya T. Autoantibody against Na⁺/I⁻ symporter in the sera of patients with autoimmune thyroid disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;224:92-5.
57. Bunevicius R, Kazanavicius G, Zalinkevicius R, Prange AJ, Jr. Effects of thyroxine as compared with thyroxine plus triiodothyronine in patients with hypothyroidism. *N Engl J Med* 1999;340:424-9.
58. Arafah BM. Increased need for thyroxine in women with hypothyroidism during estrogen therapy. *N Engl J Med* 2001;344:1743-9.
59. Sommers SC. Adrenal glands. In: Kissane JM, editor. *Anderson's pathology*. St Louis, Mo: CV Mosby; 2002. p. 1429-50.
60. Baker JR Jr. Autoimmune endocrine disease. *JAMA* 1997;278:1931-7.
61. Falorni A, Nikoshkov A, Laureti S, Grenbäck E, Hulting A-L, Casucci G, et al. High diagnostic accuracy for idiopathic Addison's disease with a sensitive radiobinding assay for autoantibodies against recombinant human 21-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2752-5.
62. Yu L, Brewer KW, Gates S, Wang T, Babu S, Gottlieb PA, et al. DRB1*04 and DQ alleles: expression of 21-hydroxylase autoantibodies and risk of progression to Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:328-35.
63. Myhre AG, Undlien DE, Lovas K, Uhlving S, Nedrebo BG, Kristian JF, et al. Autoimmune adrenocortical failure in Norway: autoantibodies and HLA class II associations related to clinical features. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:618-23.
64. Gambelunghe G, Falorni A, Ghaderi M, Laureti S, Tortoioli C, Santeusano F, et al. Microsatellite polymorphism of the MHC class I chain-related (MIC-A and MIC-B) genes marks the risk for autoimmune Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3701-7.
65. Neufeld M, Maclaren N, Blizzard R. Autoimmune polyglandular syndromes. *Pediatr Ann* 1980;9:154-62.
66. Ahonen P, Myllarniemi S, Sipila I, Perheentupa J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis: ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N Engl J Med* 1990;322:1829-36.
67. Betterle C, Caretto A, Zeviani M, Pedini B, Salviati C. Demonstration and characterization of anti-human mitochondria autoantibodies in idiopathic hypoparathyroidism and in other conditions. *Clin Exp Immunol* 1985;62:353-60.
68. Posillico JT, Wortsman J, Srikanta S, Eisenbarth GS, Malette LE, Brown EM. Parathyroid cell surface autoantibodies that inhibit parathyroid hormone secretion from dispersed human parathyroid cells. *Bone Miner Res* 1986;1:475-83.
69. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril* 1990;53:804-10.
70. LaBarbera AR, Miller MM, Ober C, Rebar RW.
71. Betterle C, Scalici C, Presotto F, Pedini B, Moro L, Rigon F, et al. The natural history of adrenal function in autoimmune patients with adrenal autoantibodies. *J Endocrinol* 1988;117:467-75.
72. Sobrinho-Simoes M, Brandao A, Paiva ME, Vilela B, Fernandes E, Carneiro-Chaves F. Lymphoid hypophysitis in a patient with lymphoid thyroiditis, lymphoid adrenalitis, and idiopathic retroperitoneal fibrosis. *Arch Pathol Lab Med* 1985;109:230-3.
73. Pestell RG, Best JD, Alford FP. Lymphocytic hypophysitis: the clinical spectrum of the disorder and evidence for an autoimmune pathogenesis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;33:457-66.
74. Ozawa Y, Shishiba Y. Recovery from lymphocytic hypophysitis associated with painless thyroiditis: clinical implications of circulating antipituitary antibodies. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993;128:493-8.
75. Thodou E, Asa SL, Kontogeorgos G, Kovacs K, Horvath E, Ezzat K. Clinical case seminar: lymphocytic hypophysitis: clinicopathological findings. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2302-11.
76. Butler MG, Hodes ME, Conneally PM, Biegel AA, Wright JC. Linkage analysis in a large kindred with autosomal dominant transmission of polyglandular autoimmune disease type II (Schmidt syndrome). *Am J Med Genet* 1984;18:61-5.
77. Thorpe ES, Handley HE. Chronic tetany and chronic mycelial stomatitis in a child aged four-and-one-half years. *Am J Dis Child* 1929;38:328-38.
78. Leonard MF. Chronic idiopathic hypoparathyroidism with superimposed Addison's disease in a child. *J Clin Endocrinol Metab* 1946;6:493-5.
79. Whitaker J, Landing BH, Esselborn VM, William RR. The syndrome of familial juvenile hypoadrenocorticism, hypoparathyroidism and superficial moniliiasis. *J Endocrinol* 1956;16:1374-87.
80. Nagamine K, Peterson P, Scott HS, Kudoh J, Minoshima S, Heino M, et al. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* 1997;17:393-8.
81. Halonen M, Eskelin P, Myhre AG, Perheentupa J, Husebye ES, Kampe O, et al. AIRE mutations and human leukocyte antigen genotypes as determinants of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2568-74.
82. Maes M, Eisenbarth GS. The polyglandular autoimmune syndromes. In: Volpé R, editor. *Contemporary endocrinology on autoimmune endocrinopathies*. Totowa: Humana Press Inc; 1999. p. 349-63.
83. Donner H, Braun J, Seidl C, Rau H, Finke R, Ventz M, et al. Codon 17 polymorphism of the cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene in Hashimoto's thyroiditis and Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:4130-2.
84. Donner H, Rau H, Walfish PG, Braun J, Siegmund T, Finke R, et al. CTLA4 alanine-17 confers genetic susceptibility to Graves' disease and to type-1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:143-6.
85. Petersen JS, Hejnaes KR, Moody A, Karlsen AE, Marshall MO, Hoier-Madsen M, et al. Detection of GAD65 antibodies in Diabetes and other autoimmune diseases: using a simple radioligand assay. *Diabetologia* 1994;43:459-67.
86. De Bellis AA, Falorni A, Laureti S, Perrino S, Coronella C, Forini F, et al. Time course of 21-hydroxylase antibodies and long-term remission of subclinical autoimmune adrenalitis after corticosteroid therapy: case report. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:675-8.
87. Rovira M, Carreras E, Blade J, Graus F, Valls J, Fernandez-Aviles F, et al. Dramatic improvement of POEMS syndrome following autologous haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol* 2001;115:373-5.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Le malattie autoimmuni del sistema endocrino rappresentano un eterogeneo gruppo di patologie e comprendono malattie frequenti, come il diabete di tipo 1 e le tireopatie autoimmuni, e malattie più rare, come l'insufficienza surrenalica primitiva e l'insufficienza ovarica precoce. Queste malattie sono il risultato dell'effetto combinato e dell'interazione tra multipli geni di suscettibilità e fattori ambientali.

Nel 1849, Thomas Addison descrisse per la prima volta l'associazione tra l'insufficienza cortico-surrenalica e l'anemia perniciosa. Nel 1908, Claude e Gourgerot ipotizzarono una comune patogenesi per una complessa malattia polighiandolare che interessava il pancreas endocrino, la tiroide, l'ovaio, il surrene e l'ipofisi. Solo nel 1956, Roitt and Doniach, trovando in pazienti con tiroidite cronica di Hashimoto la presenza di anticorpi antitiroidici circolanti, fornirono una documentazione del coinvolgimento del sistema autoimmune in questa condizione.

Da queste prime osservazioni cliniche ed evidenze sperimentali, le nostre conoscenze sulla genetica, patogenesi e storia naturale di queste complesse patologie sono progressivamente aumentate ed oggi, grazie a questo, le nostre possibilità di terapia sono notevolmente migliorate.

Il Diabete di Tipo 1 A è una malattia cronica, caratterizzata da una distruzione autoimmune delle cellule β pancreatiche a cui segue un grave deficit di secrezione di insulina. La presenza di autoanticorpi circolanti anti-insula rappresenta il miglior marcatore per differenziare questa particolare forma di diabete, che prevale nel bambino. Attualmente, sono stati caratterizzati numerosi antigeni della cellula β : trasportatore dello Zinco (Znt8), acido glutammico decarbossilasi (antiGAD65), insulina, antigene 2 dell'insulinoma (anti IA2), Tirosin Fosfatasi non recettoriale tipo22 (PTPN22). Gli autoanticorpi diretti contro questi antigeni sono misurabili in circa il 98% dei bambini con prediabete ed all'esordio della malattia^{1,2}. Alcuni adulti che hanno manifestazioni cliniche da diabete di tipo 2 possono avere antiGAD circolanti e presentano un pattern HLA simile a quello associato al diabete di tipo1. Questa condizione, definita come "diabete autoimmune latente dell'adulto" (LADA), va incontro ad una più rapida perdita della secrezione di insulina^{2,3}.

Nonostante il diabete 1 A riconosca una predisposizione di tipo poligenico, con interessamento dei geni HLA o ad esso correlati, vi sono due rare forme di diabete dovute a cause monogeniche. La sindrome IPEX (Disfunzione Immune, Poliendocrinopatia, Enteropatia, legata al cromosoma X), rara forma di diabete neonatale ed infantile, è causata da una mutazione del gene FoxP3, che codifica per un fattore di trascrizione che controlla lo sviluppo dei linfociti T regolatori⁴. In questi bambini, che hanno anticorpi anti GAD ed antiinsulina circolanti, il trapianto di midollo osseo può migliorare il decorso della malattia. Mutazioni del gene AIRE (Regolatore Autoimmune), che codifica per un fattore di trascrizione che controlla l'espressione di antigeni "periferici" come l'insulina nel timo, causano la Sindrome Poliendocrina Autoimmune di tipo 1 (APS-1)⁵. Recentemente è stato dimostrato che il 100% di questi pazienti ha autoanticorpi circolanti anti-interferone⁶.

Il Diabete 1A si sviluppa lentamente, con una progressiva perdita di funzione delle cellule β delle isole pancreatiche. Lo sviluppo di tale patologia comincia con uno squilibrio tra linfociti T regolatori e patogenetici. Si ritiene che l'insulina rappresenti l'autoantigene primario della risposta autoimmune dei linfociti T e solo in un secondo momento si innesci la successiva cascata autoimmune sugli altri e numerosi antigeni insulari^{7,8}. Infatti, nei topi NOD, topi che sviluppano spontaneamente il diabete tipo1, il blocco della risposta immune contro l'insulina impedisce lo sviluppo dell'insulite e del diabete⁹⁻¹¹. Inoltre, la disattivazione del gene dell'insulina con tecnica di knock-out (sostituzione di una tirosina 16 con alanina) previene lo sviluppo del diabete¹².

Sebbene la risposta autoimmune in questo tipo di diabete sia mediata principalmente dai linfociti T, anche i linfociti B sembrano svolgere un importante ruolo patogenetico. La presenza di autoanticorpi circolanti è un indice di sviluppo della malattia^{13,14}. La presenza di almeno due tipi di autoanticorpi anti-insula consente una diagnosi precoce di diabete, identificando i bambini ad elevato rischio di malattia e consentendo di prevenire la chetoacidosi¹⁵.

Sono stati proposti numerosi trattamenti immunosoppressivi ed immunomodulanti, nel tentativo di prevenire lo sviluppo dell'insulite autoimmune^{7,16}. Tra le terapie immunosoppressive, sono in corso studi che utilizzano anticorpi diretti contro il recettore 2 dell'interleuchina ed anticorpi anti insula pancreatica (anti-CD20, rituximab)^{16,17}. L'impiego di anticorpi monoclonali anti-CD3 ha mostrato un rallentamento della progressione del diabete di tipo 1 durante un anno di terapia¹⁸. Recentemente i promettenti, seppure transitori, risultati dello studio Edmonton hanno rilanciato l'interesse del trapianto di isole pancreatiche¹⁹. La tossicità del trattamento immunosoppressivo e la scarsità di isole da donatori rappresenta però il principale limite di questo approccio terapeutico. Per queste ragioni, grandi sforzi sono rivolti allo sviluppo di quelle tecniche di biologia cellulare in grado di selezionare e stimolare cellule β pancreatiche funzionanti²⁰⁻²⁵.

Le **tireopatie autoimmuni** rappresentano le malattie autoimmunitarie più comuni e colpiscono circa l'1,5% della popolazione, con una prevalenza femminile. Anche in questo caso la patogenesi è multifattoriale, con un coinvolgimento di fattori genetici ed ambientali.

Tra i fattori genetici devono essere ricordati i classici geni di istocompatibilità di classe II, l'antigene associato ai linfociti T citotossici (CTLA-4)²⁶ e, più recentemente, il CD40, una molecola espressa nei linfociti B, necessaria per la loro

attivazione e la produzione di anticorpi^{27,28} ed infine la protein-tirosin fosfatasi-22, potente inibitore dell'attivazione dei linfociti T. Una mutazione in questo ultimo gene aumenta l'attività fosfatasi nei linfociti, predisponendo allo sviluppo della malattia di Graves e delle altre tireopatie autoimmuni²⁹.

Tra i fattori ambientali, un ruolo importante sembra svolto dall'apporto iodico: l'aumentato introito alimentare correla infatti con la prevalenza di patologie autoimmuni della tiroide³⁰. Nel topo, l'eccesso di iodio rende immunogeni alcuni epitopi della tiroglobulina che normalmente non lo sono³¹. Sembra, invece, che il selenio sia un elemento di protezione, dal momento che un suo deficit, causando un danno ossidativo, sarebbe in grado di rendere immunogena la perossidasi tiroidea. Un recente studio ha mostrato che la supplementazione di selenio nella dieta per 9 mesi ha ridotto gli autoanticorpi tireoperossidasi circolanti³². Tra i fattori esogeni deve anche essere ricordato l'interferone α e β .

Le tireopatie autoimmuni presentano una infiltrazione linfocitaria diffusa³³: le cellule T regolatorie sono aumentate all'interno della tiroide e nel sangue periferico, ma la loro capacità inibitoria è ridotta, suggerendo che in questa patologia i linfociti T siano incapaci di modulare la risposta immunitaria³⁴.

Il Morbo di Addison è una malattia cronica della corteccia surrenalica, caratterizzata da un primitivo deficit di ormoni corticosurrenalici e da un aumento compensatorio della secrezione ipofisaria di ACTH. In Italia, così come in tutti i paesi sviluppati, il morbo di Addison riconosce principalmente una eziologia autoimmune, in cui i linfociti T svolgono un ruolo patogenetico molto importante³⁵. La presenza nel sangue periferico di autoanticorpi diretti contro il corticosurrene, in particolare anti21-idrossilasi, un enzima della steroidogenesi, rappresenta la prima manifestazione della malattia³⁶⁻³⁸.

Anche in questa malattia, vi è un coinvolgimento del complesso HLA di classe II ed in particolare i polimorfismi nei geni DRB1, DQA1 e DQB1 rappresentano i principali fattori di predisposizione genetica. Come in altre malattie autoimmuni, HLA-DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201 e DRB1*04-DQAA1*0301-DQB1*0302 sono positivamente associate al morbo di Addison, mentre DRB1*0403 è protettivo. Altri fattori genetici predisponenti sono il gene MHC2TA, il PTPN22, il gene del recettore della vitamina D, il gene CYP27B1 e più recentemente il CTLA-4³⁹. Il morbo di Addison, però, è più raro rispetto ad altre malattie autoimmuni che pure hanno lo stesso aplotipo HLA, confermando che il meccanismo patogenetico di questa patologia rimane ancora poco conosciuto. Il Morbo di Addison è spesso associato ad altre patologie autoimmuni ed è un elemento fondamentale della APS-1 e della APS-2.

L'ipoparatiroidismo idiopatico è causato da un deficit di secrezione di PTH ad eziologia non ancora nota. Questa malattia rappresenta una delle caratteristiche principali della APS-1 insieme al morbo di Addison, alla mucocandidosi ed al diabete di tipo 1. Come abbiamo visto, la APS-1 è dovuta ad una mutazione del gene AIRE il cui meccanismo patogenetico è stato ben indagato⁴⁰. Recentemente, NALP5 (NACHT leucine-rich-repeat protein 5) è stato identificato come l'autoantigene paratiroideo specifico di questa patologia. Infatti, autoanticorpi circolanti contro NALP5 sono stati trovati nel 49% dei pazienti con APS-1 ed ipoparatiroidismo, ma in nessun paziente senza ipoparatiroidismo⁴¹.

L'insufficienza ovarica prematura è una condizione clinica estremamente complessa ed eterogenea, dovuta a cause solo in parte note. Nel 30% dei casi si riconoscono cause genetiche principalmente dovute ad anomalie cromosomiche del cromosoma X, mentre nel 40% dei casi vi è una causa iatrogena (chirurgia, chemioterapia, radioterapia). Nel 5-10% dei casi però la eziopatogenesi è autoimmune, anche se solo nei pazienti con un morbo di Addison associato si è potuta dimostrare una vera ooforite autoimmune⁴². Come già nelle altre patologie, sembra prevalere l'autoimmunità cellula-mediata anche se nel 60-90% di questi pazienti vi sono autoanticorpi anti cellule steroidee ed anti enzimi della steroidogenesi. Il processo infiammatorio autoimmune colpisce le cellule della teca preservando, almeno inizialmente, quelle della granulosa. Per tale motivo, contrariamente ai livelli di estradiolo, i livelli circolanti di inibina B sono elevati e questo potrebbe rivestire un elemento di diagnosi differenziale⁴³.

L'ipofisite linfocitaria, malattia dell'ipofisi descritta inizialmente in donne gravide e nel postpartum, sembra più frequente rispetto a quanto fino ad oggi ritenuto⁴⁴. Si manifesta con cefalea, alterazioni del campo visivo e della funzionalità ipofisaria, con lieve iperprolattinemia e deficit ormonali multipli od isolati (principalmente di ACTH). Pur in mancanza di dati eziopatogenetici certi, viene considerata una malattia autoimmune sulla base dell'infiltrato linfocitario che colpisce la ghiandola, dell'associazione con malattie autoimmuni e della recente identificazione di anticorpi anti-ipofisi⁴⁵.

Anticorpi anti-ipotalamo ed anti-ipofisi sono stati recentemente dimostrati nel 35-40% di donne con ipopituitarismo da sindrome di Sheehan⁴⁶. ed anticorpi anti-ipofisi sono presenti anche in pazienti con ipopituitarismo da trauma cranico⁴⁷. Infine, anticorpi diretti contro le cellule gonadotrope dell'ipofisi sono stati recentemente dimostrati in pazienti con ipogonadismo ipogonadotropo⁴⁸ ed autoanticorpi diretti contro cellule secernenti vasopressina sono associati a diabete insipido centrale⁴⁹.

Riferimenti bibliografici

1. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type1 diabetes. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Oct 23;104(43):17040-5.

2. **Update in type 1 diabetes**
Eisenbarth GS
J Clin Endocrinol Metab. 2007 Jul;92(7):2403-7
3. **The protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22 (PTPN22) is associated with high GAD antibody titer in latent autoimmune diabetes in adults: Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) Study 3**
Petrone A, Suraci C, Capizzi M, Giaccari A, Bosi E, Tiberti C, Cossu E, Pozzilli P, Falorni A, Buzzetti R; NIRAD Study Group
Diabetes Care. 2008 Mar;31(3):534-8
4. **IPEX and FOXP3: clinical and research perspectives**
Wildin RS, Freitas A
J Autoimmun. 2005;25 Suppl:56-62
5. **A decade of AIRE**
Mathis D, Benoist C
Nat Rev Immunol. 2007 Aug;7(8):645-50
6. **A robust immunoassay for anti-interferon autoantibodies that is highly specific for patients with autoimmune polyglandular syndrome type 1**
Zhang L, Barker JM, Babu S, Su M, Stenerson M, Cheng M, Shum A, Zamir E, Badolato R, Law A, Eisenbarth GS, Anderson MS
Clin Immunol. 2007 Nov;125(2):131-7
7. **Insulin as a primary autoantigen for type 1A diabetes**
Jasinski JM, Eisenbarth GS
Clin Dev Immunol. 2005 Sep;12(3):181-6
8. **Prime role for an insulin epitope in the development of type 1 diabetes in NOD mice**
Nakayama M, Abiru N, Moriyama H, Babaya N, Liu E, Miao D, Yu L, Wegmann DR, Hutton JC, Elliott JF, Eisenbarth GS
Nature. 2005 May 12;435(7039):220-3
9. **Responses against islet antigens in NOD mice are prevented by tolerance to proinsulin but not IGRP**
Krishnamurthy B, Dudek NL, McKenzie MD, Purcell AW, Brooks AG, Gellert S, Colman PG, Harrison LC, Lew AM, Thomas HE, Kay TW
J Clin Invest. 2006 Dec;116(12):3258-65
10. **Altered B:9-23 insulin, when administered intranasally with cholera toxin adjuvant, suppresses the expression of insulin autoantibodies and prevents diabetes**
Kobayashi M, Abiru N, Arakawa T, Fukushima K, Zhou H, Kawasaki E, Yamasaki H, Liu E, Miao D, Wong FS, Eisenbarth GS, Eguchi K
J Immunol. 2007 Aug 15;179(4):2082-8
11. **Priming and effector dependence on insulin B:9-23 peptide in NOD islet autoimmunity**
Nakayama M, Beilke JN, Jasinski JM, Kobayashi M, Miao D, Li M, Coulombe MG, Liu E, Elliott JF, Gill RG, Eisenbarth GS
J Clin Invest. 2007 Jul;117(7):1835-43
12. **Conserved T cell receptor alpha-chain induces insulin autoantibodies**
Kobayashi M, Jasinski J, Liu E, Li M, Miao D, Zhang L, Yu L, Nakayama M, Eisenbarth GS
Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jul 22;105(29):10090-4
13. **Type 1 diabetes risk assessment: improvement by follow-up measurements in young islet autoantibody-positive relatives**
Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Williams AJ, Ziegler AG, Bingley PJ, Bonifacio E
Diabetologia. 2006 Dec;49(12):2969-76
14. **Extreme genetic risk for type 1A diabetes**
Aly TA, Ide A, Jahromi MM, Barker JM, Fernando MS, Babu SR, Yu L, Miao D, Erlich HA, Fain PR, Barriga KJ, Norris JM, Rewers MJ, Eisenbarth GS
Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Sep 19;103(38):14074-9
15. **Clinical characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes through intensive screening and follow-up**
Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS, Norris JM, Klingensmith GJ, Rewers M; DAISY study
Diabetes Care. 2004 Jun;27(6):1399-404
16. **Translational mini-review series on type 1 diabetes: Immune-based therapeutic approaches for type 1 diabetes**
Staeva-Vieira T, Peakman M, von Herrath M
Clin Exp Immunol. 2007 Apr;148(1):17-31
17. **B cell depletion: a novel therapy for autoimmune diabetes?**
Bour-Jordan H, Bluestone JA
J Clin Invest. 2007 Dec;117(12):3642-5

18. **B lymphocyte depletion by CD20 monoclonal antibody prevents diabetes in nonobese diabetic mice despite isotype-specific differences in Fc gamma R effector functions**
Xiu Y, Wong CP, Bouaziz JD, Hamaguchi Y, Wang Y, Pop SM, Tisch RM, Tedder TF
J Immunol. 2008 Mar 1;180(5):2863-75
19. **International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation**
Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, Secchi A, Brendel MD, Berney T, Brennan DC, Cagliero E, Alejandro R, Ryan EA, DiMercurio B, Morel P, Polonsky KS, Reems JA, Bretzel RG, Bertuzzi F, Froud T, Kandaswamy R, Sutherland DE, Eisenbarth G, Segal M, Preiksaitis J, Korbitt GS, Barton FB, Viviano L, Seyfert-Margolis V, Bluestone J, Lakey JR
N Engl J Med. 2006 Sep 28;355(13):1318-30
20. **Immunosuppression in islet transplantation**
Van Belle T, von Herrath M
J Clin Invest. 2008 May;118(5):1625-8
21. **Cell-based treatments for diabetes**
Jones PM, Courtney ML, Burns CJ, Persaud SJ
Drug Discov Today. 2008 Aug 4. [Epub ahead of print]
22. **Diabetes mellitus: an opportunity for therapy with stem cells?**
Sordi V, Bertuzzi F, Piemonti L
Regen Med. 2008 May;3(3):377-97. Review
23. **Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes**
Haller MJ, Viener HL, Wasserfall C, Brusko T, Atkinson MA, Schatz DA
Exp Hematol. 2008 Jun;36(6):710-5
24. **Cell therapy for diabetes mellitus: an opportunity for stem cells?**
Soria B, Bedoya FJ, Tejedo JR, Hmadcha A, Ruiz-Salmerón R, Lim S, Martin F
Cells Tissues Organs. 2008;188(1-2):70-7
25. **Mesenchymal stem cells: Biology and clinical potential in Type 1 Diabetes Therapy**
Liu M, Han ZC
J Cell Mol Med. 2008 Feb 24
26. **CT60 single nucleotide polymorphisms of the cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 gene region is associated with Graves' disease in an Italian population**
Petrone A, Giorgi G, Galgani A, Alemanno I, Corsello SM, Signore A, Di Mario U, Nisticò L, Cascino I, Buzzetti R
Thyroid. 2005 Mar;15(3):232-8
27. **Linkage analysis of thyroid antibody production: evidence for shared susceptibility to clinical autoimmune thyroid disease**
Ban Y, Greenberg DA, Davies TF, Jacobson E, Concepcion E, Tomer Y
J Clin Endocrinol Metab. 2008 Jun 17. [Epub ahead of print]
28. **Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: a meta-analysis**
Kavvoura FK, Akamizu T, Awata T, Ban Y, Chistiakov DA, Frydecka I, Ghaderi A, Gough SC, Hiromatsu Y, Ploski R, Wang PW, Ban Y, Bednarczuk T, Chistiakova EI, Chojm M, Heward JM, Hiratani H, Juo SH, Karabon L, Katayama S, Kurihara S, Liu RT, Miyake I, Omrani GH, Pawlak E, Taniyama M, Tozaki T, Ioannidis JP.
J Clin Endocrinol Metab. 2007 Aug;92(8):3162-70
29. **Autoimmune-associated lymphoid tyrosine phosphatase is a gain-of-function variant**
Vang T, Congia M, Macis MD, Musumeci L, Orrú V, Zavattari P, Nika K, Tautz L, Taskén K, Cucca F, Mustelin T, Bottini N
Nat Genet. 2005 Dec;37(12):1317-9
30. **Effect of iodine intake on thyroid diseases in China**
Teng W, Shan Z, Teng X, Guan H, Li Y, Teng D, Jin Y, Yu X, Fan C, Chong W, Yang F, Dai H, Yu Y, Li J, Chen Y, Zhao D, Shi X, Hu F, Mao J, Gu X, Yang R, Tong Y, Wang W, Gao T, Li C
N Engl J Med. 2006 Jun 29;354(26):2783-93
31. **Iodination of tyrosyls in thyroglobulin generates neoantigenic determinants that cause thyroiditis**
Li HS, Carayanniotis G
J Immunol. 2006 Apr 1;176(7):4479-83
32. **Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month follow-up with variable doses**
Turker O, Kumanlioglu K, Karapolat I, Dogan I
J Endocrinol. 2006 Jul;190(1):151-6

33. **Regulation of Graves' hyperthyroidism with naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells in a mouse model**
Saitoh O, Nagayama Y
Endocrinology. 2006 May;147(5):2417-22
34. **Regulatory T cells in human autoimmune thyroid disease**
Marazuela M, García-López MA, Figueroa-Vega N, de la Fuente H, Alvarado-Sánchez B, Monsiváis-Urenda A, Sánchez-Madrid F, González-Amaro R
J Clin Endocrinol Metab. 2006 Sep;91(9):3639-46
35. **The substrate-binding domain of 21-hydroxylase, the main autoantigen in autoimmune Addison's disease, is an immunodominant T cell epitope**
Husebye ES, Bratland E, Bredholt G, Fridkin M, Dayan M, Mozes E
Endocrinology. 2006 May;147(5):2411-6
36. **Estimated risk for developing autoimmune Addison's disease in patients with adrenal cortex autoantibodies**
Coco G, Dal Pra C, Presotto F, Albergoni MP, Canova C, Pedini B, Zanchetta R, Chen S, Furmaniak J, Rees Smith B, Mantero F, Betterle C
J Clin Endocrinol Metab. 2006 May;91(5):1637-45
37. **SIE Addison Study Group. Italian addison network study: update of diagnostic criteria for the etiological classification of primary adrenal insufficiency**
Falorni A, Laureti S, De Bellis A, Zanchetta R, Tiberti C, Arnaldi G, Bini V, Beck-Peccoz P, Bizzarro A, Dotta F, Mantero F, Bellastella A, Betterle C, Santeusano F
J Clin Endocrinol Metab. 2004 Apr;89(4):1598-604
38. **Adrenal cortex autoantibodies in subjects with normal adrenal function**
Betterle C, Coco G, Zanchetta R
Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2005 Mar;19(1):85-99
39. **The association of genetic polymorphisms and autoimmune Addison's disease**
Falorni A, Brozzetti A, La Torre D, Tortoioli C, Gambelunghe G
Exp Rev Clin Immunol. 2008
40. **Mechanisms of an autoimmunity syndrome in mice caused by a dominant mutation in Aire**
Su MA, Giang K, Zumer K, Jiang H, Oven I, Rinn JL, Devoss JJ, Johannes KP, Lu W, Gardner J, Chang A, Bubulya P, Chang HY, Peterlin BM, Anderson MS
J Clin Invest. 2008 May;118(5):1712-26
41. **Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 and NALP5, a parathyroid autoantigen**
Alimohammadi M, Björklund P, Hallgren A, Pöntynen N, Szinnai G, Shikama N, Keller MP, Ekwall O, Kinkel SA, Husebye ES, Gustafsson J, Rorsman F, Peltonen L, Betterle C, Perheentupa J, Akerström G, Westin G, Scott HS, Holländer GA, Kämpe O
N Engl J Med. 2008 Mar 6;358(10):1018-28
42. **Autoimmune oophoritis as a mechanism of follicular dysfunction in women with 46,XX spontaneous premature ovarian failure**
Bakalov VK, Anasti JN, Calis KA, Vanderhoof VH, Premkumar A, Chen S, Furmaniak J, Smith BR, Merino MJ, Nelson LM
Fertil Steril. 2005 Oct;84(4):958-65
43. **High serum inhibin concentration discriminates autoimmune oophoritis from other forms of primary ovarian insufficiency**
Tsigkou A, Marzotti S, Borges L, Brozzetti A, Reis F, Candeloro P, Luisa Bacosi M, Bini V, Petraglia F, Falorni A
J Clin Endocrinol Metab. 2008 Apr;93(4):1263-9
44. **Lymphocytic hypophysitis: a rare or underestimated disease?**
Bellastella A, Bizzarro A, Coronella C, Bellastella G, Sinisi AA, De Bellis A
Eur J Endocrinol. 2003 Nov;149(5):363-76
45. **Pituitary antibodies and lymphocytic hypophysitis**
De Bellis A, Bizzarro A, Bellastella A
Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2005 Mar;19(1):67-84
46. **Anti-hypothalamus and anti-pituitary antibodies may contribute to perpetuate the hypopituitarism in patients with Sheehan's syndrome**
De Bellis A, Kelestimur F, Sinisi AA, Ruocco G, Tirelli G, Battaglia M, Bellastella G, Conzo G, Tanriverdi F, Unluhizarci K, Bizzarro A, Bellastella A
Eur J Endocrinol. 2008 Feb;158(2):147-52
47. **Antipituitary antibodies after traumatic brain injury: is head trauma-induced pituitary dysfunction associated with autoimmunity?**
Tanriverdi F, De Bellis A, Bizzarro A, Sinisi AA, Bellastella G, Pane E, Bellastella A, Unluhizarci K, Selcuklu A, Casanueva FF, Kelestimur F
Eur J Endocrinol. 2008 Jul;159(1):7-13

48. Antipituitary antibodies against gonadotropin-secreting cells in adult male patients with apparently idiopathic hypogonadotropic hypogonadism

De Bellis A, Sinisi AA, Conte M, Coronella C, Bellastella G, Esposito D, Pasquali D, Ruocco G, Bizzarro A, Bellastella A
J Clin Endocrinol Metab. 2007 Feb;92(2):604-7

49. Idiopathic central diabetes insipidus in children and young adults is commonly associated with vasopressin-cell antibodies and markers of autoimmunity

Maghnie M, Ghirardello S, De Bellis A, di Iorgi N, Ambrosini L, Secco A, De Amici M, Tinelli C, Bellastella A, Lorini R
Clin Endocrinol (Oxf). 2006 Oct;65(4):470-8

18. Patologie renali immuno-mediate

Le malattie renali immuno-mediate possono essere classificate in base alle sindromi cliniche con cui si manifestano, al quadro istologico renale concomitante, o al principale meccanismo immune effettore del danno renale. Le maggiori sindromi cliniche causate da una patologia renale immuno-mediata comprendono la sindrome nefrosica, la sindrome nefritica, la glomerulonefrite rapidamente progressiva e l'insufficienza renale acuta. La conoscenza della sindrome clinica facilita la diagnosi e il trattamento, ma non permette di definire accuratamente la patogenesi della malattia. In questo articolo vengono trattate le malattie renali immuno-mediate, definite dal punto di vista istologico, in base alla sindrome clinica a cui sono più frequentemente associate. Benchè ci sia una certa sovrapposizione tra le diverse sindromi cliniche, queste forniscono un utile inquadramento. Le principali informazioni sulla patogenesi sono discusse all'interno dei paragrafi relativi alle specifiche malattie.

La sindrome nefrosica è caratterizzata da proteinuria maggiore di 3.5 g/die, edema, iperlipidemia e ipoalbuminemia. I soggetti affetti da sindrome nefritica si presentano invece con reperto di sedimento urinario, caratterizzato da cilindri ematici, ematuria e proteinuria variabile, associato a ipertensione ed insufficienza renale. Si definisce glomerulonefrite rapidamente progressiva (RPGN) una glomerulonefrite (GN) acuta che si associa ad una diminuzione dell'indice di filtrazione glomerulare (GFR) del 50% o più nell'arco di 3 mesi. In alcuni pazienti il quadro bioptico renale è caratterizzato dalla presenza di "semilune" (crescents) glomerulari, che si formano in concomitanza con un danno della membrana basale glomerulare (MBG). In conseguenza del danno, si ha richiamo di leucociti e linfociti e rilascio di mediatori dell'infiammazione, con conseguente proliferazione delle cellule epiteliali. Anche la malattia ateroembolica, la necrosi tubulare acuta, una crisi renale sclerodermica e la nefrite interstiziale acuta (AIN) possono causare una rapida riduzione della funzionalità renale.

DANNO RENALE IMMUNO-MEDIATO ASSOCIATO A SINDROME NEFROSICA

Le seguenti patologie si presentano tipicamente con una sindrome nefrosica associata a modesti reperti nel sedimento urinario.

Abbreviazioni utilizzate:

ACE:	Enzima di conversione dell'angiotensina
AIN:	Nefrite interstiziale acuta
ANCA:	Anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili
CSS:	Sindrome di Churg-Strauss
ME/EM:	Microscopia elettronica/electron microscopy
ESRD:	Malattia renale allo stadio terminale
FSGS:	Glomerulosclerosi focale segmentaria
MBG/GBM:	Membrana basale glomerulare/glomerular basement membrane
GFR:	Indice di filtrazione glomerulare
GN:	Glomerulonefrite
HSP:	Porpora di Schönlein-Henoch
IC:	Immunocomplesso
MCNS:	Sindrome nefrosica a lesioni minime
MN:	Nefropatia membranosa
MPA:	Poliangiite microscopica
MPGN:	Glomerulonefrite membranoproliferativa
NP:	Nefropatia
FANS/NSAID:	Farmaco anti-infiammatorio non steroideo/nonsteroidal anti-inflammatory agent
PSGN:	Glomerulonefrite post-streptococcica
AR/RA:	Artrite reumatoide/rheumatoid arthritis
RPGN:	Glomerulonefrite rapidamente progressiva
LES/SLE:	Lupus eritematoso sistemico/systemic lupus erythematosus
svv:	Vasculite dei piccoli vasi
GW/WG:	Granulomatosi di Wegener/Wegener's granulomatosis

Sindrome nefrosica a lesioni minime

La sindrome nefrosica a lesioni minime (MCNS) è la più comune forma di sindrome nefrosica nei bambini e costituisce il 10-15% delle nefrosi negli adulti.^{1,2} I pazienti si presentano con proteinuria nel range nefrosico, ipoalbuminemia, iperlipidemia ed edema, di solito con funzionalità renale conservata. Per definizione non vi sono anomalie renali all'esame in microscopia ottica e, allo studio in immunofluorescenza, non si evidenziano depositi delle componenti umorali del sistema immunitario, come immunoglobuline e complemento. L'unica anomalia documentata a livello renale è la scomparsa, in microscopia elettronica (ME), dei pedicelli dell'epitelio viscerale. La patogenesi è incerta, ma può essere correlata ad una alterata funzione dei linfociti T.³ La forma può essere associata ad infezioni, farmaci (sali d'oro, farmaci anti-infiammatori non steroidei [FANS], litio, interferone, ampicillina), neoplasie e allergie (punture di ape, alimenti). Così come per le altre patologie renali primitive, è importante escludere eventuali cause secondarie, in

Traduzione italiana del testo di:
Robyn Canard e Carolyn J. Kelly
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S637-44

TABELLA 1. Terapie di supporto per le disfunzioni renali

Prescrizione di sodio e liquidi
Controllo della pressione sanguigna con ACE inibitori o bloccanti del recettore dell'angiotensina
Astensione dalla somministrazione di agenti nefrotossici, come ad es. FANS e di mezzi di contrasto
Astensione dal fumo, prescrizione di dieta ipoproteica (benefici dubbi, ma non nociva)

quanto la nefropatia (NP) spesso migliora quando la condizione sottostante viene trattata o viene sospeso il farmaco in causa. Il trattamento nei bambini che si presentano con la classica sindrome nefrosica si basa sul prednisone (60 mg/m²/die) e porta alla scomparsa della proteinuria in oltre il 90% dei casi nelle prime 4-6 settimane. Negli adulti con sindrome nefrosica è necessaria una biopsia preliminare, prima del trattamento con prednisone alla dose di 1 mg/kg/die (massimo 80 mg/die). Spesso sono necessarie più di 4 o 6 settimane per ottenere la remissione. Ciclofosfamide e clorambucile possono essere utilizzati in caso di recidiva o di resistenza agli steroidi. La ciclosporina è abbastanza efficace nell'indurre la remissione; tuttavia, come nelle altre forme, la malattia può ripresentarsi dopo sospensione della terapia. Raramente si ha progressione verso lo stadio terminale dell'insufficienza renale (ESRD). Le complicanze sono quelle correlate ad una sindrome nefrosica prolungata e agli effetti collaterali della terapia.

Nefropatia membranosa

La NP membranosa idiopatica (MN) è la causa più comune di sindrome nefrosica nell'adulto. Può essere anche secondaria a epatite B, malaria, sifilide, neoplasie, farmaci, lupus eritematoso sistemico (LES) e agenti tossici ambientali. La presentazione clinica è variabile; la maggior parte dei pazienti si presenta tuttavia con la classica sindrome nefrosica, esame delle urine non significativo e funzionalità renale conservata. Il danno renale è mediato da meccanismi immunologici umorali e cellulari e dall'attivazione della cascata del complemento.⁴

Alla biopsia renale è presente un diffuso ispessimento della MBG, con importanti depositi granulari di IgG e C3 visibili all'immunofluorescenza. Il quadro in ME è caratterizzato dalla scomparsa dei pedicelli dell'epitelio con depositi elettrondensi di immunocomplessi (IC) distribuiti lungo la MBG in posizione subepiteliale o intramembranosa. I fattori predittivi di progressione verso ESRD sono rappresentati da alti livelli di proteinuria, insufficienza renale sin dall'esordio, età avanzata, sesso maschile, segni istologici di glomerulosclerosi e di infiammazione tubulo-interstiziale. La scelta della terapia della MN idiopatica è tuttora un argomento controverso tra i nefrologi. Nella forma idiopatica, da un quarto a un terzo dei pazienti presenta remissione spontanea, in un terzo il quadro resta invariato, mentre in un terzo si ha progressione verso l'ESRD.⁵ Una volta che è stata iniziata la terapia di supporto (Tabella 1) e sono state escluse le cause secondarie, un approccio ragionevole è quello di seguire i pazienti per 6

mesi, prima di ricorrere alla terapia immunosoppressiva. Dopo 6 mesi, se nei pazienti con rischio moderato di progressione (proteinuria pari a 4-8 g/die) compare deterioramento della funzionalità renale, si ricorre al protocollo italiano di Ponticelli, che comprende cicli mensili di prednisone alternati a clorambucile (0.2 mg/kg/die) o ciclofosfamide⁶. Nei pazienti ad alto rischio (proteinuria >8 g/die) sono raccomandati il regime "Ponticelli", la ciclofosfamide per via orale, o la ciclosporina⁷. Anche se i pazienti ad alto rischio sono maggiormente soggetti a complicanze tromboemboliche, resta controverso il trattamento empirico con anticoagulanti.

Glomerulosclerosi segmentaria focale

La glomerulosclerosi segmentaria focale (FSGS) è considerata l'esito comune di diverse patologie glomerulari. Può essere primaria o secondaria a più patologie, come l'infezione da HIV, l'ipertensione, il reflusso vescicoureterale, l'obesità, l'anemia falciforme o l'abuso di eroina. Solitamente i pazienti si presentano con sindrome nefrosica associata ad ematuria microscopica, ipertensione e insufficienza renale progressiva. Dal punto di vista istologico, vi è distruzione segmentaria, cioè di parte del glomerulo, a carico di alcuni, ma non di tutti i glomeruli (forma focale). Con il tempo compaiono flogosi interstiziale, glomerulosclerosi e adesione dei glomeruli sclerotici alla capsula di Bowman. Si pensa che la FSGS sia correlata ad un danno diretto della cellula epiteliale glomerulare;⁸ non è ancora noto se tale danno sia secondario a meccanismi immunitari. La prognosi dipende dall'entità della proteinuria, dai livelli di creatinina sierica all'esordio e dall'estensione della fibrosi interstiziale.⁹ Più del 50% dei pazienti che si presentano con una proteinuria nel range nefrosico andrà incontro a ESRD in 6-8 anni. Remissioni spontanee sono rare e i pazienti che raggiungono la remissione hanno una prognosi più favorevole. La terapia è raccomandata nei pazienti nefrosici. Negli attuali protocolli si raccomanda il trattamento con prednisone 1 mg/kg/die per 3 o 4 mesi; negli anziani può essere impiegato un regime a giorni alterni. Analogamente a quanto avviene nelle altre nefrosi, gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) riducono la proteinuria e sono nefroprotettivi. La forma primaria può ripresentarsi sin dalle prime fasi nel periodo post-trapianto. In questi pazienti è stato identificato un fattore circolante che aumenta la permeabilità e questi soggetti sono stati trattati con successo con metodiche di adsorbimento delle proteine o con plasmateresi.¹⁰

Amiloidosi

L'amiloidosi rappresenta un gruppo di disordini associati al deposito di proteine in vari organi. L'amiloidosi AL (amiloidosi primaria) è la forma più comune ed è dovuta al deposito di catene leggere delle immunoglobuline. La AA (amiloidosi secondaria) compare in pazienti con infiammazione cronica o malattie infettive ed è legata al deposito nei tessuti della proteina sierica amiloide A di fase acuta. I pazienti, con età media intorno ai 60 anni, presentano sintomi aspecifici, come astenia e calo pon-

derale. Le manifestazioni renali comprendono proteinuria, azotemia di grado variabile ed ipertensione arteriosa. L'ipotensione ortostatica, dovuta all'interessamento del sistema nervoso periferico, può complicare la malattia. La valutazione diagnostica di ogni paziente nefrosico dovrebbe includere l'immunofissazione sierica e urinaria, in quanto l'elettroforesi proteica potrebbe non essere sufficientemente sensibile per identificare tutti i pazienti con AL. La diagnosi definitiva si ottiene con il riscontro di depositi positivi al rosso-Congo nei tessuti.¹¹ La prognosi nei pazienti con amiloidosi è severa ed è raccomandata la terapia con melphalan e prednisone. Nonostante l'elevata mortalità e morbidità, i pazienti più giovani, con coinvolgimento cardiaco minimo, traggono benefici dal trapianto di cellule staminali. Nei pazienti con amiloidosi di tipo AA, il trattamento mira alla risoluzione dello stato infiammatorio cronico. La colchicina si è dimostrata efficace nel trattamento dell'amiloidosi, in particolare nella febbre familiare mediterranea.¹²

MALATTIE RENALI IMMUNO-MEDIATE ASSOCIATE A SINDROME NEFRITICA

Le seguenti entità si presentano tipicamente con i segni della sindrome nefritica.

Glomerulonefrite post-infettiva

Il prototipo della GN post-infettiva è la forma post-streptococcica; tuttavia anche altre infezioni, così come gli ascessi viscerali profondi, possono determinare GN. È una patologia dell'infanzia, che si manifesta caratteristicamente dai 10 ai 14 giorni dopo una faringite streptococcica o un'impetigine. I complessi antigene-anticorpo che si formano in circolo, si depositano a livello dei glomeruli, determinando l'attivazione del complemento e il reclutamento di neutrofili e monociti/macrofagi.¹³ I sintomi comprendono ematuria, edema ed ipertensione arteriosa. Oliguria e iperazotemia sono meno frequenti. Tra i dati sierologici peculiari vi sono bassi valori di C3, IC circolanti e crioglobuline, fattore reumatoide ed elevati livelli di IgG. La diagnosi si basa sulla dimostrazione di una precedente infezione streptococcica tramite il titolo della antistreptolisina O il titolo degli anti-Dnase B. La biopsia renale è raccomandata solo nel caso in cui la diagnosi sia dubbia. Al microscopio ottico si documenta una GN proliferativa diffusa con neutrofili presenti nei glomeruli. In ME si evidenziano depositi elettron-densi subepiteliali ("humps").¹⁴

Nella maggior parte dei bambini la forma è autolimitante; in alcuni adulti, la malattia è più spesso cronica. Sono raccomandati antibiotici e terapia di supporto. Altri batteri, come gli stafilococchi e i bacilli gram-negativi, sono in misura crescente responsabili di GN post-infettiva. Si presume che la patogenesi sia secondaria anche agli IC. I soggetti più frequentemente colpiti sono i diabetici, gli alcolisti e chi assume droga per via endovenosa.¹⁵

Nefropatia ad IgA

La NP ad IgA, la forma più comune, è considerata una

forma limitata al rene della porpora di Schönlein-Henoch (HSP). Diverse malattie possono essere associate alla NP ad IgA, come la spondilite anchilosante, la sindrome di Reiter, l'artrite reumatoide (AR), la malattia celiaca, le epatiti croniche, l'infezione da HIV o da HBV e alcune neoplasie, come la micosi fungoide. La maggior parte dei pazienti si presenta con ematuria microscopica asintomatica o macroscopica associata a faringite. La sindrome nefrosica e l'insufficienza renale acuta sono rare. La NP ad IgA è correlata alla galattosilazione aberrante delle molecole di IgA e ad una loro anormale clearance epatica e renale, con conseguente deposito a livello mesangiale.¹⁶ La biopsia renale è solitamente raccomandata solo nei pazienti con insufficienza renale progressiva o con proteinuria maggiore di 1 g/die.

All'immunofluorescenza si documentano depositi mesangiali di IgA. Nel siero vi sono elevati livelli di IgA1 polimeriche circolanti e di complessi contenenti IgA, il cui riscontro non è stato comprovato per l'uso diagnostico.

L'ESRD si presenta nel 20-30% di pazienti con NP a IgA dopo 20 anni. Fattori prognostici negativi sono: sesso maschile, ipertensione, esordio in giovane età, proteinuria massiva ed insufficienza renale alla diagnosi. Generalmente la terapia è riservata ai pazienti con funzionalità renale compromessa. I pazienti con malattia di grado lieve vanno sottoposti ad uno stretto monitoraggio controllando la pressione arteriosa in modo aggressivo con l'utilizzo di un ACE-inibitore. I corticosteroidi possono essere di parziale beneficio nei pazienti con funzione renale conservata e con proteinuria maggiore di 1 g/die. Gli agenti immunosoppressori non sono utili, se non nella RPGN associata a IgA. Uno studio recente ha descritto i vantaggi della terapia citotossica a lungo termine e del prednisone in soggetti con insufficienza renale moderatamente progressiva.¹⁷ L'olio di pesce può apportare qualche beneficio.¹⁸

Porpora di Schönlein-Henoch

La HSP è un disordine multisistemico, caratterizzato dal deposito di IC ad IgA negli organi affetti. I reperti istopatologici renali sono indistinguibili da quelli della NP a IgA, anche se nella parete dei capillari i depositi di IgA possono essere più numerosi. Lesioni glomerulari necrotizzanti, proliferazione endocapillare e depositi di fibrina sono più frequenti nella HSP.¹⁹ Questa forma colpisce soprattutto bambini di età inferiore a 10 anni, prevalentemente di sesso maschile. Si presenta spesso in seguito ad un'infezione del tratto respiratorio superiore e le manifestazioni comprendono dolori addominali, artralgie, rash purpurico alle estremità inferiori ed ematuria. È riportata l'associazione con l'ipersensibilità ai farmaci. Le manifestazioni renali sono generalmente autolimitanti, anche se è possibile che si verifichi insufficienza renale progressiva. Nonostante non vi siano studi sistematici, i corticosteroidi possono essere di aiuto nei pazienti con forma severa. I protocolli terapeutici impiegati per la RPGN da IC sono indicati nei pazienti con alterazioni a semiluna ed insufficienza renale. Sono state utilizzate anche le immunoglobuline endovena.²⁰

Lupus eritematoso sistemico

Spesso reumatologi e nefrologi collaborano nella cura dei soggetti con LES, nei quali si può osservare un ampio ventaglio di lesioni istologiche renali. La patogenesi, la classificazione e la terapia delle diverse forme di danno renale sono complesse e non possono essere discusse accuratamente in questo breve compendio. Si rimanda il lettore ad articoli più dettagliati.²¹⁻²⁸

Alterazioni renali si sviluppano nella maggior parte dei pazienti affetti da LES. L'anomalia renale più comune è la proteinuria, osservata nel 75% dei pazienti. L'ematuria e l'aumento della creatinina sierica si osservano in circa il 40 e 30% dei soggetti, rispettivamente. Data la prevalenza della malattia nelle donne giovani, è importante ricordare che la creatinina sierica è un indicatore sia del GFR che della massa muscolare. Nei soggetti con scarsa massa muscolare, un deterioramento significativo del GFR può coesistere con concentrazioni sieriche di creatinina nel range di normalità.

I quadri istologici, nei soggetti con LES che presentano alterazioni urinarie, si distinguono a seconda delle anomalie glomerulari visibili al microscopio ottico e in ME e dal tipo di depositi di immunoglobuline eventualmente presenti all'immunofluorescenza. La nefrite lupica mesangiale è una forma lieve che si osserva nel 10-20% dei soggetti affetti da nefrite lupica, con modesta proliferazione delle cellule glomerulari mesangiali e depositi immuni mesangiali. I soggetti presentano tipicamente ematuria macroscopica, senza un significativo decremento del GFR o una proteinuria nel range nefrosico.

La nefrite lupica proliferativa focale si osserva nel 10-20% dei casi di nefrite lupica. Alla biopsia renale si evidenzia l'interessamento di meno del 50% dei glomeruli da parte di aree segmentali di proliferazione. In ME e in immunofluorescenza si evidenziano depositi immuni sottoendoteliali e mesangiali. Questi pazienti presentano ematuria e proteinuria significativa e possono avere ipertensione e iperazotemia.

La nefrite lupica proliferativa diffusa è la forma più grave e comune. I pazienti presentano ematuria, proteinuria, ipertensione ed insufficienza renale. Ipocomplementemia ed elevati titoli di anticorpi anti-DNA sono costantemente presenti.

I reperti della biopsia renale, simili a quelli della malattia proliferativa focale, sono però molto più gravi ed estesi. Nei glomeruli si possono osservare proliferazione, necrosi ed alterazioni a semiluna, tipicamente in oltre il 50% dei glomeruli esaminati. In ME si osservano significativi depositi di immunoglobuline e complemento. L'interstizio è frequentemente alterato, con infiltrati di cellule mononucleari.

La MN si osserva nel 10-20% dei pazienti, tipicamente con sindrome nefrosica, cui può associarsi ipertensione. Alla biopsia si rileva ispessimento della membrana basale con depositi immuni sub-epiteliali visibili all'immunofluorescenza e alla ME. Questa sindrome può presentarsi in assenza di altre manifestazioni cliniche o sierologiche di LES. La presenza di depositi immuni in altre sedi glomerulari, vascolari e tubulari è suggestiva di MN lupica, più che di MN idiopatica. Lo spettro clinico della

MN nel LES è ampio, da una proteinuria in range non nefrosico, con normale funzionalità renale, alla nefrosi severamente disabilitante con insufficienza renale progressiva.

Le indicazioni alla biopsia renale nei soggetti con LES ed alterazioni urinarie, sono controverse e vanno al di là dell'ambito di questo articolo. È importante conoscere quanto i reperti biotipici potranno modificare la gestione del paziente. Il paziente con iperazotemia, ipertensione, proteinuria ed ematuria significative ha in genere una forma proliferativa diffusa, mentre il valore predittivo dell'esame istologico in presenza di quadri clinici meno severi è scarso. I reperti istologici influenzano il trattamento della nefrite lupica. Solitamente i pazienti con malattia mesangiale isolata non necessitano di terapia specifica per la patologia renale. Le GN proliferative, focale e diffusa, costituiscono uno spettro di patologie. Vi è consenso generale sul fatto che la GN proliferativa diffusa dovrebbe essere trattata in maniera aggressiva, con una duplice terapia a base di corticosteroidi e di un farmaco citotossico. I pazienti in remissione clinica dopo tale trattamento hanno una prognosi a lungo termine eccellente.²⁹ Una forma più lieve di malattia proliferativa focale può non richiedere una terapia così aggressiva. I casi di malattia proliferativa focale che presentano un più diffuso interessamento renale dovrebbero essere invece trattati come le forme diffuse. È difficile dire quali pazienti con malattia proliferativa focale in forma lieve potranno progredire, il che giustifica uno stretto follow-up di tali soggetti. Il trattamento ottimale della MN nel lupus dipende dalla severità globale della malattia. Coloro che presentano insufficienza renale o nefrosi grave dovrebbero probabilmente essere trattati come nella malattia proliferativa diffusa, mentre la forma più lieve può frequentemente essere controllata con il solo prednisone.

GN membranoproliferativa

Il termine GN membranoproliferativa (MPGN) descrive il tipico aspetto dei glomeruli in microscopia ottica, caratterizzato da proliferazione endocapillare e ispessimento della parete capillare glomerulare. Tale quadro si può presentare in associazione a diverse patologie oppure può essere l'espressione di una malattia idiopatica limitata al rene. Quest'ultima forma viene suddivisa in tre tipi (Tipo I, II e III) i quali a loro volta si distinguono in base alla localizzazione dei depositi elettron-densi in ME. Vi sono molte somiglianze cliniche tra questi tre tipi. La maggior parte dei pazienti si presenta con ematuria microscopica di entità variabile, proteinuria, ipertensione e insufficienza renale.³⁰ Il tipo II della MPGN idiopatica si presenta più comunemente come una GN acuta. Circa il 50% dei pazienti evolve verso ESRD entro 10 anni dalla diagnosi. Ipertensione e sindrome nefrosica costituiscono i fattori di rischio per la progressione. I glucocorticoidi sono più efficaci nei bambini che negli adulti,³¹ nei quali il trattamento a lungo termine con antiaggreganti può rallentare la progressione della malattia.³²

La MPGN secondaria è spesso associata a crioglobulinemia mista essenziale, la quale nella maggior parte dei casi è correlata ad infezione da epatite C.³³⁻³⁴ Questo

disordine è caratterizzato dalla presenza di una crioglobulina, una IgM monoclonale con azione di fattore reumatoide. La patogenesi del danno renale è legata sia alla deposizione di IC circolanti, con conseguente attivazione del complemento, che alle IgM monoclonali, in grado di riconoscere anche proteine endogene glomerulari. La forma secondaria ha caratteristiche in comune con quella idiopatica, ma si differenzia per la presenza anche di trombi e infiltrati di monociti nel lume del capillare glomerulare. La crioglobulinemia è una vasculite sistemica, con interessamento renale, che solitamente si manifesta con proteinuria, ematuria, insufficienza renale e ipertensione. L'interferone alfa e la ribavirina vengono utilizzati, sebbene sia ancora da chiarire la loro efficacia nella malattia renale associata ad epatite C. La rivabirina dovrebbe essere evitata, in caso di clearance della creatinina inferiore a 50 mL/min.

PATOLOGIE RENALI IMMUNO-MEDIATE CHE SI PRESENTANO FREQUENTEMENTE COME RPGN

Le RPGNs vengono comunemente suddivise in malattie mediate da autoanticorpi (anti-MBG), GN pauci-immuni (ad es. granulomatosi di Wegener [GW]) e malattie mediate da IC. Poiché le conoscenze su queste patologie diventano col tempo sempre più approfondite, la loro tradizionale classificazione immunologica potrebbe subire in futuro delle modificazioni.

Malattia da anticorpi anti-MBG

La malattia da anticorpi anti-MBG si può presentare con RPGN o come la tipica sindrome vasculitica pneumorenale, detta sindrome di Goodpasture. L'incidenza è bimodale: il primo picco colpisce soprattutto giovani maschi fumatori, che presentano la classica sindrome di Goodpasture, caratterizzata da GN proliferativa associata ad emorragia polmonare. Il secondo picco colpisce generalmente donne nella sesta o settima decade, nelle quali la malattia resta limitata al rene.

L'esordio è spesso brusco con oliguria o anuria, ematuria e anemia.³⁵ Al microscopio ottico nella maggior parte dei casi si osserva la presenza di semilune in più del 50% dei glomeruli, associata a necrosi fibrinoide delle strutture glomerulari adiacenti. All'immunofluorescenza si evidenzia un deposito lineare di IgG lungo la MBG. La diagnosi è confermata dall'identificazione di anticorpi circolanti diretti contro la catena $\alpha 3$ del collagene di tipo IV. Sia anticorpi che cellule T antigene-specifiche costituiscono probabilmente meccanismi effettori del danno renale.

Il trattamento immediato con prednisone e ciclofosfamide associato a plasmaferesi è essenziale.³⁶ La plasmaferesi viene effettuata quotidianamente finché gli anticorpi non diventano indosabili; dopo 6 mesi la ciclofosfamide può essere sostituita dall'azatioprina. Se il trattamento è tempestivo, la sopravvivenza dei pazienti raggiunge l'85% e quella del rene il 60%. In presenza di oliguria e creatininemia > 6 mg/dL, la probabilità di recupero del

rene è bassa, per cui i rischi correlati all'immunosoppressione vanno soppesati rispetto alla prognosi.³⁷ I pazienti migliorano con il trapianto, che può essere eseguito dopo almeno 6 mesi di negatività degli anticorpi anti-MBG.

Un terzo dei pazienti con anticorpi anti-MBG ha anche anticorpi circolanti anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) (sia p-ANCA che c-ANCA).³⁸ I pazienti con entrambi gli anticorpi circolanti hanno un decorso della malattia più mite rispetto ai soggetti positivi solamente agli anti-MBG; la terapia immunosoppressiva non dovrebbe essere negata neanche ai pazienti che richiedono la dialisi al momento dell'esordio.

GN pauci-immune a semilune

Nella GN pauci-immune, la causa più comune di RPGN negli adulti, il quadro istologico è caratterizzato dalla presenza di semilune associate a lesioni focali necrotizzanti nei glomeruli e nei piccoli vasi. La definizione "pauci-immune" è dovuta al mancato legame degli anticorpi o del complemento ai glomeruli colpiti.³⁹ Circa l'85-90% di soggetti risulta ANCA positivo. Un recente studio sperimentale suggerisce che il trasferimento passivo degli ANCA, in particolare degli anticorpi antimieloperossidasi, può determinare, in assenza di cellule T o B, lesioni focali necrotizzanti nei glomeruli.⁴⁰ È possibile inoltre che la completa espressione della malattia richieda l'attivazione delle cellule T come meccanismo effettore.⁴¹ Le maggiori sindromi renali ANCA-associate sono la granulomatosi di Wegener (GW), la poliangeite microscopica (MPA), e la sindrome di Churg-Strauss (CSS).

GW e MPA

Un terzo dei soggetti con GN pauci-immune ha una malattia limitata al rene, mentre i rimanenti presentano anche una vasculite sistemica dei piccoli vasi (svv). La malattia è spesso preceduta da prodromi simil-influenzali, seguiti da sintomi specifici come febbre, mialgie, artralgie e astenia. La GW è caratterizzata da una vasculite granulomatosa sistemica che interessa il tratto respiratorio superiore ed inferiore e il rene. La MPA si distingue per le lesioni vasculitiche non granulomatoze del tratto respiratorio inferiore.⁴² Si possono avere mononeurite multipla, interessamento cutaneo, articolare e addominale, e le manifestazioni renali possono variare dalla proteinuria ed ematuria associate a lieve insufficienza renale fino ad un rapido declino della funzionalità renale. Diversamente dalla malattia da anticorpi anti-MBG, il decorso è spesso recidivante. La svv ANCA+ è più frequente nei caucasici e generalmente colpisce soggetti di età superiore ai 50 anni. Esiste una correlazione tra il trattamento con propiltiouracile, idralazina, penicillamina e minociclina e lo sviluppo di vasculiti associate agli ANCA. L'infezione nasale cronica da *Stafilococcus Aureus* rappresenta un fattore di rischio per la recidiva della GW.⁴³

La diagnosi si basa sul quadro clinico, sul tipo di patologia renale e sui dati sierologici. Gli anticorpi c-ANCA sono generalmente associati alla GW, mentre quelli p-

ANCA si associano alla MPA e alla CSS, anche se in realtà si possono verificare delle sovrapposizioni. Le attuali raccomandazioni suggeriscono l'esecuzione del test ELISA che permette di rilevare i marcatori più specifici antimieloperossidasi (p-ANCA) e antiproteinasi 3 (c-ANCA).⁴⁴⁻⁴⁵ In microscopia ottica le lesioni glomerulari sono simili a quelle della malattia anti-MBG; nella GW e nella CSS è possibile osservare granulomi nell'interstizio o nelle arterie.

Il trattamento prevede l'utilizzo di corticosteroidi e ciclofosfamide. La plasmateresi è raccomandata nei pazienti che necessitano di emodialisi al momento dell'esordio. Il cotrimossazolo può ridurre la frequenza di recidive.⁴⁶ Il methotrexate è controindicato nei pazienti con clearance della creatinina inferiore a 60 mL/min. La GN pauci-immune e la svv possono recidivare dopo trapianto, ma una positività agli ANCA al momento del trapianto non sembra aumentare il rischio di recidiva.

CSS

La CSS è caratterizzata da asma ad esordio recente, rinite allergica ed eosinofilia in presenza di svv. L'interessamento cardiaco, addominale e del sistema nervoso periferico è comune. L'incidenza di coinvolgimento renale nella CSS varia dal 20 al 88% e generalmente è di lieve entità. I soggetti colpiti presentano ematuria e proteinuria, mentre il quadro biotico renale mostra lesioni necrotizzanti focali segmentali o diffuse. Solo raramente si osservano granulomi interstiziali. Come in altre GN ANCA+, l'immunofluorescenza e la ME mostrano pochi depositi densi o di immunoglobuline.⁴⁷ La CSS viene trattata in maniera efficace con i corticosteroidi. L'impiego di ciclofosfamide e interferone- α è attualmente in fase di studio.⁴⁸

RPGN mediata da IC

Nei bambini le malattie da IC costituiscono la maggior parte dei casi di RPGN. La sindrome emolitico-uremica è la causa più frequente e le manifestazioni includono anemia emolitica microangiopatica, trombocitopenia e insufficienza renale. Altre cause sono la NP ad IgA, la GN post-infettiva, la MPGN, il LES, la crioglobulinemia e la HSP. Nella GN da IC, i glomeruli intatti si distinguono per le caratteristiche della malattia sottostante, mentre in ME si possono osservare depositi di IC glomerulari elettron-densi. La terapia dipende dalla causa primaria. Viene raccomandata una terapia di supporto e, una volta esclusa un'infezione, si possono utilizzare prednisone e agenti citotossici. La risposta della forma mediata da IC alle terapie convenzionali è minore rispetto alle altre forme e la plasmateresi non offre alcun vantaggio nei pazienti già in dialisi.⁴⁹

Manifestazioni renali di altre patologie reumatiche

L'incidenza di alterazioni renali nei pazienti con connettivite mista è variabile. Molti pazienti presentano ematuria microscopica e proteinuria di basso grado. Data la possibile evoluzione della malattia in lupus o sclerosi

sistemica, le lesioni renali assomigliano a quelle caratteristiche di tali disordini.

L'interessamento renale nella malattia di Behçet va dallo 0 al 55%. Le manifestazioni più comuni sono ematuria asintomatica, proteinuria, amiloidosi, GN e interessamento vascolare.⁵⁰

Le manifestazioni renali in corso di AR sono molteplici, ma il danno renale tende ad essere lieve. Nella maggior parte dei casi esso è correlato alla terapia farmacologica e all'amiloidosi secondaria. In questi pazienti si possono osservare anche la GN mesangioproliferativa e la MN.⁵¹ Per la ipotrofia muscolare legata alla malattia, i soggetti con AR solitamente hanno una ridotta creatinina sierica, la cui valutazione può pertanto portare a sottostimare il vero GFR e ad applicare un dosaggio farmacologico inappropriato. La formula di Cockcroft-Gault per la stima del GFR ($GFR = \{140 - \text{età}\} \times \text{peso corporeo} / \{72 \times \text{creatinina sierica}\}$) [$\times 0,85$ per le donne]) viene utilizzata per la sua efficacia nel predire la funzionalità renale in tali pazienti.⁵²

Malattia sclerodermica renale

La crisi renale sclerodermica colpisce dal 10 al 20% dei pazienti con sclerosi sistemica. Le manifestazioni renali si sviluppano precocemente e generalmente colpiscono pazienti con sclerodermia diffusa. L'evento patologico iniziale è sconosciuto, ma il danno delle cellule endoteliali e l'ischemia tissutale risultante sembrano precipitare il "circolo vizioso di spasmo ed ischemia".⁵³

L'alterazione del tono vasomotore contribuisce all'eccessivo rilascio di renina, che sembra avere valore diagnostico.⁵⁴ I pazienti sviluppano in maniera silente una insufficienza renale rapidamente progressiva associata ad ipertensione, ematuria e proteinuria. L'anemia emolitica microangiopatica si verifica in circa il 40% dei casi. Anche i pazienti normotesi con sclerodermia possono sviluppare insufficienza renale. Il quadro biotico renale mostra un ispessimento dell'intima delle arterie e un deposito non-specifico di IgM e C3 nei vasi renali. In passato i decessi erano comuni. Oggi, l'uso degli ACE-inibitori ha ovviato alla necessità della nefrectomia e ha ridotto di molto il tasso di mortalità. Il trapianto di cellule staminali e il trapianto renale hanno avuto successo in casi selezionati. È raccomandato anche un attento monitoraggio della pressione arteriosa in tutti i soggetti con sclerosi sistemica diffusa.

Disordini immuno-mediati dell'interstizio tubulare

La AIN è caratterizzata, dal punto di vista istologico, da infiammazione dell'interstizio della corticale renale. I nefrologi solitamente distinguono la nefrite tubulo-interstiziale primaria, nella quale i reperti patologici sono limitati al solo interstizio e la nefrite interstiziale secondaria, in cui all'infiammazione interstiziale si associa il danno del glomerulo e/o dei piccoli vasi renali. Quest'ultima si riscontra frequentemente in molte forme di glomerulopatia primaria, ed infatti le anomalie interstiziali (incluse infiammazione, fibrosi e atrofia tubulare) correlano con la riduzione del GFR meglio delle alterazioni del compartimento glomerulare.

Si ritiene che la patogenesi della AIN sia correlata ad una risposta immunitaria verso antigeni presenti all'interno dei tubuli o nell'interstizio oppure ad una risposta immunitaria che cross-reagisce con questi antigeni. Il quadro clinico della AIN si può associare ad infiammazione interstiziale con infiltrato di cellule mononucleate, di cellule mononucleate ed eosinofili, di cellule mononucleate ed anticorpi, o di cellule mononucleate e IC. Il tipo di danno immunologico dipende probabilmente dalle complesse interazioni tra la natura dell'insulto iniziale e fattori dell'ospite. La patogenesi e gli aspetti clinici della nefrite interstiziale sono stati recentemente rivisitati.⁵⁵

La più comune causa di AIN è una reazione da ipersensibilità ai farmaci. Gli antibiotici, specialmente penicillina e farmaci della classe delle cefalosporine, sono più spesso in causa. L'esordio tipico è caratterizzato da insufficienza renale acuta accompagnata da febbre, rash ed eosinofilia. Questa triade di sintomi è più caratteristica della AIN indotta da farmaci come la penicillina, ma anche in questo caso tutti e tre i sintomi compaiono probabilmente soltanto in un terzo dei pazienti. Molti soggetti con AIN accertata istologicamente non presentano mai febbre, rash o eosinofilia. L'insufficienza renale acuta si sviluppa dopo 10-14 giorni di terapia antibiotica. Questo arco temporale può essere marcatamente ridotto nei soggetti precedentemente esposti al farmaco incriminato. Si ha insufficienza renale acuta non oligurica, con frazione di escrezione del sodio superiore all'1%. L'esame delle urine può mostrare un elevato numero di leucociti, inclusi gli eosinofili; inoltre spesso si osserva ematuria microscopica. I livelli sierici del complemento sono normali. Alla sospensione del farmaco responsabile normalmente segue, nel giro di alcuni giorni o settimane, la risoluzione dell'insufficienza renale acuta, con una seconda fase, più lenta, di ritorno alla funzionalità renale di base, che avviene nello spazio di diversi mesi.

Altri farmaci associati a AIN sono gli antibiotici sulfonamidici, i fluorochinoloni, gli agenti antivirali (acyclovir, forscarnet), i diuretici (tiazidici e furosemide) e i FANS. La AIN secondaria ai diuretici è più rara rispetto alla iperazotemia da deplezione di volume indotta dal diuretico. La forma associata ai FANS è atipica, in quanto si verifica dopo mesi dall'uso del farmaco ed è spesso associata a sindrome nefrosica (assenza di lesioni alla biopsia renale). Si rimanda il lettore ad altri testi per la lista completa di farmaci associati alla AIN.

Tra gli agenti infettivi vi sono streptococchi, stafilococchi, *Legionella*, *Yersinia*, *Brucella*, *Pseudomonas*, *Leishmania*, e i virus Epstein-Barr e del morbillo. La nefrite interstiziale non sembra essere dovuta a infezione del parenchima renale, ma piuttosto ad una risposta immunitaria nei confronti dell'interstizio.

Una AIN può verificarsi in corso di malattie sistemiche come LES, sarcoidosi (dove è possibile osservare la presenza di un infiltrato interstiziale granulomatoso) e sindrome di Sjögren. Può associarsi a uveite e irite (la cosiddetta sindrome TINU, tubulointerstitial nephritis and uveitis), più frequentemente in giovani donne, o presentarsi raramente come malattia autoimmune primaria associata ad anticorpi contro la membrana basale tubulare e infiltrato di cellule mononucleate. La TINU può associarsi ad iper-

gammaglobulinemia, positività del fattore reumatoide ed elevata velocità di eritrosedimentazione.

La terapia della AIN dipende dalla causa sottostante. In ogni caso, bisogna controllare elettroliti ed equilibrio acido-base, così come valutare la necessità di un intervento dialitico temporaneo. La sospensione del farmaco è fondamentale nelle forme iatrogene, allo scopo di impedire la progressione verso una nefrite interstiziale cronica. Per la AIN di natura infettiva, il trattamento e la risoluzione dell'infezione sottostante sono sufficienti per determinare un miglioramento della funzione renale. Per le malattie sistemiche o le forme autoimmuni primarie è necessaria la terapia immunosoppressiva sistemica. Non vi sono studi clinici controllati sulla terapia con corticosteroidi nella nefrite interstiziale indotta da farmaci. Dati retrospettivi e aneddotici suggeriscono che i pazienti migliorano più rapidamente con gli steroidi e hanno valori di creatinina sierica più bassi, rispetto ai soggetti che sono migliorati senza il ricorso ai corticosteroidi. Sono stati descritti alcuni casi che supportano l'efficacia della ciclosporina e della ciclofosfamide nella AIN.

Tossicità renale dei farmaci comunemente usati dai reumatologi

Numerose terapie antireumatiche sono nefrotossiche e un uso simultaneo di questi farmaci con i FANS può precipitare una malattia renale. I FANS possono causare una MCNS associata a nefrite interstiziale (vedi sopra). Eosinofilia e rash sono solitamente assenti. Fortunatamente, la NP indotta da FANS è spesso reversibile; gli steroidi sono utili nei casi severi.⁵⁶ I FANS possono anche causare necrosi papillare renale o alterazioni funzionali correlate ai cambiamenti nell'emodinamica renale. La terapia con Sali d'oro è associata più spesso alla MN, ma sono state riportate anche MCNS e GN mesangiale. La proteinuria si osserva nel 7-18% dei pazienti trattati con D-penicillamina, compare dopo 6-12 mesi di terapia con questi agenti antireumatici ed è generalmente reversibile, anche se può impiegare un anno per scomparire dopo la sospensione della terapia.⁵⁷ La ciclosporina causa una costrizione dell'arteriola afferente renale; alla biopsia si rilevano fibrosi interstiziale focale, atrofia tubulare e ialinosi arteriolare. La tossicità dipende dalla dose utilizzata ($\geq 5\text{mg/kg/die}$), dall'età del paziente (>65 anni) e dall'entità della malattia renale sottostante. Si raccomanda di controllare attentamente la funzione renale, soprattutto negli anziani e di evitare il contemporaneo uso di FANS.⁵⁸ Il methotrexate raramente è causa di tossicità renale; esso viene escreto dal rene e può accumularsi in pazienti con insufficienza renale.

BIBLIOGRAFIA

1. The primary nephrotic syndrome in children. Identification of patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. *J Pediatr* 1981;98:561-4.
2. Nolasco F, Cameron JS, Heywood EF, Hicks J, Ogg C, Williams DG. Adult-onset minimal change nephrotic syndrome: a long-term follow-up. *Kidney Int* 1986;29:1215-23.

3. Cunard R, Kelly CJ. T cells and minimal change disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1409-11.
4. Couser WG. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(suppl 1):10-5.
5. Cattran DC. Idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 2001;59:1983-94.
6. Ponticelli C, Zucchelli P, Passerini P, Cesana B. Methylprednisolone plus chlorambucil as compared with methylprednisolone alone for the treatment of idiopathic membranous nephropathy. The Italian Idiopathic Membranous Nephropathy Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1992;327:599-603.
7. Cattran DC. Membranous nephropathy: quo vadis? *Kidney Int* 2002;61:349-50.
8. Bolton WK, Abdel-Rahman E. Pathogenesis of focal glomerulosclerosis. *Nephron* 2001;88:6-13.
9. Korbet SM. Primary focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1333-40.
10. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarthy ET, Swan SK, Ellis E, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996;334:878-83.
11. Greenberg A. Primer on kidney diseases. In: Sanders PW, editor. *Dysproteinemias and amyloidosis*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1998.
12. Livneh A, Zemer D, Langevitz P, Laor A, Sohar E, Pras M. Colchicine treatment of AA amyloidosis of familial Mediterranean fever: an analysis of factors affecting outcome. *Arthritis Rheum* 1994;37:1804-11.
13. Savill J. Apoptosis in post-streptococcal glomerulonephritis. *Kidney Int* 2001;60:1203-14.
14. Rodriguez-Iturbe B. Postinfectious glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2000;35:46-8.
15. Montseny JJ, Meyrier A, Kleinknecht D, Callard P. The current spectrum of infectious glomerulonephritis: experience with 76 patients and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1995;74:63-73.
16. Floege J, Feehally J. IgA nephropathy: recent developments. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:2395-403.
17. Ballardie FW, Roberts IS. Controlled prospective trial of prednisolone and cytotoxics in progressive IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:142-8.
18. Nolin L, Courteau M. Management of IgA nephropathy: evidence-based recommendations. *Kidney Int Suppl* 1999;70:S56-62.
19. Davin JC, Ten Berge IJ, Weening JJ. What is the difference between IgA nephropathy and Henoch-Schonlein purpura nephritis? *Kidney Int* 2001;59:823-34.
20. Rai A, Nast C, Adler S. Henoch-Schonlein purpura nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:2637-44.
21. Berden JH. Lupus nephritis. *Kidney Int* 1997;52:538-58.
22. Cameron JS. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:413-24.
23. Foster MH, Kelley VR. Lupus nephritis: update on pathogenesis and disease mechanisms. *Semin Nephrol* 1999;19:173-81.
24. Huong DL, Papo T, Beauvils H, Wechsler B, Bletty O, Baumelou A, et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 1999;78:148-66.
25. Lee HS, Mujais SK, Kasinath BS, Spargo BH, Katz AI. Course of renal pathology in patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1984;77:612-20.
26. Lefkowitz JB, Gikleson GS. Nephritogenic autoantibodies in lupus: current concepts and continuing controversies. *Arthritis Rheum* 1996;39:894-903.
27. Austin HA, Balow JE. Natural history and treatment of lupus nephritis. *Semin Nephrol* 1999;19:2-11.
28. Austin HA, Balow JE. Treatment of lupus nephritis. *Semin Nephrol* 2000;20:265-76.
29. Korbet SM, Lewis EJ, Schwartz MM, Reichlin M, Evans J, Rohde RD. Factors predictive of outcome in severe lupus nephritis. *Lupus Nephritis Collaborative Study Group*. *Am J Kidney Dis* 2000;35:904-14.
30. Cameron JS, Turner DR, Heaton J, Williams DG, Ogg CS, Chantler C, et al. Idiopathic mesangiocapillary glomerulonephritis: comparison of types I and II in children and adults and long-term prognosis. *Am J Med* 1983;74:175-92.
31. West CD. Childhood membranoproliferative glomerulonephritis: an approach to management. *Kidney Int* 1986;29:1077-93.
32. Zauner I, Bohler J, Braun N, Grupp C, Heering P, Schollmeyer P. Effect of aspirin and dipyridamole on proteinuria in idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis: a multicentre prospective clinical trial. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:619-22.
33. Rennke HG. Secondary membranoproliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995;47:643-56.
34. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993;328:465-70.
35. Salama AD, Levy JB, Lightstone L, Pusey CD. Goodpasture's disease. *Lancet* 2001;358:917-20.
36. Jindal KK. Management of idiopathic crescentic and diffuse proliferative glomerulonephritis: evidence-based recommendations. *Kidney Int Suppl* 1999;70:S33-40.
37. Pusey CD, Lockwood CM, Peters DK. Plasma exchange and immunosuppressive drugs in the treatment of glomerulonephritis due to antibodies to the glomerular basement membrane. *Int J Artif Organs* 1983;6(suppl 1):15-8.
38. Kalluri R, Meyers K, Mogyrosi A, Madaio MP, Neilson EG. Goodpasture syndrome involving overlap with Wegener's granulomatosis and anti-glomerular basement membrane disease. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1795-800.
39. Stilmant MM, Bolton WK, Sturgill BC, Schmitt GW, Couser WG. Crescentic glomerulonephritis without immune deposits: clinicopathologic features. *Kidney Int* 1979;15:184-95.
40. Xiao H, Heeringa P, Hu P, Liu Z, Zhao M, Aratani Y, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for myeloperoxidase cause glomerulonephritis and vasculitis in mice. *J Clin Invest* 2002;110:955-63.
41. Cunningham MA, Huang XR, Dowling JP, Tipping PJ, Holdsworth SR. Prominence of cell-mediated immunity effectors in "pauci-immune" glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:499-506.
42. Ambrus JL Jr, Sridhar NR. Immunologic aspects of renal disease. *JAMA* 1997;278:1938-45.
43. Savage CO. ANCA-associated renal vasculitis. *Kidney Int* 2001;60:1614-27.
44. Franssen CF, Stegeman CA, Kallenberg CG, Gans RO, De Jong PE, Hoorntje SJ, et al. Antiproteinase 3- and antimyeloperoxidase-associated vasculitis. *Kidney Int* 2000;57:2195-206.
45. Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 1988;318:1651-7.
46. de Groot K, Adu D, Savage CO. The value of pulse cyclophosphamide in ANCA-associated vasculitis: meta-analysis and critical review. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:2018-27.
47. Eustace JA, Nadasdy T, Choi M. Disease of the month: the Churg Strauss syndrome. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:2048-55.
48. Gross WL. Churg-Strauss syndrome: update on recent developments. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14:11-4.
49. Bolton WK. Treatment of glomerular diseases: ANCA-negative RPGN. *Semin Nephrol* 2000;20:244-55.
50. Akpolat T, Akkoyunlu M, Akpolat I, Dilek M, Odabas AR, Ozen S. Renal Behçet's disease: a cumulative analysis. *Semin Arthritis Rheum* 2002;31:317-37.

51. Helin HJ, Korpela MM, Mustonen JT, Pasternack AI. Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995;38:242-7.
52. Anders HJ, Rihl M, Loch O, Schattenkirchner M. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine in patients with rheumatoid arthritis: comparison of six formulae and one nomogram. *Clin Rheumatol* 2000;19:26-9.
53. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:861-78.
54. Donohoe JF. Scleroderma and the kidney. *Kidney Int* 1992;41:462-77
55. Michel DM, Kelly CJ. Acute interstitial nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:506-15.
56. De Broe ME, Elseviers MM. Analgesic nephropathy. *N Engl J Med* 1998;338:446-52.
57. Schiff MH, Whelton A. Renal toxicity associated with disease-modifying antirheumatic drugs used for the treatment of rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2000;30:196-208.
58. Cush JJ, Tugwell P, Weinblatt M, Yocum D. US consensus guidelines for the use of cyclosporin A in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26:1176-86.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Nel capitolo si affrontano le diverse malattie renali immunomediate.

Sanchorawala ha recentemente proposto un'ampia revisione della amiloidosi a catene leggere, rivisitando in particolare la diagnosi e il trattamento di questa forma¹. Le modalità di esordio, con vaghi sintomi aspecifici, comportano spesso un ritardo nella diagnosi, tanto che spesso la terapia inizia quando ormai vi è danno d'organo. È quindi importante pensare all'amiloidosi a catene leggere quando in un soggetto vi siano proteinuria, cardiomiopatia, neuropatia ed epatomegalia non spiegate o in un soggetto con mieloma multiplo e manifestazioni atipiche. Per la diagnosi è oggi disponibile il test per le catene leggere libere nel siero (in nefelometria), che ha il vantaggio di una maggiore sensibilità, superiore di 10 volte a quella della immunofissazione. Nell'ambito della terapia, gli studi dimostrano come la disfunzione d'organo e la mortalità migliorano se si instaura una terapia in grado di ridurre la sintesi della proteina amiloidogenica, ricorrendo non solo al melphalan, ma anche a nuove opzioni terapeutiche, come il trapianto autologo di precursori emopoietici circolanti, trapianto allogenico e la somministrazione di talidomide. Dati ancora parziali sono oggi disponibili sull'efficacia della terapia con anti-TNF- α , con lenalidomide o con l'inibitore proteosomico bortezomid.

Per quanto riguarda la porpora di Henoch-Schönlein, Weiss et al. hanno condotto una meta-analisi sulla letteratura disponibile dal 1956 ad oggi sul ruolo dei corticosteroidi, concludendo che il trattamento con questi agenti, soprattutto se somministrati in fase precoce di malattia, non comporta una riduzione del tempo mediano di risoluzione del quadro addominale, ma può ridurre in maniera significativa il tempo medio di guarigione e il rischio di sviluppare una malattia renale.² I maggiori risultati nello studio delle nefriti immuno-mediate si sono sicuramente ottenuti negli ultimi anni nel campo del lupus eritematoso sistemico.

Nuovi dati sono emerse nel campo della patogenesi.³ Oggi è noto che la risposta al danno è geneticamente determinata;⁴ in modelli sperimentali alcuni ceppi murini rispondono con una reazione infiammatoria, altri con una reazione fibrosante al deposito di anticorpi nel glomerulo renale. Al reclutamento di cellule flogistiche segue l'amplificazione della risposta con meccanismo a cascata e coinvolgimento delle cellule residenti nell'organo bersaglio. La malattia glomerulare è quindi la risultante dell'interazione tra agenti scatenanti e modulanti come fattori genetici, prodotti dell'immunità innata, citochine, complemento e cellule attivate (cellule sia endoteliali renali sia appartenenti al sistema immunitario come linfociti B, T e cellule dendritiche, guidate dalla produzione locale di chemiochine).^{5,6} Da questi dati emergono alcune considerazioni importanti: innanzitutto la malattia lupica rappresenta una costellazione di sintomi e segni che rappresentano lo stadio finale delle interrelazioni tra differenti geni predisponenti e più agenti scatenanti ambientali; inoltre, un agente farmacologico può migliorare un aspetto della disregolazione immunitaria presente in un dato organo, ma, nello stesso tempo, può comprometterla in un altro. Il trattamento dei soggetti affetti da lupus non può quindi essere univoco. In clinica, oggi si distinguono trattamenti di induzione della remissione e di mantenimento della stessa. I primi dati rilevanti vengono dall'Euro-lupus nephritis trial, coordinato da F.Houssiau.^{7,8} Il cosiddetto protocollo NIH, basato sull'infusione di alte dosi di ciclofosfamide (>10g) ha rappresentato per anni la terapia di riferimento per la lupus nefrite. Una meta-analisi di tutti gli studi pubblicati per la lupus nefrite ha però evidenziato come questo regime comporti ancora un prezzo elevato in termini di effetti collaterali, soprattutto infezioni e insufficienza gonadica, mentre si conosce solo in parte il rischio neoplastico a distanza. Un'altra considerazione ha mosso i ricercatori europei: una nefrite lupica viene oggi più spesso diagnosticata in fase iniziale (classe III secondo la definizione dell'OMS), per cui forse non è sempre necessario ricorrere a dosi così elevate di ciclofosfamide. Da qui l'intento di provare l'efficacia e la sicurezza, di dosi cumulative minori di ciclofosfamide. I risultati dello studio europeo documentano come dosi ridotte di ciclofosfamide siano parimenti efficaci del regime ad alte dosi ed abbiano un minor impatto in termini di effetti collaterali, lasciando inoltre l'opportunità di poter nuovamente ricorrere alla ciclofosfamide in caso di recidiva della malattia lupica.

Recentemente più studi hanno dimostrato la pari, e forse superiore, efficacia della terapia con micofenolato mofetile, inibitore selettivo della inosina-monofosfato-deidrogenasi, rispetto alla ciclofosfamide, nell'indurre la remissione completa in soggetti con nefrite lupica. Il farmaco si è dimostrato superiore nel mantenere la remissione anche nel follow-up a lungo termine, valutando l'esito anche come insufficienza renale e exitus.^{9,10} Ancora oggi comunque i tassi di remissione non sono ottimali e le recidive si riprestano con una frequenza estremamente elevata, spingendo quindi alla ricerca di nuove alternative terapeutiche. Alcuni piccoli trial hanno valutato più agenti, come la mizoribina, un altro inibitore della inosina-monofosfato-deidrogenasi, il tacrolimus e la leflunomide, ma la loro reale efficacia deve essere ancora dimostrata.

Agenti biologici diretti contro TNF- α sono in grado di indurre il LES in ceppi murini e, nell'uomo, la comparsa di autoanticorpi anti-DNA e di una forma lupus-like. È stata segnalata anche la comparsa di lupus nefrite. Nonostante questi dati, un piccolo studio ha esaminato l'efficacia di infliximab in sei soggetti con lupus nefrite, che ha portato ad una riduzione importante della proteinuria. Negli stessi soggetti si è osservato un aumento dei titoli di anticorpi anti-DNA e anti-cardiolipina, sebbene senza riattivazione di malattia.¹¹

Le immunoglobuline endovenose (IVIg) si impiegano nella nefrite lupica resistente ad altri agenti, anche se mancano studi controllati sulla loro applicazione, per cui il loro ruolo nel LES rimane controverso.¹²

L'efficacia della deplezione dei linfociti B, ottenuta con un anticorpo monoclonale diretto contro CD20 (rituximab), è oggetto di alcuni studi in cui non sono ancora disponibili i dati clinici definitivi. Emerge da questi studi un'importante osservazione: in

un piccolo gruppo di soggetti trattati, la ricostituzione della popolazione B che segue alla terapia con anti-CD20, si associa a una perdita della memoria dei linfociti B autoreattivi, suggerendo quindi un possibile ruolo come modificatore della malattia per questo agente. Va comunque ricordato come non sia nota la sicurezza a lungo termine per questo farmaco, soprattutto dopo infusioni ripetute, come è necessario nei soggetti con lupus nefrite, anche per quanto riguarda l'immunità anticorpale.¹³ Infine, un interessante articolo è dedicato a un nuovo campo, quello relativo allo spettro delle patologie renali che si possono osservare in corso di trapianto autologo e allogenico di cellule emopoietiche¹⁴. Chang et al. presentano una serie di venti casi e una revisione della letteratura, proponendo anche una classificazione di queste malattie renali. Si distinguono infatti a) complicanze relative al trapianto di cellule emopoietiche (e alla terapia di condizionamento, immunosoppressiva o dopo trapianto); b) patologia dei podociti; c) nefropatia membranosa; d) recidiva o persistenza della primitiva malattia ematologica. In queste forme la biopsia renale è essenziale per la diagnosi della sottostante patologia renale e per il successivo intervento terapeutico.

Riferimenti bibliografici

1. **Light-chain (AL) Amyloidosis: diagnosis and treatment**
Sancharawala V
Clin J Am Soc Nephrol. 2006; 1: 1331-1341
2. **Effects of corticosteroid on Henoch-Schonlein purpura: a systematic review**
Weiss PF, Feinstein JA, Luan X, Burnham JM, Feudtner C
Pediatrics 2007 nov; 120 (5): 1079-87
3. **Pathology of lupus nephritis**
Lewis EJ, Schwartz MM
Lupus 2005; 14: 31-8
4. **Genetics of lupus nephritis**
Lauwerys BR, Wakeland EK
Lupus 2005; 14: 2-12
5. **Glomerular podocytopathy in patients with systemic lupus erythematosus**
Kraft SW, Schwartz MM, Korbet SM, Lewis EJ
J Am Soc Nephrol 2005; 16: 175-9
6. **Identification of autoantibody clusters that best predict lupus disease activity using glomerular proteome arrays**
Li QZ, Xie C, Wu T
J Clin Invest 2005; 115: 3428-39
7. **Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide**
Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Danieli MG, et al
Arthritis Rheum 2002; 46: 2121-31
8. **Early response to immunosuppressive therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis: lessons from the long-term follow-up of the Euro-Lupus Nephritis Trial**
Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Danieli MG, et al
Arthritis Rheum 2004; 50: 3934-40
9. **Mycophenolate mofetil or cyclophosphamide for lupus nephritis**
Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C et al
New Engl J Med 2005; 353: 2219-28
10. **Long term study of Mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis**
Chan TM, Tse KC, Tang CS et al
J Am Soc Nephrol 2005; 16: 1076-84
11. **Cytokine expression in lupus kidneys**
Aringer M, Smolen JS
Lupus 2005; 14: 13-8
12. **High dose intravenous immunoglobulins: an option in the treatment of systemic lupus erythematosus**
Zandman-Goddard G, Levy Y, Shoenfeld Y
Clin Rev Allergy Immunol 2005; 29: 219-28

13. Rituximab anti-B cell therapy in systemic lupus erythematosus: pointing to the future

Sfikakis PP, Boletis JN, Tsokos GC

Curr Opin Rheumatol 2005; 17: 550-7

14. Spectrum of renal pathology in hematopoietic cell transplantation: a series of 20 patients and review of the literature

Chan A, Hingorani S, kowalewska J, Flowers ME, Aneja T, Smith KD, Meehan SM, Nicosia RF, Alpers CE

Clin J AM Soc Nephrol. 2007 Sep; 2(5): 1014-23

19. Disordini immunologici gastroenterologici ed epatobiliari

Si ritiene che una serie di disordini gastroenterologici ed epatobiliari abbiano una base immunologica; tuttavia il livello di conoscenza dell'immunopatogenesi è ampiamente variabile in queste differenti condizioni. Per alcune, come la malattia celiaca, sono stati identificati importanti determinanti genetici ed ambientali, così come uno specifico trattamento. Per altre, come l'anemia perniciosa e le malattie infiammatorie croniche intestinali, modelli animali hanno consentito notevoli progressi nella ricerca. Due condizioni, le malattie infiammatorie croniche intestinali e la colangite sclerosante, appaiono strettamente associate. Sebbene la maggior parte di queste condizioni sia attualmente trattata con farmaci anti-infiammatori non selettivi e immunosoppressori, recenti ricerche hanno introdotto nuovi agenti biologici, come evidenziato dal successo dell'utilizzo dell'infliximab per la malattia di Crohn.

SISTEMA IMMUNE MUCOSALE

Il sistema immune mucosale del tratto gastrointestinale (GI) è composto da strutture specializzate, come le placche di Peyer, i linfonodi mesenterici e la lamina propria intestinale. La maggior parte delle cellule dell'immunità, negli esseri umani, è associata al tratto gastrointestinale, a dimostrazione della sua intensa interazione con l'ambiente interno ed esterno. Nel contesto di queste strutture, una complessa varietà di cellule va incontro a continui fenomeni di attivazione, migrazione e *homing*, differenziazione terminale ed espressione di funzioni effettrici, come il rilascio di anticorpi e numerosi mediatori e la funzione citotossica. Questo complicato sistema fornisce all'ospite meccanismi di protezione contro l'invasione da parte di possibili patogeni e allo stesso tempo consente la tolleranza nei confronti di prodotti della digestione potenzialmente immunogeni e della normale flora batterica intestinale residente.

Il bilancio tra i meccanismi che controllano le risposte immunitarie protettive e l'infiammazione e quelli che generano la tolleranza o uno stato di non responsività determina la natura della risposta dell'ospite e il modello fisiopatologico osservati in risposta a differenti stimoli immunologici (Tabella I).

Le differenze fondamentali tra tolleranza e immunità nel tubo digerente sono, altresì, essenziali per la compren-

Abbreviazioni utilizzate:

AIRE:	Gene del regolatore autoimmune
ANA:	Anticorpi anti-nucleo
anti-LKM-1:	Anticorpi anti-microsoma tipo 1 del fegato/rene
anti-SLA/LP:	Anticorpi anti-antigeni solubili del fegato/fegato-pancreas
CREST:	Calcinosi, fenomeno di Raynaud, dismotilità esofagea, sclerodattilia, teleangectasie
CYP:	Citocromo P
ELISA:	Enzyme linked immuno sorbent assay
GI:	Gastrointestinale
IBD:	Malattia infiammatoria intestinale/Inflammatory bowel disease
Ig:	Immunoglobulina
IL:	Interleuchina
pANCA:	Anticorpi contro il citoplasma dei neutrofili con pattern perinucleare
CBP/PBC:	Cirrosi biliare primitiva/ primary biliary cirrhosis
CSP/PSC:	Colangite sclerosante primitiva/Primary sclerosing cholangitis
SMA:	Anticorpi anti-muscolo liscio
TNF:	Tumor necrosis factor

sione della patogenesi dell'autoimmunità e lo sviluppo di vaccini orali.

La principale risposta immune umorale dell'intestino conduce alla produzione di immunoglobuline (Ig) A. Anche il fegato ha un ambiente immunologico peculiare. Le cellule di Kupffer sono il principale componente del sistema reticolo-endoteliale e rispondono ai contenuti del tratto alimentare che raggiungono il sistema portale attraverso l'intestino. In aggiunta, le cellule *natural killer* (NK) costituiscono un precoce sistema di difesa specializzato nel fegato.

GASTRITE AUTOIMMUNE (ANEMIA PERNICIOSA)

Background

L'anemia perniciosa è un disordine caratterizzato da deficit di vitamina B₁₂, causato da una gastrite atrofica cronica autoimmune¹. La malattia è indolente ed è solitamente identificata solo in soggetti anziani, nei quali rappresenta la principale causa di deficienza di

Traduzione italiana del testo di:

Stephen P. James

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S645-58

TAVOLA 1. Aspetti caratteristici delle patologie gastrointestinali ed epatobiliari immunologicamente mediate

Malattia	Aspetti clinici	Aspetti immunologici
Gastrite autoimmune	Deficit di vitamina B ₁₂	Gastrite atrofica cronica Anti- H+/K+-ATPasi (anti- cellula parietale)
Malattia celiaca	Malassorbimento Deficit nutrizionali	Anti-fattore intrinseco Restrizione HLA-DQ2 o DQ8 Malattia innescata dalla gliadina Atrofia dei villi del piccolo intestino alla biopsia IgA – anti- transglutaminasi tissutale Infiltrazione plasmacellulare dell'intestino con atrofia dei villi Produzione in alcuni casi di catene pesanti IgA
Malattia immunoproliferativa del piccolo intestino	Malassorbimento, diarrea, neoplasia intestinale	Infiltrazione eosinofila dell'intestino
Gastroenterite eosinofila	Nausea, vomito, diarrea, dolore addominale	Eosinofilia periferica
Malattia di Crohn	Variabili: dolore addominale, diarrea, vomito, fistole, rettorragia, altro	Flogosi focale trasmurale in tutto il tratto GI Anticorpi antimicrobici Mutazioni di Nod2/Card15 in alcuni pazienti Profilo citochinico delle lesioni di tipo Th1
Colite ulcerosa	Diarrea, rettorragia, dolore addominale, cancro coloretale	Infiammazione continua superficiale e ulcerazione del colon Anticorpi antimicrobici Profilo citochinico dell'infiammazione di tipo Th2?
Colite linfocitica e colite collagenosa	Diarrea Normale aspetto visivo della mucosa del colon	Infiltrazione linfocitaria del colon, con banda di collagene nella colite collagenosa
Epatite autoimmune	Sindrome epatitica idiopatica Cirrosi con manifestazioni associate Preponderanza femminile Il tipo 2 colpisce i bambini	Tipo 1: alti titoli di ANA, SMA Tipo 2: anticorpi anti-microsomiali del fegato/rene (LKM), ANA assenti Tipo 3: anticorpi anti-antigeni solubili del fegato e pancreas
Cirrosi biliare primitiva	Sintomi aspecifici di epatopatia, preponderanza femminile	Anticorpi anti-mitocondrio Caratteristico aspetto istologico alla biopsia: distruzione dei dotti biliari intraepatici
Colangite sclerosante primitiva	Sintomi aspecifici di epatopatia con reperti sovrapposti di associazione di colangite e IBD	Colangiogramma indicativo di lesioni sclerotiche dei dotti biliari

vitamina B12, responsabile di anemia e disordini neurologici. Nonostante in passato si riteneva fosse limitata alle popolazioni del nord Europa, è stata identificata anche in individui neri e Latino-Americani e, sebbene sia stato riscontrato un raggruppamento familiare, non c'è una base genetica nota. L'anemia perniciosa può essere associata ad altri disordini endocrini, tra cui la tiroidite autoimmune, il diabete di tipo 1, il morbo di Graves, la vitiligine e altri. Sono essenziali il riconoscimento della malattia ed un'appropriata terapia, poiché il danno neurologico provocato dal deficit di vitamina B12 può essere irreversibile.

Patogenesi

Istologicamente la malattia è caratterizzata da un'infiltrazione linfocitaria cronica del corpo dello stomaco, con una eventuale atrofia delle cellule parietali gastriche e deficit di produzione di fattore intrinseco da parte delle cellule zimogeniche, condizioni che, associate, conducono ad un malassorbimento della vitamina B12 dalla dieta. Gli autoanticorpi anti-cellule parietali sono specificamente diretti contro la H+/K+ -ATPasi; tuttavia, in base a studi su animali, si ritiene che l'insulto sia mediato da linfociti T CD4 piuttosto che da anticorpi. In alcuni pazienti, autoan-

ticorpi contro il fattore intrinseco potrebbero bloccare il legame della vitamina B12. Sono stati descritti molteplici modelli animali murini², specialmente quello indotto dalla timectomia neonatale, che esita in una disregolazione immune e in un processo autoimmunitario mediato da cellule T CD4 nei confronti della H+/K+-ATPasi della cellula parietale gastrica. I meccanismi che provocano la produzione di anticorpi anti-fattore intrinseco e la perdita delle cellule zimogeniche rimangono incerti.

Diagnosi

La diagnosi viene sospettata solitamente in seguito ai bassi livelli sierici di vitamina B12 riscontrati durante la valutazione dell'anemia o di sintomi neurologici. La presenza nel siero di anticorpi contro le cellule parietali è suggestiva, ma non specifica per la diagnosi. La biopsia gastrica non riveste alcun ruolo nella diagnosi. L'anemia perniciosa è una delle molte cause di deficit di vitamina B12, ma una specifica diagnosi può essere confermata con il test di Schilling.

Trattamento

Il trattamento consiste nella terapia sostitutiva con vitamina B12 per tutta la vita.

MALATTIA CELIACA

Background

La malattia celiaca è un disordine del piccolo intestino caratterizzato da infiammazione cronica della mucosa che porta ad atrofia dei villi intestinali, malassorbimento e manifestazioni cliniche proteiformi.^{3,4} È anche fortemente associata con la dermatite erpetiforme. Sono stati identificati i più importanti fattori di rischio genetici, HLA DQ2 e HLA DQ8 e fattori scatenanti ambientali, come i peptidi della gliadina, presenti nel glutine contenuto in frumento, segale e orzo. La maggior parte dei pazienti, dopo la rimozione della gliadina dalla dieta, manifesta una remissione clinica completa (Fig. 1).⁵⁻⁷

Dal momento che quasi tutti i pazienti con la celiachia presentano gli antigeni HLA-DQ2 o HLA-DQ8, la causa che sottende la malattia è ristretta alle popolazioni che hanno questo fenotipo HLA, il quale è di comune riscontro nei soggetti europei bianchi, in Nord Africa, India, Nord America e in popolazioni miste come i neri Americani, ma non nelle popolazioni asiatiche. La prevalenza stimata è di 1 caso ogni 120-300 individui in Europa e Nord America. A causa dell'alta frequenza di casi asintomatici o con sintomatologia aspecifica, la maggior parte dei pazienti affetti da questa patologia ignora la propria condizione che rimane non diagnosticata. L'esordio della malattia può verificarsi dall'infanzia fino alla vecchiaia. Il classico quadro della sprue con vomito, steatorrea, deficit auxologico in età pediatrica è ora poco comune per ragioni ignote; diventa invece sempre più frequente la diagnosi in soggetti adulti con diarrea, calo ponderale, discomfort addominale e sintomi compatibili con una patologia funzionale dell'intestino, affaticamento, deficit nutrizionali, anemia, osteoporosi o altre manifestazioni meno comuni come infertilità, sindromi psichiatriche e disordini neurologici. Virtualmente tutti i pazienti con la dermatite erpetiforme sono affetti da celiachia, sebbene la patologia intestinale sia spesso lieve o asintomatica. La prevalenza di disordini autoimmuni, soprattutto il diabete di tipo 1 e la tiroidite autoimmune, è aumentata nei pazienti con malattia celiaca. Dal 3 all'8% circa dei soggetti con diabete di tipo 1 è affetto da celiachia. Anche la frequenza di deficit di IgA è aumentata in questa patologia, condizione che potrebbe rendere meno utili i test diagnostici basati sulle IgA. Pazienti con malattia di vecchia data non trattata hanno un incremento significativo del rischio relativo di linfoma non Hodgkin intestinale a cellule T.

Patogenesi

La celiachia è una malattia in cui la predisposizione genetica assume un ruolo determinante ed il fattore più rilevante è l'espressione di specifici alleli HLA-DQ. Circa il 95% dei pazienti ha HLA-DQ2 che può essere codificato da DQA1*0501 e DQB1*0201 in cis in pazienti con l'aplotipo DR3-DQ2 o in trans da DQA1*0501 e DQB1*0202 nell'aplotipo DR5-DQ7/DR7-DQ2. Una piccola percentuale di pazienti ha DQA1*0301 e DQB1*0302 nell'aplotipo HLA-DQ8. Questi specifici eterodimeri HLA-DQ hanno la capacità

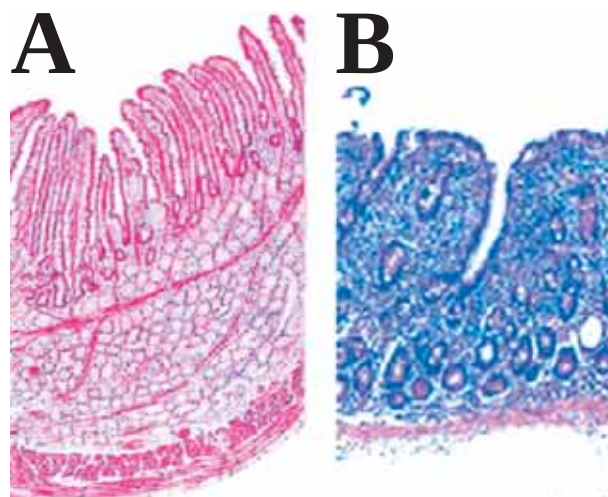


FIG 1. Malattia celiaca. **A:** Sezione trasversale di piccolo intestino normale. **B:** Sezione trasversale di piccolo intestino che mostra caratteri tipici di malattia celiaca, che includono perdita dei villi, espansione della lamina propria e dei compartimenti intraepiteliali con accumulo di linfociti e plasmacellule e allungamento delle cripte.

di legare gli specifici peptidi della gliadina che sono implicati nella patologia. Meno dell'1% dei pazienti con malattia celiaca non presenta alcuno di questi fenotipi HLA. Questi aplotipi sono comuni nelle popolazioni bianche europee, ma meno dell'1% dei pazienti con questi aplotipi è celiaco. Questo fa supporre che altri fattori genetici ed ambientali siano critici per l'espressione della malattia. Tecniche genetiche "candidate-gene" suggeriscono che la regione del gene CTLA 4/CD28 sul cromosoma 2q33 sia uno degli elementi genetici coinvolti nella malattia. Analogamente c'è una recente evidenza secondo la quale specifici alleli del complesso maggiore di istocompatibilità atipico di classe I molecola A, che sono implicati come un elemento di riconoscimento per le cellule T γ - δ , potrebbero modificare il rischio di malattia in pazienti con HLA-DQ2.

Nella celiachia la sede principale del danno tissutale è rappresentata dal piccolo intestino prossimale; sono stati ottenuti molti progressi nella comprensione della malattia attraverso biopsie del piccolo intestino, che possono essere facilmente eseguite mediante esame endoscopico del tratto digerente superiore. L'aspetto macroscopico del piccolo intestino è in molti casi normale. I caratteri visibili all'endoscopia, quali le pliche duodenali festonate o l'atrofia della mucosa, suggeriscono la possibilità della malattia, ma non sono diagnostici, così come un aspetto normale non esclude la diagnosi. I rilievi istologici sulla biopsia del piccolo intestino sono relativamente specifici e infatti definiscono la malattia, ragion per cui l'esame biotico del piccolo intestino rappresenta il gold standard per la diagnosi. La mucosa è ispessita per l'aumento del numero delle cellule linfoidi sia nel compartimento intraepiteliale, dove si osserva un incremento delle cellule T γ - δ , che nella lamina propria che è espansa da linfociti e plasmacellule. Il profilo citochinico delle cellule T è contraddistinto da una forte polarizzazione di tipo Th1. La celiachia è caratterizzata da un insulto all'epitelio che esita in uno stato di iperproliferazione. Le cripte intestina-

li sono allungate per l'incremento di cellule epiteliali in mitosi e i villi sono accorciati o anche completamente assenti, in seguito alla rapida perdita di cellule epiteliali mature del villo. Le cellule epiteliali intestinali presentano un'aumentata espressione di IL-15, che può agire come fattore trofico per i linfociti intraepiteliali e giocare un ruolo nello sviluppo del linfoma a cellule T.

A differenza di quanto accade per molte patologie immunomediate, sono stati identificati gli antigeni ambientali responsabili della malattia, vale a dire specifiche sequenze peptidiche presenti nelle proteine del glutine, presenti nei chicchi di frumento, segale e orzo. Per definizione l'eliminazione del glutine dalla dieta conduce a risoluzione della malattia. Come sopra indicato, modelli molecolari indicano che i peptidi antigenici dominanti del glutine legano HLA-DQA1*0501/B1*0201 e stimolano efficacemente le cellule T nei soggetti affetti. Inoltre, i pazienti celiaci usualmente hanno nel siero anticorpi IgG e IgA anti-gliadina. Quindi la malattia è caratterizzata da perdita della tolleranza orale a comuni antigeni alimentari. Nonostante la presenza di reattività mediata dai linfociti T e anticorpale contro la gliadina, non è chiaro se questa reattività immunologica contribuisca direttamente all'insulto della mucosa o se l'insulto sia un evento collaterale causato da questa reattività. La presenza di anticorpi anti-gliadina non è necessaria per la patogenesi della malattia perché alcuni pazienti con patologia ben definita non li hanno. Comunque i pazienti celiaci hanno solitamente auto-anticorpi tissutali. Gli anticorpi anti-endomisio, gli autoanticorpi meglio caratterizzati, rilevati mediante immunofluorescenza tissutale, sembrano essere diretti contro uno specifico antigene identificato come una transglutaminasi tissutale. Questo enzima ubiquitario è di significato incerto nella patogenesi della malattia, in contrasto con l'interessante osservazione secondo cui i peptidi della gliadina possono essere un substrato dell'enzima e la deglutaminazione della gliadina, ad opera della transglutaminasi tissutale, incrementa la sua antigenicità, aumentando l'avidità del legame per l'HLA-DQ2.

Diagnosi

La diagnosi di celiachia è stabilita mediante test sierologici di screening, biopsia del piccolo intestino e conferma di una risposta clinica all'eliminazione del glutine dalla dieta, mentre i test per l'identificazione degli alleli HLA rivestono un ruolo aggiuntivo. Il maggior impedimento alla diagnosi è costituito da una sintomatologia aspecifica o dalla mancanza di sintomi che conducano al sospetto clinico della malattia e quindi ad appropriate indagini. Poiché la celiachia non è comune e spesso è clinicamente silente, negli Stati Uniti non viene raccomandato uno screening sierologico nella popolazione generale asintomatica. Anticorpi anti-gliadina sono presenti nell'80-90% dei pazienti, ma il loro dosaggio non dovrebbe essere troppo enfatizzato a causa dell'alto tasso di falsi positivi. La misura delle IgA anti-transglutaminasi umana ricombinante con metodo ELISA ha un'alta sensibilità e specificità per la celiachia. Come anticipato sopra, la concomitante presenza di un deficit di IgA può portare, nei test sierologici basati sulle IgA, a false negatività.

A causa della necessità di un trattamento a vita con restrizioni significative della dieta, la diagnosi dovrebbe essere sempre confermata dalla biopsia del piccolo intestino, che rappresenta il gold standard per la diagnosi. Essendo solitamente poco orientati, dovrebbero essere sempre ottenuti campioni biotici multipli del piccolo intestino (da 6 a 8); infatti è necessario l'esame di sezioni multiple allo scopo di identificare quelle con un aspetto adeguato ad una corretta interpretazione.

Le alterazioni istologiche della celiachia presentano uno spettro di modificazioni, dalla più severa, la totale atrofia dei villi, a gradi minori di insulto fino ad anomalie minime, limitate al solo incremento di linfociti intraepiteliali, il cui riscontro è di significato incerto. Le alterazioni istologiche richieste per la diagnosi sono state, per scopi didattici, codificate e nominate "criteri di Marsh modificati".

Un requisito per la diagnosi di celiachia è la dimostrazione che le anomalie cliniche si risolvono con una dieta aglutinata. Un'eccezione è costituita dai casi, peraltro relativamente rari, di pazienti con la cosiddetta celiachia refrattaria, che di solito si osserva nel contesto di una patologia di lunga durata non trattata e che aumenta la possibilità di sviluppare un linfoma non Hodgkin dell'intestino. Sebbene precedentemente fosse richiesto per la diagnosi un follow-up biotico che dimostrasse la risoluzione delle alterazioni istologiche, questo non è più raccomandato quando tutte le caratteristiche rientrano nel quadro tipico della malattia e c'è la risoluzione clinica di tutte le anomalie con una dieta priva di glutine. Non è raccomandato un tentativo clinico di dieta aglutinata come alternativa alla biopsia del piccolo intestino, poiché un miglioramento dei sintomi non è specifico e l'esigenza della dieta dura tutta la vita.

Poiché le alterazioni istologiche potrebbero risolversi completamente con una dieta priva di glutine a lungo termine, l'esame biotico potrebbe non essere diagnostico in pazienti che hanno già avuto un trattamento con dieta appropriata. Alcuni soggetti presentano un'intolleranza al glutine senza altri aspetti di malattia, condizione che rappresenta probabilmente un'allergia alimentare, distinta in maniera definita dalla celiachia. Sono in via di sviluppo test rapidi per i genotipi HLA-DQ associati alla malattia. Dal momento che l'assenza di HL-DQ2/8 esclude ampiamente la possibilità di malattia, questi test potrebbero essere utili nello screening dei familiari di soggetti ammalati o di altri pazienti a rischio.

Pazienti affetti da malattia celiaca possono presentare molteplici alterazioni dei test che indicano deficit nutrizionali; queste non hanno valore diagnostico, ma possono essere importanti per il monitoraggio clinico.

Studi di imaging, che mostrano un ispessimento della parete del piccolo intestino, non hanno specificità diagnostica, ma potrebbero essere utili per la diagnosi di sindromi associate, come il linfoma, o altre condizioni in diagnosi differenziale, come la malattia di Crohn.

Trattamento

Il trattamento della malattia celiaca è rappresentato dall'eliminazione del glutine di grano, segale e orzo dalla dieta per tutta la vita. L'avena sembra non essere implicata.

Il rispetto di questo regime dietetico può essere difficile nelle società occidentali, in cui l'uso del glutine nei cibi raffinati è comune. Le organizzazioni di pazienti, attraverso i loro siti internet, forniscono ai malati consigli dietetici e aiuto nella ricerca di cibi senza glutine. A causa della significativa associazione del linfoma non Hodgkin a cellule T con la malattia celiaca non trattata, non può essere raccomandata l'aggiunta di occasionali quote di glutine alla dieta o in seguito ad un lungo periodo di remissione. Non ci sono chiare indicazioni terapeutiche per i pazienti con alcuni caratteri della malattia, come la sieropositività alla transglutaminasi tissutale, con minime alterazioni istologiche.

Inizialmente può essere richiesta una supplementazione nutrizionale per alcune specifiche carenze, come quelle di ferro e vitamine. In casi severi o refrattari sono stati usati altri approcci terapeutici, come la nutrizione parenterale, l'uso di corticosteroidi e di farmaci immunosoppressori come l'azatioprina, la 6-mercaptopurina o l'infliximab.

PATOLOGIA IMMUNOPROLIFERATIVA DEL PICCOLO INTESTINO

Background

Definiamo patologia immunoproliferativa del piccolo intestino uno spettro di anomalie, inclusi la malattia da catene α e il linfoma Mediterraneo, diagnosticato quasi esclusivamente nei paesi del Medio Oriente e del Mediterraneo, in cui si osserva infiltrazione del piccolo intestino da parte di cellule linfoidi, atrofia dei villi, malassorbimento e un andamento clinico variabile, che sembra dipendere dal potenziale neoplastico delle cellule infiltranti.^{8,9}

Sebbene ampiamente osservata nel Medio Oriente, la patologia sembra ricorrere in altre aree di paesi in via di sviluppo dell'Africa e dell'estremo Oriente. I pazienti, tipicamente, sono bambini, adolescenti o giovani adulti di bassa estrazione socio-economica, residenti in aree a basso standard igienico-sanitario. I sintomi includono calo ponderale, diarrea, dolore addominale, edema periferico, ippocratismo digitale e massa addominale.

Patogenesi

La malattia è caratterizzata da infiltrazione del piccolo intestino da parte di plasmacellule e da atrofia dei villi. In casi avanzati, le cellule infiltranti sono francamente maligne. In alcuni casi le plasmacellule secernono una catena pesante dell'IgA, che è priva delle regioni V_H e C_H1, visualizzabile mediante colorazione immunoistochimica. Sono di comune riscontro una sovrabbondante proliferazione batterica e parassitosi intestinali. È stato suggerito che le scadenti misure igieniche e lo stato di infezione cronica potrebbero agire come uno stimolo infiammatorio cronico, in grado di condurre ad una degenerazione neoplastica, analogamente a quanto si osserva nel linfoma del tessuto linfoide associato alle mucose (MALToma) dello stomaco con l'infezione da *H. pylori*

o nel linfoma non Hodgkin intestinale riscontrato nel contesto della malattia celiaca.

Diagnosi

Studi di imaging, come la radiografia del piccolo intestino, possono mostrare un ispessimento della parete intestinale. La diagnosi è legata visualizzazione diretta del piccolo intestino con esame biotico, che è diagnostico. Oltre alla presenza di catene pesanti IgA in alcuni pazienti, non ci sono anomalie biochimiche specifiche.

Trattamento

Pazienti negli stadi precoci hanno risposto alla terapia antibiotica prolungata, supportando così l'ipotesi che l'infezione intestinale potrebbe rappresentare uno stimolo immunologico per la malattia. Casi più avanzati mostrano risposte variabili alla chemio- e radioterapia.

GASTROENTERITE EOSINOFILA

Background

Per gastroenterite eosinofila si intende un disordine dalle manifestazioni cliniche eterogenee, caratterizzato da infiltrazione del tratto GI da parte di eosinofili.¹⁰ Sebbene possa essere coinvolto tutto il tratto GI, i siti più comunemente interessati sono lo stomaco e il piccolo intestino.

La localizzazione dell'infiltrazione è variabile e può coinvolgere mucosa, muscolo o rivestimenti sierosi, in grado variabile. I sintomi sono mutevoli e possono includere nausea, vomito, dolore addominale e diarrea. Un coinvolgimento estensivo dell'apparato digerente può condurre a malassorbimento e calo ponderale.

Patogenesi

La patogenesi è scarsamente conosciuta. In alcuni pazienti c'è evidenza di atopia, inclusa ipersensibilità ad antigeni alimentari o altre allergie, ma in molti pazienti manca una storia di allergia. Il ruolo eziologico di quest'ultima rimane incerto, poiché l'allontanamento di potenziali allergeni spesso non produce un miglioramento della sintomatologia. Rari casi sono familiari. Si presume che citochine come IL-3, IL-5 e fattore stimolante le colonie granulocitarie-macrofagiche (GM-CSF) siano coinvolte nel reclutamento degli eosinofili nel tratto GI, ma attualmente sono poche le evidenze disponibili.¹¹

Diagnosi

La diagnosi di gastroenterite eosinofila è tipicamente effettuata sulla base dell'esame endoscopico e biotico, in associazione a studi radiografici, in pazienti con sintomi gastrointestinali. L'endoscopia del tratto intestinale superiore può mostrare una mucosa normale o variabili pattern di nodularità o aspetto simil-tumorale. Lo studio del piccolo intestino può mostrare un diffuso amplia-

mento delle pliche e nodularità. L'interessamento di altri siti, come il colon, è stato riportato raramente. La diagnosi è basata sull'evidenza istologica di infiltrazione eosinofila del tratto GI. Questo aspetto è problematico e implica un giudizio valutativo, basato su parametri personali, perché il tratto GI contiene fisiologicamente eosinofili e il loro numero può aumentare in altre condizioni, come l'infezione gastrica da *H. pylori*, la sindrome ipereosinofila, le parassitosi, le malattie autoimmuni o i tumori. Tutti gli strati del tratto GI possono essere coinvolti, anche se, usualmente le biopsie forniscono solo campioni di mucosa. È spesso presente un'eosinofilia periferica, ma non in tutti i casi.

Trattamento

Come sopra indicato, diete di eliminazione per l'allergia sono solitamente prive di efficacia. I pazienti rispondono caratteristicamente al trattamento con corticosteroidi; alcuni possono rispondere a cicli di trattamento abbastanza brevi; in ogni caso le recidive sono tipiche e possono richiedere una terapia frequente o continua.

MALATTIA DI CROHN

Background

La malattia di Crohn è una sindrome ad eziologia ignota, caratterizzata da una infiammazione cronica, ricorrente, focale, trasmurale del tratto GI in qualsiasi localizzazione, ma più tipicamente nell'ileo terminale, nel colon e nel piccolo intestino. La malattia ha caratteristicamente un andamento intermittente-remittente che può condurre a molteplici gravi manifestazioni sintomatologiche e complicanze, come stenosi, perforazioni e fistole, che spesso richiedono una terapia chirurgica in aggiunta al trattamento medico.

La malattia si riscontra più comunemente nei paesi sviluppati, nei quali si sono registrati rapidi incrementi della prevalenza durante il ventesimo secolo. La prevalenza stimata è di circa 20-40 casi/100.000 nei paesi industrializzati. Il rischio relativo di malattia di Crohn è più alto nei fumatori e l'incidenza è più elevata nelle donne che utilizzano contraccettivi orali, ma non sono stati identificati altri specifici fattori di rischio ambientali. È dimostrata una forte tendenza alla familiarità e sono stati identificati molteplici loci genetici, mediante studi di linkage, in casi di malattia di Crohn familiare (vedi sotto); inoltre la malattia presenta una maggiore prevalenza in taluni gruppi etnici, particolarmente gli Ebrei Askenaziti. La malattia insorge tipicamente in adolescenti e giovani adulti, ma può verificarsi ad ogni età. Non ci sono differenze di distribuzione tra i sessi.

La sintomatologia tipica della malattia di Crohn include diarrea, dolore addominale, affaticamento, perdita di peso, dolore rettale, ematochezia, febbre, deficit urologico nei bambini, nausea, vomito, dispepsia, artralgie, lesioni cutanee (pioderma gangrenoso), ulcere aftose alla bocca, alterazioni della vista (irite) e raramente ittero.

I reperti obbiettivi nella forma più lieve di malattia

potrebbero essere normali, ma nelle forme più severe possono esserci dolorabilità addominale, massa addominale, fistole addominali o perianali, o ulcere orali. Comuni manifestazioni extra-intestinali includono iriti e uveiti, eritema nodoso e tumefazione e dolorabilità delle articolazioni; molte altre manifestazioni sono osservate meno frequentemente.

I test laboratoristici di routine possono mostrare alterazioni aspecifiche come anemia, aumento della velocità di eritrosedimentazione o alterazioni della funzione epatica, che suggeriscono la possibilità di una patologia epatica associata (vedi in seguito la colangite sclerosante primitiva). Le manifestazioni peculiari della malattia sono visualizzate al meglio mediante endoscopia o studi radiografici (vedi "diagnosi")

Patogenesi

Molteplici evidenze suggeriscono che la patologia è il risultato di una anormale interazione tra i geni predisponenti, il sistema immune mucosale e l'epitelio gastrointestinale dell'ospite con l'ambiente, in particolare l'ambiente microbico intestinale. Sebbene non ci sia un modello animale che riproduca fedelmente tutte le caratteristiche della condizione che si osserva nell'uomo, molto si è appreso da questi modelli animali nell'ultima decade.¹² Numerosi ceppi di topi knockout, per esempio per IL-2, IL-10, o animali con deficit del recettore delle cellule T (TCR) sviluppano spontaneamente infiammazione cronica intestinale e wasting syndrome. In altri modelli, lo squilibrio immunologico causato dal trasferimento di cellule *T naive* in topi affetti da SCID conduce alla malattia. In molti modelli la malattia è dominata da un profilo citochinico di tipo Th1, in altri la patologia può essere modulata o prevenuta dalla presenza di cellule T regolatorie CD4 CD25 positive circolanti. Interessante è il fatto che manipolazioni che incrementano le citochine di tipo Th2, come l'infezione intestinale da parassiti, migliorano l'infiammazione in alcuni modelli. Quest'ultima osservazione è coerente con la tesi che uno dei fattori della moderna civiltà industrializzata, che ha condotto all'emergenza della malattia di Crohn, è l'alto livello igienico con conseguenti bassi livelli di infezione gastrointestinale cronica. La malattia, in molti di questi modelli animali, richiede la presenza di una flora gastrointestinale.

Queste e altre osservazioni sugli animali suggeriscono che la perturbazione del sistema difensivo mucosale dell'ospite, in molti e differenti modi, potrebbe essere responsabile di una malattia gastrointestinale cronica, come osservato nella condizione umana.

Le lesioni gastrointestinali precoci caratteristiche del morbo di Crohn consistono in lesioni aftose simil-ulcerose, che si sviluppano nell'intestino in maniera segmentaria. Poiché esse tendono ad espandersi e ulcerarsi, sono associate ad una infiammazione trasmurale, caratterizzata da cellule CD4 e macrofagi che possono aggregarsi in formazioni granulomatoze non caseificanti, sebbene queste non siano frequentemente osservate in biopsie della mucosa. Un altro aspetto caratteristico della malattia di Crohn è rappresentato dalle ulcerazioni fissuranti che si estendono dal

lume intestinale agli strati più profondi della parete intestinale. La natura trasmurale del processo infiammatorio è associata, in alcuni casi, alla formazione di stenosi, fistole o perforazioni della parete intestinale. Dal punto di vista immunologico, le lesioni sono caratterizzate da un pattern citochinico di tipo Th1, similmente a quanto osservato nei modelli animali.

Le evidenze suggeriscono un ruolo della flora intestinale nella patogenesi della malattia di Crohn umana. I pazienti affetti presentano un incremento dei titoli di anticorpi antibatterici, in particolare verso la flora intestinale. Inoltre, essi hanno comunemente anticorpi contro *Saccharomyces cerevisiae*. Queste osservazioni supportano l'ipotesi che uno dei passaggi patologici della malattia sia la perdita della tolleranza orale nei confronti della flora intestinale. Le lesioni sono più tipicamente riscontrate in sedi con un'alta carica batterica, quali il ceco e l'ileo terminale. La diversione chirurgica del flusso fecale porta ad un miglioramento dell'infiammazione attiva. Molte caratteristiche della malattia, inclusa la risposta almeno temporanea alla terapia antibiotica, suggeriscono che specifici agenti infettivi potrebbero non solo provvedere all'ingresso di antigeni aspecifici attraverso la mucosa GI fissurata o danneggiata, ma potrebbero essere effettivamente gli agenti patogeni specifici della malattia.

Un potenziale agente patogeno infettivo di recente interesse è il *Mycobacterium avium*, sottospecie paratuberculosis. Sebbene esistano evidenze che al contempo ne supportano e contraddicono il ruolo eziologico, al momento attuale questa teoria patogenetica rimane controversa.

Un altro interessante aspetto della malattia di Crohn è la presenza di un'aumentata permeabilità intestinale alle macromolecole. Nonostante la base fisiopatologica di questa osservazione sia sconosciuta, ciò potrebbe probabilmente essere causato da una anomalia genetica cui conseguirebbe un aumentato ingresso di molecole potenzialmente immunostimolatorie nel tratto GI.

I più importanti recenti risultati per la comprensione della malattia di Crohn sono emersi da ricerche genetiche. I primi screening genomici nella forma familiare di malattia di Crohn hanno dimostrato un'associazione con un locus posto sul cromosoma 16 (IBD1), ora identificato come il gene *Nod2/Card15*.¹³ Quasi il 50% dei pazienti con malattia di Crohn presenta mutazioni di questo gene, che sembra giocare un ruolo chiave nell'immunità innata, e, precisamente, nel *signaling* mediato dal lipopolisaccaride batterico. È interessante notare che altre mutazioni in questo gene sono associate con la sindrome di Blau, che presenta caratteristiche extraintestinali analoghe a quelle del morbo di Crohn. Inoltre, il gene mutato nella febbre Mediterranea familiare, un'altra sindrome infiammatoria cronica recidivante, ha delle omologie con il gene *Nod2/Card15*. Le mutazioni di *Nod2/Card15* non sono però sufficienti a chiarire la malattia. Sono state riportate altre molteplici associazioni genetiche, inclusa quella affascinante con il cluster di geni per le citochine sul cromosoma 5q31. Altre associazioni sono oggetto di ricerche. L'ulteriore definizione di regioni sinteniche nell'uomo e nel topo e altri studi di modelli animali delle IBD contribuiranno ad un ulteriore inquadramento del substrato genetico della malattia di Crohn.

Diagnosi

La diagnosi di malattia di Crohn è basata sul riscontro delle tipiche caratteristiche cliniche e patologiche e sull'assenza di altre condizioni che possano mimare la patologia. I test diagnostici con più elevata specificità sono l'endoscopia gastrointestinale con prelievi biotici e studi di imaging, come la tomografia computerizzata e studi con il contrasto baritato.

Va sottolineato che la distinzione della malattia di Crohn da altre condizioni infiammatorie, come le coliti infettive o ulcerative, spesso non può essere effettuata sulla base della biopsia. L'aspetto macroscopico delle lesioni e la loro localizzazione e distribuzione è spesso più utile per differenziare il morbo di Crohn da altre condizioni. È stato suggerito che test sierologici per la ricerca di anticorpi anti citoplasma dei neutrofili con pattern perinucleare (pANCA) e anticorpi anti - *Saccharomyces cerevisiae* possano essere utili nella diagnosi differenziale con la colite ulcerosa, ma l'utilità di questi test non è provata. Allo stato attuale, i test genetici non rivestono un ruolo condiviso.

Trattamento

Le opzioni terapeutiche dettagliate per la malattia di Crohn sono complesse ed esulano dallo scopo di questo testo. Preparazioni orali o topiche di mesalazina (5-amino salicilato) sono efficaci nella forma lieve di malattia, ma, rispetto a quanto accade nella colite ulcerosa, hanno una limitata efficacia, dovuta alla natura trasmurale del processo infiammatorio nel morbo di Crohn. I corticosteroidi, solitamente somministrati per via orale, costituiscono l'opzione iniziale per una rapida risoluzione dei sintomi, ma molti pazienti con il tempo sviluppano dipendenza o resistenza oppure presentano significativi effetti collaterali. L'azatioprina o la 6-mercaptopurina hanno dimostrato efficacia in molti trials randomizzati controllati e potrebbero rivestire un ruolo nella gestione ottimale della malattia, considerata la possibilità di dosarne i metaboliti. Anche il metotrexato è efficace. In alcuni casi potrebbe risultare utile la ciclosporina. Più recentemente, in trials controllati randomizzati, l'infliximab si è dimostrato in grado di accelerare la remissione della malattia e di cicatrizzare le fistole. È di grande interesse sottolineare che l'etanercept, un altro agente che interferisce con il *signaling* del tumor necrosis factor (TNF)- α , non sembra essere efficace, suggerendo differenti modalità d'azione di questi agenti.

Antibiotici, soprattutto metronidazolo e fluorochinoloni, sono frequentemente usati e sembrano essere efficaci, sebbene ci sia una mancanza di dati a favore del loro uso. Il supporto nutrizionale, sia enterale che parenterale, può essere richiesto in alcuni pazienti. La somministrazione di Vitamina B12 potrebbe essere utile in pazienti con danno ileale esteso o perdita dovuta a chirurgia. Malgrado la possibilità di un'ottima gestione clinica, la chirurgia si rende frequentemente necessaria per il trattamento del morbo di Crohn. Indicazioni abituali per il trattamento chirurgico sono la malattia refrattaria, la perforazione, le fistole o l'ostruzione causata da stenosi.

COLITE ULCEROSA

Background

La colite ulcerosa è una malattia infiammatoria del colon idiopatica, cronica, recidivante e remittente, caratterizzata da ulcerazione superficiale della mucosa del colon e da sintomi associati come diarrea sanguinolenta e dolore addominale.¹⁴ Ci sono manifestazioni extra-intestinali occasionali, la più rilevante delle quali è la colangite sclerosante primaria; inoltre la colite ulcerosa di lunga data è associata ad un aumentato rischio di displasia del colon e di adenocarcinoma. La patologia è usualmente trattabile con farmaci anti-infiammatori e immunosoppressori, ma, a volte, può essere necessario il ricorso ad una proctocolectomia totale.

Come per la malattia di Crohn, l'incidenza della colite ulcerosa è rapidamente aumentata nei paesi industrializzati nella prima parte del XX secolo per ragioni sconosciute. La prevalenza della malattia varia da 37 a 80 casi/100.000 nei paesi sviluppati. Non ci sono chiari fattori di rischio ambientali per la colite ulcerosa. È interessante notare che, diversamente dal morbo di Crohn, per cui il fumo di sigaretta è un fattore di rischio, nella colite ulcerosa questo svolge un'azione protettiva, che è stata attribuita agli effetti farmacologici della nicotina. L'appendicectomia in età precoce è associata ad una frequenza notevolmente diminuita di colite ulcerosa, un reperto che è stato replicato in un modello animale e che suggerisce che la modulazione precoce del sistema immune mucosale potrebbe essere protettiva. La malattia può iniziare a qualsiasi età, ma è più comune nei giovani adulti e presenta una prevalenza aumentata negli Ebrei Askenaziti.

Gli aspetti clinici della colite ulcerosa sono relativamente chiari, se paragonati a quelli del morbo di Crohn; sintomi tipici includono il tenesmo, il sanguinamento rettale e la diarrea. Altri sintomi sono la febbre, il dolore addominale, l'affaticamento e in circa il 15-20% dei pazienti sintomi extra-intestinali simili a quelli del morbo di Crohn, come l'uveite, l'artrite, il pioderma gangrenoso o l'ittero associato ad epatopatia. La colite ulcerosa può presentarsi in una forma molto severa, usualmente subacuta, con danno transmurale del colon (megacolon tossico) che presenta un elevato rischio di perforazione e morte.

Patogenesi

Gli aspetti patologici caratteristici della colite ulcerosa sono rappresentati da infiammazione superficiale ed ulcerazione della mucosa del colon e del retto, che si manifestano con una distribuzione continua, tipicamente in forma più severa nel retto, progressivamente meno grave nelle aree più prossimali del colon. La malattia può essere molto limitata, coinvolgendo solo pochi centimetri del retto (proctite ulcerativa), può interessare solo il colon distale e il retto (colite di sinistra) o l'intero colon (pancolite). Tipicamente c'è una chiara linea di demarcazione tra l'intestino coinvolto e le aree normali più prossimali. Una volta che la malattia si è stabilizzata dopo un certo numero di anni, il tipo di coinvolgimento solitamente non cambia. Microscopicamente la mucosa presenta un'intensa

infiltrazione neutrofila delle cripte del colon, che risultano distrutte o ulcerate. È presente un incremento di linfociti e plasmacellule. È stata riportata la presenza di depositi di immunoglobuline sulle cellule epiteliali del colon, anche se la specificità degli anticorpi depositati non è nota. L'analisi del profilo citochinico delle cellule infiltranti mostra un'aumentata espressione di IL-5, ma non di IL-4, condizione che è ritenuta una variante della risposta Th2. Con il persistere della flogosi, si verifica distorsione dell'architettura delle cripte e fibrosi. Inoltre può essere riscontrata displasia delle cellule epiteliali, che si manifesta in molteplici sedi, e un'aumentata incidenza di adenocarcinoma. L'aspetto macro- e microscopico della colite ulcerosa non è unico e può essere fedelmente mimato da un'infezione acuta batterica e da una colite associata alla tossina di *C.difficile*.

Come descritto sopra per il morbo di Crohn, con l'utilizzo di modelli animali si è assistito ad un considerevole progresso nella comprensione delle funzioni della mucosa del tratto gastrointestinale e delle relazioni di quest'ultima con l'ambiente microbico e il sistema immune locale. Sulla base dei modelli animali sono state formulate molte ipotesi sulla patogenesi della colite ulcerosa, non mutuamente esclusive, che postulano una anomalia di fondo del sistema immune della mucosa intestinale e alterazioni della funzione di barriera e riparazione; comunque, nessuna di queste linee di indagine ha ancora portato all'identificazione delle anomalie primarie che sono alla base della patologia.¹⁵

Uno degli aspetti immunologici distintivi della colite ulcerosa è la presenza, nella maggior parte dei pazienti, di p-ANCA sierici. Questi anticorpi non sembrano essere organo o tessuto-specifici e gli specifici antigeni sono ancora sconosciuti: alcune evidenze hanno suggerito che tali antigeni abbiano epitopi cross-reattivi con antigeni batterici. Sono stati anche identificati autoanticorpi sierici e tissutali e una risposta cellulare, diretti contro una specifica isoforma della tropomiosina epiteliale del colon, la tropomiosina umana 5 (hTM5). È interessante osservare che questi potenziali autoantigeni possono cross-reagire con antigeni localizzati in altre sedi di danno tissutale osservato nella colite ulcerosa, come l'epitelio del dotto biliare.

La colite ulcerosa ha un'aumentata familiarità che suggerisce una base genetica, ma non sono state individuate specifiche alterazioni genetiche.¹⁶ Studi su gemelli suggeriscono che la colite ulcerosa, rispetto alla malattia di Crohn, ha una minore componente genetica. Studi di linkage su tutto il genoma hanno individuato molte regioni candidate, di possibile rilevanza nella colite ulcerosa familiare. L'associazione più forte è con il cosiddetto locus IBD 2 sul cromosoma 12q13-14. In questa regione non sono stati ancora individuati specifici geni candidati. Inoltre, approcci di *gene-candidate* hanno mostrato che in particolari popolazioni c'è un'associazione di colite ulcerosa con specifici aplotipi HLA, come l'HLA – DR2 nei pazienti Giapponesi.

Diagnosi

La diagnosi di colite ulcerosa è semplice. L'approccio migliore è la visualizzazione diretta della mucosa colica

e rettale mediante sigmoidoscopia flessibile o colonscopia. Quando vengono riscontrati i caratteri visivi ed istologici tipici della colite ulcerosa, l'iter diagnostico più importante è quello di escludere altre possibili condizioni con aspetto simile. Queste includono enteriti batteriche da *C.difficile*, colite ischemica e attinica. Gli aspetti di colite ulcerosa e morbo di Crohn limitati al colon possono avere considerevoli sovrapposizioni, che spesso conducono alla diagnosi di colite indeterminata. È, in ogni caso, molto più importante distinguere queste due entità poiché le opzioni terapeutiche per le due condizioni sono abbastanza differenti, soprattutto per quanto concerne le terapie biologiche, la chirurgia e il rischio di carcinoma coloretale.

Trattamento

Attacchi di colite ulcerosa da lievi a moderati, soprattutto nelle localizzazioni distali, possono rispondere a preparazioni di mesalazina topiche (clistere o supposte) e/o orali o a corticosteroidi topici. Gli attacchi più severi solitamente sono responsivi ai corticosteroidi orali, ma talora possono richiedere l'ospedalizzazione con somministrazione endovenosa di corticosteroidi e liquidi. Nei pazienti con steroido-dipendenza o malattia refrattaria, può essere efficace l'uso di azatioprina o 6-mercaptopurina; il metotrexate invece non sembra sortire effetti significativi. Per gli attacchi molto severi la ciclosporina si è dimostrata efficace, anche se con un significativo rischio di gravi effetti collaterali. In studi controllati gli antibiotici non si sono rivelati vantaggiosi, ma sono solitamente usati nei pazienti che hanno bisogno di ospedalizzazione per una malattia severa, soprattutto in quelli con megacolon tossico. La proctocolectomia totale, sebbene sia una misura drammatica, è curativa ed è indicata per pazienti con frequenti recidive, malattia refrattaria, megacolon tossico, displasia o cancro. Tali pazienti, per evitare una stomia, possono essere candidati ad una anastomosi ileo-aleale con tasca (pouch); i malati che si sottopongono a questa procedura hanno un significativo rischio di infiammazione ricorrente della tasca ileale (pouchite), che è solitamente trattabile e può essere patogeneticamente correlata alla patologia sottostante. A causa dell'aumentato rischio di displasia coloretale e di cancro, i pazienti dovrebbero essere sottoposti a screening periodici con colonscopia e biopsie multiple random (screening per displasia).

COLITE LINFOCITICA E COLITE COLLAGENOSA

Background

Con i termini colite linfocitica e colite collagenosa si fa riferimento a due sindromi idiopatiche con caratteristiche cliniche e patologiche che tendono a sovrapporsi.¹⁷ Non è noto se le due sindromi rappresentino un continuum della stessa entità nosologica o due condizioni nettamente differenti. I caratteri che la definiscono sono la

presenza di diarrea cronica ad eziologia ignota, l'assenza di anomalie visibili nella mucosa del colon, come quelle riscontrabili nelle malattie infiammatorie intestinali (IBD) e in altre forme di colite, e la presenza di evidenze biotipiche di flogosi abnorme. La colite collagenosa è inoltre definita dalla deposizione di una banda di collagene in sede subepiteliale. Queste patologie non sono comuni, con una prevalenza stimata di 10-20 casi/100.000 nell'Europa Occidentale. Serie di casi hanno messo in evidenza sintomi associati, come dolore addominale, artralgie, calo ponderale ecc. Inoltre, sembra esserci un'aumentata associazione con condizioni autoimmuni, come alterazioni tiroidee, artriti sieronegative e malattia celiaca. La storia naturale della colite microscopica è molto variabile e la maggioranza dei pazienti entra in remissione dopo un certo numero di anni.

Patogenesi

La patogenesi della colite microscopica è sconosciuta. Alcuni casi hanno un esordio improvviso, suggerendo una possibile causa infettiva; tuttavia, l'estensiva valutazione microbiologica di questi pazienti è solitamente non dirimente. L'associazione con la malattia celiaca in alcuni pazienti suggerisce la possibilità di una patologia indotta da antigeni orali, soprattutto perché in alcuni celiaci possono essere evidenziate alterazioni istologiche coliche in corrispondenza dell'iniezione o instillazione di glutine dentro il colon. In ogni caso, per definizione, la colite microscopica tipica non si risolve con una dieta priva di glutine; inoltre i pazienti con celiachia hanno un coinvolgimento del piccolo intestino. Anche se pazienti con colite microscopica possono avere anticorpi anti-gliadina, questi non sono specifici della malattia celiaca. Sono stati riportati anticorpi anti-transglutaminasi tissutale in pazienti con colite linfocitica. A causa della sovrapposizione delle caratteristiche cliniche e laboratoristiche, è forse meglio considerare la celiachia e la colite linfocitica come due sindrome distinte che si sovrappongono.

L'associazione di colite microscopica a sintomi come quelli dell'artrite ha suggerito una base autoimmune, poiché c'è anche il riscontro di vari autoanticorpi, inclusi gli anticorpi antinucleo (ANA). Per quanto riguarda la colite collagenosa si osserva una preponderanza nel sesso femminile.

Diagnosi

La diagnosi di colite linfocitica o collagenosa si effettua escludendo la presenza di altre forme conosciute di diarrea cronica, in assenza di anomalie della mucosa visibili al momento dell'endoscopia e in presenza, invece, di alterazioni istologiche alla biopsia della mucosa del colon. La colite linfocitica è caratterizzata da un aumento dei linfociti intraepiteliali e della flogosi della lamina propria, che include leucociti polimorfonucleati e cellule mononucleate. Il principale aspetto distintivo della colite collagenosa è la presenza di un'anomala banda di collagene al di sotto dell'epitelio. Poiché tale reperto può essere non uniforme o soggetto ad artefatti causati dalla sezione tangenziale della mucosa, questa distinzione tra colite linfocitica e collagenosa può non essere colta.

Trattamento

Non ci sono terapie per la colite microscopica. Una decisione *evidence-based* è difficile, poiché c'è solo un piccolo studio controllato e randomizzato che suggerisce i benefici della budesonide per la colite collagenosa.¹⁸ Sono stati riportati risultati variabili con diverse terapie, inclusi antidiarroici, bismuto, mesalazina, colestiramina, corticosteroidi, azatioprina o 6-mercaptopurina. A causa delle piccole casistiche riportate, della natura variabile, progressiva e regressiva, della sindrome e dell'occorrenza di remissione spontanea, È difficili prevedere l'efficacia dei differenti trattamenti. Poiché solo raramente questa condizione produce uno stato di malattia tale da costituire una minaccia per la vita, è giustificato un approccio graduale con l'utilizzo dei farmaci meno tossici.

EPATITE AUTOIMMUNE

Background

L'epatite autoimmune è una sindrome idiopatica caratterizzata da epatite con danno prevalentemente epatocellulare, presenza di autoanticorpi, preponderanza nel sesso femminile e responsività a corticosteroidi e immunosoppressori.^{19,20} La malattia presenta un ampio spettro di quadri, variabili da una forma clinicamente silente ad una malattia fulminante o ad una progressione cronica fino alla cirrosi.

Dalla originaria descrizione della sindrome nel 1950, il livello di conoscenza della malattia è aumentato in seguito alla scoperta dei virus dell'epatite e all'avvento di specifici test diagnostici per l'epatite virale.

Le iniziali descrizioni della sindrome sono complicate dall'inclusione di pazienti con epatite virale. Ulteriori informazioni sono venute alla luce in seguito alla scoperta che i farmaci possono causare un quadro clinico che assomiglia all'epatite autoimmune. Rispetto ad altre patologie epatiche, questa è una malattia rara. La prevalenza nella popolazione bianca del nord Europa e del Nord America è di circa 17 casi/100.000. La distribuzione è ubiquitaria. La ricerca di specifici fattori scatenanti ambientali non ha evidenziato correlazioni significative. La presentazione clinica è eterogenea e nessuna delle manifestazioni è patognomonica di questa condizione. Nei pazienti classificati come tipo 1 o 3, sulla base degli auto-anticorpi (vedi in seguito), la malattia può insorgere a qualsiasi età, mentre il tipo 2 colpisce i bambini. In alcuni pazienti, una forma asintomatica molto lieve viene scoperta solo in seguito ad esami sierologici di controllo. Pazienti con malattia clinicamente severa presentano facile affaticabilità, ittero, urine ipercromiche, dolore addominale, anoressia, mialgie, menarca ritardato e amenorrea. Sintomi sovrapposti di avanzata patologia epatica possono insorgere tardivamente nella malattia e costituiscono talora le manifestazioni di presentazione. Occasionalmente alcuni soggetti vivono un decorso di malattia acuto o sub-fulminante. Reperti obiettivi anomali includono epatomegalia, ittero, splenomegalia, spi-

der nevi e aspetti cushingoidi; inoltre nelle fasi avanzate è possibile riscontrare reperti tipici dell'epatopatia scompensata avanzata. Una significativa proporzione di soggetti non presenta alcuna alterazione fisica. Circa la metà dei pazienti con epatite autoimmune ha altre sindromi di possibile natura autoimmune. Le più comuni tra queste sono tiroidite, artrite, colite ulcerosa, sindrome di Sjögren, diabete di tipo 1 e vitiligine. Le comuni alterazioni di laboratorio prevedono l'elevazione dei livelli sierici delle transaminasi e l'ipergammaglobulinemia. L'iperbilirubinemia è di comune riscontro, ma l'evidenza istologica di danno del dotto biliare e la colestasi sono criterio di esclusione diagnostica che suggeriscono la presenza di cirrosi biliare primitiva (CBP) o colangite sclerosante primitiva (CSP). Un'alterazione del tempo di protrombina riflette la disfunzione della sintesi epatica. Le più importanti alterazioni cliniche specifiche sono la presenza di auto-anticorpi sierici e le anomalie istologiche del fegato descritte in seguito. I tipi 1 (la forma più comune) e 3 (epatite autoimmune) presentano caratteri clinici indistinguibili, fatta eccezione per gli autoanticorpi, mentre il tipo 2, di riscontro nei bambini, frequentemente si presenta con sindromi autoimmuni associate e si manifesta come una patologia severa con progressione verso la cirrosi.

Reperti clinici di epatite autoimmune sono riscontrati in pazienti con la sindrome polighiandolare autoimmune di tipo 1, che è associata a mutazioni del gene del regolatore autoimmune (AIRE); questa è un'entità clinica chiaramente distinta dall'epatite autoimmune idiopatica.²¹

Patogenesi

Il reperto istologico epatico più rilevante è la "*piecemeal necrosis*": necrosi degli epatociti delle regioni peripورتali e distruzione della lamina limitante del tratto portale con infiltrazione di cellule linfoidi. Il grado di necrosi epatocitaria è altamente variabile, con lesioni da minime a severe, nelle quali la necrosi può estendersi alle vene centrali (necrosi a ponte) o ai lobuli adiacenti (necrosi multilobulare). Queste modifiche patologiche non sono patognomoniche e possono essere riscontrate anche nell'epatite virale. Può essere presente cirrosi, con o senza infiammazione attiva. La presenza di numerose plasmacellule e, al contrario di quanto si osserva nell'epatite virale cronica, una proporzione inferiore di linfociti T CD8+ sono stati dimostrati con l'immunoistochimica mentre l'immunofluorescenza indiretta ha evidenziato la presenza di IgG sulla membrana degli epatociti. In alcuni studi il deposito di IgG ha un pattern lineare, mentre altri autori hanno evidenziato pattern sia lineare che granulare.

La caratteristica immunologica dell'epatite autoimmune, oltre ai reperti ottenuti dalla biopsia, è rappresentata dalla presenza di autoanticorpi sierici. L'epatite di tipo 1 è definita da alti titoli ANA e/o anticorpi anti-muscolo liscio (SMA). Il tipo 2 è caratterizzato dall'assenza di ANA e dalla presenza di auto-anticorpi anti-microsomiali di fegato/rene (anti-LKM-1). Il tipo 3 è definito dalla presenza di anticorpi contro gli antigeni solubili di fegato e pancreas (anti-SLA/LP). Come indicato sopra, i tipi 1 e 3 sono clinicamente simili, mentre il tipo 2 colpisce i

bambini e mostra una forte associazione con il diabete di tipo 1, la vitiligine e la tiroidite autoimmune. Gli antigeni bersaglio dei caratteristici auto-anticorpi sono stati identificati per la malattia di tipo 2 nel citocromo P-450 IID6 (CYP2D6) e per la malattia di tipo 3 nell'anti-CYP1A2. Altri autoanticorpi sono frequentemente riscontrati nei pazienti con epatite autoimmune, inclusi p-ANCA, anti-actina, anti-recettore delle sialoglicoproteine, anti-mitocondrio e altri.

Una serie di caratteristiche dell'epatite autoimmune cronica attiva suggerisce l'importanza dei fattori genetici. La malattia è diagnosticata prevalentemente nelle donne con un rapporto di circa 8:1 rispetto ai maschi. C'è una netta preminenza di casi in individui di origine nord europea. Si osserva un incremento di incidenza di auto-anticorpi circolanti, ipergammaglobulinemia e malattia epatica latente nei familiari dei soggetti. L'epatite autoimmune di tipo 1 ha significative associazioni con antigeni HLA, ma queste sono differenti in relazione alle varie popolazioni: nei Nord Europei bianchi HLA DRB1*0301 e DRB1*0401; nei Giapponesi DRB1*0405; nei Messicani DRB1*0404. L'allele DRB1*1501 sembra essere protettivo. L'epatite di tipo 2 è associata con HLA-B14 e DR3, mentre il tipo 3 è associato con HLA DRB1*0301. Ulteriori studi hanno esaminato la possibile associazione con altri geni, come quella della forma di tipo 1 con un allele differente del TNF- α (TNF2) e con C4A. Non sono stati dimostrati i meccanismi autoimmuni in seguito ai quali gli epatociti vengono danneggiati, ma sono stati ipotizzati meccanismi di citotossicità sia mediata da cellule T che anticorpo-dipendente.

Diagnosi

I criteri diagnostici per l'epatite autoimmune sono codificati. Gli aspetti clinici dovrebbero essere dominati dall'incremento dei valori delle transaminasi in assenza di significativa colestatica, dalla presenza di auto-anticorpi sierici come descritto in precedenza, e da reperti biotipici che mostrano i tipici caratteri dell'epatite cronica descritti, senza significativa evidenza di insulto del dotto biliare, situazione che accrescerebbe la possibilità di una CSP o di una CBP. La diagnosi richiede, inoltre, l'esclusione di altre forme di epatopatia cronica da cause note, comprese le forme ereditarie (deficit di α -1-antitripsina, malattia di Wilson, emocromatosi), l'epatite virale, la patologia epatica da abuso di etanolo e da farmaci.

Trattamento

Lo spettro della patologia è ampio, variando da alterazioni biochimiche asintomatiche con minimo danno epatico alla biopsia a marcate anomalie associate ad una sintomatologia significativa. I pazienti con minima evidenza clinica, biochimica ed istologica di attività potrebbero essere in remissione e non richiedere alcuna terapia. Nei soggetti con malattia attiva di grado moderato-severo si registrano mortalità e morbidità elevate, con progressiva insufficienza epatica. È stato riportato il riscontro di carcinoma epatocellulare primario, ma sembra essere raro

nel contesto dell'epatite autoimmune. Studi clinici controllati hanno dimostrato che i corticosteroidi, da soli o in associazione con l'azatioprina, migliorano notevolmente i sintomi e la sopravvivenza nelle forme severe. La remissione di malattia è raggiunta nella maggioranza dei pazienti trattati. Alcuni soggetti vanno incontro a remissioni durature, mentre altri possono incorrere in recidive che richiedono un nuovo trattamento. I pazienti con epatite autoimmune allo stadio terminale sono candidati al trapianto di fegato.

CIRROSI BILIARE PRIMITIVA

Background

La cirrosi biliare primitiva è una sindrome idiopatica, caratterizzata da infiammazione cronica dei dotti biliari intraepatici che conduce alla loro definitiva scomparsa, associata con colestatica cronica, fibrosi, cirrosi e insufficienza epatica.²² La patologia colpisce tipicamente donne di mezza età, è caratterizzata immunologicamente dalla presenza nel siero di anticorpi anti-mitocondrio e può essere associata a sindromi autoimmuni.

L'esordio della malattia si verifica tipicamente fra la quinta e la sesta decade di vita, sebbene in alcuni pazienti la diagnosi possa essere fatta in una fase asintomatica, molto più precocemente. La prevalenza della malattia, che è riscontrata in tutto il mondo, è compresa tra 2,3 e 14,4 casi/100.000 e nessun gruppo etnico o razziale sembra essere risparmiato. Il 90% dei pazienti è rappresentato da donne. È stata riportata un'aggregazione familiare, che è comunque rara. Non ci sono associazioni genetiche o ambientali dimostrate.

I sintomi della CBP esordiscono insidiosamente e comprendono prurito, affaticamento, iperpigmentazione cutanea, artralgie, xeroftalmia e xerostomia, fenomeno di Raynaud. L'ittero e le emorragie gastrointestinali sono disturbi non comuni. Reperti obiettivi comuni includono epatosplenomegalia, iperpigmentazione della cute dovuta a deposito di melanina, escoriazioni, xantomi, xantelasmi e teleangectasie aracniformi. Nelle fasi avanzate della malattia si verificano ittero marcato, petecchie e porpora e segni di encefalopatia epatica, come risultato dell'epatopatia avanzata. Le manifestazioni di esordio possono essere costituite da segni e sintomi di alcune sindromi associate. In molti pazienti la malattia è diagnostica in una fase asintomatica e non è raro riscontrare reperti obiettivi completamente nella norma.

La CBP è associata ad una serie di sindromi autoimmuni, tra cui quella più comune è probabilmente la cheratocongiuntivite secca. È spesso asintomatica o presente in una forma molto lieve ed è una sindrome secca secondaria (usualmente anti-SSA ed SSB negativa). Sono frequentemente riscontrate varie forme di artrite. Molto spesso si tratta di artriti sieronegative, non distruttive, a carico delle piccole articolazioni; meno spesso c'è evidenza di distruzione articolare. Anche la sclerodermia, sia nella forma completa che nella variante CREST (calcinosi cutanea, fenomeno di Raynaud, dismotilità esofagea, sclerodattilia, teleangectasie), è associata a CBP. L'evidenza di ipotiroidi-

dismo è comune ed una tiroidite autoimmune può essere la manifestazione di presentazione della CBP. Altre comorbidità sono state riportate meno comunemente e possono rappresentare associazioni casuali.

Le alterazioni laboratoristiche abituali comprendono un incremento dei livelli sierici di fosfatasi alcalina e γ -GT. La bilirubina totale è normale nelle fasi iniziali e aumenta progressivamente con l'evolversi della malattia. Sono osservati da lievi a moderati incrementi delle transaminasi sieriche. Sono frequenti ipercolesterolemia e livelli anomali di lipoproteine. L'escrezione urinaria di rame è aumentata, come esito della ridotta secrezione biliare, secondaria all'epatopatia colestatica, e la ceruloplasmina sierica è aumentata. Con lo scompenso epatico compaiono alterazioni tipiche della malattia epatica avanzata, come ipoalbuminemia e aumento del tempo di protrombina. La colangiografia mostra dotti biliari normali, ad eccezione che in presenza di cirrosi, la quale può essere responsabile di irregolarità e tortuosità aspecifiche dei piccoli dotti biliari intraepatici. Le IgM sieriche totali sono spesso aumentate (vedi oltre). Sono presenti anticorpi anti-mitocondrio sono presenti, solitamente ad alto titolo, in più del 90% dei pazienti e rappresentano il solo test diagnostico relativamente specifico, oltre alla biopsia epatica.

Patogenesi

Le anomalie istologiche del fegato nella CBP sono abbastanza specifiche e sono state classificate in quattro stadi, che possono però sovrapporsi. Le lesioni precoci e più specifiche (stadio 1) mostrano infiammazione cronica e necrosi dei dotti biliari intraepatici, i quali sono infiltrati da linfociti e possono essere circondati da formazioni granulomatoze. Nello stadio 2, i dotti biliari proliferano, è predominante l'infiltrazione mononucleata degli spazi portali e può essere evidente una certa quota di fibrosi portale. Nello stadio 3 si assiste ad una riduzione dell'infiltrato infiammatorio portale, i dotti biliari non sono presenti a livello delle triadi portali e c'è un incremento della fibrosi portale. Lo stadio 4 è caratterizzato da cirrosi biliare con riduzione dei dotti biliari e aumento del rame nel fegato. Quindi, gli aspetti istopatologici della CBP consistono in un processo flogistico cronico, che porta a distruzione e scomparsa dei dotti biliari intraepatici e a progressiva fibrosi portale che esita in cirrosi biliare. La necrosi epatocellulare non è un aspetto dominante, sebbene in circostanze occasionali la *piecemeal necrosis* che circonda gli spazi portali può rassomigliare a quella di un'epatite cronica autoimmune attiva; in alcuni casi c'è una sindrome clinica con aspetti sia di epatite cronica attiva che di CBP.

L'immunofluorescenza ha mostrato che le plasmacellule degli infiltrati portali si colorano per la presenza soprattutto di IgM. È stato osservato nel contesto delle aree portali il deposito di IgM e complemento. Sulle cellule epiteliali dei dotti biliari è aumentata l'espressione di antigeni HLA-DR e della molecola di adesione intercellulare-1 (ICAM-1). Gli infiltrati portali sono composti primariamente da linfociti T, con una proporzione mag-

giore di $CD4^+$ rispetto a quanto si osserva nell'epatite virale, anche se linfociti T $CD8^+$ possono essere trovati in stretta vicinanza di alcuni dotti biliari. L'incremento policlonale delle immunoglobuline sieriche è riscontrato in molti pazienti con CBP in progressione, anche se nelle fasi iniziali della malattia i livelli di immunoglobuline possono essere nella norma. Frequentemente si assiste ad un aumento sproporzionato delle IgM, elemento che differenzia la CBP da altre epatopatie croniche.

L'unico aspetto specifico della CBP è la presenza di anticorpi anti-mitocondrio. Come rilevato con immunofluorescenza indiretta tissutale, gli anticorpi sono riscontrati in circa il 95% dei soggetti affetti, di solito ad alto titolo. Gli anticorpi anti-mitocondrio non sono specie- o organo-specifici. Nonostante la prevalenza della classe IgG, possono essere anche di tipo IgM o IgA. Numerosi antigeni mitocondriali sono stati clonati e identificati. Il più importante è la subunità E2 della piruvato-deidrogenasi e gli altri sono enzimi correlati alla componente mitocondriale della 2-ossiacido-deidrogenasi. È interessante osservare che gli anticorpi anti-mitocondrio inibiscono la funzione della piruvato-deidrogenasi, ma il significato di questa anomalia è incerto. La clonazione degli antigeni bersaglio degli anticorpi anti-mitocondrio ha condotto a test immunoenzimatici per la CBP più sensibili e specifici. Inoltre antigeni cross-reattivi con la subunità E2 della piruvato-deidrogenasi sono espressi sulla superficie apicale delle cellule epiteliali biliari di pazienti affetti, anche in quelli AMA-negativi.

Sono stati descritti molti altri autoanticorpi nella CBP, non specifici per questa patologia. SMA sono presenti nel siero del 20-50% dei pazienti, ma i titoli sono di solito più bassi rispetto a quelli di soggetti con patologie contraddistinte da preminente necrosi epatocellulare, come l'epatite cronica attiva. Nella CBP si riscontrano anche anticorpi contro componenti del citoscheletro, contenente actina, a cui si legano gli SMA. In uno studio è emerso che la maggioranza dei pazienti affetti da tale patologia presenta anticorpi sierici che reagiscono con i dotti biliari; comunque, questa reattività non è tuttavia specifica per CBP e può essere dovuta alla presenza di SMA. Sono presenti, anche anticorpi anti-sialoglicoproteine, analogamente a quanto si osserva in altre epatopatie croniche. Gli ANA sono presenti in circa un terzo-metà dei pazienti. La presenza di un pattern di tipo *multiple nuclear dot* correla con la presenza di una sindrome sicca, il riscontro di anticorpi anti-centromero con la presenza di sclerodattilia. Il pattern di reattività autoanticorpale nella CBP differisce da quello della sindrome di Sjogren primaria per il fatto che la seconda, non la prima, presenta al RIA una reattività contro le piccole ribonucleoproteine. Altri autoanticorpi comunemente riscontrati nella CBP sono il fattore reumatoide (in circa 2/3 dei pazienti), anticorpi anti-tiroide, anti-DNA nativo e anti-ribosoma.

Diagnosi

La diagnosi di CBP è basata sulla presenza delle tipiche alterazioni biochimiche, degli anticorpi anti-mitocondrio

TABELLA 2. Caratteristiche delle forme comuni di epatite virale

Tipo	Markers virali	Anticorpi sierici	Trasmissione	Infezione cronica	Caratteri clinici
Virus epatotropi					
Epatite A (HAV)	HAAg	Anti – HAV	Fecale – orale	No	Epatite acuta
Epatite B (HBV)	HBsAg	Anti – HBs	Parenterale	Si	Epatite acuta
	HBcAg	Anti – HBc	Contatti intimi		Epatite cronica
	HBeAg	Anti – Hbe			Poliartrite nodosa
	DNA- polimerasi				Glomerulonefrite
	HBV DNA				Carcinoma epatocellulare
Epatite D (epatite delta)	Antigene δ (Markers di HBV / richiesta la co-infezione con HBV)	Anti δ	Parenterale	Si	Epatite acuta o cronica
Epatite C (HCV)	HCV RNA	Anti – HCV	Parenterale	Si	Epatite acuta o cronica
					Carcinoma epatocellulare
Epatite E (HEV)	HEV RNA	Anti-HEV	Fecale – orale	No	Epatite acuta
Virus non epatotropi					
Citomegalovirus (CMV)	Antigeni del CMV	Anti – CMV	Secrezioni	Si	Sindrome simil – mononucleosica
			Contatto diretto		
			Parenterale		
Herpes simplex (HSV – 1 e 2)	Antigeni dell'HSV	Anti – HSV	Secrezioni orali	Si	Lesioni orali e genitali, encefalite, infezione multisistemica
			Secrezioni genitali		
Virus di Epstein-Barr (EBV)	VCA	Anti – VCA	Secrezioni orali	Si	Mononucleosi
	EA	Anti – EA	Contatto diretto		Linfoma di Burkitt
	EBNA	Anti – EBNA	Parenterale		
Varicella – Zoster (VZV)	Antigeni del VZV	Anti – VZV	Respiratoria	Si	Varicella. Hepes zoster, polmonite, epatite acuta

e sulle peculiari anomalie istologiche alla biopsia epatica. La diagnosi differenziale include altre epatopatie immunomediate come la CSP, l'epatite autoimmune e la sarcoidosi, così come la malattia epatica da farmaci e l'epatite virale colestatica.

Trattamento

Il trattamento della CBP comprende una terapia di supporto con colestiramina per il prurito e vitamine liposolubili per i deficit nutrizionali. Sebbene l'attività antinfiammatoria dei corticosteroidi comporti dei benefici, tali farmaci sono generalmente controindicati per trattamenti a lungo termine, poiché possono aggravare eventuali malattie metaboliche dell'osso, che possono essere severe e debilitanti in pazienti con CBP. Molteplici studi con altri agenti antinfiammatori e immunosoppressori hanno dimostrato solo benefici marginali. L'unica terapia dotata di maggiore efficacia è l'acido ursodesossicolico che, in molti studi, si è dimostrato in grado di migliorare i sintomi, le alterazioni biochimiche e, in uno studio, di prolungare la sopravvivenza. Il meccanismo alla base di questo miglioramento è sconosciuto.

Per i pazienti in stadi particolarmente gravi della malattia, il trattamento di elezione è il trapianto di fegato. Il tasso di sopravvivenza per gli affetti da CBP che ricevono un allotrapianto epatico è eccellente. In circa il 10% dei pazienti sottoposti a trapianto è stata segnalata recidiva di malattia, che può essere distinta con difficoltà da un rigetto cronico.

COLANGITE SCLEROSANTE PRIMITIVA

Background

La colangite sclerosante primitiva è una malattia ad eziologia sconosciuta caratterizzata da infiammazione, fibrosi e stenosi dei dotti biliari intra- ed extra-epatici.²³ A differenza di molte malattie autoimmuni, in questo caso si osserva una predominanza nel sesso maschile. È solitamente associata con le IBD, soprattutto con la colite ulcerosa, ma occasionalmente anche con il morbo di Crohn, che può essere lieve o asintomatico. La malattia del fegato è abitualmente progressiva e conduce alla cirrosi biliare, indipendentemente dalla severità o dalla risposta al trattamento dell'IBD associata. C'è un rilevante rischio di colangiocarcinoma. I sintomi sono assimilabili a quelli di altri disturbi cronici colestatici del fegato e includono astenia, prurito, iperpigmentazione, xantelasmi e ittero. I pazienti possono presentare febbre ricorrente e dolore addominale, come risultato della colangite batterica acuta sovrapposta, dovuta alle stenosi biliari. Possono essere presenti sintomi della sottostante patologia infiammatoria cronica intestinale, mentre non sono comuni altre manifestazioni extra-epatiche. I reperti di laboratorio di routine sono simili a quelli della cirrosi biliare primitiva.

Patogenesi

L'aspetto caratteristico della CSP è un processo infiammatorio fibroso, obliterativo che si verifica in maniera segmentale nei dotti biliari intra- ed extra-epatici.

L'infiltrato cellulare è misto, ma predominano i linfociti T CD8⁺ attivati. In contrasto con quanto accade nell'epatite autoimmune e nella CBP, le cellule B non costituiscono un aspetto importante. C'è un'espressione aberrante di molecole HLA di classe II sull'epitelio biliare. Sono stati identificati anticorpi cross-reattivi con l'epitelio biliare e il colon; comunque, gli antigeni specifici e il loro ruolo nella patogenesi rimangono incerti. Pazienti con colite ulcerosa hanno un'alta frequenza di p-ANCA, che non è un auto-anticorpo tessuto-specifico.

Diagnosi

La diagnosi di CSP è basata sugli specifici aspetti clinici e sui tipici reperti della colangiografia con ERCP. Non è ancora noto se la colangio-risonanza magnetica sia utile per la diagnosi di questa condizione.

Test immunologici non supportano la diagnosi, se non per escludere altre condizioni come l'epatite virale, l'epatite autoimmune e la CBP.

Trattamento

La clinica mette in evidenza che la CSP è tipicamente progressiva e può condurre ad exitus per insufficienza epatica o colangiocarcinoma. Non è certo se le lievi alterazioni epatiche comunemente riscontrate in pazienti con IBD, spesso non progressive, rappresentino un altro spettro della stessa condizione. Il trattamento è essenzialmente palliativo e consiste nella dilatazione delle stenosi più rilevanti mediante endoscopia biliare e terapia antibiotica per la colangite batterica sovrapposta. Non è stato dimostrato che le terapie anti-infiammatorie e immunosoppressive migliorino la prognosi. Pazienti con patologia epatica allo stadio finale rappresentano i candidati ideali per il trapianto di fegato, sebbene la malattia possa ricorrere nell'allograpianto.

EPATITE VIRALE

Le epatiti virali acute e croniche sono tra le più comuni condizioni della patologia umana. Sono molti gli agenti eziologici classificati come virus epatotropi, che esplicano cioè la loro azione patogena primariamente sul fegato, e virus non epatotropi, che causano infezioni sistemiche nel contesto delle quali l'interessamento epatico può rappresentare l'aspetto prevalente. Le manifestazioni cliniche dell'epatite virale acuta e cronica sono proteiformi, variando da un'infezione asintomatica ad una malattia fulminante con elevata mortalità, o da infezione cronica con progressivo danno epatico e cirrosi fino alle complicanze più tardive come il cancro epatocellulare.

Si pensa che l'ampio spettro dei differenti *outcomes* clinici sia il risultato di una complessa interazione tra particolari sottotipi virali e specifici fattori ambientali e dell'ospite, come la risposta immune innata e adattiva alla infezione. Una descrizione dettagliata dell'immunopatogenesi dell'epatite virale esula dallo scopo di questo breve capitolo e gli aspetti salienti clinici e laboratoristici sono riassunti nella tabella II.

L'epatite B e C beneficiano, anche se in maniera parziale, della terapia con antivirali ha una parziale efficacia la terapia con antivirali; per l'epatite A e B, si può optare per valide profilassi vaccinali.

BIBLIOGRAFIA

1. Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997;337:1441-8.
2. Alderuccio F, Sentry JW, Marshall AC, Biondo M, Toh BH. Animal models of human disease: experimental autoimmune gastritis: a model for autoimmune gastritis and pernicious anemia. *Clin Immunol* 2002;102:48-58.
3. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002;346:180-8.
4. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636-51.
5. Lopez-Vazquez A, Rodrigo L, Fuentes D, Riestra S, Bousono C, Garcia-Fernandez S, et al. MHC class I chain related gene A (MICA) modulates the development of celiac disease in patients with the high risk heterodimer CQA1*0501/DQB1*0201. *Gut* 2002;50:336-40.
6. Liu J, Juo SH, Holopainen P, Terwilliger J, Tong X, Grunn A, et al. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2002;70:51-9.
7. Papadopoulos GK, Wijmenga C, Koning F. Interplay between genetics and the environment in perspectives for a healthy life. *J Clin Invest* 2001;108:1261-6.
8. Gilinsky NH, Novis BH, Wright JP, Dent DM, King H, Marks IN. Immunoproliferative small intestinal disease: clinical features and outcome in 30 cases. *Medicine (Baltimore)*. 1987;66:438-46.
9. Fine KD, Stone MJ. Alpha-heavy chain disease, Mediterranean lymphoma, and immunoproliferative small intestinal disease: a review of clinicopathological features, pathogenesis, and differential diagnosis. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1139-52.
10. Cello JP. Eosinophilic gastroenteritis: a complex disease entity. *Am J Med* 1979;67:1097-104.
11. Desreumaux P, Bloget F, Seguy D, Capron M, Cortot A, Colombel JF, et al. Interleukin 3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interleukin 5 in eosinophilic gastroenteritis. *Gastroenterology* 1996;110: 768-74.
12. Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol* 2002;20:495-549.
13. Lesage S, Zouali H, Cezard JP, Colombel JF, Belaiche J, Almer S, et al. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002;70:845-57.
14. Farrell RJ, Peppercorn MA. Ulcerative colitis. *Lancet* 2002;359:331-40.
15. Bhan AK, Mizoguchi E, Smith RN, Mizoguchi A. Spontaneous chronic colitis in TCR alpha-mutant mice: an experimental model of human ulcerative colitis. *Int Rev Immunol* 2000;19:123-38.
16. Ahmad T, Satsangi J, McGovern D, Bunce M, Jewell DP. Review article: the genetics of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:731-48.
17. Pardi DS, Smyrk TC, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Microscopic colitis: a review. *Am J Gastroenterol* 2002;97:794-802.
18. Baert F, Schmit A, D'Haens G, Dedeurwaerdere F, Louis E, Cabooter M, et al. Budesonide in collagenous colitis: a double-blind placebo-controlled trial with histologic follow-up. *Gastroenterology* 2002;122:20-5.

19. Al-Khalidi JA, Czaja AJ. Current concepts in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of autoimmune hepatitis. *Mayo Clin Proc* 2001;76:1237-52.
20. Manns MP, Strassburg CP. Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterology* 2001;120:1502-17.
21. Vogel A, Liermann H, Harms A, Strassburg CP, Manns MP, Obermayer-Straub P. Autoimmune regulator AIRE: evidence for genetic differences between autoimmune hepatitis and hepatitis as part of the autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Hepatology* 2001;33:1047-52.
22. Nishio A, Bass NM, Luketic VA, Coppel RL, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis: from induction to destruction. *Semin Gastrointest Dis* 2001;12:89-102.
23. Angulo P, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999;30:325-32.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Le malattie infiammatorie gastrointestinali rappresentano una inadeguata ed inappropriata risposta del sistema immunitario intestinale verso antigeni luminali innocui, in soggetti geneticamente predisposti. Alla base della fisiopatologia delle IBD (inflammatory bowel diseases) vi sono quattro fattori: genetici, immunologici, la funzione di barriera e la microflora intestinale. Normalmente la mucosa intestinale si trova in uno stato di infiammazione "controllata" grazie ad un delicato bilanciamento tra citochine pro-infiammatorie (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 e IL-12) ed anti-infiammatorie (IL-4, IL-10, IL-11 e IL-13). L'obiettivo delle diverse terapie è quindi antagonizzare le citochine pro-infiammatorie, inibire la differenziazione delle cellule Th-1 e la persistente attivazione cellulare. Recentemente, in aggiunta alle diverse strategie terapeutiche utilizzate quali i salicilati, i corticosteroidi, gli immunosoppressori, i farmaci biologici,^{1,2} gli antibiotici, sono stati tentati nuovi approcci terapeutici con l'utilizzo della leucocitoafesi, del trapianto autologo di cellule staminali e di probiotici, prebiotici e synbiotici. Specie di probiotici efficaci sono stati trovati in differenti generi di batteri che comprendono bifidobatteri, lattobacilli, streptococchi ed anche *Escherichia coli* e clostridi. Sono stati effettuati studi anche con probiotici geneticamente modificati utilizzando *lactococchi* come vettori transgenici.³ I prebiotici sono definiti componenti alimentari non digeribili il cui benefico effetto consiste nello stimolare la crescita e l'attività di uno o più batteri presenti nel colon (in particolare bifidobatteri e lattobacilli). Quelli che sperimentalmente hanno mostrato una influenza benefica sulle IBD sono l'inulina, i fructo-oligosaccaridi (FOS), il lattulosio ed alcuni amidi resistenti. In uno studio recente è stata utilizzata una miscela di prebiotici (FOS) e synbiotici (*bifidobacterium longum*) in pazienti con recidiva di colite ulcerosa. Nel gruppo trattato, i markers biologici dell'infiammazione mucosale (TNF- α , IL-1 α e β e β -defensine 2, 3 e 4) sono risultati diminuiti.⁴ L'osservazione che le IBD, così come le malattie allergiche, sono più comuni nei paesi industrializzati laddove le pratiche igieniche hanno ridotto al minimo le contaminazioni da elminti e da altri microrganismi, ha suggerito la possibilità che, reintroducendo tali microrganismi in soggetti con malattia attiva, sarebbe stato possibile limitare il danno mucosale immunomediato. Un gruppo di ricercatori dell'Università dell'Iowa ha pubblicato un trial clinico randomizzato e controllato sulla rettocolite ulcerosa⁵ ed uno in aperto sulla malattia di Crohn.⁶ In entrambi gli studi sono stati utilizzati per il trattamento uova di *Trichuris suis* che si sono rivelate efficaci in entrambe le patologie, prive di significativi effetti collaterali e dotate di un buon profilo di sicurezza.

Se attualmente la budesonide risulta essere il miglior trattamento per la colite microscopica, la cui eziologia rimane probabilmente multifattoriale^{7,8}, l'acido ursodesossicolico si conferma la terapia di maggiore efficacia per il trattamento della cirrosi biliare primitiva, particolarmente in stadi non avanzati di malattia.⁹

Occupava una posizione centrale e paradigmatica nell'ambito delle patologie gastrointestinali la celiachia, unica malattia che è allo stesso tempo una intolleranza alimentare e un disordine autoimmunitario.

La prevalenza della malattia celiaca negli Stati Uniti è di circa l'1% ma la maggior parte dei casi rimane non diagnosticata fino ad una età avanzata del paziente. Va ricordato che questa malattia può presentarsi ad ogni età, in entrambi i sessi ed in una ampia varietà di circostanze cliniche. Secondo l'American Gastroenterological Association (AGA) Institute, i test per la malattia celiaca dovrebbero essere effettuati in soggetti sintomatici particolarmente a rischio. Questo gruppo comprende individui con ingiustificata anemia sideropenica, comparsa prematura di osteoporosi, sindrome di Down, ingiustificato aumento delle transaminasi, cirrosi biliare primitiva ed epatite autoimmune. Altre situazioni in cui la malattia celiaca andrebbe indagata, specie se sono presenti sintomi che possono essere riconducibili a questa, sono il diabete di I tipo, la tiroidite autoimmune, la sindrome di Sjogren, gli aborti ricorrenti, la ritardata pubertà, il deficit selettivo di IgA, la sindrome del colon irritabile, la sindrome di Turner, neuropatie periferiche, l'ataxia cerebellare, l'emicrania ricorrente e bambini di bassa statura con parenti di I e II grado celiaci.¹⁰

Una prospettiva di grande importanza per una individualizzazione e ottimizzazione della cura delle IBD è data dalla possibilità di adottare trattamenti geneticamente guidati, cioè basati sulla capacità di conoscere a priori l'efficacia o la tossicità del farmaco attraverso l'identificazione nel soggetto di eventuali varianti polimorfiche di enzimi coinvolti nel metabolismo delle sostanze utilizzate.

Un promettente approccio in questa direzione è rappresentato dalla "chip array technology", capace di identificare nuovi target genetici e polimorfismi potenzialmente rilevanti e dalla realizzazione di studi prospettici che utilizzino ben definite coorti di pazienti.¹¹

Riferimenti bibliografici

1. **Tumour necrosis factor alpha blocking agents for induction of remission in ulcerative colitis**
Lawson MM et al
Cochrane Database Syst Rev. 2006 Jul 19;3:CD005112
2. **Tumor necrosis factor-alpha antibody for induction of remission in Crohn's disease**
Akobeng AK
Cochrane Database Syst Rev. 2004;(1):CD003574

3. **Active delivery of trefoil factors by genetically modified *Lactococcus lactis* prevents and heals acute colitis in mice**
Vandenbroucke K. et al
Gastroenterology 2004;127:502-13
4. **Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial**
Furrie E et al
Gut 2005; 54:242-49
5. ***Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial**
Summers RW et al
Gastroenterology 2005; 128:825-32
6. ***Trichuris suis* therapy in Crohn's disease**
Summers RW et al
Gut 2005; 54:87-90
7. **Oral budesonide therapy improves quality of life in patients with collagenous colitis**
Madisch A et al
Int J Colorectal Dis 2005; 20: 312-16
8. **Budesonide treatment of collagenous colitis: a randomised, double blind, placebo controlled trial with morphometric analysis**
Bonderup OK et al
Gut 2003; 52:248-51
9. **Prognosis of ursodeoxycholic Acid-treated patients with primary biliary cirrhosis. Results of a 10-yr cohort study involving 297 patients**
terBorg PC et al
Am J Gastroenterol 2006; 101: 2044-50
10. **AGA Institute Medical Position Statement on the Diagnosis and Management of Celiac Disease**
Kagnoff MF
Gastroenterology 2006; 131:1977-80
11. **Review article: interactions between genotype and response to therapy in inflammatory bowel diseases**
Herrlinger KR et al
Aliment Pharmacol Ther 2006; 24:1403-12

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID)

Marc E Rothenberg
January 2004 (Vol. 113, Issue 1, Pages 11-28)

Prototypic disorders of gastrointestinal mucosal immune function: Celiac disease and Crohn's disease

Stephen P. James
January 2005 (Vol. 115, Issue 1, Pages 25-30)

Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked: Forkhead box protein 3 mutations and lack of regulatory T cells

Troy R. Torgerson, Hans D.
Ochs October 2007 (Vol. 120, Issue 4, Pages 744-750)

*** Gastrointestinal mucosal immunity**

Barry K. Wershil, Glenn T. Furuta
Mini Primer 2008 February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages S380-S383)

20. Disturbi neuromuscolari su base immunologica

Sono stati descritti disordini immunomediati a carico di ciascuna delle suddivisioni strutturali del sistema nervoso e neuromuscolare. Nonostante il sistema nervoso centrale e, in misura minore, il sistema nervoso periferico siano privilegiati dal punto di vista anatomico e dunque protetti da reazioni immunitarie, il fenomeno della disregolazione immune non è infrequente. È stato ipotizzato che siano coinvolti fattori ambientali, genetici ed immunologici nello sviluppo di queste patologie. Le principali patologie neurologiche immuno-mediate del sistema nervoso centrale includono la sclerosi multipla e l'encefalomielite acuta disseminata. Le patologie immuno-mediate del sistema nervoso periferico includono la miastenia gravis, la sindrome di Guillain-Barré, la polineuropatia infiammatoria demielinizzante cronica, la polimiosite idiopatica, la dermatomiosite e la miosite a corpi inclusi. Alcune di queste patologie, quali la miastenia gravis e alcune forme di polineuropatia demielinizzante infiammatoria acuta, sono chiaramente di natura autoimmune, mentre per altre il sistema immunitario gioca un ruolo importante nella patogenesi. La comprensione dei meccanismi immunitari e la scoperta di nuovi potenziali bersagli terapeutici sono essenziali per la formulazione di nuove strategie terapeutiche. Vengono qui analizzati l'epidemiologia, la patogenesi, i criteri diagnostici e gli attuali approcci terapeutici per le principali patologie neuroimmunologiche.

I disturbi neuromuscolari immunomediati possono coinvolgere il sistema nervoso ad ogni livello. Sono infatti stati descritti quadri patologici a carico del sistema nervoso centrale (SNC), del sistema nervoso periferico (inclusi i nervi periferici), delle giunzioni neuromuscolari e dei muscoli (Tab. I). Alcune di queste patologie hanno una chiara eziopatogenesi autoimmune ed è stato possibile identificare uno specifico autoantigene responsabile, mentre altre forme riconoscono meccanismi immunomediati. Molte patologie sono elencate in Tabella I; vengono qui descritte in dettaglio le più comuni, mettendone in luce epidemiologia, patogenesi, caratteristiche cliniche ed approcci terapeutici.

SCLEROSI MULTIPLA

Background

La Sclerosi Multipla (SM) è una sindrome eterogenea caratterizzata da disturbi neurologici molto vari nella

Abbreviazioni utilizzate:

AchR:	Recettore dell'acetilcolina
ADEM:	Encefalomielite acuta disseminata
PDIA/AIDP:	Polineuropatia demielinizzante infiammatoria acuta/Acute inflammatory demyelinating polyneuropathy
PDIC/CIDP:	Polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica/ Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy
SNC/CNS:	Sistema nervoso centrale/ Central nervous system
FCS/CSF:	Fluida cerebrospinale/ Cerebrospinal fluid
DM:	Dermatomiosite
EAE:	Encefalomielite autoimmune sperimentale
EMG:	Elettromiografia
SGB/GBS:	Sindrome di Guillain-Barré/ Guillain-Barré syndrome
MCI/IBM:	Miosite a corpi inclusi /Inclusion body myositis
IVIG:	Immunoglobuline endovena
PBM/MBP:	Proteina basica della mielina/ Myelin basic protein
MG:	Miastenia gravis
RM/MRI:	Immagini in risonanza magnetica/ Magnetic resonance imaging
SM/MS:	Sclerosi multipla/ Multiple sclerosis
PM:	Polimiosite

loro localizzazione ed evoluzione. Rappresenta una grave causa di disabilità fisica nella popolazione adulta nel Nord America. Il rischio di contrarre malattia risulta maggiore per il sesso femminile secondo un rapporto di 2:1. Vengono descritte quattro principali forme cliniche, classificate sulla base del decorso clinico: recidivante-remittente, progressiva secondaria, progressiva primaria e progressiva-recidivante.¹ La forma recidivante-remittente colpisce il 65% dei soggetti affetti ed è caratterizzata dall'insorgenza di manifestazioni neurologiche che si risolvono nell'arco di settimane o mesi. Dopo 15 anni la maggior parte di questi pazienti sviluppa una forma secondaria progressiva in cui i disturbi neurologici divengono stabili e si accumulano. I pazienti con la forma primaria progressiva vanno incontro, a partire dall'esordio della malattia, a disturbi neurologici permanenti, mentre coloro che presentano quadri di Sclerosi progressiva-recidivante presentano un insieme di deficit permanenti e transitori. La malattia insorge generalmente nella seconda decade di vita per quanto riguarda le forme recidivanti-remittenti ed intorno ai 30 anni nelle forme progressive primarie. È stata riportata una prevalenza

Traduzione italiana del testo di:
Tanuja Chitnis e Samia J. Khoury
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S659-68

TABELLA I. Disturbi immuno-mediati del SNC e del sistema nervoso periferico

Tessuto	Disordine
SNC	
Materia grigia	Encefalite limbica paraneoplastica Opsoclone-mioclone paraneoplastico Encefalite brainstem paraneoplastica Panencefalite subacuta sclerosante
Materia grigia e bianca	Angioite primitiva del SNC
Materia bianca	ADEM Localizzazione specifica Cerebellite parainfettiva Mielite trasversa Neurite ottica Leucoencefalite acuta emorragica SM/MS Lupus con localizzazione nel SNC Neurosarcoidosi Neuroborreliosi Mielopatia associata all'HTLV-1 Sindrome dell'uomo rigido
Sistema nervoso periferico	
Nervi periferici	SGB/GBS PDIA/AIDP PDIC/CIDP Sindrome di Miller-Fisher Mononeurite multipla Neuropatie paraneoplastiche Gammopatia monoclonale di incerta origine Neuropatia associata a patologie del connettivo Neuroborreliosi
Giunzioni neuromuscolari	MG autoimmune Sindrome di Lambert-Eaton
Muscolo	PM DM MCI/IBM Miosite eosinofila

decescente di SM da nord a sud nell'emisfero settentrionale ed un trend opposto in quello meridionale.²

Patogenesi

La SM è caratterizzata da infiltrati infiammatori all'interno della sostanza bianca del sistema nervoso centrale, con conseguente demielinizzazione e compromissione assonale³, e formazione di placche sclerotiche. L'infiammazione è generalmente perivascolare e le lesioni si riscontrano tipicamente a livello della sostanza bianca periventricolare sottocorticale, del corpo calloso, del peduncolo cerebrale, del cervelletto e del midollo spinale. In base alle caratteristiche predominanti, le lesioni tipiche della SM sono state di recente suddivise in 4 sottotipi: (1) infiltrato cellulare, (2) deposizione anticorpale, (3) apoptosi degli oligodendrociti, (4) morte degli oligodendrociti⁴. Tali aspetti possono coesistere nello stesso paziente; tuttavia, ad oggi, sono stati segnalati solo singoli sottotipi di lesione nei singoli pazienti.

È evidente che il sistema immunitario svolge un ruolo determinante nel mediare il danno del SNC nella SM. Bande distinte osservate nell'elettroforesi del liquido cefalo-rachidiano (FCS), denominate *bande oligoclonali*, indicano un'aumentata produzione di anticorpi da parte di uno o più cloni di plasmacellule. L'assenza di queste bande nel siero indica che la produzione anticorpale è ristretta al SNC. Nonostante tali bande oligoclonali, confinate al FCS, siano comunemente osservate nei pazienti con sclerosi multipla, tuttavia il target di questi anticorpi deve ancora essere ben definito. Si ritiene che l'immunità cellulo-mediata, che coinvolge principalmente le cellule T-helper, svolga un ruolo importante nel determinare la malattia e gli studi immunologici hanno confermato la presenza di cellule T attivate nella SM. La maggior parte delle terapie per la SM ha inoltre come bersaglio anche i linfociti T. Nessun autoantigene è stato chiaramente descritto nella SM, per cui questa è considerata una patologia immuno-mediata piuttosto che una malattia autoimmune. Sono stati studiati i meccanismi di reazione verso diversi antigeni della mielina, inclusi la proteina basica mielinica (PBM), la proteina proteolipidica e la proteina mielinica oligodendrocitica. Le cellule T PBM-reattive sono presenti negli individui normali⁵, ma i pazienti con SM hanno una più elevata percentuale di cellule T attivate-PBM-reattive nel sangue periferico e nel liquido cefalo-rachidiano⁶.

Si ritiene che la SM sia una malattia Th1-mediata. Le cellule Th1 producono prevalentemente IFN-γ. Sono stati osservati aumentati livelli di citochine di tipo Th1 nelle lesioni tipiche della SM⁷, ed in un trial clinico l'impiego di IFN-γ ha peggiorato la SM⁸. Inoltre vi è un'aumentata produzione di IL-12 (il maggior induttore di citochine di tipo Th1) da parte delle cellule presentanti l'antigene nel sangue periferico dei pazienti con SM, specialmente in quelli con la malattia in fase attiva^{9,10}. Le encefalomieliti autoimmuni sperimentali (EAE), modello animale della SM, sono state utili per sviscerare i meccanismi patogenetici della malattia. Diversi modelli di EAE hanno dimostrato che i topi con un profilo citochinico di tipo Th1 hanno un maggior rischio di sviluppare EAE di quelli wild-type¹¹, e che d'altra parte, i modelli animali con un profilo citochinico di tipo Th2 (IL-4, IL-10) sono resistenti alla malattia. Questo comunque è lontano dall'essere un principio universalmente riconosciuto, poiché le EAE possono essere indotte da un trasferimento di cellule Th2¹².

L'immunopatogenesi ipotizzata per la SM coinvolge l'attivazione di cellule T specifiche per la mielina tramite il mimetismo molecolare oppure per azione di un superantigene. Le cellule attraversano la barriera ematoencefalica e vengono riattivate nel SNC quando entrano in contatto con l'antigene affine. Il reclutamento di cellule infiammatorie nel SNC è facilitato dalla produzione e dall'interazione con le chemochine e le molecole d'adesione. La riattivazione all'interno del SNC dà inizio ad un processo infiammatorio a cascata, con il reclutamento di altre cellule, la secrezione di citochine e chemochine, ed il danno alla mielina (Fig. 1)¹³. Ognuna di queste fasi del meccanismo patogenetico, può rappresentare un bersaglio per interventi terapeutici. Alcuni studi clinici stanno prendendo in considerazione l'ipotesi di valutare

l'efficacia del blocco della costimolazione delle cellule T. Altri trials hanno come bersaglio l'attivazione delle cellule T e ve ne sono altri, in corso, volti a bloccare il passaggio delle cellule T attivate all'interno della barriera ematoencefalica.

La SM è una malattia complessa poligenica. I gemelli omozigoti hanno una percentuale di concordanza del 27% mentre i dizigoti dello stesso sesso mostrano un tasso di concordanza del 2,3%.¹⁴ L'incidenza di malattia nei parenti di primo grado dei pazienti con SM si aggira tra il 2% e il 5%, mentre l'incidenza nella popolazione generale è dello 0,2%. Sono stati eseguiti studi di correlazione genetica e sono state identificate numerose regioni d'interesse, ma la più forte correlazione è quella con la regione dell'HLA. Vi è un'aumentata incidenza di SM tra i pazienti con aplotipo HLA-DR2 (DR1501)¹⁵. Pertanto, sebbene i fattori genetici giochino un importante ruolo nella patogenesi, studi epidemiologici hanno dimostrato che anche l'ambiente svolge un ruolo critico.

Diagnosi

La SM è estremamente eterogenea nella sua presentazione clinica. I sintomi includono astenia agli arti o paraplegia, neuriti ottiche, oftalmoplegia, alterazioni del sensorio, tic dolorosi, urgenza urinaria, disturbi dell'andatura, vertigini e disturbi cerebellari. I più comuni sintomi d'esordio sono i sintomi motori e sensitivi. La diagnosi di SM si basa sulla presenza di deficit neurologici disseminati nel tempo e nello spazio. Test ausiliari, specialmente la RM, consentono una diagnosi più precoce, senza dover aspettare l'evolversi dei criteri clinici. Recentemente un board scientifico ha definito i criteri necessari per la diagnosi di SM. Due eventi neurologici distinti nel tempo ed una RMI con lesioni caratteristiche sono necessari per porre diagnosi¹⁶. Una variante di presentazione ugualmente accettata è rappresentata da un evento clinico associato a RM sequenziali che mostrano la comparsa di nuove lesioni distinte nel tempo. Test ausiliari come l'esame del FCS per identificare le bande oligoclonali o un aumentato indice di IgG (IgG nel FCS x albumina sierica/IgG sieriche x albumina nel FCS) o potenziali visivi evocati, possono fornire ulteriori informazioni nei casi borderline. I casi progressivi idiopatici sono caratterizzati da sintomi clinici progressivi associati a lesioni demielinizzanti visibili alla RM. In tutti i casi devono essere prese in considerazione altre possibili cause di malattia demielinizzante. La diagnosi differenziale della SM include la malattia di Lyme (neuro borelliosi) del SNC, la sifilide, l'ipotiroidismo, il deficit di vitamina B12, la sarcoidosi, il lupus del SNC ed altri disturbi del tessuto connettivo che possono colpire il SNC. La degenerazione spinocerebellare e l'infezione da virus umano T-linfotropico 1 rappresentano importanti diagnosi differenziali della SM idiopatica progressiva.

La RM è uno strumento estremamente utile nella diagnosi di SM. Le lesioni sono caratteristicamente presenti nella sostanza bianca profonda con una distribuzione periventricolare, con coinvolgimento del corpo calloso ed occasionalmente del peduncolo cerebrale, del cervelletto e della sostanza bianca del midollo spinale. L'aumento (enhancement) di gadolinio nelle immagini T1-pesate indica aree in

cui la barriera ematoencefalica è danneggiata, segno di lesioni recenti. Il carico lesionale in sequenza T2 indica demielinizzazione, gliosi e perdita assonale e costituisce un indice non-specifico di gravità di malattia. L'atrofia, che si pensa essere dovuta alla distruzione di tessuto, può essere valutata quantificando la frazione di parenchima cerebrale¹⁷: i buchi neri nelle immagini T1 indicano perdita di tessuto.

Trattamento

Le recidive cliniche possono essere trattate con un bolo di metilprednisolone somministrato per via endovenosa per 3-5 giorni. Gli steroidi riducono il numero di lesioni captanti il gadolinio e possono abbreviare la durata dell'attacco. Le terapie per ridurre il tasso di esacerbazioni nelle forme recidivanti-remittenti includono l'interferone beta ed il copolimero 1 (glatiramer acetate; Copaxone, Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Petach, Israel). La terapia con interferone beta è disponibile in tre differenti forme: interferone beta-1b sottocutaneo (Betaseron, Berlex Laboratories, Inc, Montville, NY), interferone beta-1a sottocutaneo (Rebif, Serono, Inc, Rockland, Mass) ed interferone beta-1a intramuscolare (Avonex, Biogen, Inc, Cambridge, Mass). Il Betaseron viene somministrato a giorni alterni, il Rebif tre volte a settimana e l'Avonex 1 volta a settimana. L'efficacia dei tre farmaci è sovrapponibile, con studi che mostrano una riduzione del 30-35% delle nuove recidive¹⁸⁻²⁰, ed una significativa riduzione della progressione delle lesioni alla RM. Gli effetti collaterali includono reazioni nella sede d'iniezione e sintomi simil-influenzali (mialgia e febbre) al momento dell'iniezione. L'emocromo e i test di funzionalità epatica vanno tenuti sotto controllo durante il trattamento. Il meccanismo d'azione dell'interferone beta è stato attribuito al meccanismo IL-10-dipendente²¹, che determina una riduzione del numero di cellule Th1²², ed ad una modulazione dell'espressione delle molecole di adesione²³, risultante in una ridotta migrazione delle cellule infiammatorie attraverso la membrana ematoencefalica.

Il Copaxone è un peptide sintetico che è stato progettato per mimare l'effetto della PBM, in grado di provocare uno shift nelle cellule T-helper PBM-reattive da un fenotipo Th1 ad un fenotipo Th2 in pazienti con SM²⁴; tuttavia questo può non essere il solo meccanismo d'azione. Come per gli interferoni, è stato dimostrato che il Copaxone riduce il numero di recidive del 29%²⁵. Il Copaxone può anche causare reazioni cutanee nei siti d'iniezione e reazioni d'ansia in una piccola percentuale di pazienti. Nessuno di questi farmaci si è dimostrato essere inequivocabilmente efficace nella SM progressiva secondaria. Un ampio trial europeo che utilizzava interferone β -1b ha dimostrato un effetto ritardante di circa 6 mesi sulla progressione della malattia nei pazienti con forma iniziale progressiva secondaria di SM; tuttavia uno studio nord americano analogo non ha mostrato alcun effetto. Questa differenza può essere attribuita alle differenti popolazioni di pazienti coinvolte nei due studi, in quanto lo studio europeo includeva pazienti con maggiori recidive. Un recente studio sull'agente alchilante mitoxantrone ha dimostrato un ritardo di progressione nella

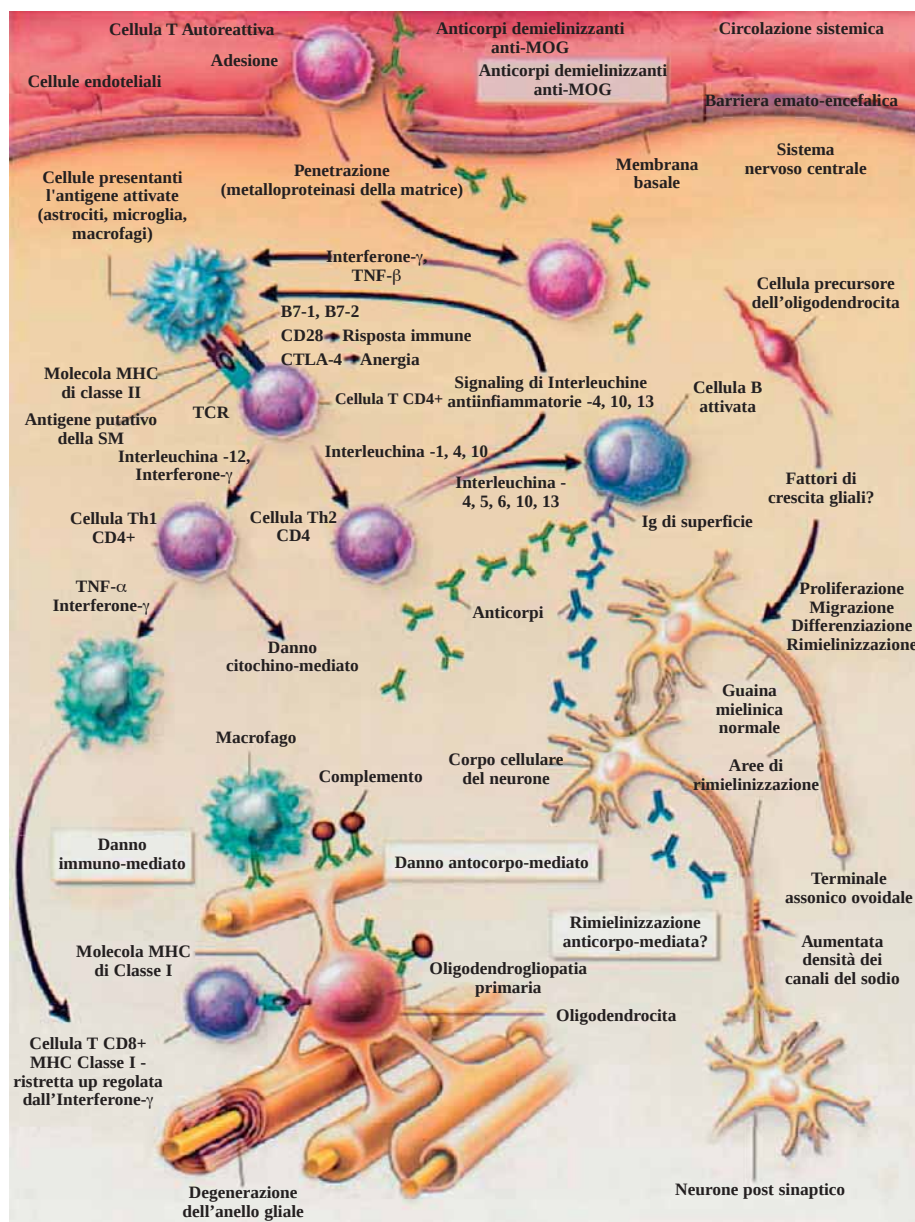


FIG 1. Possibili meccanismi alla base del danno e del processo riparativo in corso di SM. Fattori genetici e ambientali (inclusi infezioni virali, lipopolisaccaridi batterici, superantigeni, metaboliti reattivi e stress metabolico) possono facilitare il passaggio di cellule T autoreattive e di anticorpi demielinizzanti dalla circolazione sistemica al SNC attraverso interruzioni della barriera emato-encefalica. Nel SNC, fattori locali (inclusi infezioni virali e stress metabolico) possono up-regolare l'espressione di molecole di adesione endoteliali, quali la molecola di adesione intercellulare di tipo 1 (ICAM-1), la molecola di adesione cellulare vascolare di tipo 1 (VCAM 1), e la selettina E che a loro volta favoriscono l'ingresso delle cellule T nel SNC. Le proteasi, incluse le metalloproteinasi della matrice, possono incrementare ulteriormente la migrazione di cellule immuni autoreattive attraverso la degradazione di macromolecole della matrice extracellulare.

Le citochine pro-infiammatorie rilasciate dalle cellule T attivate, quali IFN- γ e TNF- α , possono up-regolare l'espressione di molecole cellulari di superficie sui linfociti e le cellule presentanti l'antigene circostanti. Il legame di antigeni putativi di SM, quali la PBM, la glicoproteina associata alla mielina, la glicoproteina degli oligodendrociti della mielina (MOG), la proteina proteolipide, la cristallina B, le fosfodiesterasi e la proteina S-100, al complesso trimolecolare- il recettore delle cellule T (TCR) e le molecole MHC di classe II sulle cellule presentanti l'antigene può indurre una aumentata risposta immunitaria verso l'antigene lega-

to, oppure anergia, in base al tipo di segnale derivante dall'interazione delle molecole co-stimolatorie di superficie (ad es. CD28 e antigene 4 del linfocita citotossico [CTLA-4]) con i loro ligandi (ad es. B7-1 e B7-2). La down-regolazione della risposta immunitaria (anergia) può comportare il rilascio di citochine anti-infiammatorie (IL-1, IL-4 e IL-10) da parte delle cellule T CD4+, con conseguente proliferazione di cellule Th2 CD4+ anti-infiammatorie. Le cellule Th2 possono inviare segnali anti-infiammatori alle cellule presentanti l'antigene attivate e stimolare le cellule B che producono anticorpi patologici o che incrementano i processi riparativi. In alternativa, se la processazione dell'antigene induce un aumento della risposta immunitaria, le citochine pro-infiammatorie (ad es. IL-12 e IFN- γ) possono indurre una cascata di eventi, che danno luogo alla proliferazione di cellule Th1 CD4+ pro-infiammatorie e alla fine ad un danno immuno-mediato a carico di mielina e oligodendrociti. Sono stati ipotizzati molteplici meccanismi di danno immuno-mediato della mielina: danno mediato dalle citochine degli oligodendrociti e della mielina; digestione degli antigeni di superficie della mielina da parte dei macrofagi, in seguito al legame di anticorpi diretti contro la mielina e gli oligodendrociti (citotossicità anticorpo-dipendente); danno mediato dal complemento; danno diretto degli oligodendrociti ad opera delle cellule T CD4+ e CD8+. Questo danno a carico della membrana di mielina comporta il denudamento degli assoni che non sono più in grado di trasmettere in modo efficiente i potenziali d'azione all'interno del SNC (perdita della conduzione saltatoria). Questo rallentamento o blocco dei potenziali d'azione comporta la genesi di sintomi neurologici. I segmenti assonali esposti possono essere suscettibili a danni ulteriori da parte di mediatori solubili (tra cui citochine, chemochine, complemento e proteasi), dando luogo ad un danno assonale irreversibile (come la transezione assonale e gli ovoidi dell'assone terminale). Vi sono diversi meccanismi possibili di riparazione della membrana mielinica, tra cui la risoluzione della risposta infiammatoria seguita dalla rimielinizzazione spontanea, la propagazione dei canali del sodio dai nodi di Ranvier per coprire i segmenti assonici denudati e ripristinare la conduzione, la rimielinizzazione anticorpo-mediata, e la rimielinizzazione dovuta alla proliferazione, migrazione e differenziazione dei precursori cellulari degli oligodendrociti residenti.

Adattata da un disegno della Mayo Foundation, e originariamente in New England Journal of Medicine 2000;353:938-52 (riprodotta con l'autorizzazione della Massachusetts Medical Society).

SM secondaria progressiva. La ciclofosfamide, altro agente alchilante, è stata ampiamente utilizzata per ritardare la progressione delle forme secondarie progressive²⁶.

Il trattamento a lungo termine della SM include il trattamento della spasticità, che è spesso responsiva alla tizanidina o al baclofen, ma in alcuni casi richiede l'utilizzo di una somministrazione di baclofen con pompa intratecale. I sintomi vescicali vengono trattati con agenti anticolinergici, come l'oxibutinina o con cateterizzazioni intermittenti o occasionalmente con procedure di diversione. La depressione è un sintomo comune della SM e deve essere trattata attentamente, soprattutto perché l'interferone può aggravarne i sintomi. L'astenia può essere il sintomo più disabilitante nella SM; viene trattata anche nei casi precoci, con l'amantadina e, più recentemente, con il modafinil.

ENCEFALOMIELE ACUTA DISSEMINATA

Background

L'encefalomielite acuta disseminata (ADEM) viene definita come un "episodio monofasico demielinizante associato ad una vaccinazione o ad un'infezione virale sistemica". Può colpire sia gli adulti che i bambini; tuttavia si verifica più frequentemente in questi ultimi. È stata inizialmente descritta in associazione con le vaccinazioni antirabbica ed antivaiolesca, entrambe preparate con tessuto neuronale, suggerendo un parallelo con l'EAE, il modello animale di SM. Tali vaccini sono stati oggi modificati in modo da poter utilizzare linee cellulari umane diploidi non neuronali. L'ADEM non è stata associata ad alcuno dei vaccini attualmente somministrati negli Stati Uniti. La variante parainfettiva dell'ADEM è stata messa in correlazione con il morbillo, la rosolia, la parotite e molti altri virus.

Patogenesi

Le lesioni dell'ADEM somigliano a quelle della SM. La sostanza bianca del SNC contiene infiltrati infiammatori perivascolari e zone di demielinizzazione. Il meccanismo più verosimile alla base di questa malattia è il mimetismo molecolare. Studi sperimentali hanno mostrato come le cellule T isolate da pazienti con ADEM abbiano una probabilità 10 volte maggiore di reagire con la PBM rispetto alle cellule di controllo, mettendo in relazione questa malattia con l'EAE di modelli animali²⁷. A causa della natura monofasica del disturbo, sembra che la risposta immunologica si verifichi in acuto ma sia poi inibita una ulteriore reazione.

Diagnosi

L'ADEM si manifesta di solito come un episodio monofasico caratterizzato da sintomi neurologici focali o multifocali e, nella maggior parte dei casi, si verifica dopo un'infezione virale. I sintomi possono includere debolezza, torpore, atassia, paralisi dei nervi cranici, così come sonnolenza, colpi apoplettici e coma. La diagnosi

viene posta sulle base del quadro clinico, dell'esame del FCS, e dell'aspetto della RM. L'esordio somiglia in alcuni aspetti agli eventi demielinizanti iniziali osservati nella SM; tuttavia numerosi aspetti rendono differente il quadro dell'ADEM rispetto a quello iniziale della SM. La diagnosi differenziale tra queste due entità patologiche è cruciale per la prognosi a lungo termine e per la gestione del trattamento. Gli aspetti clinici comuni dell'ADEM, che non si riscontrano nella SM, includono le neuriti ottiche bilaterali simultanee, la perdita di coscienza, la meningite, il rialzo termico e intensi dolori agli arti. Il tasso di mortalità si aggira tra il 10% e il 30% ed il 50% dei pazienti mostra una piena ripresa nell'arco di settimane o mesi. Recidive sono state osservate entro 3-6 mesi dall'esordio dei sintomi; recidive oltre questo periodo suggeriscono una diagnosi di SM.

La RM nei pazienti affetti da ADEM mostra tipiche lesioni multifocali della sostanza bianca che coinvolgono il cervello, il peduncolo cerebrale, il cervelletto ed il midollo spinale, che possono essere evidenziate o meno dall'infusione di gadolinio. Il coinvolgimento della sostanza grigia è più comune nell'ADEM che nella SM. Nel follow-up con RM, la risoluzione delle lesioni iniziali, senza la comparsa di nuove, aiuta a confermare la natura monofasica dell'ADEM. Il FCS caratteristicamente ha pressione normale, una conta cellulare moderatamente elevata (5-100 cellule/ μ L), livelli proteici moderatamente elevati (40-100 mg/dL) e normali livelli di glucosio. La presenza di eritrociti può essere indicativa di una diagnosi di leucoencefalite emorragica. Le bande oligoclonali si osservano meno frequentemente nell'ADEM che nella SM.

Trattamento

Gli episodi acuti di ADEM dovrebbero essere trattati con somministrazione endovenosa di steroidi. La dose abituale per gli adulti è di 1 grammo di metilprednisolone sodio succinato per 5 giorni. I casi refrattari sono stati trattati con plasmaferesi o ciclofosfamide. I pazienti con reperti suggestivi di SM dovrebbero essere sottoposti a follow up con RM.

NEUROPATIE IMMUNO-MEDIATE

Background

Le neuropatie periferiche immuno-mediate costituiscono un gruppo di malattie ampio ed eterogeneo. In questo capitolo vengono prese in considerazione la polineuropatia demielinizante infiammatoria acuta (PDIA) e la polineuropatia demielinizante infiammatoria cronica (PDIC), che possono essere definite in base al tempo in cui si manifesta il picco di deficit (4 settimane per le prime e due mesi per le seconde). Sebbene la PDIA e la PDIC presentino molte caratteristiche in comune, la possibilità che l'una rappresenti l'evoluzione dell'altra è ancora discussa. La PDIA o sindrome di Guillain-Barré (SGB) si manifesta di solito con paralisi ascendente simmetrica, a cui si possono associare disturbi del sistema nervoso autonomo e depressione della funzionalità respi-

ratoria. I sistemi sensitivi possono essere interessati e si possono avere parestesie o intorpidimento. La demielinizzazione ed il danno assonale possono essere di vario livello. Se i sintomi del paziente continuano a progredire per più di 4 settimane, la patologia viene considerata una PDIC.

La PDIA è la più comune malattia paralizzante acuta nel mondo occidentale, con un'incidenza annuale media di 1,8 casi/100.000 persone. Si osserva un'incidenza crescente con l'età. In passato la mortalità era per lo più dovuta ad insufficienza respiratoria, ma attualmente si è significativamente ridotta per l'introduzione della ventilazione a pressione positiva. Epidemie sono state identificate soprattutto in Cina settentrionale, dove l'alta incidenza di PDIA è stata associata ad infezioni da *Campylobacter jejuni*²⁸.

Patogenesi

La PDIA o SGB è caratterizzata, da un punto di vista patogenetico, da un infiltrato perineurale linfocitario, monocitario e macrofagico. Sono stati identificati diversi autoanticorpi diretti contro i glicolipidi della mielina, inclusi GM1, Gd1a, e Gd1b. In campioni patologici è stata individuata demielinizzazione anticorpo-mediata come risultato dell'attivazione del complemento.²⁹ In alcuni casi è presente danno assonale e si ritiene sia il risultato di un danno incidentale. La SGB è fondamentalmente una malattia anticorpo-mediata, come evidenziato dal fatto che molti pazienti mostrano miglioramenti dopo trattamento con plasmateresi e dal fatto che il siero di pazienti con SGB causa demielinizzazione quando viene trasferito in animali da esperimento o in culture di cellule nervose periferiche.

La presenza di PDIA è stata messa in relazione con diverse malattie infettive tra cui l'infezione da *C. jejuni*, *Mycoplasma pneumoniae*, e molte altre infezioni virali e batteriche, così come con le vaccinazioni. L'incidenza di infezioni nei trenta giorni precedenti alla comparsa della SGB è stata riportata tra il 10% e il 60%³⁰. *C. jejuni* è uno dei più comuni agenti identificabili, e grandi epidemie in Cina sono state associate ad una forma di SGB che coinvolge soprattutto gli assoni motori. Si ritiene che il mimetismo molecolare e la suscettibilità dell'ospite giochino un ruolo importante nella patogenesi della malattia sia in generale sia nei casi associati a *C. jejuni*. Gli autoanticorpi, non presenti nei campioni dei soggetti di controllo, sono stati identificati nei campioni di siero dei pazienti con SGB associata a *C. jejuni* inclusi GM1, Gd1a, Gd1b, e Gq1b³¹.

Nella PDIC il quadro istopatologico è simile a quello osservato nella PDIA; tuttavia la maggior parte dei lavori in letteratura riporta minori infiltrati infiammatori. La biopsia del tessuto nervoso evidenzia un misto di demielinizzazione e alterazioni assonali. Possono essere presenti lesioni a "bulbo di cipolla" che indicano il ripetersi di processi di demielinizzazione e rimielinizzazione. Esistono poche evidenze sperimentali che questa malattia sia anticorpo mediata; paradossalmente tuttavia i pazienti trattati con plasmateresi mostrano miglioramenti. C'è un'evidenza indiretta che la PDIC sia mediata dalle cellule T; tuttavia questo aspetto è

ancora in fase di studio. Sebbene la PDIC sia caratterizzata dalla mancanza di anticorpi antiganglioside, la neuropatia motoria multifocale può rappresentare una variante di PDIC ed è caratterizzata da alti titoli di anticorpi IgM anti-GM1. L'identificazione di questa forma è importante poiché il trattamento con immunoglobuline per via endovenosa (IVIG) e con ciclofosfamide per via orale si è mostrato efficace.

Diagnosi

Da un punto di vista clinico la PDIA è tipicamente caratterizzata da parestesie ad esordio subacuto, sintomatologia sensoriale e paralisi ascendente. I sintomi sono generalmente simmetrici e possono progredire fino a coinvolgere i muscoli respiratori, facciali ed orofaringei. Le manifestazioni autonome, come l'ipotensione ortostatica e la bradicardia, si verificano nella maggior parte dei pazienti³². L'iporeflessia e l'areflessia sono manifestazioni costanti. La diagnosi viene posta sulla base dell'esame obiettivo e della presentazione clinica e può essere confermata dall'esame del FCS e dai studi elettrofisiologici seriali. Il tipico quadro a livello del FCS consiste in un aumento proteico, in assenza di elevata conta di leucociti. Possono essere presenti anche bande oligoclonali. Il 90% dei pazienti mostra risposte anormali ai test elettrofisiologici, che includono prolungate latenze motorie distali e delle onde F, riduzione di ampiezza del potenziale d'azione del compartimento muscolare distale con o senza dispersione temporale e rallentamento della velocità di conduzione motoria.³³ L'elettromiografia può mostrare un ridotto reclutamento dell'unità motoria.

Se c'è una progressione continua dei sintomi per più di quattro settimane o se si verificano recidive, allora la malattia viene considerata una PDIC. Gli studi elettrofisiologici nella PDIC sono simili a quelli della PDIA e nella maggior parte dei casi si osserva una demielinizzazione multifocale acquisita. Il FCS mostra una dissociazione albuminocitologica e la biopsia del nervo può essere utile per differenziare una PDIC dalle altre cause di neuropatia cronica.

Trattamento

Il trattamento della PDIA comprende terapia di supporto e monitoraggio cardiaco e respiratorio. La plasmateresi e le IVIG sono stati usati per il trattamento acuto della PDIA e hanno mostrato uguale efficacia nell'abbreviare i tempi di recupero³⁴. Alte dosi di steroidi non sono apparse efficaci nel trattamento della PDIA.³⁵ Contrariamente alla PDIA, le forme di PDIC rispondono bene ad alte dosi di steroidi orali. Sia la plasmateresi che le IVIG³⁶ sono state utilizzate con successo. Gli immunosoppressori come la ciclosporina, la ciclofosfamide e l'azatioprina, hanno avuto risultati positivi nei casi refrattari; tuttavia queste molecole necessitano di ulteriori valutazioni in studi controllati. La neuropatia motoria multifocale, una variante della PDIC, risponde bene alle IVIG in associazione a ciclofosfamide orale.

MIASTENIA GRAVIS AUTOIMMUNE

Background

La miastenia gravis (MG) è una patologia della giunzione neuromuscolare. È una patologia autoimmune e nel 80-90% dei pazienti sono rintracciabili autoanticorpi diretti contro la subunità α del recettore per l'acetil colina (AChR). La MG è caratterizzata da un'incostante debolezza e faticabilità, soprattutto a carico dei muscoli innervati dai nervi cranici, ma che può coinvolgere anche i muscoli respiratori e scheletrici. La MG ha una distribuzione bifasica per età. Il maggior numero di casi si verifica in soggetti di sesso femminile di età tra i 20 e i 40 anni, mentre i rimanenti colpiscono le età più avanzate e non mostrano differenza di incidenza tra i due sessi. Nel 10-15% dei casi si associano timomi, soprattutto nelle forme ad insorgenza tardiva. Il 75% dei pazienti presenta delle alterazioni timiche, l'85% delle quali è rappresentato da iperplasia timica. La MG è spesso associata ad altre malattie autoimmuni, come disturbi tiroidei, artrite reumatoide, anemia pernicioosa e lupus eritematosus sistemico (LES)³⁷. Una sindrome simile, la sindrome di Lambert-Eaton, si associa alla presenza di autoanticorpi diretti contro i canali per il calcio presinaptici ad alto voltaggio.

Patogenesi

La MG è una patologia autoimmune dovuta alla presenza di autoanticorpi anti-AChR e mediata dall'azione dei linfociti B. Nell'80-90% dei pazienti sono rilevabili autoanticorpi policlonali che possono essere di qualsiasi sottoclasse delle IgG. Il trasferimento di siero da pazienti con MG ad animali da esperimento provoca un blocco neuromuscolare. Il meccanismo con cui gli anticorpi causano i sintomi neurologici è controverso. Un possibile meccanismo prevede un blocco neuromuscolare, complemento-mediato dell'AChR, conseguente all'adesione degli anticorpi IgG. Esiste tuttavia una scarsa correlazione tra il titolo anticorpale sierico e la gravità e il decorso della malattia. Sebbene i linfociti B siano le cellule effettrici che producono gli anticorpi, studi sperimentali hanno mostrato come linfociti T auto-reattivi siano necessari per il manifestarsi della malattia³⁸. La rimozione del timo determina un miglioramento del quadro clinico nell'80-90% dei pazienti con MG. Il ruolo delle alterazioni timiche rimane poco chiaro, ed i pazienti con timoma possono mostrare anticorpi diretti contro altre proteine muscolari come i recettori della rianodina e la titina³⁹; tuttavia il significato clinico di questi anticorpi non è ancora noto. Attualmente vengono condotti studi per determinare i motivi della mancata tolleranza dei linfociti T e conseguentemente dei linfociti B. Sia il timo normale che quello miastenico contengono cellule miodi ed epiteliali che esprimono AChR. I linfociti T che esprimono il recettore Vb 5.1+ appaiono overespressi nel core dei centri germinativi e nelle aree perifollicolari delle ghiandole timiche iperplastiche, suggerendone un possibile ruolo nella risposta autoimmune³⁹. La mancata tolleranza centrale o timica svolge un ruolo importante nella patogenesi della malattia.

Diversi fattori genetici sono coinvolti nei processi patogenetici della MG autoimmune, sebbene i gemelli mono- zigoti mostrino un rapporto di concordanza inferiore al 50%. Nelle giovani donne è stata dimostrata una discreta associazione con gli antigeni B8 e Drw3 del sistema maggiore di istocompatibilità (HLA). La correlazione più forte con l'HLA-DQw2 resta controversa. Nei parenti di primo grado dei pazienti con MG si osserva un'incidenza insolitamente elevata di altre patologie autoimmuni, come il LES, l'artrite reumatoide ed alterazioni tiroidee, che suggerisce la presenza di geni autoimmuni comuni.

Diagnosi

La MG è caratterizzata da una progressiva faticabilità di specifici gruppi muscolari. I comuni sintomi d'esordio includono diplopia, ptosi, disartria, disfagia e debolezza muscolare, prevalentemente a carico dei muscoli delle spalle e del collo, ma anche di altri gruppi muscolari. Si possono inoltre verificare affaticamento e insufficienza dei muscoli respiratori. Generalmente i pazienti lamentano difficoltà nel parlare, nel masticare, nel deglutire e offuscamento della vista. Spesso i sintomi si aggravano alla fine della giornata o in seguito ad utilizzo prolungato di specifici gruppi muscolari, o durante malattie sistemiche, incluse le infezioni virali.

La diagnosi si basa sulla sintomatologia clinica, sui test con gli inibitori delle colinesterasi e sull'EMG. Nell'80-90% dei soggetti affetti sono rintracciabili gli autoanticorpi sierici anti-AChR; tuttavia la sieronegatività non esclude la MG⁴⁰. La reversibilità dei sintomi con gli inibitori delle anticolinesterasi è un altro elemento per porre diagnosi. Il trattamento con l'edrofonio cloruro a rapida azione migliora il quadro clinico in circa il 90% dei pazienti; tuttavia la reversibilità non è specifica per MG. L'EMG fornisce l'evidenza di malattia. Stimolazioni nervose ripetute mostrano una risposta decrementale del potenziale d'azione del compartimento muscolare nel 61% dei pazienti con MG. L'EMG per singola fibra può evidenziare un jitter, fenomeno osservato nelle patologie con anomalie di trasmissione neuromuscolare⁴¹.

Trattamento

La terapia della MG è indirizzata ad alleviare i sintomi mediante l'uso di inibitori della acetilcolinesterasi e di strategie che hanno come bersaglio l'effettore di malattia, il sistema immune.

La timectomia è raccomandata nei soggetti di età compresa tra i 15 ed i 65 anni con percentuali di remissione che variano dall'80% al 90%⁴². Il timo svolge un ruolo importante nella maturazione dei linfociti T durante il periodo dello sviluppo, per cui la timectomia in età prepuberale è sconsigliata. Tra i diversi inibitori delle colinesterasi, la piridostigmina bromuro (Mestinon, ICN Pharmaceuticals, Inc, Costa Mesa, Calif) e la neostigmina bromuro (Prostigmin, ICN Pharmaceuticals, Inc, Costa Mesa, Calif) sono i più utilizzati. Questi farmaci, somministrati 3-4 volte al giorno, consentono nella maggior parte dei casi un temporaneo miglioramento del quadro clinico.

La MG è una malattia anticorpo-mediata che risponde anche a terapie che non hanno specificamente come bersaglio gli anticorpi, come la plasmateresi e l'IVIG. Entrambe vengono utilizzate nelle fasi di esacerbazione acuta di malattia o per la preparazione all'intervento chirurgico⁴³. La plasmateresi è un'immunoterapia a breve azione, che rimuove in modo non-specifico gli anticorpi dal circolo, mentre le IVIG sono un agente immunomodulante comunemente utilizzato per il trattamento delle malattie allergiche o autoimmuni. Visto che nella MG l'autoantigene è conosciuto, terapie sperimentali potrebbero indirizzarsi verso specifiche molecole, come le immunoglobuline di membrana dei linfociti B o i recettori dei linfociti T, e rilasciare immunotossine.

I farmaci immunosoppressori, come la ciclosporina e la azatioprina, sono utilizzati per rinforzare il trattamento nei casi in cui i sintomi non siano adeguatamente controllati con i metodi descritti in precedenza. Tuttavia la decisione di somministrare tali prodotti deve tenere conto dei possibili effetti collaterali. I corticosteroidi vengono utilizzati in diversi stadi di trattamento ed hanno molteplici effetti sul sistema immunitario, inclusa la riduzione dei livelli degli anticorpi anti-AchR.

MALATTIE MUSCOLARI INFIAMMATORIE

Background

La Polimiosite (PM), la dermatomiosite (DM) e la miosite a corpi inclusi (MCI) sono malattie immuno-mediate del muscolo e del tessuto connettivo circostante. Ognuna di esse presenta peculiari caratteristiche cliniche ed immunologiche. Sia la PM che la DM colpiscono prevalentemente il sesso femminile, mentre la MCI è più comune nei soggetti di sesso maschile. La MCI mostra una frequenza inferiore rispetto alla PM e alla DM. La DM è associata ad un aumentato rischio per patologia tumorale, per cui uno screening oncologico completo dovrebbe rientrare nel protocollo diagnostico di questi soggetti.

Patogenesi

Si pensa che alla base della PM ci siano diverse cause eziopatogenetiche, tra cui meccanismi autoimmuni, alterazioni del tessuto connettivo ed infezioni virali e batteriche. Da un punto di vista istologico la PM è caratterizzata da un infiltrato infiammatorio dell'endomysio, costituito prevalentemente da linfociti T CD8+ e da un relativo risparmio dei vasi sanguigni. In un particolare sottotipo di PM sono state identificate cellule T con recettori $\gamma\delta$ intorno a fibre muscolari non necrotiche⁴⁴. Per contro la DM è caratterizzata da un'atrofia perifascicolare. Si verifica ipoperfusione con conseguente degenerazione delle fibre alla periferia del fascio muscolare, secondaria ad un danno microvascolare. Il danno a carico dei capillari, che si manifesta con microinfarti, è dovuto ad un meccanismo complemento-mediato⁴⁵. Studi con immunofluorescenza hanno messo in evidenza depositi di complessi immuni nell'endotelio, indicando che questa è una patologia anticorpo-mediata e perciò differente dalla PM.

Diversi autoanticorpi, per lo più non specifici per le patologie del tessuto connettivo, diretti contro componenti nucleari e citoplasmatici cellulari, sono stati trovati in circa il 30% delle miopatie infiammatorie. Virus come i coxsackievirus B sono coinvolti nella patogenesi della malattia e sia i pazienti con PM sia quelli con DM possono avere autoanticorpi anti-Jo-1 diretti contro l'enzima virale istidil-transferasi RNA-sintetasi⁴⁶.

Come la PM, la MCI è mediata da linfociti T CD8+. Una biopsia muscolare può inoltre evidenziare la presenza caratteristica di vacuoli autofagici "rimmed" e di depositi di sostanza amiloide simili a quelli che si osservano nella malattia di Alzheimer, suggerendo delle similitudini tra queste due patologie⁴⁷.

Diagnosi

La PM ha un esordio caratterizzato da una debolezza muscolare fluttuante e prevalentemente localizzata alle estremità superiori ed inferiori. Il forte dolore muscolare rende meno probabile la diagnosi di PM. Anche i muscoli respiratori ed orofaringei possono essere colpiti, determinando disfagia e difficoltà respiratorie. Sintomi associati includono il fenomeno di Raynaud, il coinvolgimento cardiaco, artralgie e febbre. La DM è caratterizzata da rash eritematosi fotosensibili intorno agli occhi o sulle superfici articolari estensorie in aggiunta ai segni tipici della PM. Sia la PM che la DM si associano con altre malattie reumatiche (soprattutto sclerodermia) ed entrambe, ma particolarmente la DM, si associano a patologie tumorali maligne. Tutte le età possono essere colpite, con una lieve prevalenza nei soggetti di sesso femminile.

La MCI si manifesta con un'atrofia progressiva e simmetrica dei muscoli prossimali e distali senza dolore. Deficit di forza dei muscoli facciali e disfagia sono sintomi comuni. Questa malattia colpisce prevalentemente persone d'età superiore ai 50 anni e interessa maggiormente il sesso maschile.⁴⁸

La diagnosi di tutte le miopatie infiammatorie si basa sul riscontro di elevate concentrazioni sieriche di creatinina, sui reperti elettromiografici (irritabilità delle inserzioni muscolari, potenziali polifasici di breve durata e bassa ampiezza), sui segni clinici e sui risultati delle biopsie muscolari. La biopsia muscolare rappresenta il criterio standard per porre diagnosi e nella maggior parte dei casi consente di distinguere le diverse forme di miopatia infiammatoria. Gli autoanticorpi anti-Jo possono essere presenti in circa il 20% dei pazienti con PM e DM.⁴⁹

Trattamento

La terapia d'elezione della PM e della DM è costituita dai corticosteroidi. Le dosi possono variare da 60 a 100 mg/d di prednisone e la durata del trattamento dipende dal decorso clinico. Opzioni alternative di trattamento per le miositi infiammatorie includono le IVIG, il methotrexate, l'azatioprina, la ciclofosfamide, la ciclosporina ed, in casi estremi, la terapia radiante total-body^{50,51}. La mortalità varia tra il 15% ed il 35% ed il decesso è generalmente dovuto ad

insufficienza cardiaca o respiratoria.⁵² Considerata l'alta incidenza di neoplasie in corso di PM e DM, uno screening per carcinoma della mammella, dei polmoni, dell'ovaio, dello stomaco, del colon e per tumori ematologici andrebbe eseguito in tutti i pazienti a cui è stata fatta diagnosi.⁵³ La MCI può essere più resistente alla terapia steroidea e spesso viene diagnosticata dopo una risposta negativa al trattamento di un presunto caso di PM. Attualmente non vi sono terapie efficaci per la MCI; tuttavia le IVIG possono portare qualche beneficio.

Sindromi Paraneoplastiche

I disturbi neurologici paraneoplastici sono definiti come sindromi neurologiche che insorgono in associazione ad un carcinoma. Questi disturbi sono causati da anticorpi prodotti dal sistema immunitario in risposta ad un antigene tumorale in grado di cross-reagire con i tessuti nervosi. Poiché sono stati identificati molti autoanticorpi, si può affermare che il meccanismo d'azione delle sindromi paraneoplastiche è autoimmune. È probabile che antigeni aberranti, primitivi o amartomatosi, siano espressi da parte delle cellule tumorali.

All'interno di questo paragrafo si discute di alcuni dei principali disturbi neurologici paraneoplastici. Gli anticorpi anti-Hu si associano al carcinoma polmonare a piccole cellule e cross-reagiscono con i neuroni, determinando quadri di encefalomyelite o di neuropatia sensoriale. Nella miastenia di Lambert-Eaton si riscontrano autoanticorpi per i canali del calcio voltaggio-dipendenti di tipo P/Q e, in alcuni pazienti, autoanticorpi anti-Hu. La degenerazione cerebellare paraneoplastica può presentarsi in associazione con la sindrome miastenica di Lambert-Eaton⁵⁴. Gli autoanticorpi anti-Yo producono un danno degenerativo cerebellare come risultato di una cross-reazione con il citoplasma delle cellule del Purkinje e si associano al carcinoma mammario ed ovarico. La sindrome opsoclonio-mioclono, anch'essa osservata in associazione a carcinomi mammari ed ovarici, è dovuta all'azione degli autoanticorpi anti-Ri.

È stato osservato come i tumori che si associano a sindromi paraneoplastiche presentino un infiltrato cellulare maggiormente attivo rispetto alle forme tumorali isolate. Pertanto si potrebbe affermare che in questi quadri clinici il sistema immunitario risulta maggiormente attivo. Nel caso del carcinoma polmonare a piccole cellule, i casi con positività per autoanticorpi anti-Hu presentano generalmente una prognosi migliore⁵⁵.

Conclusioni

L'immunologia ha compiuto importanti progressi negli ultimi 20 anni. Queste conoscenze sono attualmente applicate in neurologia alle malattie immuno-mediate, ma sono prevedibili ulteriori progressi nel campo della neuroimmunologia, compresi nuovi approcci terapeutici e strategie volte ad indurre la remissione di malattia.

BIBLIOGRAFIA

1. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996;46:907-11.
2. Sadovnick AD, Ebers GC. Epidemiology of multiple sclerosis: a critical overview. *Can J Neurol Sci* 1993;20:17-29.
3. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mork S, Bo L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998;338:278-85.
4. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000;47:707-17.
5. Lovett-Racke AE, Trotter JL, Lauber J, Perrin PJ, June CH, Racke MK. Decreased dependence of myelin basic protein-reactive T cells on CD28-mediated costimulation in multiple sclerosis patients: a marker of activated/memory T cells. *J Clin Invest* 1998;101:725-30.
6. Ota K, Matsui M, Milford EL, Mackin GA, Weiner HL, Hafler DA. T-cell recognition of an immunodominant myelin basic protein epitope in multiple sclerosis. *Nature* 1990;346:183-7.
7. Cannella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;37:424-35.
8. Panitch HS, Hirsch RL, Haley AS, Johnson KP. Exacerbations of multiple sclerosis in patients treated with gamma interferon. *Lancet* 1987;1:893-5.
9. Makhlof K, Weiner HL, Khoury SJ. Increased percentage of IL-12+ monocytes in the blood correlates with the presence of active MRI lesions in MS. *J Neuroimmunol* 2001;119:145-9.
10. Balashov KE, Smith DR, Khoury SJ, Hafler DA, Weiner HL. Increased interleukin 12 production in progressive multiple sclerosis: induction by activated CD4+ T cells via CD40 ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:599-603.
11. Chitnis T, Najafian N, Benou C, Salama AD, Grusby MJ, Sayegh MH, et al. Effect of targeted disruption of STAT4 and STAT6 on the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* 2001;108:739-47.
12. Lafaille JJ, Keere FV, Hsu AL, Baron JL, Haas W, Raine CS, et al. Myelin basic protein-specific T helper 2 (Th2) cells cause experimental autoimmune encephalomyelitis in immunodeficient hosts rather than protect them from the disease. *J Exp Med* 1997;186:307-12.
13. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000;343:938-52.
14. Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD, Paty DW, Warren S, Hader W, et al. A population-based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med* 1986;315:1638-42.
15. Haines JL, Ter-Minassian M, Bazyk A, Gusella JF, Kim DJ, Terwedow H, et al. A complete genomic screen for multiple sclerosis underscores a role for the major histocompatibility complex. *The Multiple Sclerosis Genetics Group. Nat Genet* 1996;13:469-71.
16. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 2001;50:121-7.
17. Rudick RA, Fisher E, Lee JC, Simon J, Jacobs L. Use of the brain parenchymal fraction to measure whole brain atrophy in relapsing-remitting MS. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group. *Neurology* 1999;53:1698-704.
18. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Randomised double-blind placebo-control-

- led study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* 1998;352:1498-504.
19. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993;43:655-61.
20. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol* 1996;39:285-94.
21. Wang X, Chen M, Wandinger KP, Williams G, Dhib-Jalbut S. IFN-beta-1b inhibits IL-12 production in peripheral blood mononuclear cells in an IL-10-dependent mechanism: relevance to IFN-beta-1b therapeutic effects in multiple sclerosis. *J Immunol* 2000;165:548-57.
22. Brod SA, Marshall GD Jr, Henninger EM, Sriram S, Khan M, Wolinsky JS. Interferon-beta 1b treatment decreases tumor necrosis factor-alpha and increases interleukin-6 production in multiple sclerosis. *Neurology* 1996;46:1633-8.
23. Calabresi PA, Tranquill LR, Dambrosia JM, Stone LA, Maloni H, Bash CN, et al. Increases in soluble VCAM-1 correlate with a decrease in MRI lesions in multiple sclerosis treated with interferon beta-1b. *Ann Neurol* 1997;41:669-74.
24. Duda PW, Schmied MC, Cook SL, Krieger JI, Hafler DA. Glatiramer acetate (Copaxone) induces degenerate, Th2-polarized immune responses in patients with multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2000;105:967-76.
25. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1995;45:1268-76.
26. Weiner HL, Cohen JA. Treatment of multiple sclerosis with cyclophosphamide: critical review of clinical and immunologic effects. *Mult Scler* 2002;8:142-54.
27. Pohl-Koppe A, Burchett SK, Thiele EA, Hafler DA. Myelin basic protein reactive Th2 T cells are found in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 1998;91:19-27.
28. McKhann GM, Cornblath DR, Griffin JW, Ho TW, Li CY, Jiang Z, et al. Acute motor axonal neuropathy: a frequent cause of acute flaccid paralysis in China. *Ann Neurol* 1993;33:333-42.
29. The Italian Guillain-Barré Study Group. The prognosis and main prognostic indicators of Guillain-Barré syndrome. A multicentre prospective study of 297 patients. *Brain* 1996;119:2053-61.
30. Hafer-Macko CE, Sheikh KA, Li CY, Ho TW, Cornblath DR, McKhann GM, et al. Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 1996;39:625-35.
31. Sheikh KA, Nachamkin I, Ho TW, Willison HJ, Veitch J, Ung H, et al. *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides in Guillain-Barré syndrome: molecular mimicry and host susceptibility. *Neurology* 1998;51:371-8.
32. Zochodne DW. Autonomic involvement in Guillain-Barré syndrome: a review. *Muscle Nerve* 1994;17:1145-55.
33. Cros D, Triggs WJ. Guillain-Barré syndrome: clinical neurophysiologic studies. *Rev Neurol (Paris)* 1996;152:339-43.
34. Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barré Syndrome Trial Group. Randomised trial of plasma exchange, intravenous immunoglobulin, and combined treatments in Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 1997;349:225-30.
35. Guillain-Barré Syndrome Steroid Trial Group. Double-blind trial of intravenous methylprednisolone in Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 1993;341:586-90.
36. Hahn AF, Bolton CF, Pillay N, Chalk C, Benstead T, Bril V, et al. Plasma-exchange therapy in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a double-blind, sham-controlled, cross-over study. *Brain* 1996;119:1055-66.
37. Christensen PB, Jensen TS, Tsiropoulos I, Sorensen T, Kjaer M, Hojer-Pedersen E, et al. Associated autoimmune diseases in myasthenia gravis: a population-based study. *Acta Neurol Scand* 1995;91:192-5.
38. Yi Q, Lefvert AK. Idiotype- and anti-idiotypic-reactive T lymphocytes in myasthenia gravis. Evidence for the involvement of different subpopulations of T helper lymphocytes. *J Immunol* 1994;153:3353-9.
39. Truffault F, Cohen-Kaminsky S, Khalil I, Levasseur P, Berrih-Aknin S. Altered intrathymic T-cell repertoire in human myasthenia gravis. *Ann Neurol* 1997;41:731-41.
40. Soliven BC, Lange DJ, Penn AS, Younger D, Jaretzki A 3rd, Lovelace RE, et al. Seronegative myasthenia gravis. *Neurology* 1988;38:514-7.
41. Sanders DB, Stalberg EV. AAEM minimonograph #25: single-fiber electromyography. *Muscle Nerve* 1996;19:1069-83.
42. Durelli L, Maggi G, Casadio C, Ferri R, Rendine S, Bergamini L. Actuarial analysis of the occurrence of remissions following thymectomy for myasthenia gravis in 400 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:406-11.
43. Gajdos P, Chevret S, Clair B, Tranchant C, Chastang C. Clinical trial of plasma exchange and high-dose intravenous immunoglobulin in myasthenia gravis. Myasthenia Gravis Clinical Study Group. *Ann Neurol* 1997;41:789-96.
44. Hohlfeld R, Engel AG, Ii K, Harper MC. Polymyositis mediated by T lymphocytes that express the gamma/delta receptor. *N Engl J Med* 1991;324:877-81.
45. Kissel JT, Mendell JR, Rammohan KW. Microvascular deposition of complement membrane attack complex in dermatomyositis. *N Engl J Med* 1986;314:329-34.
46. Mathews MB, Bernstein RM. Myositis autoantibody inhibits histidyl-tRNA synthetase: a model for autoimmunity. *Nature* 1983;304:177-9.
47. Askanas V, Engel WK, Alvarez RB. Light and electron microscopic localization of beta-amyloid protein in muscle biopsies of patients with inclusion-body myositis. *Am J Pathol* 1992;141:31-6.
48. Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, Engel A, Karpati G, Mendell JR, et al. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol* 1995;38:705-13.
49. Vazquez-Abad D, Rothfield NF. Sensitivity and specificity of anti-Jo-1 antibodies in autoimmune diseases with myositis. *Arthritis Rheum* 1996;39:292-6.
50. Mastaglia FL, Phillips BA, Zilko P. Treatment of inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* 1997;20:651-64.
51. Mastaglia FL, Phillips BA, Zilko PJ. Immunoglobulin therapy in inflammatory myopathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65:107-10.
52. Maugars YM, Berthelot JM, Abbas AA, Mussini JM, Nguyen JM, Prost AM. Long-term prognosis of 69 patients with dermatomyositis or polymyositis. *Clin Exp Rheumatol* 1996;14:263-74.
53. Maoz CR, Langevitz P, Livneh A, Blumstein Z, Sadeh M, Bank I, et al. High incidence of malignancies in patients with dermatomyositis and polymyositis: an 11-year analysis. *Semin Arthritis Rheum* 1998;27:319-24.
54. Mason WP, Graus F, Lang B, Honnorat J, Delatire JY, Valdeoriola F, et al. Small-cell lung cancer, paraneoplastic cerebellar degeneration and the Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Brain* 1997;120:1279-300.
55. Graus F, Dalmou J, Rene R, Tora M, Malats N, Verschuuren JJ, et al. Anti-Hu antibodies in patients with small-cell lung cancer: association with complete response to therapy and improved survival. *J Clin Oncol* 1997;15:2866-72.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Nonostante i numerosi studi condotti, ancora oggi non è nota la causa della SM e delle altre malattie neuroimmunologiche. Sappiamo che più probabilmente si tratta di malattie multifattoriali in cui diversi elementi, sia genetici che non ereditari, concorrono ad innescare il processo patologico. La difficoltà ad identificarli risiede verosimilmente nel fatto che, singolarmente, il contributo che ciascun fattore fornisce allo sviluppo della malattia è limitato e probabilmente frutto di interazioni complesse nel tempo¹. In più, il "peso" relativo di ciascun elemento potrebbe variare in popolazioni diverse, in base al background genetico della popolazione ed al contesto ambientale delle diverse aree geografiche².

Tra i fattori causali non ereditari, gli agenti microbici potrebbero essere i più rilevanti, per l'impatto biologico sull'uomo e per le numerose evidenze, purtroppo ancora indirette, di un coinvolgimento nella eziologia della malattia. Il coinvolgimento dei microbi può avvenire con diverse modalità, non mutualmente esclusive:

1. infezione diretta del sistema nervoso centrale, primitiva oppure secondaria ad infezioni a partenza extra-neurologica³;
2. danno indiretto, ad esempio attraverso cross-reattività fra epitopi microbici e del sistema nervoso centrale^{4,5};
3. modulazione della risposta immunitaria secondaria all'esposizione a patogeni⁶.

Tra i fattori genetici legati alla SM, per la prima volta dopo molti anni sono stati identificati con certezza nuovi polimorfismi, oltre quelli del complesso maggiore di istocompatibilità, sicuramente associati alla malattia. In particolare si tratta di geni che codificano per la catena alfa dei recettori per l'interleuchina 2 e 7⁷⁻⁹. Anche se il contributo di questi geni al rischio di malattia è minimo rispetto all'MHC, si tratta di una scoperta fondamentale che aiuta a capire un'altra piccola parte della complessa eziologia di questa patologia.

Riferimenti bibliografici

1. **Susceptibility to multiple sclerosis: interplay between genes and environment**
Willer CJ, Ebers GC
Curr Opin Neurol. 2000;13:241-7
2. **Multiple sclerosis in twins from continental Italy and Sardinia: a nationwide study**
Ristori G, Cannoni S, Stazi MA, Vanacore N, Cotichini R, Alfo M, Pugliatti M, Sotgiu S, Solaro C, Bompreszi R, Di Giovanni S, Figa Talamanca L, Nistico L, Fagnani C, Neale MC, Cascino I, Giorgi G, Battaglia MA, Buttinelli C, Tosi R, Salvetti M
Ann Neurol. 2006;59:27-34.
3. **Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection**
Ascherio A, Munger KL
Ann Neurol. 2007;61:288-299
4. **Multiple sclerosis and virus induced immune responses: autoimmunity can be primed by molecular mimicry and augmented by bystander activation**
McCoy L, Tsunoda I, Fujinami RS
Autoimmunity. 2006;39:9-19
5. **Molecular mimicry in multiple sclerosis**
Sospedra M, Martin R
Autoimmunity. 2006;39:3-8
6. **The hygiene hypothesis and multiple sclerosis**
Fleming J, Fabry Z
Ann Neurol. 2007;61:85-9
7. **Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome-wide study**
International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A, Sawcer S, Lander ES, Daly MJ, De Jager PL, de Bakker PI, Gabriel SB, Mirel DB, Ivinson AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL
N Engl J Med. 2007 Aug 30;357(9):851-62
8. **Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis**
Lundmark F, Duvefelt K, Iacobaeus E, Kockum I, Wallstrom E, Khademi M, Oturai A, Ryder LP, Saarela J, Harbo HF, Celius EG, Salter H, Olsson T, Hillert J
Nat Genet. 2007 Sep;39(9):1108-13
9. **Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis**
Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, Caillier SJ, Ban M, Goris A, Barcellos LF, Lincoln R, McCauley JL, Sawcer SJ, Compston DA, Dubois B, Hauser SL, Garcia-Blanco MA, Pericak-Vance MA, Haines JL; for the Multiple Sclerosis Genetics Group
Nat Genet. 2007 Sep;39(9):1083-91

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Role of costimulatory pathways in the pathogenesis of multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis

Tanuja Chitnis, Samia J Khoury

November 2003 (Vol. 112, Issue 5, Pages 837-849)

Brain-derived neurotrophic factor is increased in atopic dermatitis and modulates eosinophil functions compared with that seen in nonatopic subjects

Ulrike Raap, Christine Goltz, Nicole Deneka, Manuela Bruder, Harald Renz, et al

June 2005 (Vol.115, Issue 6, Pages 1268-1275)

21. Disordini immunoematologici

I disordini immunoematologici comprendono un esteso gruppo di entità nosologiche nell'ambito delle quali le malattie ematologiche, solitamente citopenie, sono caratterizzate da un'eziopatogenesi di natura immunologica. Le reazioni immunitarie conducono allo sviluppo di anemia emolitica, trombocitopenia, o neutropenia, isolate o associate. Immunodeficienze, malattie autoimmuni sistemiche e reazioni avverse a farmaci possono essere i meccanismi immunitari alla base di queste patologie. Anche il trasferimento di anticorpi materni per via transplacentare può causare fenomeni di citopenia nel feto e nel neonato. Altri disordini immunoematologici includono la presenza di anticorpi diretti contro fattori emocoagulativi, con possibile sviluppo di trombosi o emorragie, e reazioni emolitiche e non emolitiche in seguito alla somministrazione di emoderivati.

Le malattie immunoematologiche colpiscono con varie modalità le differenti linee ematopoietiche. In questo capitolo verranno trattate le patologie della serie rossa (l'anemia emolitica autoimmune [AIHA], l'anemia emolitica del neonato e l'idrope fetale); delle piastrine (la porpora trombocitopenica idiopatica [PTI], la trombocitopenia neonatale alloimmune [AIT], la porpora post-trasfusionale [PTP], la porpora trombotica trombocitopenica [PTT]); dei granulociti (neutropenia auto- e alloimmune neonatale).

L'anticorpo predominante di queste patologie appartiene alla classe IgG. Quest'anticorpo opsonizza le cellule del sangue e ne permette la distruzione extravascolare da parte del sistema monocito-macrofagico. Tale lisi è mediata dai recettori per il frammento Fc delle IgG (FcR), prevalentemente nel distretto splenico. È stato dimostrato che il sistema FcR comprende diversi tipi di recettori, quali l'FcRI, RIIa e RIIb, FcRIIIa e FcRIIIb. Studi clinici per dimostrare il ruolo dei differenti tipi di FcR sono stati condotti nella PTI.¹ Le sottoclassi delle IgG possiedono una differente affinità di legame per FcR, una diversa capacità di fissare il complemento e una altrettanto differente capacità di attraversare la placenta, raggiungendo la circolazione fetale. Tali differenze tuttavia non sono state sufficientemente analizzate sul piano clinico.

Il complemento svolge un ruolo critico nei processi di opsonizzazione e fagocitosi, singolarmente o in associazione con le IgG.² L'attivazione del complemento richiede la presenza di almeno due molecole di IgG, che si leghino a formare un dimero sulla superficie cellulare con una distanza pari ad almeno 300 Angstroms. Tale

Abbreviazioni utilizzate:

AIE/AIHA:	Anemia immunoemolitica/Autoimmune hemolytic anemia
AIN:	Neutropenia autoimmune/Autoimmune neutropenia
AIT:	Trombocitopenia alloimmune/Alloimmune thrombocytopenia
APA:	Anticorpi antifosfolipidi/Antiphospholipid antibody
CAS:	Sindrome da crioagglutinine/Cold agglutinin syndrome
ICV/CVI:	Immunodeficienza Comune Variabile/Common variable immunodeficiency
DAF:	Decay accelerating factor
DAT:	Test di Coombs diretto/Direct antiglobulin test
CID/DIC:	Coagulazione intravascolare disseminata/Disseminated intravascular coagulation
FcR:	Recettore Fc/Fc receptor
GVHD-TA:	Graft versus host disease trasfusione-associata/ Transfusion-associated graft-versus-host disease
HDN:	Malattia emolitica del feto e del neonato/Hemolytic disease of the fetus and newborn
HIT:	Piastrinopenia da eparina/Heparin induced thrombocytopenia
HIT-T:	Piastrinopenia da eparina con trombosi/Heparin induced thrombocytopenia with thrombosis
HTR:	Reazioni emolitiche trasfusionali/Hemolytic transfusion reactions
IAT:	Test di Coombs indiretto/Indirect antiglobulin test
PTI/ITP:	Porpora trombocitopenica idiopatica/Immune thrombocytopenic purpura
IVIG:	Immunoglobuline per uso endovenoso/Intravenous immunoglobulin
LDH:	Lattico deidrogenasi/Lactate dehydrogenase
MIRL:	Membrane inhibitor of reactive lysis
NAIN:	Neutropenia neonatale alloimmune/Neonatal alloimmune neutropenia
NHFTR:	Reazione trasfusionale febbrile non emolitica/Nonhemolytic febrile transfusion reaction
PCH:	Emoglobinuria parossistica a frigore/Paroxysmal cold hemoglobinuria
EPN/PNH:	Emoglobinuria parossistica notturna/Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria
PTP:	Porpora post-trasfusionale/Posttransfusion purpura
PTT/TTP:	Porpora trombotica trombocitopenica/Thrombotic thrombocytopenic purpura
TRALI:	Danno polmonare acuto correlato a trasfusione/Transfusion-related acute lung injury

legame induce la formazione del complesso C1-C2-C4 e innesca la via classica del complemento. Nel momento in cui vi è un'adeguata quantità di complemento sulla superficie cellulare, si forma il complesso di attacco

Traduzione italiana del testo di:

Deepa H. Trivedi e James B. Bussel

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S669-76

TABELLA I. Classificazione delle anemie immunoemolitiche³**AIE da anticorpi caldi**

Idiopatica o primaria

Secondaria (Disordini linfoproliferativi, malattie autoimmuni [LES], Immunodeficienze [HIV o ICV])

AIE da anticorpi freddi

CAS

Idiopatica

Secondaria

Acuta, transitoria (infezioni)

Cronica (Disordini linfoproliferativi)

PCH

Idiopatica

Secondaria

Acuta, transitoria (infezioni diverse dalla sifilide)

Cronica (sifilide)

AIE miste

Idiopatiche

Secondarie (Disordini linfoproliferativi, malattie autoimmuni)

Anemia emolitica immune indotta da farmaci**EPN**

AIE/AIHA, anemia emolitica autoimmune; LES/SLE, lupus eritematoso sistemico; HIV, virus dell'immunodeficienza umana; ICV/CVI, immunodeficienza comune variabile; CAS, sindrome da crioagglutinine; PCH, emoglobinuria parossistica a frigore; EPN/PNH, emoglobinuria parossistica notturna

delle membrane C5-C9, che provoca la formazione di pori nella membrana cellulare con lisi cellulare intravascolare. Se la cellula viene opsonizzata sia dalle IgG che dal complemento (C3b), l'efficienza della distruzione delle cellule, doppiamente opsonizzate, aumenta. Si ritiene che le IgM si leghino a tali cellule in "periferia", ossia nella cute, dove la temperatura è più bassa rispetto alla parte centrale del corpo. Al contrario delle IgG, una singola molecola di tipo IgM è in grado fissare il complemento, in quanto è pentavalente. Quando la cellula opsonizzata dall'IgM ritorna in zone corporee centrali, l'IgM si dissocia dalla cellula e lascia il complemento legato sulla superficie cellulare.

PATOLOGIE DEI GLOBULI ROSSI

L'AIE è il modello di riferimento della patologia immunoematologica, in quanto il test specifico è di gran lunga il più utile tra quelli per le citopenie (Tabella I)³ L'incidenza nella popolazione generale varia da 1 su 100000 a 1 su 300000. Le informazioni cliniche sono limitate, in quanto la maggior parte dei casi è secondaria ad altre patologie (ad esempio leucemia linfatica cronica).

La diagnosi si basa sulla contemporanea presenza di anemia ed emolisi. Per la diagnosi di AIE quindi è indispensabile la presenza dei due criteri di seguito riportati: (1) autoanticorpi diretti contro i globuli rossi e (2) evidenza clinica e/o laboratoristica di emolisi. Gli autoanticorpi possono essere evidenziati dal test di Coombs diretto o indiretto (DAT e IAT), mentre l'emolisi è confermata dalla presenza di anemia associata a reticolocitosi, ittero o iperbilirubinemia, riduzione dell'aptoglobina o aumento dei valori della lattico-deidrogenasi (LDH).

Il test di Coombs diretto o indiretto è una metodica standardizzata e riproducibile, largamente diffusa. La sola positività del test di Coombs diretto non è sufficiente a porre diagnosi di AIE, in quanto può non essere associata ad emolisi. Infatti dal 5% al 10% dei soggetti adulti ospedalizzati possono avere un test di Coombs diretto positivo senza segni clinici e laboratoristici di emolisi. Nella sindrome da crioagglutinine (CAS) sono riscontrabili anticorpi attivi a basse temperature, con un optimum termico compreso tra 4° e 22°C, in assenza di segni di emolisi alla temperatura di 37° C. In caso di test di Coombs positivo, si può ottenere un ulteriore approfondimento mediante l'uso di antisieri "monospecifici" che reagiscono con le IgG e le frazioni del complemento (C3b) legate sulla membrana cellulare dei globuli rossi. In caso invece di negatività al test di Coombs diretto o indiretto, ma di motivato sospetto clinico di emolisi autoimmune, possono essere eseguiti test con polybrene o con antisieri, che evidenziano anticorpi della classe IgA, e si può ricorrere alla consulenza di un laboratorio di riferimento. Gli anticorpi caldi sono IgG policlonali, hanno un optimum termico a 37° C, e mostrano attività di panagglutinine dopo eluizione. Gli anticorpi freddi sono policlonali o monoclonali e quasi sempre di tipo IgM. L'AIE mista è caratterizzata da test di Coombs diretto positivo per IgG e C3, in possibile associazione ad un anticorpo freddo anti-I di tipo IgM. L'emoglobinuria parossistica a frigore (PCH) è caratterizzata dalla presenza di anticorpi bifasici di tipo IgG diretti verso i globuli rossi (anticorpi di Donath-Landsteiner) che fissano il complemento a basse temperature ma si dissociano a temperature più alte. In caso di emoglobinuria parossistica notturna (EPN), i globuli rossi hanno una elevata suscettibilità alla lisi mediata dal complemento.

L'emoglobina e l'ematocrito possono variare da caso a caso ma il più delle volte sono bassi. Possono avere valori normali quando l'emolisi è compensata da un alto tasso di reticolociti circolanti. La conta piastrinica e leucocitaria è normale, a meno che non vi sia un'emolisi associata a una malattia linfoproliferativa (alterazione numerica dei globuli bianchi) o alla sindrome di Evans (alterazione numerica delle piastrine). Una leucopenia può essere di precoce riscontro nella PCH mentre la trombocitopenia è comune nella EPN. Sono comuni anche una reticolocitosi e un aumento del volume corpuscolare medio (MCV). Si può riscontrare reticolocitopenia se l'anemia è di così recente insorgenza che la risposta compensatoria reticolocitaria non si è ancora instaurata (prima settimana), se il livello di anticorpi circolanti è elevato, o se gli anticorpi sono diretti contro un antigene espresso in misura maggiore sui progenitori dei globuli rossi (anti-Kell). L'esame morfologico del sangue venoso periferico mostra aumento di sferociti, policromasia e macrociti nelle AIE da anticorpi caldi. Nella CAS l'agglutinazione dei globuli rossi è comune; lo striscio di sangue venoso periferico può essere normale in entrambi i tipi di AIE.

Si possono associare iperbilirubinemia, diminuzione dell'aptoglobina, aumento dei valori dell'LDH ed emoglobinuria. L'esame del midollo osseo spesso mostra iperplasia della serie eritroide. L'aumento delle plasmacellu-

le midollari può associarsi a una malattia autoimmune. Altri riscontri possono indicare una malattia linfoproliferativa con AIE secondaria. La PCH può associarsi a metaemoglobinuria.

L'AIE nei bambini è quasi sempre una patologia da anticorpi caldi, che si manifesta più comunemente al di sotto dei 4 anni.³ Gli adulti malati sono spesso piuttosto anziani, di sesso femminile, e affetti per lo più da forme secondarie. La presentazione clinica è altamente variabile. I pazienti con emolisi fulminante presentano insorgenza improvvisa di pallore, ittero, edema, urine ipercromiche e, diversamente dalla PTI o dalla neutropenia autoimmune (AIN), possono essere presenti epatosplenomegalia e linfadenopatia. Tale quadro è spesso osservato nei bambini in seguito a episodi virali; l'ittero scompare in 1-3 giorni. In questo ambito vanno considerate anche altre cause di anemia, come quella associata a deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) e ad emorragie occulte, ma la positività al test di Coombs diretto conferma la diagnosi di AIE. Le AIE possono avere anche esordio subdolo con stanchezza, astenia, affaticabilità, pallore e dispnea associata all'esercizio fisico. Altri sintomi meno specifici includono febbre, tosse, dolore addominale e perdita di peso. Fino al 50% delle AIE riscontrate nei bambini ed una percentuale più alta negli adulti, possono essere croniche e persistenti. La CAS è responsabile del 16-32% dei casi di AIE.^{4,5} La CAS primaria o idiopatica si osserva principalmente nelle donne anziane, con un picco intorno ai 70 anni di età. Le infezioni che possono causare una transitoria anemia emolitica acuta sono osservabili nei giovani adulti e negli adolescenti. I sintomi compaiono 2-3 settimane dopo l'esordio dell'infezione (corrispondente al picco del titolo delle crioagglutinine) e si risolvono spontaneamente nel giro di 2-3 settimane. Fra gli agenti infettivi responsabili vi sono *Mycoplasma pneumoniae*, Epstein-Barr virus, citomegalovirus, adenovirus, virus influenzali, *Escherichia coli*, virus della varicella-zoster, HIV e listeria. La CAS associata a disordini linfoproliferativi o alla sifilide è spesso un disordine cronico. L'emolisi nella CAS di qualunque origine è aggravata dalle basse temperature; pertanto hanno importanza sia la temperatura esterna che l'abbigliamento usato, come ad esempio i guanti.

L'emoglobinuria parossistica a frigore (PCH) è una condizione molto rara, responsabile del 2% dei casi di anemia emolitica nei bambini.⁶ Una PCH acuta e transitoria nel bambino fa spesso seguito ad un'infezione ed è caratterizzata da segni di emolisi acuta, tra cui ematuria o urine ipercromiche. La PCH cronica è spesso associata con la sifilide acquisita o congenita, ed oggi è molto rara. Possono essere necessari test appositi per l'individuazione degli anticorpi.

L'emolisi indotta da farmaci non è un evento raro. Tuttavia è difficile mettere in risalto tale meccanismo immunologico anche con test diretti, che prevedono di cimentare il farmaco con il siero del paziente, poichè la reazione immunologica potrebbe essere determinata da un metabolita e non dal farmaco iniziale, con conseguente falsa negatività del test.⁷ Alcuni farmaci, come la metildopa o alcune cefalosporine, possono invece determinare una positività del test di Coombs diretto, ma non essere causa di emolisi.

TABELLA II. Terapia delle anemie immunoemolitiche da anticorpi caldi e freddi

Anemie immunoemolitiche da anticorpi caldi

Corticosteroidi
Splenectomia
Immunoglobuline endovena
Eritropoietina
Micofenolato mofetile
Ciclofosfamide
Azatioprina
Vincristina
Danazolo
Anti-CD-20

Sindrome da crioagglutinine

Allontanamento dal freddo
Plasmaferesi
Azatioprina
Clorambucil
Ciclofosfamide

L'EPN è caratterizzata da una suscettibilità acquisita alla lisi mediata dal complemento, causata dalla perdita del legame del fosfatidil-inositolo-glicerolo ad una serie di proteine transmembrana del globulo rosso. Due di queste glicoproteine mancanti sono il CD59 e il CD55 (MIRL, membrane inhibitor of reactive lysis; DAF, decay accelerating factor) che sono importanti inibitori della lisi cellulare mediata dal complemento. L'EPN si presenta clinicamente con trombosi, specialmente della vena epatica, in seguito all'attivazione delle piastrine da parte del complemento. La presentazione clinica coincide spesso con l'esordio o la ripresa da un'anemia aplastica. La diagnosi è citofluorimetrica, con il riscontro dell'assenza del CD59, oppure si può ottenere con il test di Ham.

Molti casi di AIE da anticorpi freddi o caldi sono associati a Leucemia Linfatica Cronica (LLC), a linfoma o all'HIV. È pertanto importante individuare l'origine di una AIE di nuova insorgenza. Le opzioni terapeutiche (Tabella II)⁸ includono l'uso di anticorpi monoclonali anti-CD20⁹, di immunoglobuline e.v. (IVIG)¹⁰ e la plasmaferesi.¹¹

L'emoglobinuria parossistica a frigore (PCH) di solito è autolimitante e i trattamenti sintomatici (allontanamento dal freddo) sono spesso sufficienti a contenere la sintomatologia clinica. Se necessario può essere eseguita trasfusione a caldo di emazie negative per l'antigene P. Gli steroidi non sono molto efficaci, mentre la plasmaferesi può essere utilizzata nelle situazioni che pongono a rischio di vita il paziente.

Nell'ambito della malattia emolitica del feto e del neonato (HDN) occorre distinguere la forma da incompatibilità Rh, quella da incompatibilità AB0 e quelle da incompatibilità ad altri antigeni. Gli anticorpi Rhesus (anti-Rh) sono i più comuni, essendo responsabili di oltre il 50% dei casi, e nel 25% dei casi l'anticorpo identificato è un anti-D. I secondi per frequenza sono gli anticorpi diretti verso gli antigeni Kell (29%), seguiti da anticorpi diretti contro antigeni Duffy (7%), antigeni del sistema MNS (6%). Kidd, Lutheran, e anti-U.¹²

La frequenza dell'incompatibilità D è cambiata nel corso degli anni. L'istituzione della profilassi anti-D è un grande successo della medicina. L'incidenza dell'alloimmunizzazione RhD è passata dal 43,3‰ nel 1967 al 2,6 ‰ nel 1996.¹³

Le donne in gravidanza vengono sottoposte a uno screening alla prima visita prenatale. Le donne RhD⁻ ricevono 120/300 µg di immunoglobuline anti-D alla 28esima settimana di gestazione se non sono alloimmunizzate. Questo riduce l'alloimmunizzazione prenatale dal 2% allo 0,1%. Altre indicazioni al trattamento con immunoglobuline anti-D sono rappresentate da aborti spontanei, interruzioni volontarie di gravidanza, gravidanze ectopiche, amniocentesi, prelievo dai villi coriali, prelievo di sangue fetale o altre procedure che possono provocare passaggio di emazie fetali nel circolo sanguigno materno. Una seconda dose di immunoglobuline anti-D è somministrata, entro 72 ore dal parto, se il neonato è RhD⁺.¹⁴ Una ulteriore accortezza è l'esecuzione del test di Kleihauer-Betke su tutte le partorienti Rh negative per ricercare i rari casi di abbondante passaggio di emazie fetali nel circolo sanguigno materno, che necessitano di una dose superiore ai 300 µg di immunoglobuline anti-D per prevenire la sensibilizzazione materna. Una volta che è avvenuta l'immunizzazione materna, la somministrazione di profilassi anti-D non è più attuabile. In alcuni casi la plasmateresi materna intensiva, associata alla somministrazione di farmaci immunosoppressori, è in grado di ridurre il livello degli anticorpi Rh. Tuttavia la terapia standard si basa sulla valutazione del rischio fetale e sulla esecuzione di trasfusioni di emazie intrauterine, quando necessarie.

Nel periodo tra il 1950 e il 1960 tale patologia coinvolgeva oltre l'1% dei parti: il 50% dei pazienti mostrava una anemia lieve o moderata con ittero dopo la nascita, il 25% mostrava una anemia e un ittero significativi dopo la nascita e il 25% era gravemente affetto in utero. Questi ultimi casi erano suscettibili di morte intrauterina o di parto prematuro. I nati prematuri erano particolarmente suscettibili al kernittero e a danno cerebrale dovuto all'iperbilirubinemica. La trasfusione di globuli rossi al feto ogni 3 settimane è diventata oggi la terapia standard per questi casi gravi, attualmente rari.¹⁵ È stata segnalata una percentuale di sopravvivenza perinatale superiore al 90% in casi di idropese fetale alla presentazione, che correla con una ridotta possibilità di avere un neonato vitale. Ogni gravidanza successiva, in una famiglia con un feto Rh⁺, sarà soggetta alle stesse, se non più severe, conseguenze.

Il sistema AB0 è una causa di emolisi comune nel neonato. Ogni 10 gravidanze si ha una incompatibilità del sistema AB0. È possibile evidenziare anticorpi anti-A o anti-B senza aver subito in precedenza trasfusioni o aver avuto gravidanze. Nel caso di emolisi da sistema AB0 non ci sono misure preventive: la madre è di gruppo 0 e il bambino è di gruppo A o B o AB. Spesso vi è positività sia al test di Coombs diretto che indiretto, ma il diretto è solo moderatamente positivo a livello del cordone ombelicale.

NEUTROPENIA AUTOIMMUNE

La neutropenia autoimmune primitiva (AIN) si osserva prevalentemente nei neonati e nei bambini fra i 6 e i 24 mesi. In una casistica sono stati segnalati 240 casi¹⁶ e in un'altra oltre 50 casi. Il grado di neutropenia è tipicamente

grave, anche se l'AIN è solitamente una patologia benigna. Più dell'80% dei pazienti soffre solamente di infezioni ricorrenti minori, come l'otite media, ascessi cutanei e le infezioni delle vie aeree superiori; almeno l'8% delle diagnosi è formulata incidentalmente sulla base di un esame emocromocitometrico eseguito per altre cause. Solo il 12% dei soggetti presenta polmonite; la sepsi e la meningite sono eventi molto rari e la prognosi dell'AIN è buona, migliore rispetto a quella della PTI in età infantile. Si osserva remissione spontanea in oltre il 90% dei pazienti, in un arco di tempo che va dai 7 ai 24 mesi dalla diagnosi, ossia in una età compresa tra i 2 e i 4 anni.

Come l'PTI e l'AIE, l'AIN è causata dall'aumentata distruzione periferica dei neutrofili da parte di autoanticorpi. L'emocromo con formula mette in luce una neutropenia selettiva e completa, spesso con un normale numero di globuli bianchi. La conta piastrinica e quella eritrocitaria sono normali, anche se possono essere osservate linfocitosi o monocitosi. La percentuale dei neutrofili è spesso inferiore al 10% e il più delle volte inferiore al 5%. La diagnosi di laboratorio è difficile, in quanto vi sono solo pochi laboratori in grado di eseguire lo screening corretto. Si raccomanda di eseguire lo screening per gli anticorpi tre volte in casi clinicamente sospetti, in cui il test risulti negativo la prima volta.¹⁶ Comunque la diagnosi di AIN rimane clinica. I test di laboratorio, oltre agli anticorpi antineutrofili, includono i livelli di granulocyte colony stimulating factor (GM-CSF), l'analisi del midollo osseo e anche la risposta a IVIG.¹⁷

Di norma non è necessaria la profilassi antibiotica. Il trattamento sintomatico delle infezioni acute con antibiotici è sufficiente in più del 70% dei casi. Un'opzione terapeutica prevede un esame del midollo osseo e una successiva somministrazione di GM-CSF, aggiustando la dose in modo da mantenere la conta assoluta dei neutrofili superiore a 1000/µl, per tutto il tempo necessario (di solito non a tempo indeterminato, in quanto raramente i pazienti necessitano di un supporto cronico per il loro livello di neutrofili). Una seconda opzione prevede l'infusione di 1-2 g/kg di IVIG ogni 1 o 2 giorni (o 1g/kg in associazione a 30mg/kg di metilprednisolone endovena) senza l'esame del midollo osseo. Se la conta dei neutrofili supera i 1000/µl, la risposta terapeutica conferma la diagnosi e fornisce beneficio clinico.

La neutropenia neonatale alloimmune (NAIN) è l'equivalente a carico dei neutrofili dell'HDN (malattia emolitica del feto e del neonato) per i globuli rossi e dell'AIT (trombocitopenia alloimmune) per le piastrine. Gli antigeni neutrofili fetali, estranei alla madre ed ereditati dal padre, causano la formazione di anticorpi materni di classe IgG che attraversano la placenta e distruggono i neutrofili fetali.¹⁸ La conta periferica dei neutrofili materni è nella norma. La frequenza varia dallo 0,2% al 2%.^{19,20} La NAIN si associa frequentemente alla presenza di anticorpi diretti contro gli antigeni specifici dei neutrofili NA1 e NB1 e, meno frequentemente, contro NA2 e NB2 e altri antigeni.²¹ La NAIN può anche essere dovuta ad una carenza materna di FcRIIb sulla membrana dei neutrofili (FcRIIb null) e quindi alla presenza di anticorpi anti-FcRIIb. I primogeniti risultano affetti, come nel

caso della AIT, ma diversamente dalla HDN. La terapia con IVIG è stata utilizzata per il trattamento della NAIN.²²

TROMBOCITOPENIA

La PTI (porpora trombocitopenica idiopatica) è una malattia autoimmune, anticorpo-mediata, simile all'AIE e alla AIN. A differenza di queste patologie e dell'AIT, i test sierologici non sono diagnostici né prognostici e non hanno alcun ruolo nella routine diagnostica e nel monitoraggio della terapia.²³ La diagnosi è clinica, e si basa sul riscontro di trombocitopenia isolata, di solito severa, mentre le restanti popolazioni cellulari, l'esame morfologico del sangue venoso periferico e l'esame obiettivo, risultano nella norma, eccetto la presenza di segni di sanguinamento. I pazienti presentano tipicamente petecchie ed ecchimosi; emorragie più gravi sono rappresentate da epistassi, ematochezia ed ematuria, mentre la complicanza più temuta è l'emorragia cerebrale. Questa definizione è facilmente applicabile ai pazienti pediatrici ambulatoriali, che per il resto sono in buona salute,²⁴ mentre è difficilmente applicabile ai pazienti adulti ospedalizzati, che assumono molti farmaci per diverse patologie. La diagnosi differenziale va posta con la PTP (porpora post-trasfusionale) associata a farmaci e la PTI (porpora trombotica trombocitopenica) (vedi oltre), le trombocitopenie ereditarie, la CID (coagulazione intravascolare disseminata) e la mielodisplasia.

In circa l'80% dei bambini con PTI vi è una tendenza significativa ad un miglioramento spontaneo entro un anno dalla diagnosi. Negli adulti invece un miglioramento spontaneo si verifica più lentamente e in una percentuale inferiore di pazienti. La terapia si basa pertanto sulla somministrazione di IVIG al dosaggio di 0,5-1g/kg, di anti-D e.v. alla dose di 50-75 µg/kg e di prednisone al dosaggio di 1-2 mg/kg, finché non si osserva un miglioramento spontaneo della conta piastrinica.²⁵ Se o quando la conta piastrinica si stabilizza ad un livello superiore alle 20000-30000/µL, non è più necessario alcun trattamento. Se non si raggiungono questi livelli, l'unico trattamento che si è dimostrato curativo è la splenectomia, praticata oggi quasi sempre per via laparoscopica.²⁶ Non è ancora stabilito se intervenire, nei pazienti adulti, dopo 1-3 mesi dalla diagnosi o dopo 1 anno di mancata risposta ai corticosteroidi. Nei bambini invece si attende almeno un anno dalla diagnosi e i 5 anni di età. Negli adulti il tasso di guarigione a breve termine si attesta intorno all'80%, mentre a 5-10 anni scende al 60-70%; nei bambini si ritiene che il tasso di guarigione abbia una percentuale più alta, sebbene vi sia carenza di dati di follow-up a lungo termine. Il trattamento dei pazienti che non rispondono alla splenectomia è controverso e non ci sono dati clinici controllati.²⁷ Il trattamento più promettente prevede l'utilizzo dell'anticorpo monoclonale anti-CD20, che determina una riduzione transitoria dei linfociti B, con una percentuale di risposta pari al 30% nei pazienti refrattari. Altri trattamenti, quali la ciclofosfamide e.v., l'azatioprina, il micofenolato mofetile, la ciclosporina e il danazolo sono stati sperimentati in studi pilota. Nessun trattamento, eccetto l'an-

ticorpo monoclonale anti-CD20 e somministrazioni ripetute di ciclofosfamide e.v., ha mostrato un tasso di risposta pari o superiore al 50%, o un significativo tasso di guarigione, intesa come la persistenza di una elevata conta piastrinica anche dopo sospensione del trattamento. Trattamenti sperimentali, di cui sono disponibili dati preliminari, prevedono il trapianto autologo di midollo e la somministrazione di trombopoietina/agonisti della trombopoietina.

La porpora trombocitopenica-HIV correlata è una complicanza frequente di tale infezione ed è molto simile alla PTI. La terapia antiretrovirale altamente efficace (HAART) diminuisce l'incidenza di tale patologia, riducendo la carica virale. Altri casi rispondono adeguatamente al trattamento con anti-D e.v. (se Rh+) o alla splenectomia. I corticosteroidi possono predisporre all'insorgenza di infezioni opportunistiche.

Alcuni farmaci possono innescare una risposta immune che provoca una riduzione della sopravvivenza piastrinica e quindi trombocitopenia. La trombocitopenia indotta da farmaci è difficilmente distinguibile dalla PTI.²⁸

Il meccanismo fisiopatologico alla base della trombocitopenia indotta da farmaci prevede il legame del farmaco alle proteine di membrana delle piastrine, la formazione di un neoantigene e una successiva reazione autoimmune contro il complesso proteina di membrana-farmaco.²⁹ Studi recenti, condotti su anticorpi chinidina/chinina dipendenti, hanno mostrato che la porzione Fab delle IgG lega l'antigene farmaco-dipendente localizzato sulla glicoproteina IIb/IIIa e l'Ib/X delle piastrine.³⁰ Nella trombocitopenia indotta da eparina (HIT), la porzione Fab dell'anticorpo lega un complesso, formato dall'eparina e dal fattore circolante piastrinico 4.³¹ Quando poi la porzione Fc si lega all'FcRIIa delle piastrine, le attiva e ne comporta il consumo. Questo fenomeno si traduce in una trombosi/trombocitopenia indotta da eparina (HIT-T). L'HIT è stata segnalata in una percentuale che raggiunge il 5% dei pazienti in trattamento con eparina non frazionata (standard) per un periodo di 5-14 giorni.³² Nel 10-30% dei pazienti si riscontrano trombosi venose o arteriose. L'incidenza della HIT si riduce con l'uso delle eparine a basso peso molecolare, anche se in una percentuale del 20% si riscontra una cross-reattività. La terapia di scelta della HIT è l'irudina, un inibitore diretto della trombina. L'HIT-T è la più grave trombocitopenia farmaco-indotta sia per l'alta frequenza che per le complicanze legate alle trombosi, che possono colpire gli organi interni, gli arti o mettere in pericolo la vita del paziente. Altri possibili farmaci responsabili sono sulfonamidi, sulfaniluree, penicillina, cefalosporine, indinavir, atorvastatina, pentossifillina, mesalazina, ticlopidina, sali d'oro e acetazolamide.³⁴

La PTP è una condizione rara che di solito si sviluppa 7-10 giorni dopo una trasfusione di emazie. Colpisce prevalentemente le donne anziane pluripare e si manifesta con segni e sintomi di sanguinamento legati alla grave piastrinopenia. La maggior parte dei casi si verifica in donne Pl^{A1-} ed è caratterizzata dalla presenza di anticorpi diretti contro Pl^{A1} (antigene piastrinico umano [HPA]-1a). Attraverso un meccanismo anticorpo-dipendente, non ancora del tutto chiaro, tali anticorpi distruggono le

cellule trasfuse Pl^{A1+} e quelle del ricevente Pl^{A1-} . In questa patologia, di solito auto-limitante, sono stati riportati casi di emorragie fatali, per le quali la terapia di scelta è costituita dall'uso di IVIG ad alte dosi.³⁵

L'AIT è una patologia ben studiata che ha numerosi punti in comune con la malattia emolitica del feto e del neonato (HDN) e con la NAIN.³⁶ L'AIT si basa sulla incompatibilità materna per Pl^{A1} (HPA1a) o per uno degli altri quindici antigeni piastrinici specifici. Gli antigeni coinvolti sono gli stessi interessati nella PTP; questi antigeni sono anche raramente coinvolti nelle trasfusioni piastriniche incompatibili.

La PTT (Porpora trombocitica trombocitopenica), nella forma acquisita, è una malattia autoanticorpo-mediata, nella quale gli anticorpi sono diretti contro ADAMTS¹³, una proteasi che cliva il fattore di von Willebrand.³⁷ La diagnosi deve essere sospettata in un paziente che presenti anemia emolitica e trombocitopenia. Altri sintomi possono essere alterazioni neurologiche, renali (soprattutto ematuria) e febbre; tipico è l'aumento dell'LDH oltre le 1000 UI/l. Il deficit della metalloproteasi provoca la formazione di trombi piastrinici e la conseguente emolisi microangiopatica. La disponibilità del test per il dosaggio della proteasi è ancora limitata ai centri di ricerca. Il trattamento si basa sulla plasmateresi con plasma-exchange; anche la terapia immunosoppressiva è stata ampiamente studiata.

REAZIONI TRASFUSIONALI

Le reazioni trasfusionali possono essere divise in emolitiche e non emolitiche. Le prime (HTR) possono essere a loro volta suddivise in immediate e ritardate.

L'HTR acuta è più frequentemente causata da trasfusione di sangue con incompatibilità di gruppo AB0. L'incidenza è di 1 su 33.000 con esito fatale in 1 caso su 600.000 trasfusioni, una percentuale pari al 4-5%.³⁸ In circa il 50% dei casi invece, l'errore trasfusionale è del tutto asintomatico. Le reazioni sono dovute alla precedente presenza di isoemoagglutinine, le quali determinano la formazione di complessi IgM-emazie con lisi intravascolare complemento-mediata e sviluppo di CID. Vi è anche una risposta vasomotoria con vasodilatazione, aumentata permeabilità capillare e ipotensione. Gli effetti sistemici di una HTR acuta sono mediati da una serie di citochine proinfiammatorie, quali l'IL-1, il TNF- α e l'IL-6.³⁹ Tali mediatori provocano uno stato simile allo shock con febbre, rigidità e stravasamento plasmatico capillare. I dati di laboratorio mostrano emoglobinemia, emoglobinuria, e positività del test di Coombs diretto. Si verifica attivazione del complemento, si può sviluppare CID e insufficienza renale. Il trattamento prevede l'immediata interruzione della trasfusione, il ripristino e il mantenimento della pressione arteriosa e della diuresi, e il trattamento della eventuale CID. L'HTR ritardata è comunemente dovuta ad una esposizione precedente agli antigeni minori dei globuli rossi, tipicamente quelli che appartengono al sistema Rh, Kidd, Kell o Duffy. Queste reazioni emolitiche tipicamente avvengono 5 – 10 giorni dopo la trasfusione. La sintomatologia clinica compren-

de febbre moderata, ittero e riduzione dell'emoglobina. I dati di laboratorio includono emolisi extravascolare a causa della lisi delle emazie mediata da IgG specifiche, aumento della bilirubina indiretta e dell'LDH, positività del test di Coombs diretto finché non si completi l'emolisi di tutte le emazie trasfuse. Il decorso è autolimitante, l'emolisi è non fulminante, e le complicanze sono poco frequenti. La terapia di supporto può prevedere una trasfusione "sostitutiva". È necessaria una accurata identificazione degli anticorpi, allo scopo di fornire emazie negative per determinati antigeni coinvolti nelle trasfusioni successive e anche nella trasfusione "sostitutiva", qualora necessaria. Le reazioni trasfusionali febbrili non emolitiche (NHFT) si osservano comunemente dopo trasfusione piastrinica, con un'incidenza che va dallo 0,5% ad oltre il 10% nei pazienti politrasfusi.⁴⁰ È la causa più comune di febbre associata a trasfusioni, soprattutto nelle donne sensibilizzate durante la gravidanza. La sintomatologia clinica comprende un aumento della temperatura di un grado o più durante la trasfusione, o alcune ore dopo, brivido, rigidità, flushing, cefalea, nausea, ansia, dispnea o ipotensione. La diagnosi differenziale è con la reazione emolitica trasfusionale (con febbre), la contaminazione microbica con sepsi, o la febbre incidentale (in un paziente spesso neutropenico).

Nella fisiopatologia il ruolo più importante è svolto dalle citochine, come TNF- α o IL-1 β , rilasciate dai leucociti durante la conservazione del prodotto.⁴¹

Altri meccanismi proposti, ma meno comuni, prevedono l'alloimmunizzazione e la formazione di anticorpi leucocitari che reagiscono con antigeni dei neutrofili o dei linfociti (HLA) del donatore in relazione alla presenza, come contaminanti nella trasfusione, di globuli bianchi (o piastrine). L'ultimo possibile meccanismo, meno frequente ma più grave, è rappresentato dalla contaminazione microbica (vedi oltre). Il trattamento si basa in gran parte sulla prevenzione. La rimozione dei leucociti contaminanti, prima della conservazione, limita l'accumulo di citochine e minimizza il contenuto dei leucociti nelle sacche piastriniche. La riduzione del contenuto dei leucociti, ma non la limitazione delle citochine, può essere ottenuta con la leucoriduzione (filtrazione) al momento della trasfusione.⁴² Può essere utile la premedicazione con acetaminofene e difenidramina.

La contaminazione microbica coinvolge soprattutto le trasfusioni piastriniche. L'incidenza è sconosciuta, ma sembra verificarsi in almeno 1:1000 trasfusioni di piastrine.

Le reazioni allergiche sono spesso causate dall'ipersensibilità alle proteine plasmatiche. L'incidenza è dell'1-3% ed è più frequente nelle trasfusioni di plasmaderivati (incluse le trasfusioni di piastrine).⁴³ La sintomatologia clinica comprende orticaria, prurito, edema laringeo, broncospasmo e ipotensione. Se la reazione è grave, il trattamento impone di interrompere la trasfusione e somministrare difenidramina e/o steroidi per via parenterale. In futuro i plasmaderivati dovranno essere purificati per rimuovere il plasma, prima di essere trasfusi. Nelle reazioni più lievi può essere temporaneamente interrotta la trasfusione per poi essere ripresa in seguito alla somministrazione di antistaminici. L'orticaria ricorrente non è

frequente e può essere gestita mediante pretrattamento con antistaminici per via orale o parenterale. Le reazioni anafilattiche sono complicanze rare, riportate in un caso ogni 20000-50000 trasfusioni.⁴⁴ Si osservano tipicamente in pazienti con deficit di IgA e anticorpi anti-IgA; tuttavia spesso non è possibile trovare una causa. La sintomatologia clinica comprende orticaria acuta sistemica, prurito, sensazione di “testa vuota”, ipotensione, shock e arresto cardiaco. Il trattamento prevede l'interruzione immediata della trasfusione eventualmente in associazione a somministrazione di epinefrina, fluidi endovena, vasopressori, steroidi, antistaminici. In futuro, per i pazienti con deficit noto di IgA, bisognerà somministrare emazie o componenti di plasma lavati due volte o concentrati congelati deglicerolizzati, o emoderivati provenienti da donatori con deficit noto di IgA.

L'insufficienza respiratoria acuta correlata a trasfusione (TRALI) è una reazione potenzialmente letale, da trasfusione di prodotti ematici contenenti plasma, che ha un'incidenza di un caso ogni 5000 trasfusioni.⁴⁵ La TRALI e la contaminazione microbica delle piastrine sono le reazioni trasfusionali di gran lunga meno diagnosticate. I dati della Food and Drug Administration (FDA) indicano che la TRALI è la terza causa di mortalità associata alle trasfusioni (dopo gli errori legati al gruppo sanguigno e l'anafilassi e prima delle contaminazioni batteriche), rappresentando circa il 9% di tutte le morti correlate alle trasfusioni. Clinicamente la TRALI si manifesta con insufficienza respiratoria acuta entro 1-4 ore dalla trasfusione, associata a tosse, febbre, cianosi ed ipotensione. Tale condizione spesso non risponde alla somministrazione di fluidi. Si può inoltre riscontrare edema polmonare ed ipossiemia. I pazienti con TRALI hanno una pressione venosa centrale normale, e normale o bassa pressione di incuneamento polmonare; ciò consente di differenziare questi pazienti da quelli affetti da embolia polmonare criptogenetica.⁴⁶ Il quadro radiologico mostra infiltrati basali e perilari; i casi più gravi appaiono all'Rx come un “white out”. È causata generalmente da anticorpi fissanti il complemento presenti nel plasma del donatore e diretti contro antigeni leucocitari (antigeni dei neutrofili o determinanti HLA) del ricevente. Il dosaggio di questi anticorpi può essere eseguito solo in laboratori specialistici. Se è confermato tale sospetto, il donatore viene escluso da ulteriori donazioni. Si verifica il rilascio di C5a (anafilotossina), che aumenta la migrazione leucocitaria a livello polmonare. L'attivazione dei neutrofili comporta aumento della permeabilità vascolare e edema interstiziale. Il trattamento comprende supporto ventilatorio meccanico intensivo, qualora necessario, e terapia steroidea, oltre ai diuretici o adrenalina. Se non è fatale, la TRALI si risolve in 24-48 ore.

La Graft versus host disease associata alla trasfusione (GVHD-TA) è una complicanza trasfusionale rara ma altamente letale dopo trapianto di midollo osseo. I linfociti T del donatore proliferano e si attivano nei confronti dei tessuti dell'ospite HLA-incompatibile. Gli organi bersaglio sono rappresentati da cute, fegato, intestino e midollo osseo. L'alto tasso di mortalità in corso di GVHD-TA è correlato allo sviluppo di una sepsi dovuta

all'aplasia midollare. Tale complicanza si riscontra sia negli individui immunodepressi che in quelli immunocompetenti, eterozigoti per un alotipo HLA, sottoposti a trasfusione di emocomponenti da donatore omozigote per uno degli aplotipi HLA del ricevente.⁴⁷ Il trattamento risulta inefficace ed è gravato da elevata tossicità; la migliore strategia terapeutica rimane la prevenzione. Viene raccomandata, come misura preventiva, l'irradiazione con raggi Gamma, alla dose di 25 Gy, di tutti gli emoderivati. La filtrazione dei leucociti non è sufficiente. I pazienti che devono essere trasfusi con emocomponenti irradiati, sono quelli con neoplasie del sistema ematopoietico, i pazienti destinati al trapianto d'organo o midollo osseo, i pazienti con immunodeficienze congenite o acquisite, i prematuri, quelli che ricevono trasfusioni intrauterine o da consanguinei.⁴⁸ Nell'infezione da HIV del ricevente non vi è invece l'indicazione a tale trattamento.

ANTICORPI CONTRO I FATTORI DELLA COAGULAZIONE

Gli anticorpi diretti contro il fattore VIII sono riscontrati nel 15-25% dei pazienti con emofilia severa, da deficit del fattore VIII; tali anticorpi sono alloanticorpi.⁴⁹ Autoanticorpi diretti contro il fattore VIII possono essere riscontrati anche in donne gravide o negli anziani. Questi pazienti vengono solitamente trattati con immunosoppressori quali steroidi e/o ciclofosfamide; alcuni dati aneddotici suggeriscono l'impiego dell'anticorpo monoclonale anti-CD20.

Gli anticorpi diretti contro gli altri fattori della coagulazione sono rari e ancora più rari in quei pazienti non affetti congenitamente da deficit dei fattori coagulativi. Farmaci ritenuti responsabili della produzione di anticorpi diretti contro i fattori della coagulazione, come la streptomicina per gli anticorpi anti-fattore XIII, non vengono più usati. La presenza di anticorpi antifosfolipidici “anticoagulante lupico” (APA) è una affezione relativamente comune della coagulazione, il cui significato clinico non è facilmente valutabile con i dati di laboratorio. Questi anticorpi prolungano il tempo di tromboplastina parziale legando i fosfolipidi anionici. In alcuni casi ciò può predisporre alla trombosi e meno comunemente all'emorragia. Anche le altre caratteristiche cliniche sono eterogenee. La sindrome da anticorpi antifosfolipidi, primaria o secondaria a malattie sistemiche autoimmuni come il Lupus Eritematoso Sistemico (LES), è associata ad un alto rischio di trombosi (30-40%) e può portare ad un coinvolgimento multiorgano fatale.⁵⁰ Inoltre questi anticorpi possono causare aborti spontanei, dovuti a infarti e trombosi placentari, in qualsiasi epoca di gestazione ma prevalentemente nel secondo trimestre.⁵¹ La loro formazione può essere associata ad assunzione di farmaci quali la Fenotiazina, l'Idralazina, ad infezioni come l'HIV o quelle del tratto respiratorio superiore, soprattutto nei bambini: in questi casi non è associata solitamente alla trombosi.⁵² Occorre sospettare la presenza di “anticoagulante lupico” quando vi è un allungamento non spiegabile del

tempo di tromboplastina parziale attivata. Un primo test di conferma è la mancata correzione del tempo di tromboplastina parziale attivata con l'aggiunta di plasma normale. Test più specifici mettono in evidenza la presenza di un fattore inibitorio che altera i tests di coagulazione fosfolipidi-dipendenti. Tali test includono lo screening della inibizione della tromboplastina tissutale, il test al veleno di vipera Russel diluito e la neutralizzazione ad opera di piastrine o di fosfolipidi.

La terapia è complessa: se non vi è una storia di trombosi non è raccomandata la terapia anticoagulante, eccetto che dopo interventi di chirurgia ortopedica. In presenza di un'anamnesi positiva per trombosi, è raccomandata una terapia anticoagulante a lungo termine, che conduca ad elevati livelli di International Normalized Ratio (INR), poiché vi è una possibilità di recidiva pari al 50%. In donne con aborti fetali ricorrenti, il trattamento ottimale prevede una terapia anticoagulante a base di eparina con o senza somministrazione di aspirina a basse dosi.⁵¹

BIBLIOGRAFIA

1. Strobl FJ, Silberstein L. Immune-mediated anemia. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Schroeder HW Jr, Kotzin BL, editors. Clinical immunology: principles and practice. 2nd ed. London: Mosby; 2001. p. 72.1-11.
2. Bussel JB. Fc receptor blockade and immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2000;37:261-6.
3. Gehrs B, Friedberg R. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002;69:258-71.
4. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune hemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J* 1981;282:2023-7.
5. Petz LD, Garratty G. Acquired immune hemolytic anemias. New York: Churchill Livingstone; 1980.
6. Heddle NM. Acute paroxysmal cold hemoglobinuria. *Transfus Med Rev* 1989;3:219-29.
7. Mueller-Eckhardt C, Salama A. Drug-induced immune cytopenias: a unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites. *Transfus Med Rev* 1990;4:69-77.
8. Petz LD. Treatment of autoimmune hemolytic anemia. *Curr Opin Hematol* 2001;8:411-6.
9. Ahrens N, Kingreen D, Seltsam A, Salama A. Treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia with anti-CD 20 (rituximab). *Br J Haematol* 2001;114:244-5.
10. Flores G, Cunningham-Rundles C, Newland AC, Bussel JB. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the treatment of autoimmune haemolytic anemia. Results in 73 patients. *Am J Hematol* 1993;44:237-42.
11. Kutti J, Wadenvik H, Safai-Kutti S, Bjorkander J, Hanson LA, Westberg G, et al. Successful treatment of refractory autoimmune hemolytic anemia by plasmapheresis. *Scand J Haematol* 1984;32:149-52.
12. Moise KJ Jr. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92:75-81.
13. Geifman-Holtzman O, Wojtowycz M, Kosmas E, Artal R. Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease. *Obstet Gynecol* 1997;89:272-5.
14. Moise KJ Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2002;100:600-11.
15. Oepkes D. Invasive versus non-invasive testing in red-cell alloimmunized pregnancies. *Euro J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92:83-9.
16. Bux J, Behrens G, Jaeger G, Welte K. Diagnosis and clinical course of autoimmune neutropenia in infancy: analysis of 240 cases. *Blood* 1998;91:181-6.
17. Bussel J, Lalezari P, Hilgartner M, Partin J, Fikrig S, O'Malley J, et al. Reversal of neutropenia with intravenous gamma-globulin in autoimmune neutropenia of infancy. *Blood* 1983;62:398-400.
18. Rodwell R, Gray P, Taylor K, Minchinton R. Granulocyte colony-stimulating factor treatment for alloimmune neonatal neutropenia. *Arch Dis Child* 1996;75:F57-8.
19. Gilmore M, Stronck D, Korones D. Treatment of alloimmune neonatal neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *J Pediatr* 1994;125:948-51.
20. Levine D, Madyastha P. Isoimmune neonatal neutropenia. *Am J Perinatol* 1986;3:231-3.
21. Rios E, Heresi G, Arevalo M. Familial alloimmune neutropenia of NA2 specificity. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991;13:296-9.
22. Hanada T, Shin R, Hosoi M, Saito K, Takita H. Intravenous gamma-globulin in treatment of isoimmune neonatal neutropenia. *Eur J Pediatr* 1988;148:218-9.
23. McCrae KR, Bussel JB, Mannucci PM, Remuzzi G, Cines DB. Platelets: an update on diagnosis and management of thrombocytopenic disorders. *Hematology* 2001;282-305.
24. Nugent DJ. Childhood immune thrombocytopenic purpura. *Blood Rev* 2002;16:27-9.
25. Adams JR, Nathan DP, Bennet CL. Pharmacoeconomics of therapy for ITP: steroids, IVIG, anti-D, and splenectomy. *Blood Rev* 2002;16:65-7.
26. Corcione F, Esposito C, Cuccurullo D, Settembre A, et al. Technical standardization of laparoscopic splenectomy: experience with 105 cases. *Surg Endosc* 2002;16:972-4.
27. Bussel JB. Novel approaches to refractory immune thrombocytopenic purpura. *Blood Rev* 2002;16:31-6.
28. George JN, Raskob GE, Shah SR, Rizvi MA, Hamilton SA, Osborne S, et al. Drug induced thrombocytopenia: a systematic review of published case reports. *Ann Intern Med* 1998;129:886-90.
29. Mueller-Eckhardt C, Salama A. Drug-induced cytopenias: a unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites. *Transfus Med Rev* 1990;4:69-77.
30. Chong BH, Du XP, Berndt MC, Horn S, Chesterman CN. Characterization of the binding domains on platelet glycoproteins Ib-IX and IIb/IIIa complexes for the quinine/quinidine-dependent antibodies. *Blood* 1991;77:2190-9.
31. Suh JS, Aster RH, Visentin GP. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis recognize different epitopes on heparin-platelet factor 4. *Blood* 1998;91:916-22.
32. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. *Thromb Haemost* 1998;79:1-7.
33. Warkentin TE, Kelton JG. Interaction of heparin with platelets, including heparin-induced thrombocytopenia. In: Bounameaux H, editor. Low molecular weight heparins in prophylaxis and therapy of thromboembolic diseases. New York: Marcel Dekker; 1994.
34. Hackett T, Kelton JG, Powers P. Drug induced platelet destruction. *Semin Thromb Hemostat* 1982;8:116-37.
35. Mueller-Eckhardt C, Keefel V. High dose IgG for post-transfusion purpura revisited. *Br J Haematol* 1988;57:163-7.

36. Kaplan C. Alloimmune thrombocytopenia of the fetus and the newborn. *Blood Rev* 2002;16:69-72.
37. Zheng X, Majerus EM, Sadler JE. ADAMTS13 and TTP. *Curr Opin Hematol* 2002;9:389-94.
38. Linden JV, Paul B, Dressler KP. A report of 104 transfusion errors in New York State. *Transfusion* 1992;32:601-6.
39. Davenport RD, Strileler RM, Kunkel SL. Red cell ABO incompatibility and production of tumor necrosis factor-alpha. *Br J Haematol* 1991;78:540-4.
40. Uhlmann EJ, Isgriggs E, Wallhermfechtel M, Goodnough LT. Prestorage universal WBC reduction of RBC units does not affect the incidence of transfusion reactions. *Transfusion* 2001;41:997-1000.
41. Heddle NM, Klama L, Singer J, Richards C, Fedak P, Walker I, et al. The role of plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med* 1994;331:625-84.
42. Aye MT, Palmer DS, Giulivi A, Hashemi S. Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet release factors during storage. *Transfusion* 1995;35:117-24.
43. Wang SE, Lara PN Jr, Lee-Ow A, Reed J, Wang LR, Palmer P, et al. Acetaminophen and diphenhydramine as premedication for platelet transfusions: a prospective randomized double-blinded placebo-controlled trial. *Am J Hematol* 2002;70:191-4.
44. Sandler SG, Mallory D, Malamut D, Eckrich R. IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfus Med Rev* 1995;9:1-8.
45. Popovsky MA, Moore SB. Diagnostic and pathogenic considerations in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion* 1985;25:573-7.
46. Popovsky MA. Transfusion-related acute lung injury. *Curr Opin Hematol* 2000;7:402-7.
47. Thaler M, Shamiss A, Orgad S, Huszar M, Nussinovitch N, Meisel S, et al. The role of blood from the HLA-homozygous donors in fatal transfusion-associated graft-versus-host disease after open heart surgery. *N Engl J Med* 1989;321:25-8.
48. Przepiorka D, LeParc GF, Stovall MA, Werch J, Lichtiger B. Use of irradiated blood components: practice parameter. *Am J Clin Pathol* 1996;106:6-11.
49. Ehrenforth S, Kreuz W, Scharrer I, Linde R, Funk M, Gungor T, et al. Incidence of development of factor VIII and factor IX inhibitors in hemophiliacs. *Lancet* 1992;339:594-8.
50. Setty YN, Komatireddy GR. Antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. *Front Biosci* 2001;6:E207-12.
51. Farquharson RG, Quenby S, Greaves M. Antiphospholipid syndrome in pregnancy: a randomized, controlled trial of treatment. *Obstet Gynecol* 2002;100:408-13.
52. Uthman IW, Gharavi AE. Viral infections and antiphospholipid antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 2002;31:256-63.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Negli ultimi anni numerosi studi hanno condotto ad un incremento delle conoscenze sulla patogenesi e sulle opzioni di trattamento di varie patologie immunoematologiche.

Nell'ambito delle emocitopenie autoimmuni, lo studio dei fattori del complemento ha portato alla conoscenza del ruolo delle molecole CD55 e CD59: un difetto genetico a carico di queste proteine di membrana, che svolgono una azione regolatoria sull'attivazione del complemento, conduce infatti ad una loro ridotta espressione sulla linea cellulare coinvolta, contribuendo, in associazione all'attività degli autoanticorpi, alla lisi cellulare.

Relativamente alle patologie che interessano i globuli rossi, vi sono stati negli anni più recenti avanzamenti sia riguardo le conoscenze dei meccanismi patogenetici che le modalità di trattamento.

Da uno studio di Lehmann e colleghi è emersa la possibilità di una relazione tra la presenza di infezione da Parvovirus B19 e la genesi dell'anemia emolitica.

Sul versante terapeutico, anche grazie ai continui progressi registrati negli anni recenti nell'esecuzione di questa metodica, il trapianto di cellule staminali ha acquisito un ruolo prominente nel trattamento di quelle forme di AIE e di ITP dimostrate refrattarie ai trattamenti convenzionali.

L'infezione da Parvovirus B19 è stata correlata anche all'insorgenza di trombocitopenie e di neutropenia autoimmune; di quest'ultima deve essere ricordata anche la forma cronica idiopatica dell'adulto e quelle secondarie a connettiviti, infezioni virali, malattie linfoproliferative, assunzione di farmaci.

Il capitolo delle trombocitopenie è forse quello che maggiormente si è arricchito negli ultimi anni: sul versante patogenetico, occorre citare che è stata osservata una frequente associazione tra ITP e infezione da *Helicobacter pylori*; tuttavia ancora oggi il significato di questa osservazione appare controverso e non è pertanto possibile trarre delle conclusioni certe a riguardo.

In ambito terapeutico invece, sono stati messi a punto nuovi protocolli: attualmente il trattamento della HIT è rappresentato dalla somministrazione di inibitori diretti della trombina, come lepirudina, argatroban e bivalirudina, e di inibitori del fattore Xa, quali danaparoid e fondaparinux; la somministrazione di antagonisti della vitamina K, invece, deve essere limitata a quei pazienti che presentino una conta piastrinica stabile.

Il farmaco che forse più degli altri ha avuto un ruolo centrale in questi ultimi anni nell'ambito del trattamento delle patologie immunoematologiche è il Rituximab: il suo ampio utilizzo in tempi recenti, ha consentito di valutare l'efficacia di questo anticorpo monoclonale chimerico anti-CD20, il quale ha dimostrato di rappresentare una valida opzione terapeutica per queste patologie; uno studio di Zaja e colleghi del 2007 ha rilevato che questo farmaco è efficace in oltre il 50% dei pazienti refrattari con graft-versus-host disease e trombocitopenia. Il Rituximab si è mostrato efficace anche, in associazione con la ciclosporina, nel trattamento della porpora trombotica trombocitopenica ed è attualmente indicato, come trattamento di prima linea, anche nel trattamento delle forme di emofilia severa con anticorpi anti fattore-VIII della coagulazione, al dosaggio di 375 mg/m² 1 volta a settimana per quattro settimane.

Naturalmente, l'utilizzo di farmaci che stimolino la trombocitopoiesi e la proliferazione dei megacariociti, quali l'AMG 531 e l'eltrombopag, è di particolare utilità quando consente di ridurre il dosaggio di farmaci immunosoppressivi ed i conseguenti effetti collaterali.

Un problema ancora non risolto è rappresentato dal trattamento prenatale della trombocitopenia allo-immune, in quanto non è stata ancora identificata una terapia priva di rischi sia per la madre che per il feto; in particolare la trasfusione intrauterina è a rischio di emorragia, specialmente qualora in anamnesi sia presente una pregressa gravidanza complicata da emorragia.

Infine nuove conoscenze sono state ottenute relativamente al meccanismo patogenetico alla base delle TRALI, in quanto è stato identificato, oltre al ruolo degli anticorpi anti-neutrofili nel plasma del donatore, anche un ruolo attivo da parte delle cellule endoteliali.

Riferimenti bibliografici

1. **The role of complement regulatory proteins (CD55 and CD59) in the pathogenesis of autoimmune hemocytopenias**
Ruiz-Argüelles A, Llorente L
Autoimmun Rev. 2007 Jan;6(3):155-61
2. **Parvovirus B19 infection and autoimmune disease**
Lehmann HW, von Landenberg P, Modrow S
Autoimmun Rev. 2003 Jun;2(4):218-23
3. **Management of Evans syndrome**
Norton A, Roberts I
Br J Haematol. 2006 Jan;132(2):125-37

4. **Primary and secondary autoimmune neutropenia**
Capsoni F, Sarzi-Puttini P, Zanella A
Arthritis Res Ther. 2005;7(5):208-14
5. **Helicobacter pylori and immune thrombocytopenic purpura: unsolved questions and controversies**
Kuwana M, Ikeda Y
Int J Haematol 2006; 84(4): 309-15
6. **Heparin-induced thrombocytopenia: a review**
Girolami B, Girolami A
Semin Thromb Hemost 2006;32(8): 803-9
7. **Treatment of refractory chronic GVHD with Rituximab: a GITMO study**
Zaja F, Bacigalupo A, Patriarca F et al
Bone Marrow Transplant 2007;40(3): 273-7
8. **Targeting the inhibitor of ADAMTS13 in thrombotic thrombocytopenic purpura**
Cataland SR, Wu HM
Expert Opin Pharmacother 2007; 8(4): 437-44
9. **Acquired factor VIII inhibitors: pathophysiology and treatment**
Ma AD, Carrizosa D
Hematology AmSoc Hematol Educ Program 2006;432-7
10. **Rituximab for the treatment of patients with very high-titre acquired factor VIII inhibitors refractory to conventional chemotherapy**
Field JJ, Fenske TS, Blinder MA.
Haemophilia 2007;13(1): 46-50
11. **Novel Thrombopoietic Agents: preliminary activity, potential benefit**
Bussel JB
J Support Oncol 2007;5: 63-4
12. **Alloimmune thrombocytopenia: state of the art 2006**
Berkowitz RL, Bussel JB, McFarland JG
Am J Obstet Gynecol 2006;195(4): 907-13
13. **Advances in the management of alloimmune thrombocytopenia**
Murphy MF, Bussel JB
Br J Haematol 2007; 136(3): 366-78
14. **The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI)**
Bux J, Sachs UJ
Br J Haematol 2007;136(6): 788-99

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Diagnosis and classification of mast cell proliferative disorders: delineation from immunologic diseases and non-mast cell hematopoietic neoplasms
Peter Valent, Wolfgang R Sperr, Lawrence B Schwartz, Hans-Peter Horny
July 2004 (Vol. 114, Issue 1, Page 3-11)

B cell-directed therapies for autoimmune disease and correlates of disease response and relapse
Marc C. Levesque, E. William St. Clair
January 2008 (Vol. 121, Issue 1, Pages 13-21)

22. Le risposte immunitarie ai tumori

Le risposte immunitarie agli antigeni associati ai tumori si verificano negli individui affetti da neoplasie, ma esse non hanno successo nell'eliminare le cellule maligne o nel prevenire lo sviluppo di metastasi. I pazienti affetti da tumore generano efficaci risposte immuni nei confronti di agenti infettivi (batteri, virus) percepiti come "segnali di pericolo", ma al tempo stesso presentano solo risposte deboli e inefficaci verso gli antigeni associati al tumore, riconosciuti come "self".

Questa fondamentale differenza nella risposta verso il self e il non-self è incrementata dalla capacità dei tumori di sovvertire il sistema immune dell'ospite. I tumori, di solito, inducono disfunzioni come l'apoptosi delle cellule effettrici antitumorali CD8⁺. La capacità dei tumori di sfuggire alle cellule immunitarie (escape) è mediata da diversi meccanismi molecolari. Sono necessari approfondimenti su questi meccanismi ed un controllo più efficace della disfunzione immunitaria tumore-dipendente. Nuove strategie di immunoterapia devono essere rivolte alla protezione e alla sopravvivenza delle cellule effettrici antitumorali nel microambiente tumorale stesso.

Negli esseri umani, lo sviluppo di un tumore, a partire da una singola cellula trasformata fino alla formazione di una massa neoplastica, è un processo plurifasico¹ che consiste in una serie di mutazioni genetiche; esse coinvolgono la progenie di una cellula trasformata in un lasso di tempo di molti anni, si accumulano, ed esitano nella formazione di un tumore a crescita incontrollata.¹ Durante il suo sviluppo, il clone originario mutato viene sostituito da cloni multipli geneticamente alterati, che si espandono e costituiscono la popolazione eterogenea di cellule maligne presenti nel tumore. I tumori sono geneticamente instabili, e l'emergere di varianti genetiche consente loro di sopravvivere nonostante il sistema immunitario dell'ospite. È probabile che le cellule tumorali, riconosciute dal sistema immunitario, vengano eliminate già alla comparsa, e solo quelle in grado di ostacolare l'immunosorveglianza, sfuggano e sopravvivano. Pertanto lo sviluppo del tumore implica una lunga serie di controlli e un equilibrio tra il tentativo dell'ospite di contrastare la crescita del tumore e il tumore stesso, che cerca di sfuggire al controllo e di adattarsi al microambiente, divenendo così resistente alle cellule effettrici immuni. Come risultato di queste interazioni – chiamate rispettivamente immunosorveglianza e immunoselezione – un tumore che si sviluppa con successo è costituito da una miscelanza di vari

Abbreviazioni utilizzate:

Anx:	Annessina V
APC:	Cellule presentanti l'antigene/ Antigen presenting cells
CTL:	Linfociti T citotossici
DC:	Cellule dendritiche
DTH:	Ipersensibilità ritardata
ECM:	Matrice extracellulare
LAK:	Lymphokine activated killer
MHC:	Complesso maggiore di istocompatibilità
NK:	Cellula Natural Killer
NFkB:	Fattore nucleare kB
PBL:	Linfociti del sangue periferico
RCC:	Carcinoma a cellule renali
ROM:	Metaboliti reattivi dell'ossigeno
RTE:	Emigranti timici recenti/ Recent thymic emigrants
TADC:	Cellula dendritica associata al tumore
TAM:	Macrofagi associati al tumore
TCR:	Recettore della cellula T
TIL:	Linfociti che infiltrano il tumore
TNF:	Tumor necrosis factor
TREC:	T-cell receptor excision circle
VEGF:	Fattore di crescita endoteliale vascolare/ Vascular endothelial growth factor
ZIP:	Proteina inibitoria zeta

cloni individuali, tutti derivanti da un precursore comune, ma che presentano ciascuno differenti alterazioni genetiche, variamente resistenti ai meccanismi di difesa antitumorale dell'ospite.

L'idea dell'immunosorveglianza nacque molti anni fa con F.M. Burnett e si basa sul concetto che i tumori non siano ignorati dal sistema immunitario dell'ospite. Nella sua moderna interpretazione, questa teoria non solo sottolinea la capacità del sistema immunitario dell'ospite di individuare ed eliminare le cellule tumorali, ma fa sua anche l'ipotesi che i tumori non siano bersaglio passivo dell'azione immune, in quanto capaci sia di sfuggire che di rendere inabile il sistema immunitario dell'ospite. La moderna teoria dell'immunosorveglianza riconosce la complessità delle interazioni fra il tumore e le cellule immuni o i loro prodotti; essa postula che queste interazioni possano essere bi-direzionali, influenzate dal microambiente locale e possano frequentemente dare luogo alla morte non delle cellule tumorali ma di quelle del sistema immunitario.

In questo capitolo vengono analizzati la natura e i componenti della risposta immunitaria verso i tumori, nonché le ragioni del fallimento del contenimento della crescita tumorale e della metastatizzazione da parte del sistema immune. Quest'ultimo aspetto dell'immunobiologia

Traduzione italiana del testo di:
Theresa L. Whiteside, PhD, ABLMI Pittsburgh, Pa
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S677-86

tumorale sarà ampiamente sottolineato, poichè l'esistenza di molteplici modalità con cui i tumori riescono a neutralizzare il sistema immune dell'ospite potrebbe essere responsabile del limitato successo delle attuali immunoterapie.

LA PROGRESSIONE TUMORALE E IL SISTEMA IMMUNITARIO DELL'OSPITE

Vi sono diverse prove di un precoce e tardivo coinvolgimento del sistema immunitario nello sviluppo di un tumore. Le lesioni precoci, anche pre-neoplastiche, come ad esempio un neo melanocitico, sono frequentemente infiltrate da cellule ematiche (linfociti, macrofagi, occasionalmente granulociti)^{2,3}. La presenza di cellule immunitarie negli stadi più avanzati dello sviluppo tumorale (ad esempio l'abbondanza di linfociti infiltranti il tumore – TIL – nei carcinomi del colon, della mammella, in quello oro-faringeo ed in altri tumori umani), è stata associata ad un miglioramento della sopravvivenza dei pazienti in vari studi.⁴ In molti pazienti, affetti da diversi tipi di cancro, è possibile espandere in coltura e testare le funzioni antitumorali dei CTL specifici per il tumore, presenti nel sangue periferico, o dei TIL.⁴ Tali risultati, riprodotti in molti laboratori, suggeriscono che i precursori di questi CTL si trovano in circolo o nella sede tumorale, e che possono essere stimolati a proliferare, quando le cellule dendritiche autologhe (DC), cimentate con epitopi tumorali rilevanti, vengono impiegate come cellule presentanti l'antigene (APC). Esperimenti più recenti con tetrametri e con citometria a flusso hanno dimostrato in modo diretto la presenza di cellule T specifiche per peptidi tumorali nel sangue dei pazienti affetti da tumore.^{5,6} La frequenza di tali cellule T peptide-specifiche sembra essere più elevata in pazienti colpiti da tumore che in individui sani.⁷ Infine, la tecnologia SEREX, basata sull'esistenza di anticorpi specifici nel siero dei pazienti colpiti da tumore, è stata impiegata con successo per la scoperta di antigeni tumorali in molti laboratori.⁸ Queste scoperte, così come la recente identificazione di numerosi antigeni associati al tumore (TAA), in grado di provocare risposte immunitarie sia umorali che cellulari in vivo e in vitro, rafforzano la tesi che il sistema immune dell'ospite riconosca la presenza del tumore e risponda generando risposte immunitarie locali e sistemiche.⁹

Se i tumori non vengono ignorati dal sistema immunitario, perché progrediscono? Per rispondere a tale quesito, bisogna considerare l'influenza reciproca tra tumori e cellule immunitarie nel microambiente tumorale, in confronto agli eventi che, probabilmente, si verificano nel tessuto durante un'infezione da patogeni esogeni. In questa ultima situazione, si verificano forti risposte umorali e cellulari verso gli antigeni batterici o virali, probabilmente perché il sistema immunitario percepisce l'infezione come un "segnale di pericolo".¹⁰ Viceversa, i TAA vengono riconosciuti come antigeni "self" e, in assenza di un "segnale di pericolo", le risposte immunitarie sono deboli. Così, mentre la risposta immunitaria per contenere batteri e virus è vigorosa, essa è debole nei confronti

dei TAA, che vengono identificati come antigeni self o antigeni self alterati (cioè espressi in misura abnorme). Solo i TAA "unici" sono antigeni mutati, fortemente immunogenici, che stimolano forti risposte immunitarie.¹¹ Ad ogni modo è noto soltanto un ristretto gruppo di questi antigeni mutati, e la stragrande maggioranza dei TAA è scarsamente immunogenico o semplicemente tollerogenica. In tale contesto, il tumore può essere considerato un fenomeno autoimmune, in cui la tolleranza per il self impedisce una risposta immune efficace nei confronti dei TAA. I pazienti affetti da tumore, non trattati con chemioterapia o radioterapia, di solito hanno una risposta immunitaria normale nei confronti di antigeni batterici e virali. Eccetto coloro che si trovano allo stadio terminale di malattia, i pazienti hanno normali risposte di ipersensibilità di tipo ritardato (DTH) verso gli antigeni di richiamo, ma sono anergici verso il tumore autologo. La tolleranza al self rappresenta uno, ma non il solo, impedimento allo sviluppo di una risposta antitumorale nei pazienti affetti da neoplasia. Il secondo impedimento è dato dalla natura del microambiente tumorale, caratterizzato dalla presenza di fattori immunosoppressivi e dall'eccesso di antigeni prodotti e rilasciati dal tumore in crescita. L'evidenza suggerisce che i tumori producono un'ampia gamma di fattori immunoinibitori, che hanno effetti locali e sistemici nei confronti della risposta immune antitumorale dell'ospite.¹² Non sorprende, quindi, che l'immunità antitumorale possa essere debole, inefficiente o assente in questi pazienti, in virtù delle interazioni ospite-tumore, così come dell'efficacia dei meccanismi regolatori nel controllo della immunotolleranza.

TIPI DI RISPOSTE IMMUNITARIE VERSO I TUMORI

Le risposte immunitarie antitumorali possono essere innate (naturali) o acquisite (adattive). L'immunità innata è mediata da cellule o da fattori solubili, che si ritrovano naturalmente nei tessuti e nei fluidi corporei e che possono interferire con la crescita tumorale o con la sua vitalità. Tra le cellule ematiche, macrofagi, granulociti, cellule natural killer ($CD3^-CD56^+$), cellule T non ristrette per l'MHC ($CD3^+CD56^-$), così come le cellule T gamma/delta, hanno la capacità naturale di eliminare le cellule tumorali bersaglio.¹³ Inoltre, anticorpi naturali con specificità diretta verso i componenti superficiali delle cellule tumorali possono essere presenti nel siero dei pazienti affetti da tumore. Anche altri componenti sierici, quali elementi del complemento, proteina C-reattiva, proteina legante il mannosio (mannose binding protein-MBP) e proteina amiloide sierica, giocano un ruolo nell'immunità innata.¹³ Le risposte immuni adattive verso i tumori vengono invece mediate dalle cellule T, quando queste riconoscono peptidi di provenienza tumorale legati alle molecole MHC del self espresse sulle APC. Le cellule tumorali possono fungere da APC, sebbene l'espressione di bassi livelli di molecole MHC sulla loro superficie renda inefficiente questo processo.¹⁴ Il riconoscimento peptidico da parte dello specifico com-

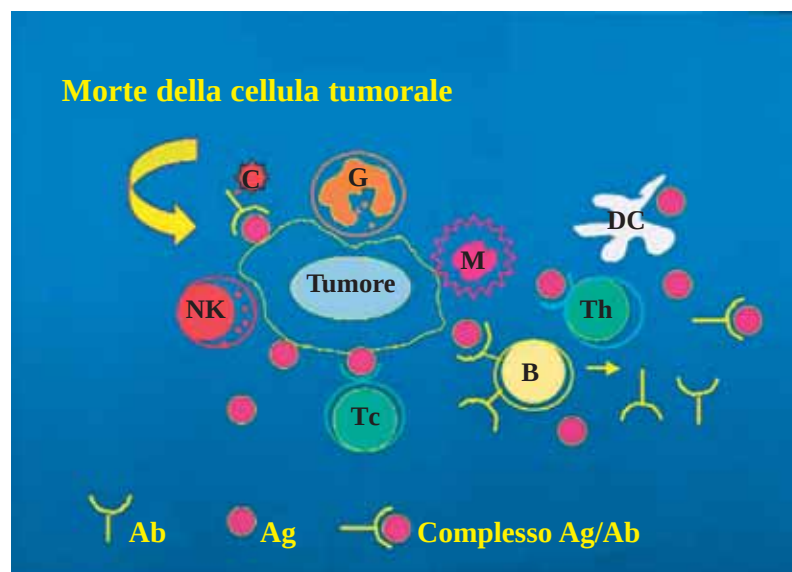


FIG 1. Le cellule immunitarie direttamente responsabili della morte delle cellule neoplastiche includono cellule citolitiche effettrici quali i linfociti T citotossici (*Tc*), le cellule Natural Killer attivate (*NK*), i macrofagi e i granulociti. Inoltre le cellule B, adjuvate dalle cellule T helper (*Th*), producono anticorpi specifici per gli antigeni tumorali, che possono legare il complemento (*C*), provocando così la lisi tumorale complemento-dipendente, mediare la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (*ADCC*) ad opera delle cellule *NK*, e formare complessi antigene-anticorpo, che, dopo captazione da parte delle cellule dendritiche (*DC*), vengono processati, facilitando la presentazione dell'antigene ai linfociti *Tc* e *Th*. Queste complesse interazioni delle cellule immunitarie includono le risposte innate non specifiche e quelle antigene-specifiche, che insieme dovrebbero dar luogo alla morte della cellula tumorale. La capacità della maggior parte dei tumori di sfuggire ai meccanismi immunitari o di ostacolarli (vedi Tabella V) porta alla progressione neoplastica.

plesso TCR dei $CD4^+$ o $CD8^+$ ed il legame dei complessi MHC-peptide alle regioni variabili del TCR dà il segnale d'inizio per l'attivazione delle cellule T.¹⁵ Perché si verifichi una risposta immune adattiva, debbono essere presenti cellule T che esprimono un corretto TCR; questa necessità implica una precedente sensibilizzazione ed una espansione clonale dei linfociti T memoria in risposta ad un epitopo tumorale affine (risposte anamnestiche o di richiamo). Diversamente, i precursori delle cellule T che esprimono il TCR possono essere attivati dai complessi peptide-MHC affini presentati dalle APC, ed il conseguente sviluppo delle cellule effettrici antitumorali è considerato una risposta immune di tipo primario. I linfociti T specifici per antigeni tumorali includono non solo cellule effettrici citolitiche, che sono $CD8^+$ e ristrette per l'MHC di classe I, ma anche cellule T helper $CD4^+$ che operano in associazione alle molecole MHC di classe II. La figura 1 mostra uno schema semplificato delle cellule immunitarie coinvolte nelle risposte antitumorali.

Le risposte immunitarie nei confronti delle cellule tumorali possono essere suddivise in locali/regionali e sistemiche. Le risposte *in situ* o locali riguardano principalmente i TIL, che si accumulano in molti tumori solidi umani, ed il cui ruolo nella loro progressione rimane ancora ampiamente dibattuto, come detto più avanti. A lungo considerate come un braccio effettore delle risposte antitumorali, le TIL in effetti sono vittime del microambiente tumorale; le loro funzioni effettrici sono dan-

neggiate e il fallimento della risposta antitumorale locale contribuisce alla progressione tumorale stessa. L'immunità sistemica verso i tumori, misurata a livello circolatorio periferico o tramite la DTH, è difficile da dimostrare, e le risposte tumore-specifiche sono particolarmente ridotte. Le risposte proliferative non specifiche o citotossiche dei linfociti periferici sono danneggiate in modo variabile in questi pazienti.⁴ Dati più recenti indicano che lo stesso danneggiamento funzionale osservato per i TIL, si riscontra anche nei linfociti circolanti e in quelli a localizzazione linfonodale¹⁶; pertanto sembra che i tumori abbiano profondi effetti soppressivi dell'immunità antineoplastica sia locale che sistemica.

LE CELLULE IMMUNI NEL MICROAMBIENTE TUMORALE

I TIL si osservano frequentemente nei tumori umani, e le cellule che mediano l'immunità innata e adattiva, possono rappresentare dei componenti di questi infiltrati.⁴ Un'ampia gamma di fattori solubili, compresi citochine e anticorpi, potrebbero essere rilasciati da queste cellule in risposta a segnali non specifici o tumore-specifici nel microambiente. Teoricamente, gli effetti antitumorali di questi prodotti, insieme alle dirette interazioni tra le cellule effettrici infiltranti e il tumore stesso, dovrebbero portare alla sua morte. Nella maggior parte dei casi, però, il tumore si accresce progressivamente e produce metastasi nonostante un'ampia infiltrazione da parte delle

Tabella I. Caratteristiche morfologiche, fenotipiche e funzionali dei linfociti infiltranti i tumori solidi umani

1. Morfologia:	Linfociti di dimensioni da piccole a grandi
2. Fenotipo:	Linfociti T $CD3^+ TcR^+ \alpha/\beta^+$; poche (<5%) cellule NK $CD3^-CD56^+$ Mix di cellule $CD4^+$ e $CD8^+$; elevata proporzione di linfociti $CD8^+$ segnalata in alcuni tumori Rapporto $CD4/CD8$ variabile Aumentata proporzione di linfociti T doppi-negativi ($CD4^-/CD8^-$) In gran parte linfociti T memoria $CD45RO^+$ Espressione di markers di attivazione ($CD25$, HLA-DR) La maggior parte sono $CD95^+$
3. Clonalità:	Oligoclonali come determinato dall'espressione del gene Vb del TcR
4. Specificità:	Linfociti T specifici per le cellule tumorali "self" rilevabili in alcuni tumori a bassa frequenza
5. Funzioni:	Bassa o assente espressione della catena ζ : inefficiente trasmissione del segnale del TcR Attivazione soppressa del NFkB Ridotta motilità, proliferazione, citotossicità Profilo citochinico: ridotta/assente produzione di IL-2 o IFN- γ ; eccesso di IL-10 o TGF- β Risposta variabile in vitro all'IL-2 ma più depressa nei TIL ottenuti da lesioni metastatiche che lesioni primarie Aumentati livelli dell'attività della caspasi-3 Apoptosi dei linfociti T $CD8^+$ (TUNEL $^+$; Annessina V $^+$).

TIL, poiché sviluppa strategie per sottrarsi all'azione della risposta immune.¹² Esiste ampia letteratura che descrive il danneggiamento funzionale dei TIL e la loro incapacità a contenere la progressione tumorale.⁴

Fra i vari tipi cellulari presenti nel sito tumorale, le cellule T ($CD3^+TCR^+$) hanno ricevuto l'attenzione maggiore. Esse rappresentano la più ampia componente degli infiltrati tumorali mononucleari in tutti i tumori umani.¹⁷ È stata formulata l'ipotesi che i TIL siano dei CTL specifici autotumorali, sebbene studi a basse diluizioni sui TIL-T provenienti da vari tipi di tumore indichino come la frequenza di tali CTL sia bassa, in confronto ai linfociti del sangue periferico (PBL)-T.⁴ Nonostante ciò, esistono prove a favore della presenza di cloni di cellule T ristretti per il V β in alcuni TIL isolati a fresco e della possibilità dei TIL isolati di riconoscere selettivamente e di eliminare in alcuni casi le cellule tumorali autologhe.⁴ In genere, comunque, le TIL-T sembrano essere linfociti attivati ($HLA^+DR^+CD25^+$), non ristretti per l'MHC, che comprendono percentuali basse e variabili di CTL. Le loro caratteristiche fenotipiche e funzionali sono elencate nella tabella I.

Sebbene i linfociti $CD8^+$ o $CD4^+$ isolati nei tumori umani esprimano un fenotipo di attivazione, sono funzionalmente compromessi, anche se la perdita della funzione non è un fenomeno "tutto o niente". Sembra che i TIL derivati da lesioni metastatiche o avanzate siano funzionalmente più danneggiati di quelli provenienti da lesioni precoci, suggerendo che il carico tumorale o la potenzialità del tumore di sopprimere le cellule immunitarie possano determinare lo stato funzionale dei TIL. Studi più recenti sui TIL *in situ* si sono concentrati sull'espressione della catena ζ , una molecola di segnale associata al complesso TCR e del fattore nucleare kappa B (NFkB), un fattore di trascrizione che regola l'espressione di numerosi geni della risposta immunitaria e infiammatoria.^{18,19} In uno studio che comprendeva più di 130 casi di carcinoma a cellule orali, è stato rilevato che l'espressione della catena ζ nei TIL-T era un biomarker indipendente e statisticamente altamente significativo di prognosi e sopravvivenza in pazienti con malattia allo stadio III e

IV.²⁰ Pazienti con tumori infiltrati da cellule T con ridotta o assente espressione della catena ζ , avevano una sopravvivenza a 5 anni significativamente ridotta rispetto ai pazienti con tumore infiltrato da cellule T con normale espressione della catena ζ .²⁰ È stato osservato che l'attivazione stimolo-dipendente dell'NFkB nelle cellule T era danneggiata in pazienti con carcinoma a cellule renali (RCC). In alcuni pazienti, il difetto primario era costituito dalla incapacità del complesso trans-attivante RelA/NFkB1 (p50) di accumularsi nel nucleo dopo l'attivazione delle cellule T, come risultato di un difetto di fosforilazione e degradazione dell'inibitore Ikb α .²¹ In altri pazienti, l'attivazione del NFkB risultava difettosa, nonostante una normale degradazione stimolo-dipendente di Ikb α .²² In entrambi i casi, tale alterazione poteva essere provocata dall'esposizione di normali linfociti T al sovrannatante di RCC, ed il prodotto solubile responsabile è stato identificato come un ganglioside derivato da RCC.²³ L'attività difettosa del NFkB può contribuire alle ridotte funzioni dei linfociti T osservate nei TIL-T in RCC, poiché questo fattore di trascrizione controlla l'espressione di numerosi geni che codificano per citochine, per i loro recettori, e per altre molecole regolatorie di membrana, essenziali per l'attivazione dei linfociti T.¹⁹ È importante osservare come i difetti di funzionamento della catena ζ e di attivazione del NFkB si osservano nei TIL-T, così come nei linfociti T circolanti, di pazienti affetti da varie tipologie di tumori.²⁴ Questi studi indicano che i linfociti T ritrovati nel microambiente tumorale, sia $CD4^+$ che $CD8^+$, sono disfunzionali e che l'entità di questa alterazione del funzionamento può essere importante per prevedere la prognosi e la sopravvivenza dei pazienti affetti.

Le cellule Natural Killer ($CD3^-CD56^+CD16^+$) che mediano l'immunità innata e contengono granuli ricchi di perforina e di granzyme, sono ben equipaggiate per mediare la lisi delle cellule tumorali. Ad ogni modo, la maggior parte delle cellule tumorali umane sono resistenti alla lisi cellulare perforina-mediata delle NK e queste ultime si trovano raramente fra i TIL.²⁵ Potrebbero esistere varie ragioni per la scarsa presenza di cellule NK

nei tumori:

- una mancanza di anticorpi efficaci per evidenziare le cellule NK nei tessuti attraverso l'immunochimica²⁵;
- la presenza di cellule NK nelle lesioni pre-tumorali o iniziali e l'assenza nei tumori avanzati, il che è consono al loro ruolo nell'immunosorveglianza piuttosto che nella soppressione delle cellule tumorali nel sito tumorale²⁵;
- il mantenimento di una attività antitumorale NK nel sito del tumore potrebbe essere compromesso: infatti le cellule NK dipendono dall'IL-2 per la loro attivazione e sopravvivenza²⁶ e i tumori umani mancano di citochine di tipo I, inclusa l'IL-2;
- come indicano i dati più recenti, il ruolo biologico primario delle cellule NK nei portatori di neoplasie potrebbe non essere l'eliminazione del bersaglio tumorale, ma piuttosto la facilitazione dell'interazione fra linfociti T e DC e la deviazione della risposta immune verso i TAA.²⁷ Probabilmente i siti di impianto tumorale non rappresentano l'ambiente ottimale per questo tipo di interazione immunitaria; da qui la penuria delle NK in tali siti.

Il ruolo svolto in vivo dalle cellule NK nella difesa dal tumore nell'uomo non è ancora chiaro e pertanto sono in corso ulteriori studi in tal senso.

I linfociti B (CD19⁺, CD20⁺) sono rari nella maggior parte dei tumori umani, ad eccezione del carcinoma mammario e del melanoma.² La funzione primaria dei linfociti B è quella di differenziarsi in plasmacellule e produrre anticorpi. Nonostante gli anticorpi specifici per i TAA vengano rilevati frequentemente nel sangue periferico dei pazienti affetti, essi sono prodotti e rilasciati nei linfonodi di drenaggio tumorale, nella milza ed in altri tessuti linfoidi. Da questi siti, le molecole IgG possono prontamente essere trasportate dal plasma o dalla linfa ai tessuti bersaglio. Perciò la presenza di linfociti B o di plasmacellule nel tumore non è prevista a priori, sebbene sia possibile che la capacità di generare anticorpi *in situ* possa essere un aspetto importante delle difese dell'organismo ospite.

Le DC, definite fenotipicamente come Lin⁻CD80⁺CD86⁺HLA-DR⁺, sono comunemente presenti nei tumori umani.²⁸ Nei portatori di tumore, le DC sono responsabili della captazione, processazione e presentazione crociata dei TAA ai linfociti T *naïve* o memory, avendo così un ruolo cruciale nel generare cellule T effettrici tumore-specifiche. È stato dimostrato che le DC tumore-associate (TADC), direttamente esposte alle cellule tumorali e/o ai fattori derivati dal tumore, vanno rapidamente incontro ad apoptosi e presentano alterazioni della maturazione;²⁹ in particolare è stato dimostrato che fattori di derivazione tumorale, quali ad esempio i gangliosidi, inibiscono la formazione delle DC e le loro funzioni in vitro.³⁰ È stato osservato che questo effetto soppressivo dei gangliosidi sulle DC è mediato dal fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) derivato dal tumore, un noto fattore antidendropoietico.²⁹ I dati sul danneggiamento funzionale delle TADC sono controbilanciati dalle numerose pubblicazioni che suggeriscono che la presenza delle DC nei tumori sia associata ad una prognosi migliore;²⁸ l'infiltrazione delle DC nei tumori è

stata associata ad un significativo aumento della sopravvivenza e ad una ridotta incidenza di ricaduta di malattia o di metastatizzazione nei pazienti con carcinoma vescicale, del polmone, laringeo, orale, gastrico, naso-faringeo.²⁸ D'altro canto, pazienti con lesioni tumorali scarsamente infiltrate dalle DC hanno una prognosi relativamente sfavorevole. Sono state osservate meno DC nelle lesioni metastatiche che in quelle primitive.³¹ In uno studio recente, è stato dimostrato che il numero di DC S⁻100⁺ presenti nel tumore era di gran lunga il più forte ed indipendente indicatore di sopravvivenza globale, così come di sopravvivenza libera da malattia e di intervallo libero da recidiva in 132 pazienti affetti da carcinoma orale, se confrontato con fattori prognostici ben definiti, quali lo stadio di malattia o il coinvolgimento linfonodale.²⁸ Un'altra sorprendente osservazione riguardava la relazione fra il numero delle DC presenti nei tumori e l'espressione della catena ζ associata ai TCR nei TIL. La scarsità di DC nei tumori era significativamente correlata alla perdita dell'espressione delle catene ζ nei TIL e questi due fattori avevano un effetto altamente significativo sulla sopravvivenza complessiva dei pazienti.²⁸ La sopravvivenza peggiore ed il rischio maggiore sono stati osservati nei pazienti che avevano uno scarso numero di DC e una espressione scarsa o assente di catene ζ nei TIL ($P=2.4 \times 10^{-8}$). Questi dati suggeriscono che il numero delle DC e la presenza di linfociti T funzionalmente non danneggiati nel microambiente tumorale siano importanti per la sopravvivenza complessiva dei pazienti.

Anche i macrofagi (CD14⁺) sono comunemente presenti nei tumori e vengono definiti come macrofagi associati al tumore o TAM. Mentre i macrofagi normali sono APC che giocano un ruolo importante nel controllo delle infezioni, i TAM sono riprogrammati per inibire le funzioni linfocitarie, attraverso il rilascio di specifiche citochine, prostaglandine o metaboliti reattivi dell'ossigeno (ROM). Si pensa che la riprogrammazione dei TAM si verifichi nel microambiente tumorale, come risultato di un'attivazione guidata dallo stesso tumore.³² Sono state accumulate prove che indicano che l'invasività di un tumore, come ad esempio il carcinoma primitivo del colon, è direttamente correlata al numero di TAM rilevati nel tumore stesso. Nel tumore invasivo della mammella, un aumento del numero di TAM è un fattore predittivo indipendente della riduzione della sopravvivenza libera da ricaduta, così come di ridotta sopravvivenza globale.³³ I dati disponibili indicano un ruolo attivo dei TAM, da un lato nell'immunosoppressione indotta dal tumore e, dall'altro, nella promozione della crescita tumorale. I meccanismi che contribuiscono all'inibizione delle cellule immunitarie mediata dai TAM sono probabilmente numerosi, ma di recente, molta attenzione è stata rivolta al ruolo dei ROM dipendenti dal NADPH, quali l'anione superossido o il perossido di idrogeno, come potenziali inibitori dei TIL.³⁴ La proliferazione delle cellule T e la citotossicità antitumorale mediata dai NK sono profondamente inibiti in vitro dai ROM derivati dai macrofagi.³⁵ La conclusione complessiva di questi studi è che l'attività immuno-inibitoria dei TAM, dovuta a stress ossidativo e al rilascio di citochine inibitore quali l'IL-10, contribuisce a rendere il microambiente tumorale un luogo particolarmente ostile per le cellule immunitarie.

Tabella II. Caratteristiche dei linfociti T rilevabili in circolo nei pazienti con cancro

Fenotipo predominante:	
Linfociti T	CD3 ⁺ CD95 ⁺ Anx ⁺ (fino al 95%) CD3 ⁺ CD25 ⁺ (proporzioni aumentate) CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ (proporzioni aumentate)
Sottopopolazione CD8 ⁺	CD8 ⁺ CD95 ⁺ CD8 ⁺ CD95 ⁺ Anx ⁺
cellule CD8 ⁺ memoria	CD8 ⁺ CD45RO ⁺ Anx ⁺
cellule CD8 ⁺ effettrici	CD8 ⁺ CD45RO ⁺ CD27 ⁻ ζ bassa espressione CD8 ⁺ CD28 ⁻ CD95 ⁺ Anx ⁺
Sottopopolazione CD4 ⁺	CD4 ⁺ CD95 ⁺
cellule CD4 ⁺ memoria	CD4 ⁺ RO45 ⁺ CD95 ⁺
Cellule T regolatorie	CD4 ⁺ CD25 ⁺ (proporzioni aumentate)
Clonalità:	Policlonali con varie specificità ristrette del TCRV β
Specificità:	Linfociti T peptide tumorale /MHC/ tetrameri ⁺
Funzioni:	Bassa espressione delle catene ζ nelle cellule T e NK, inefficiente meccanismo di trasmissione del segnale da parte del TCR Attivazione dell'NF κ B soppressa Proliferazione depressa in risposta ad Ab anti-CD3, PMA/ionomicina, mitogeni Citotossicità depressa Profilo delle citochine: altamente variabile Attività LAK in risposta ad IL-2 normale o depressa in modo variabile Apoptosi delle cellule T CD8 ⁺ e delle cellule NK (Anx ⁺) Attività della caspasi-3 incrementata nelle cellule T Incrementato turnover linfocitario

CELLULE EFFETTRICI IMMUNITARIE NELLA CIRCOLAZIONE PERIFERICA DEI PAZIENTI CON CANCRO

Negli esseri umani, il sangue periferico è la maggiore fonte di cellule sulle quali effettuare studi relativi alle loro funzioni antitumorali. I linfociti T, le cellule NK, i macrofagi e i linfociti B e le loro sottopopolazioni sono stati ampiamente studiati nella circolazione periferica dei pazienti con melanoma, carcinoma mammario, orale o renale e con altri tumori, mediante test convenzionali *in vitro*, fenotipici e funzionali. I risultati mostrano che le anomalie di segnale, il danneggiamento funzionale e l'apoptosi osservati nei TIL-T sono, allo stesso modo, presenti nei PBL-T di molti pazienti affetti da tumore.^{36,37} La comparazione tra TIL-T e PBL-T autologhi ha dimostrato che una concomitante bassa espressione delle catene ζ nei linfociti T e una aumentata proporzione di linfociti T apoptotici si verificava in circa il 40% dei pazienti con melanoma, carcinoma a cellule renali o orale.^{23,24,36}

La maggior parte di questi pazienti, ma non tutti, aveva una malattia al III stadio avanzato o al IV stadio, così che la presenza di difetti immunitari, sia locali che sistemici, poteva non essere correlata alla massa tumorale. Nondimeno, i difetti erano maggiormente pronunciati e venivano rilevati più spesso nei TIL-T che nei PBL-T, indicando che il tumore regolava l'entità di questi difetti. Inoltre, la bassa espressione delle catene ζ , la proliferazione depressa in risposta ad Ab anti-CD3 e l'apoptosi di TIL-T e PBL-T correlavano con alti livelli di espressione di FasL nel tumore autologo.²⁴ Questi dati suggeriscono che i difetti funzionali dei linfociti T potrebbero essere legati alla loro apoptosi, che tali difetti sarebbero sia locali che sistemici e che il meccanismo Fas/FasL contribuirebbe all'apoptosi dei linfociti T *in situ* e nel

sangue periferico di pazienti affetti da diversi tipi di tumore. Sebbene gli studi suggeriscano che il meccanismo Fas/FasL contribuisca all'apoptosi delle cellule immunitarie indotta dal tumore, questo può non essere l'unico meccanismo utilizzato dal tumore per riuscire a sfuggire al controllo immunitario.^{38,39} A questo punto è possibile ipotizzare che l'esistenza della costellazione di difetti immunologici possa permettere l'identificazione di un sottogruppo di pazienti, con prognosi sfavorevole, in virtù del particolare ambiente immunosoppressivo creato dal tumore.

Prove a favore di un'apoptosi spontanea di linfociti T nel circolo periferico di pazienti affetti da tumore sono state descritte finora nei casi di melanoma, carcinoma mammario, carcinoma della testa e del collo, compreso quello orale.^{36,40} Come indicato in Tabella II, i linfociti T che vanno incontro ad apoptosi nel sangue di questi pazienti sono CD3⁺CD95⁺, legano l'Annessina V (Anx), hanno elevati livelli di attività della caspasi-3 e ridotta espressione delle catene ζ associate al TCR.^{36,41,42} La proporzione di queste cellule T è significativamente elevata ($P < .0001$) in circolo nei pazienti con tumore rispetto ai soggetti di controllo normali, confrontati per sesso ed età. I linfociti T Fas⁺ (CD95⁺) non solo rappresentano la maggiore popolazione di linfociti circolanti nei pazienti affetti da tumore, ma legano anche preferenzialmente Anx e mostrano una ridotta espressione delle catene ζ .⁴² La più rilevante scoperta emersa durante questi studi ha documentato che i linfociti T CD8⁺, ma non i linfociti T CD4⁺, legano Anx e sono particolarmente sensibili all'apoptosi.⁴² Pertanto, i linfociti T CD8⁺ Fas⁺ attivati, che sono aumentati in circolo nei pazienti, sono indotti a morire dando luogo ad un rapido avvicendamento dei linfociti T e contribuendo probabilmente alla perdita delle cellule effettrici antitumorali. La più grossa propor-

zione di linfociti T $CD8^+Fas^+Anx^+$ è stata osservata in un sottogruppo di pazienti con malattia attiva.⁴²

Nonostante gli elevati livelli di apoptosi dei linfociti T circolanti nei pazienti non trattati con chemioterapia o radioterapia, la linfopenia non è frequente. Perciò, è probabile che una sostituzione dei linfociti T persi, si verifichi sia ad opera del timo che come risultato dell'espansione periferica di preesistenti linfociti T memoria. Negli esseri umani è possibile quantificare il rilascio (output) timico attraverso l'analisi TREC (thymic excision circle), una tecnica basata sulla PCR, che consente di quantificare gli emigranti timici recenti (RTE) nel circolo periferico.⁴³ Tramite questo approccio, si è potuto stabilire che i pazienti neoplastici avevano RTE significativamente ($P=.004$) più bassi rispetto ai controlli sani confrontati per età.⁴³ Inoltre, usando la citofluorimetria a flusso multicolore, era possibile dimostrare che la proporzione di linfociti T *naive* $CD8^+CD45RO^-CD27^+$ era significativamente più bassa nei pazienti rispetto ai donatori sani.⁴³ I risultati potrebbero indicare che l'output timico nei pazienti sia più basso rispetto ai controlli o che l'espansione periferica dei linfociti T sia maggiore nei pazienti, rispettivamente diluendo i TREC e accelerando la maturazione dei linfociti T *naive*. Ad ogni modo, questi dati documentano che il turnover linfocitario sembra considerevolmente più rapido nei pazienti affetti da tumore che nei soggetti normali; questo rapido turnover dei linfociti T potrebbe avere degli effetti dannosi sulle risposte antitumorali, particolarmente in caso di coinvolgimento dei linfociti TCD8⁺ effettori.

È stato quindi ipotizzato che l'apoptosi dei linfociti $CD8^+$ non sia parte della morte linfocitaria globale ed indifferenziata, ma sia rivolta al sottogruppo di linfociti T responsabili di funzioni antitumorali. Utilizzando la citofluorimetria a colori multipli, sono state valutate due sottopopolazioni linfocitarie T circolanti, note per rivestire un ruolo importante nella difesa antitumorale: le cellule effettrici $CD8^+CD45RO^-CD27^-$ e le $CD8^+CD28^-$, in coorti di pazienti e in soggetti normali di controllo.⁴⁴ La frequenza dei linfociti T $CD8^+CD45RO^-CD27^-$ in circolo era significativamente aumentata nei pazienti, indipendentemente dallo stadio di malattia ($P<.0003$). Comunque, l'espressione della catena ζ in queste cellule era significativamente ridotta, e la loro abilità nel rispondere a stimoli esogeni attraverso l'espressione di INF- γ era compromessa.⁴⁴ Inoltre, è stato rilevato che *Anx* si legava ad una proporzione più elevata di cellule appartenenti a questo sottogruppo di cellule effettrici piuttosto che agli altri sottogruppi del compartimento delle cellule T *naive*. Quindi, i linfociti T effettori $CD8^+CD45RO^-CD27^-$ espansi sembrano essere disfunzionali e destinati all'apoptosi in circolo nei pazienti con tumore.⁴⁴ Anche il secondo sottogruppo di cellule effettrici studiate, i linfociti T $CD8^+CD28^-$, era significativamente espanso in circolo nei pazienti con tumore e, sorprendentemente, conteneva la più alta proporzione di cellule *Anx*⁺ fra i sottogruppi di cellule T $CD8^+$ *naive* o memoria.⁴⁰ Questo implica che questi linfociti T effettori morenti venivano prontamente sostituiti, così che si verificava un rapido turnover nei pazienti con cancro. Considerati nel loro

complesso questi risultati suggeriscono che i sottogruppi effettori dei linfociti TCD8⁺ sono marcati per l'apoptosi in questi soggetti e che una perdita della funzione effettrice, attraverso questa apoptosi orientata, possa compromettere la funzione antitumorale e favorire la progressione del tumore. Sono in corso studi sull'apoptosi in popolazioni CTL specifiche per il tumore, utilizzando tetrameri marcati per l'identificazione dei linfociti T tramite tecniche citofluorimetriche.

Un altro sottogruppo di cellule effettrici antitumorali, le cellule NK, rappresentano solo l'8-10% dei linfociti nel circolo periferico. A tali cellule è stata attribuita la capacità di eliminare le cellule tumorali dal circolo, prevenendo così la formazione di metastasi a distanza.⁴⁰ Dati recenti confermano che, in aggiunta alla mediazione della lisi ad opera delle perforine, le cellule NK costituzionalmente esprimono diversi ligandi della famiglia TNF e, perciò, sono in grado di indurre apoptosi in un'ampia varietà di cellule tumorali.⁴⁵ Tale meccanismo apoptotico di eliminazione delle cellule tumorali può avere un'importanza biologica maggiore di quella dell'attività di *killing* secretoria, granulo-mediata, poiché la maggior parte delle cellule tumorali esprimono recettori per i ligandi della famiglia del TNF e sono sensibili alla morte per apoptosi.⁴⁵ Così, le cellule NK sembrano ben equipaggiate per interferire con i processi di crescita tumorale e di metastatizzazione, e, come su indicato, sono ritenute esercitare un ruolo maggiore nei primi stadi dello sviluppo tumorale. Le NK sono in grado di distinguere tra cellule normali e non, soprattutto perché esprimono recettori che le rendono capaci di rilevare il bersaglio per la presenza di molecole MHC di classe I.⁴⁶ Questi recettori sono di due tipi: recettori killer-inibitori e recettori killer-attivatori.⁴⁷ Le funzioni delle cellule NK e le loro interazioni con altre cellule o con molecole della matrice extracellulare (ECM) sono regolate tramite questi recettori e i Fc γ Rs.

Nella circolazione periferica dei pazienti con cancro, le cellule NK, come i linfociti T $CD8^+$, possono andare spontaneamente incontro ad apoptosi. Per esempio, un recente studio indica che in pazienti con carcinoma mammario, un sottogruppo di cellule NK circolanti $CD56^{\text{bright}}CD16^{\text{dim}}$, che rappresentano circa il 95% di tutte le cellule NK e sono responsabili delle funzioni effettrici, lega preferenzialmente *Anx* e viene così marcata per l'apoptosi.⁴⁰ Questi pazienti manifestavano anche una attività delle cellule NK significativamente più bassa rispetto ai soggetti sani, confrontati per età e sesso, testati in parallelo, indicando che le cellule NK che legavano *Anx* erano funzionalmente danneggiate. Queste ed altre recenti osservazioni suggeriscono che le cellule NK endogene circolanti hanno la potenzialità di svolgere un ruolo nella sorveglianza tumorale e nel controllo della disseminazione metastatica. Comunque, una volta che il tumore si è instaurato, esso può sovvertire le funzioni antitumorali delle cellule NK, in particolare di quei sottogruppi di cellule NK rinvenuti nei siti di metastasi e di quelli responsabili di funzioni citotossiche.

Oltre alla presenza di cellule NK, un'altra categoria di cellule effettrici non specifiche, le cellule NK/T $CD3^+CD56^+$, che sono in grado di rimuovere i bersagli tumorali, è presente in circolo e nei tessuti. Esse rappre-

Tabella III. Caratteristiche dei linfociti T CD4⁺CD25⁺ regolatori

Costituiscono il 6% dei linfociti T CD4 ⁺ umani purificati
Aumentata proporzione di linfociti T CD4 ⁺ CD25 ⁺ nel sangue e nella sede tumorale nei pazienti affetti da cancro
Assenza di proliferazione in risposta all'attivazione allogenica o policlonale
Espressione costitutiva di CTLA-4 e CD122 a livello intracitoplasmatico; sono CD45RO ⁺ ; il 50% di esse è DR ⁺
Titolati in colture di cellule T, i CD4 ⁺ CD25 ⁺ inibiscono la proliferazione in presenza di DC allogeniche
I linfociti T CD4 ⁺ CD25 ⁺ secernono prevalentemente IL-10 e/o TGF-β
Inibiscono la produzione di IL-2 da parte di altri linfociti T

sentano una sottopopolazione molto ristretta di linfociti circolanti in individui sani, ma è stata rilevata la loro espansione in pazienti con cancro, così come nei roditori portatori di neoplasie.⁴⁸ Le cellule NK/T sono anche una componente minore dei TIL. In presenza di IL-2, i linfociti NK/T si differenziano rapidamente in cellule killer attivate da linfocine (LAK), morfologicamente caratterizzate come grandi linfociti granulari con ampio citoplasma e numerosi granuli contenenti granzyme e perforine.²⁵ A questo proposito, le cellule NK/T assomigliano alle cellule NK CD3⁻CD56⁺, ed insieme queste sottopopolazioni linfocitarie sono considerate responsabili della attività LAK. Sia le cellule NK che le NK/T esprimono recettori per l'IL-18 e quindi la presenza di questa citochina ne permette l'attivazione. La sensibilità di queste cellule effettrici all'apoptosi spontanea finora non è stata ancora studiata.

CELLULE IMMUNITARIE REGOLATORIE NEI PAZIENTI CON CANCRO

Nei pazienti affetti da tumore, la presenza in circolo di linfociti soppressori, capaci di down-regolare le funzioni di altre cellule immunitarie, è stata descritta molti anni fa.⁴⁹ In una moderna reinterpretazione, tali cellule vengono identificate fenotipicamente come linfociti T CD4⁺CD25⁺ e vengono chiamate "linfociti T regolatori".⁵⁰ Esse possono essere isolate dalle PBMC tramite una immunoselezione su biglie magnetiche ricoperte di anticorpi, e le loro caratteristiche sono elencate nella tabella III.

Nel topo, la deplezione dei linfociti T CD4⁺CD25⁺ provoca lo sviluppo di autoimmunità e, in animali portatori di tumori, favorisce le risposte immunitarie verso il tumore autologo. In pazienti affetti da tumore, tra i linfociti tumore-associati è aumentata la quota di linfociti T CD4⁺CD25⁺.⁵¹ Tali linfociti T, selezionati attraverso citometria a flusso, sono in grado di secernere TGF-β o IL-10. Il meccanismo attraverso il quale questi linfociti T regolano le risposte immuni antitumorali vengono ampiamente studiati in molti laboratori. Dati preliminari suggeriscono che sottogruppi di DC (cioè DC plasmacitoidi versus mieloidi) sembrano giocare un ruolo chiave nell'indurre la presenza di linfociti T regolatori nel microambiente tumorale.

IL PROFILO DELLE CITOCINE NEL MICROAMBIENTE TUMORALE

La presenza ed il tipo di cellule immunitarie nei siti tumorali, così come il loro stato di attivazione, determinano il profilo citochinico, che è una caratteristica unica di ogni tumore. Non solamente le cellule immunitarie, ma anche quelle tumorali, producono citochine ed altri fattori solubili (Tabella IV).

Nell'ambiente tumorale, in cui le cellule neoplastiche superano per numero quelle linfocitiche, i fattori solubili rilasciati dalle cellule tumorali, o da quelle del tessuto di sostegno, come i fibroblasti, sono presenti in concentrazioni relativamente elevate. Le citochine di tipo Th1 immunostimolatorie, quali IL-2, IL-12 e IFN-γ, sono invece rare. Nei pazienti con neoplasia in stadio avanzato, possono essere presenti in circolo citochine di tipo proinfiammatorio, quali IL-1, IL-6 e TNF-γ, che riflettono lo stato di cronica e persistente attivazione, provocata probabilmente dai TAA o da complessi antigene-anticorpo circolanti.

NUOVE PROSPETTIVE DELL'IMMUNITÀ ANTITUMORALE

Per lungo tempo, il campo dell'immunità tumorale ha risentito della presenza di parecchie concezioni errate, che possono essere riassunte come segue:

- 1) le cellule tumorali non sono prese in considerazione dal sistema immunitario
- 2) le risposte immunitarie sono dirette solo verso antigeni "unici" espressi sulle cellule tumorali
- 3) da soli, i linfociti T tumore-specifici sono sufficienti a determinare la regressione del tumore
- 4) i tumori rappresentano dei bersagli passivi delle risposte anti-tumorali.

È chiaro, al giorno d'oggi, come queste tesi appaiano inconsistenti, alla luce dei nuovi dati disponibili. Quindi, le cellule neoplastiche non sono ignorate dal sistema immunitario, come indicato nella tabella V.

La maggior parte dei TAA identificati ad oggi, sono antigeni self, che sono sovraespressi o alterati dopo la trascrizione.⁹ Le risposte immunitarie verso questi antigeni self alterati sono ben chiare, e tra i più noti antigeni definiti per i linfociti T vi sono gli antigeni di differenziazione del melanoma (gp-100, MART-1/Melan A e tirosinasi), antigeni testicolari (MAGE, BAGE, etc.), antigeni virali (EBV, HPV, HBV), i TAA ubiquitari sovraespressi (p-53, HER-2/neu, hTERT, PRAME) e gli antigeni epiteliali sovraespressi (HER-2/neu, MUC-1, CEA).⁹ Gli epitopi "unici" o mutati definiti per le cellule T, in grado di provocare la più forte risposta immunitaria, includono ras, p53, cdk4, caspasi 8 e altri.^{9,11} È stato ampiamente enfatizzato il ruolo dei linfociti T tumore-specifici nell'immunità tumorale, perché appare ora chiaro che la loro presenza nei soggetti con neoplasia o la loro formazione in seguito alla somministrazione di vaccini antitumorali, generalmente non coincide con la regressione tumorale.^{54,55} Sembra che, allo scopo di alterare la tolleranza

Tabella IV. Fattori molecolari “immunoinibitori” prodotti dai tumori umani*

Ligandi della famiglia del TNF	Inducono apoptosi attraverso i recettori della famiglia del TNF
FasL	Fas
TRAIL	TRAIL-R
TNF	TNF-R1
Citochine	
TGF- β	Inibisce l'espressione dell'mRNA di perforine e granzyme; inibisce la proliferazione linfocitaria
IL-10	Inibisce la produzione di citochine, inclusa quella dell'IL-12
GM-CSF	Promuove l'espansione dei macrofagi immunosoppressivi tumore-associati
ZIP (proteina ζ -inibitoria)	Media la degradazione delle catene ζ o inibisce l'espressione del loro mRNA ⁵²
Piccole molecole	
Prostaglandina E2	Inibisce le funzioni leucocitarie tramite l'incremento di cAMP
Epinefrina	Inibisce le funzioni leucocitarie tramite l'incremento di cAMP
ROM	Inibiscono le funzioni leucocitarie tramite la formazione di superossido
Prodotti virus-correlati	
p15E (CKS-17, peptide sintetico)	Inibisce la produzione delle citochine di tipo I, up-regola la sintesi di IL-10
EBI-3 (omologo della p40 di IL-12)	Inibisce la produzione di IL-12
Gangliosidi tumore-associati	Inibiscono la proliferazione dei linfociti dipendente da IL-2, inducono segnali apoptotici, sopprimono l'attivazione di NFkB, interferiscono con la genesi delle DC

*Questa lista parziale di fattori immunoinibitori tumore-associati è stata modificata da una rassegna di Whiteside e Rabinowich.¹² Essa mostra i diversi meccanismi che i tumori umani sono noti aver sviluppato per rendere inefficace il sistema immunitario dell'ospite.

Tabella V. Evidenze a dimostrazione del fatto che i tumori non sono ignorati dal sistema immunitario

Incremento della frequenza dei linfociti T tumore-specifici evidenziabili in circolo in pazienti con cancro utilizzando tetrametri, riconoscanti epitopi tumorali ristretti per l'MHC di classe I o II ⁵⁻⁷
I linfociti T tumore-specifici così come i TIL-T possono essere coltivati ed espansi in presenza di citochine, e mostrano di eliminare in modo selettivo le cellule tumorali ⁹
I linfociti T tumore-specifici sono stati recentemente usati come prove specifiche e sensibili per l'identificazione di epitopi tumorali definiti per i linfociti T, in programmi per la scoperta di antigeni ⁵³
I pazienti con tumori infiltrati da TIL-T, che presentano una normale espressione della catena ζ e quindi sono capaci di trasmettere il segnale attraverso il TCR, hanno una prognosi migliore ed una sopravvivenza maggiore rispetto ai pazienti con i TIL-T disfunzionali ²⁸
La presenza di anticorpi antitumore nel siero dei pazienti ha rappresentato lo strumento per l'identificazione di antigeni tumorali definiti sierologicamente tramite SEREX ⁸

verso il self, i linfociti T specifici per i TAA non siano sufficienti e possa essere necessaria l'immunità innata, mediata dai linfociti T attivati non specificamente, dalle cellule NK attivate e dai macrofagi. Il ruolo fondamentale delle citochine di tipo Th1 nell'attivazione di queste cellule non può essere troppo enfatizzato. Molto più importante è la consapevolezza che i tumori non funzionano da bersagli inerti dell'azione immune. Il fenomeno del “contrattacco” del tumore nei confronti del sistema immunitario del paziente ospite è un fenomeno reale e probabilmente contribuisce alla disfunzione delle cellule immunitarie e alla loro morte.^{38,39} Sono state raccolte prove di una selettiva apoptosi delle cellule effettrici antitumorali CD8⁺ in pazienti con tumore, come riferito in precedenza, ma resta ancora da chiarire il meccanismo molecolare responsabile della disfunzione di tali cellule e della loro morte. È noto che un'ampia varietà di fattori derivati dal tumore, o di cellule immunitarie indotte/attivate dal tumore contribuiscono alla disfunzione delle cellule immunitarie nei soggetti affetti (Tabella V). Non è noto se tutti, o solo alcuni di questi fattori, svolgano un ruolo nell'“escape” dei tumori dal sistema immunitario e come questi fattori possano influenzare la prognosi e/o la sopravvivenza dei pazienti.

CONCLUSIONI

Le prove a favore delle alterazioni della funzione e della apoptosi delle cellule effettrici antitumorali, nei soggetti affetti, introducono una nuova modalità di interpretazione dell'immunoterapia nei tumori. Sebbene in precedenza sia stata posta una notevole enfasi sull'attivazione delle cellule immuni e sulla up-regolazione delle loro funzioni antitumorali, attualmente si reputano molto importanti le terapie che possono proteggere le cellule immunitarie dai fattori presenti nel microambiente tumorale in grado di indurre down-regolazione o morte. Studi preliminari suggeriscono che le citochine o i vaccini basati sulle DC potrebbero essere in grado di fornire questo effetto protettivo dalla apoptosi alle cellule immuni effettrici. Altre strategie terapeutiche promettenti, attualmente in fase di sviluppo, sono elencate in Tabella VI. Queste nuove strategie terapeutiche si avvantaggiano dei consistenti progressi registrati recentemente nella comprensione delle interazioni fra il tumore ed il sistema immunitario dell'ospite. Ci si attende che, in un tempo relativamente breve, si chiariscano i meccanismi molecolari impiegati dai tumori per evitare, by-passare, o sovvertire il sistema immunitario dell'ospite, rendendo possibile definire strategie terapeutiche più razionali per il tumore.

Tabella VI. Strategie per progettare future terapie antitumorali

Induzione e sostegno dell'attività e della sopravvivenza dei CTL, e di cellule effettrici antitumorali non specifiche
Ottimizzazione delle funzioni di linfociti/DC nel microambiente tumorale
Promozione dell'efficienza delle DC nella presentazione degli epitopi tumorali alle cellule del sistema immunitario in vivo
Prevenzione della immunosoppressione
Inibizione della produzione o dell'attività di fattori soppressivi tumore-derivati
Inibizione della generazione o delle funzioni delle cellule regolatorie CD4 ⁺ CD25 ⁺
Trattamento precoce della malattia o in un ambiente assistito

BIBLIOGRAFIA

- Zhang L, Zhou W, Velculescu VE, Kern SE, Hruban RH, Hamilton SR, et al. Gene expression profiles in normal and cancer cells. *Science* 1997;276:1268-72.
- Kornstein MJ, Brooks JS, Elder DE. Immunoperoxidase localization of lymphocyte subsets in the host responses to melanoma and nevi. *Cancer Res* 1983;43:2749-53.
- Von Kleist S, Berling J, Bohle W, Wittekind C. Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations infiltrating breast carcinomas and benign lesions. *Int J Cancer* 1987;40:18-23.
- Whiteside TL. Tumor infiltrating lymphocytes in human malignancies. Austin, Tex: RG Landes Co; 1993.
- Lee PP, Yee C, Savage PA, Fong L, Brockstedt D, Weber JS, et al. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat Med* 1999;5:677-85.
- Pittet MJ, Speiser DE, Lienard D, Valmore D, Guillaume P, Dutoit V, et al. Expansion and functional maturation of human tumor antigen-specific CD8⁺ T cells after vaccination with antigenic peptide. *Clin Cancer Res* 2001;7:796s-803s.
- Hoffmann TK, Donnenberg AD, Finkelstein SD, Donnenberg VS, Friebe-Hoffmann F, Myers EN, et al. Frequencies of tetramer⁺ T cells specific for the wild-type sequence p53264-272 peptide in the circulations of patients with head and neck cancer. *Cancer Res* 2002;62:3521-9.
- Sahin U, Tureci O, Pfreundschuh M. Serologic identification of human tumor antigens. *Curr Opin Immunol* 1997;9:709-16.
- Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, Parmiani G. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001;50:3-15.
- Matzinger P. An innate sense of danger. *Sem Immunol* 1998;10:399-415.
- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris C. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
- Whiteside TL, Rabinowich H. The role of Fas/FasL in immunosuppression induced by human tumors. *Cancer Immunol Immunother* 1998;46:175-84.
- Fearon DT, Locksley RM. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 1996;272:50-4.
- Seliger B, Cabrera T, Garrido F, Ferrone S. HLA class I antigen abnormalities and immune escape by malignant cells. *Semin Cancer Biol* 2002;12:3-13.
- Irving BA, Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell* 1991;64:891-901.
- Reichert TE, Rabinowich H, Johnson JT, Whiteside TL. Human immune cells in the tumor microenvironment: mechanisms responsible for signalling and functional defects. *J Immunother* 1998;21:295-306.
- Mihm M, Clemente C, Cascinelli N. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node melanoma metastases – a histopathologic prognostic indicator and an expression of local immune response. *Lab Invest* 1996;74:43-7.
- Kersh EN, Shaw AS, Allen PM. Fidelity of T cell activation through multistep T cell receptor ζ phosphorylation. *Science* 1998;281:572-5.
- May MJ, Ghosh S. Signal transduction through NF- κ B. *Immunol Today* 1998;19:80-8.
- Reichert TE, Day E, Wagner EM, Whiteside TL. Absent or low expression of the ζ chain in T cells at the tumor site correlates with poor survival in patients with oral carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:5344-7.
- Ling W, Rayman P, Uzzo RG, Clark P, Kim HJ, Tubbs R, et al. Impaired activation of NF κ B in T cells from a subset of renal cell carcinoma patients is mediated by inhibition of phosphorylation and degradation of the inhibitor, I κ B α . *Blood* 1998;92:1334-41.
- Uzzo RG, Clark PE, Rayman P, Bloom T, Rybicki L, Novick AC, et al. Alterations in NF κ B activation in T lymphocytes of patients with renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:718-21.
- Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, Clark PE, Cathcart MK, Bloom T, et al. Renal cell carcinoma-derived gangliosides suppress NF κ B activation in T cells. *J Clin Invest* 1999;104:769-76.
- Reichert TE, Strauss L, Wagner EM, Gooding W, Whiteside TL. Signaling abnormalities, apoptosis and reduced proliferation of circulating and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8(10):3137-45.
- Whiteside TL, Vujanovic NL, Herberman RB. Natural killer cells and tumor therapy. *Curr Topics Microbiol Immunol* 1998;230:221-44.
- Caligiuri MA, Zmuidzinas A, Manley T, et al. Functional consequences of interleukin 2 receptor expression on resting human lymphocytes. Identification of a novel natural killer cell subset with high affinity receptors. *J Exp Med* 1990;171:1509-13.
- Kelly JM, Darcy PK, Markby JL, Godfrey DI, Takeda K, Yagita H, et al. Induction of tumor-specific T cell memory by NK cell-mediated tumor rejection. *Nat Immunol* 2002;3:83-90.
- Reichert TE, Scheuer C, Day R, Wagner W, Whiteside TL. The number of intratumoral dendritic cells and ζ -chain expression in T cells as prognostic and survival biomarkers in patients with oral carcinoma. *Cancer* 2001;91:2136-47.
- Gabrilovich DI, Chen HL, Girgis KR, Cunningham HT, Meny GM, Nadaf S, et al. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nat Med* 1996;2:1096-103.
- Shurin GV, Shurin MR, Bykovskaja S, Shogun J, Lotze MT, Barksdale EM. Neuroblastoma-derived gangliosides inhibit dendritic cell generation and function. *Cancer Res* 2001;61:363-9.
- Murphy GF, Radu A, Kaminer M, Berg D. Autologous melanoma vaccine induces inflammatory responses in melanoma metastases: relevance to immunologic regression and immunotherapy. *J Invest Dermatol* 1993;100:335S-41S.

32. Al-Sarireh B, Eremin O. Tumour-associated macrophages (TAMS): disordered function, immune suppression and progressive tumour growth. *J R Coll Surg Edinb* 2000;45:1-16.
33. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, et al. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:4625-9.
34. Kiessling R, Kono K, Petersson M, Wasserman K. Immunosuppression in human tumor-host interaction: role of cytokines and alterations in signaltransducing molecules. *Springer Semin Immunopathol* 1996;18:227-42.
35. Hansson M, Asea A, Ericsson U, Hermodsson S, Hellstrand K. Induction of apoptosis in NK cells by monocyte-derived reactive oxygen metabolites. *J Immunol* 1996;156:42-7.
36. Dworacki G, Meidenbauer N, Kuss I, Hoffmann TK, Gooding MS, Lotze M, et al. Decreased ζ chain expression and apoptosis in CD3+ peripheral blood T lymphocytes of patients with melanoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:947s-57s.
37. Finke JH, Rayman P, Tannenbaum GR, et al. Tumor-induced sensitivity to apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma: role of nuclear factor kappa B suppression. *Clin Cancer Res* 2001;7:940s-6s.
38. Whiteside TL. Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences. *Semin Cancer Biol* 2001;12:43-50.
39. O'Connell J, O'Sullivan GD, Collins JK, Shanahan F. The Fas counterattack: Fas-mediated T cell killing by colon cancer cells expressing Fas ligand. *J Exp Med* 1996;184:1075-82.
40. Whiteside TL. Apoptosis of immune cells in the tumor microenvironment and peripheral circulation of patients with cancer: implications for immunotherapy. *Vaccine* 2002; 19;20 Suppl 4:A46-51.
41. Kuss I, Saito T, Johnson JT, et al. Clinical significance of decreased ζ chain expression in peripheral blood lymphocytes of patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:329-34.
42. Hoffmann TK, Dworacki G, Meidenbauer N, et al. Spontaneous apoptosis of circulating T lymphocytes in patients with head and neck cancer and its clinical importance. *Clin Cancer Res* 2002; 8(8):2553-62.
43. Kuss I, Godfrey TE, Donnenberg AD, Whiteside TL. Low levels of T-cell receptor excision circles (TREC) and paucity of naive T cells in the circulation of patients with cancer suggest a rapid lymphocyte turnover within a memory compartment. *Proc AACR* 200
44. Kuss I, Donnenberg AD, Ferris R, Gooding W, Whiteside TL. Effector CD8+CD45RO-CD27- T cells have signaling defects in patients with head and neck cancer. *Br J Cancer* 2002; 27;88(2):223-30.
45. Vujanovic NL, Nagashima S, Herberman RB, Whiteside TL. Non-secretory apoptotic killing by human natural killer cells. *J Immunol* 1996;157:1117-26.
46. Karre K. Express yourself or die: peptides, MHC molecules, and NK cells. *Science* 1995;267:978-9.
47. Yokoyama WM. Natural killer cell receptors. *Curr Opin Immunol* 1998;10:298-305.
48. Smyth MF, Godfrey DI. NKT cells and tumor immunity: a double-edged sword. *Nat Immunol* 2000;1:459-60.
49. Gershon RK. A disquisition on suppressor T cells. *Transpl Rev* 1975;26:170-85.
50. Ermann J, Szanya V, Ford GS, Paragas V, Fathman CG, Lejon K. CD4+CD25+ T cells facilitate the induction of T cell anergy. *J Immunol* 2001;167:4271-5.
51. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, et al. Regulatory CD4+CD25+ T cells in tumors from patients with early-stage non-small lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2001;61:4766-72.
52. Taylor DD, Bender DP, el-Taylor GEI, Stanson J, Whiteside TL. Modulation of TCR/CD3-Zeta chain expression by a circulating factor derived from ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 2001;84:1624-9.
53. Boon T, Coulie PG, Van den Eynde B. Tumor antigens recognized by T cells. *Immunol Today* 1997;18:267-8.
54. Marchand M, van Baren N, Weynants P, Brichard V, Dreno B, Tessier MH, et al. Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1. *Int J Cancer* 1999;80:219-30.
55. Yamshchikov GV, Barnd DL, Eastham S, Galavotti H, Patterson JW, Deacon DH. Evaluation of peptide vaccine immunogenicity in draining lymph nodes and peripheral blood of melanoma patients. *Int J Cancer* 2001;92:703-11.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

La risposta immunitaria contro i tumori rappresenta uno dei capitoli dell'immunologia nel quale ancora oggi, nonostante i numerosissimi avanzamenti, vi sono una serie di problematiche irrisolte. Innanzitutto, un punto centrale è comprendere se i tumori siano realmente immunogenici nei confronti del sistema immunitario. Una serie di evidenze farebbero propendere per una certa immunogenicità dei tumori. Tale aspetto, però, è messo seriamente in discussione dal fatto che in ogni caso i meccanismi che sottintendono alla tolleranza tumorale sono gli stessi che permettono la normale tolleranza verso il *self* presente nell'organismo sano. Questo perché, nonostante i tumori iper-esprimano una serie di proteine *self* e presentino una serie di mutazioni potenzialmente riconoscibili come *non-self*, in realtà non sono sufficientemente immunogenici e capaci di indurre una risposta tale da determinare l'eradicazione del tumore stesso. Pertanto qualsiasi tentativo di risposta anti-tumorale è bloccato dai fisiologici meccanismi di tolleranza verso il *self*. Tra i meccanismi di tolleranza più importanti è fondamentale annoverare la presenza di cellule dette "soppressorie" che sono in grado di bloccare la risposta anti-tumorale. Negli ultimi anni si è assistito ad una "rinascita" di tali cellule in quanto vi è stato un fiorire di studi sulla genesi di cellule T soppressorie o regolatorie (Tregs) in corso di crescita tumorale, esprimenti i *markers* CD4, CD25 e Foxp3. La crescita tumorale sembra in grado di indurre la genesi di tali popolazioni cellulari, capaci a loro volta di bloccare la risposta anti-tumorale. Interventi immunoterapeutici in sistemi murini, volti a ridurre la genesi di tali cellule, sembrano essere in grado di "ridestare" una risposta anti-tumore capace di determinarne il rigetto. In questo contesto sono ancora particolarmente attuali gli studi effettuati oltre venti anni fa dal gruppo di North e collaboratori, in cui si evidenziava come la risposta tumore-specifica, denominata "immunità concomitante", fosse bloccata da cellule T CD4 che si generavano in corso di crescita tumorale. Tali cellule si generavano con una cinetica tempo-dipendente e avevano un picco dopo circa 10-12 giorni di crescita tumorale. Interventi immunoterapeutici (per esempio trattamento con citochine infiammatorie come TNF-alfa e interleuchina-2) volti a promuovere la risposta immunitaria anti-tumorale, dopo l'instaurarsi di tali stipiti cellulari soppressori, non erano in grado di indurre rigetto del tumore; al contrario, interventi terapeutici effettuati subito prima dell'instaurarsi della soppressione (al giorno 9-10 di crescita) erano efficaci nel determinare rigetto del tumore. Questo perché la soppressione non si era ancora instaurata ed era ancora possibile promuovere una risposta anti-tumorale efficace con gli immunostimolanti utilizzati. Da questi studi si comprende che esiste una "finestra terapeutica" nella quale si può agire con interventi immunoterapeutici anti-tumore; quando tale finestra terapeutica è stata superata e il tumore si è stabilizzato, è particolarmente difficile sovvertire lo stato di tolleranza indotto dalle cellule T soppressorie. Questo accade perché tale fenomeno di soppressione è il frutto della normale tolleranza immunologica verso il *self*. Da qui il fallimento della maggior parte degli studi e dei trials volti a promuovere la risposta anti-tumorale con vaccini o immunostimolanti. Ogni approccio terapeutico immunologico anti-tumore dovrebbe tener conto di tali aspetti e quindi piuttosto che cercare di promuovere l'immunità contro il tumore con immunostimolanti, bisognerebbe prima bloccare la soppressione con immunosoppressori specifici per cellule T soppressorie, e successivamente, ridestare le cellule T della memoria effettrici anti-tumore. Soltanto ulteriori rigorosi approfondimenti sperimentali che tengano conto di tali concetti - apparentemente antichi ma particolarmente attuali - potranno portare ad una reale valutazione dell'efficacia dell'immunoterapia anti-tumorale nell'uomo.

Riferimenti bibliografici

The murine antitumor immune response and its therapeutic manipulation

North RJ

Adv Immunol. 1984;35:89-155

T cell suppressors of antitumor immunity. The production of Ly-1-,2+ suppressors of delayed sensitivity precedes the production of suppressors of protective immunity

DiGiacomo A, North RJ

J Exp Med. 1986 Oct 1;164(4):1179-92

IL-2: a review of current knowledge

Oldham RK, Maleckar JR, Yannelli JR, West WH

Cancer Treat Rev. 1989 Jun;16 Suppl A:5-13

Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes?

Yu P, Fu YX

Lab Invest. 2006 Mar;86(3):231-45

Immune based therapies in cancer

Krüger C, Greten TF, Korangy F

Histol Histopathol. 2007 Jun;22(6):687-96

Regulatory-T-cell inhibition versus depletion: the right choice in cancer immunotherapy

Colombo MP, Piconese S

Nat Rev Cancer. 2007 Nov;7(11):880-7

Clinical applications of natural killer T cell-based immunotherapy for cancer

Motohashi S, Nakayama T

Cancer Sci 2008; 99(4):638-45

Tumor-induced senescent T cells with suppressor function : a potential form of tumour immune evasion

Montes CL, Chapoval AL, Nelson J, Ozhue V, Zhang X, et al

Cancer Res 2008; 68(3):870-9

Inefficient presentation of tumor-derived antigen by tumor-infiltrating dendritic cells

Stoizner P, Green LK, Jung JY, Price KM, Atarea H, et al

Cancer Immunol Immunother 2008; 57(11):1665-73

Immune escape as a fundamental trait of cancer: focus on IDO

Prendergats GC

Oncogene 2008; 27(28):3889-900

23. Valutazione clinica e di laboratorio dell'ipersensibilità IgE mediata

Questo capitolo passa in rassegna le indagini cliniche e di laboratorio che sono di aiuto nella diagnosi e nella gestione terapeutica delle malattie allergiche (IgE mediate). L'algoritmo diagnostico delle affezioni riconducibili ad ipersensibilità di tipo immediato comincia con un'anamnesi ed un esame obiettivo accurati. Una volta che siano stati identificati segni e sintomi compatibili con un disturbo di tipo allergico, la ricerca, con un test cutaneo e/o sierologico, delle IgE specifiche per allergeni, può servire come conferma di primo livello per rafforzare l'ipotesi diagnostica. I test cutanei (prick o intradermo test) determinano una risposta biologica correlata all'ipersensibilità di tipo immediata, documentata dalla comparsa di una reazione pomfoide ed eritematosa entro 15 minuti dall'applicazione dell'allergene. Un eventuale sanguinamento, l'esistenza di dermatografismo e l'assunzione di antistaminici possono alterare la qualità del test cutaneo. Gli anticorpi di classe IgE specifici per l'allergene possono essere rilevati nel siero mediante un test di radioallergoassorbimento (RAST: Radio Allergo Sorbent Test). Sono stati successivamente sviluppati metodi di analisi di "seconda generazione" simili al RAST, ma nei quali non si impiegano isotopi radioattivi, con l'intento di fornire risultati più sensibili, accurati e quantitativamente corretti nella determinazione delle IgE nel siero. I test di provocazione *in vivo* possono avere un ruolo come indagine di secondo livello, quando la storia clinica sia discordante dai risultati ottenuti con le indagini di primo livello. Lo "screening multiallergenico" è una indagine su siero che fornisce un risultato esclusivamente qualitativo, relativo alla presenza nel siero di IgE specifiche verso un gruppo di circa 15 allergeni, che risultano coinvolti nella grande maggioranza delle allergie respiratorie o alimentari. Altre indagini sierologiche effettuabili nel laboratorio di allergologia, comprendono i dosaggi di IgE totali, IgG specifiche per il veleno degli imenotteri, IgG ad azione precipitante (precipitine) nei confronti di polveri organiche, la determinazione della triptasi di origine mastocitaria, e il test di RAST inibizione con il veleno di imenotteri. Risultati di test *in vitro* o *in vivo* che non correlino con la storia clinica dovrebbero essere valutati con cautela e ripetuti come raccomandato per ogni altro tipo di esame di laboratorio.

La diagnosi e la gestione terapeutica delle malattie allergiche (da ipersensibilità immediata o di Tipo 1) cominciano con la raccolta dell'anamnesi e con l'esame obiet-

Abbreviazioni utilizzate:

- BHR: Basophil histamine release/Rilascio di istamina dai basofili
- CLIA-88: Federal Clinical Laboratory Improvement Act of 1988
- DBPCFC: Double-blind, placebo-controlled food challenge/test di provocazione con alimento in doppio cieco, controllato con placebo
- HP: Hypersensitivity pneumonitis/Polmonite da ipersensibilità
- ID: Intradermal /Test intradermico
- IgE: Immunoglobuline E
- PWV: Polistes wasp venom/Veleno di *Polistes* sp.
- RAST: Radioallergosorbent test/Test radioimmunologico per immunoglobuline IgE allergene-specifiche
- WHO: World Health Organisation/OMS, Organizzazione Mondiale della Sanità
- YJV: Yellow Jacket Venom/Veleno di *Vespula* sp.

tivo. I sintomi che suggeriscono la diagnosi di asma, rinite allergica e sinusite, asma e/o altra allergia di tipo professionale, allergia alimentare, allergia da farmaci, o dermatite allergica sono trattati in maniera approfondita nei Capitoli da 6 a 11. Quando il clinico abbia concluso che vi sia un fondato sospetto che il paziente soffra di una specifica malattia allergica, è possibile eseguire la ricerca delle immunoglobuline E, con esami *in vivo* (test cutanei e di provocazione d'organo) e con indagini sierologiche di laboratorio, per confermare il sospetto diagnostico. È fondamentale che i risultati delle indagini diagnostiche non siano valutati singolarmente ma, nel contesto della storia clinica e dell'esame obiettivo del paziente. Dopo la formulazione della diagnosi, è possibile adottare provvedimenti di tipo preventivo (allontanamento dall'allergene) e terapeutico, che prevedono l'uso di farmaci e dell'immunoterapia specifica. Anche in questa fase, la gestione del paziente allergico può avvalersi di differenti indagini di laboratorio. Questo capitolo esamina le indagini cliniche e di laboratorio che sono di supporto sia nella diagnosi che nella gestione dei soggetti affetti da malattie allergiche.

GLI ANTICORPI IgE

Le IgE furono identificate nel 1967 come "reagine", ovvero componenti del siero capaci di mediare la reazione cutanea di tipo immediato associata allo sviluppo di

Traduzione italiana del testo di:
Robert G. Hamilton e N. Franklin Adkinson Jr
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S687-701

Tab. I. Proprietà biologiche e chimiche delle IgG e IgE umane

Proprietà	IgE	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Classe della catena H	?	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$
Peso molecolare della catena H	70.000	50.000	50.000	60.000	50.000
Media % di carboidrati- catena H	18	3-4	3-4	3-4	3-4
Numero di oligosaccaridi-catena H	5	1	1	1	1
Tipo di catena leggera	κ and λ	κ and λ	κ and λ	κ and λ	κ and λ
Rapporto medio delle catene k/ λ		2,4	1,1	1,4	8,0
Peso molecolare delle forme secrete	190.000	150.000	150.000	160.000	150.000
Numero domini-catena H	5	4	4	4	4
Cerniera (aminoacidi)	none	15	12	62	12
Ponti disolfuro intercatena, per monomero	ND	2	4	11	2
pI range medio (DS)	ND	8,6 (0,4)	7,4 (0,6)	8,3 (0,7)	7,2 (0,8)
Parte della coda	No	No	No	No	No
Allotipo	Em1	G1m: a(1),x(2), f(3), z(17)	G2m: n(23)	G3m: b1(5), c3(6), G4m, Gm4a(i), b5(10), b0(11), b3(13), Gm4b(i) b4(14) s(15), t(16), g1(21)c5(24), u(26), v(27), g5(28)	
Distribuzione: % intravascolare	50	45	45	45	45
Emivita biologica (giorni)	1-5	21-24	21-24	7-8	21-24
Tasso catabolico frazionario (% del pool intravascolare catabolizzato, al giorno)	71	7	7	17	7
Tasso di sintesi (mg/kg/giorno)	0,002	33	33	33	33
% Ig totali sieriche (siero adulti)	0,004	45-53	11-15	0,03-0,06	0,015-0,045
Range approssimativo nell'adulto: età 16-60 nel siero G/L	0-0,0001 nonatopici	5-12	2-6	0,5-1	0,2-1
Valenza funzionale	2	2	2	2	1-2
Passaggio transplacentare	0	++	+	++	++
Legame a cellule fagocitiche		++	+	++	$\pm$
Legame a basofili e mastociti	+++	?	?	?	?
Attivazione della via classica del complemento	0 + Via alternativa	++	+	+++	0

H, catena pesante; ND, non disponibile; ϵ , $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$, catene pesanti delle Ig; κ , λ , catena leggera delle Ig; Em1, G1m, etc, alloantigeni su differenti immunoglobuline (allotipi). Modificata dalla Tabella I e II de: Hamilton RG. Human immunoglobulins. In: Leffell MS, Rose N, editors. Handbook of human immunology, Chapter 2. Boca Raton (FL): CRC Press; 1998.

pomfo ed eritema.^{1,2} La IgE umana è un'immunoglobulina con un p.m. di circa 190.000 Da, presente nel circolo sanguigno in forma monomerica (Tabella I). La sua concentrazione nel siero è strettamente correlata all'età e costituisce circa lo 0,0005% del totale delle immunoglobuline presenti nel siero di un adulto. La concentrazione totale delle IgE nel siero è abitualmente espressa in kilounità internazionali per litro (kIU/L), calcolate sulla base dello standard IgE 75/502 dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (World Health Organization: WHO). La conversione della concentrazione sierica delle IgE a microgrammi per litro è ottenibile moltiplicando il valore in kIU/L per 2,4 (1 kIU/L = 2,4 mg/L). Livelli di riferimento delle IgE, ottenute da dosaggi effettuati su siero di adulti e di bambini non atopici, sono riportate nella Tabella II. La concentrazione sierica delle IgE nel sangue del cordone ombelicale è bassa (<2kIU/L), poiché le IgE non attraversano la barriera placentare in quantità significative. I livelli medi delle IgE nel siero aumentano, nei bambini sani, fino all'età di 10-15 anni e diminuiscono, in seguito, tra la seconda l'ottava decade di vita. In considerazione dell'ampia sovrapposizione dei livelli di IgE totali tra soggetti atopici e non atopici, è possibile che

individui con livelli di IgE totali sovrapponibili a quelli dei soggetti non atopici, producano anticorpi IgE specifici verso uno dato allergene e siano comunque affetti da una malattia allergica.

Dopo i 14 anni di età, un livello sierico di IgE totali >333 kIU/L è considerato elevato e fortemente associato alla presenza di malattie atopiche quali la rinite allergica, l'asma estrinseca (allergica), e la dermatite atopica.^{3,4} In uno studio, è stato osservato che circa il 90% dei soggetti affetti da dermatite atopica, presentava valori medi di IgE sieriche di 978 kIU/L (range da 1,3 a 65.208 kIU/L). Il riscontro di valori di IgE >2000 kIU/L in pazienti con infezioni ricorrenti delle basse vie respiratorie e della cute, eczema cronico severo ed eosinofilia è diagnostico per la sindrome da iper-IgE (sindrome di Giobbe).⁵ Purtroppo, poiché in alcuni pazienti con questa sindrome i valori delle IgE sono molto fluttuanti, essi non sempre correlano con l'attività della malattia né con l'eosinofilia. Le IgE sono prodotte dall'interazione di numerosi tipi di cellule come risposta ad antigeni ambientali che penetrano nell'organismo per via inalatoria o cutanea o in seguito ad un'esposizione parenterale. L'antigene, dopo che è stato internalizzato dalle cellule che presenta-

Tab. II. Valori di riferimento delle IgE umane nel siero di soggetti non atopici

Totale No	Sesso	Range età	IgE totali umane (media geometrica kIU/L)	IgE totali umane kIU/L (limite più elevato di confidenza al 95%)	Autore/riferimento
26	M (15), F (11)	Sangue del cordone	0,22	1,28	Kjellman
21	M (7), F (14)	6 settimane	0,69	6,12	Bambini Scandinavi*
20	M (14), F (6)	3 mesi	0,82	3,76	
20	M (10), F (10)	6 mesi	2,68	16,3	
20	M (14), F (6)	9 mesi	2,36	7,3	
18	M (14), F (4)	1 anno	3,49	15,2	
20	M (13), F (7)	2 anni	3,03	29,5	
11	M (6), F (5)	3 anni	1,80	16,9	
9	M (6), F (3)	4 anni	8,58	68,9	
19	M (10), F (9)	7 anni	12,9	161	
20	M (11), F (9)	10 anni	23,7	570	
22	M (15), F (7)	14 anni	20,1	195	
175	Non specificato	17-85 anni	13,2	114	Zetterstrom‡
72	M	6-14 anni	42,7	527	Adulti Svedesi
73	F	6-14 anni	43,3	344	Barbee3
109	M	15-24 anni	33,6	447	Adulti bianchi negli
121	F	15-24 anni	18,6†	262	Stati Uniti
108	M	25-34 anni	16,8	275	
89	F	25-34 anni	16,6	216	
62	M	35-44 anni	21,7	242	
67	F	35-44 anni	19,3	206	
88	M	45-54 anni	19,2	254	
97	F	45-54 anni	13,3	177	
105	M	55-64 anni	21,3	354	
172	F	55-64 anni	11,7†	148	
145	M	65-74 anni	21,2	248	
199	F	65-74 anni	11,5†	122	
69	M	75+ anni	18,4	219	
87	F	75+ anni	9,2†	124	
758	tutti M	6-75 anni	22,9	317	
905	tutte F	6-75 anni	14,7†	189	

Tutti i livelli totali di IgE del siero segnalati in questa tabella sono stati misurati con il radioimmunosorbent test non competitivo su disco di carta (Pharmacia).

*Kjellman NIM, Johansson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST). Clin Allergy 1976;6:51-9. Studio effettuato con i sieri di bambini senza storia di di malattie atopiche o con parenti di primo-grado atopici; 53 bambini furono seguiti per 18 mesi, 24 svilupparono IgE allergene-specifiche e furono esclusi dall'analisi

†La media sierica per le donne è significativamente più bassa di quella degli uomini.

‡Zetterstrom O, Johansson SGO. IgE concentrations measured by PRIST in serum of healthy adults and in patients with respiratory allergy. Allergy 1981;36:51-9. Tutti i soggetti studiati negavano i sintomi di malattia allergica; i soggetti con uno o più RAST positivi per 7 allergeni comuni furono esclusi.

§ I Soggetti bianchi esaminati provenivano da Tucson, Arizona, e presentavano Skin Prick test negativi per dermatophagoides, mix di muffe, cynodon dactylon, mix di alberi, mix di erbacce

no l'antigene, è elaborato e presentato ai linfociti T helper. Successivamente, questi linfociti T secernono numerose citochine che inducono i linfociti B a proliferare e a produrre, in alcuni casi, anticorpi IgE allergene-specifici (vedi Capitoli 2 e 3). Le IgE si legano ai recettori Fcε presenti su numerose cellule, e in modo particolare a quelli presenti sui mastociti tessutali e sui basofili circolanti, e creano nell'individuo uno stato di "sensibilizzazione". La successiva esposizione all'allergene causa il legame a ponte delle IgE presenti sulla superficie dei mastociti, che determina, a sua volta, un aumento del calcio intracellulare ed il rilascio di mediatori, sia preformati (per es. istamina, proteasi) sia sintetizzati *de novo* da precursori lipidici (per es. leucotrieni e prostaglandine). Questi mediatori inducono modificazioni fisiologiche e

anatomiche che sono poi riferite come sintomi allergici. Gli anticorpi IgE allergene-specifici avviano le reazioni di ipersensibilità di tipo immediato; perciò i metodi idonei al loro dosaggio costituiscono l'argomento di principale interesse di questo capitolo.

GLI ALLERGENI

Gli allergeni sono glicoproteine, lipoproteine o proteine, coniugate con apteni chimici o farmacologici, che sono estratti da fonti ben definite e, in genere, di natura biologica. Le proteine allergeniche, se introdotte in un ospite immunocompetente e geneticamente predisposto, inducono la formazione di anticorpi IgE. L'insieme di tutti gli

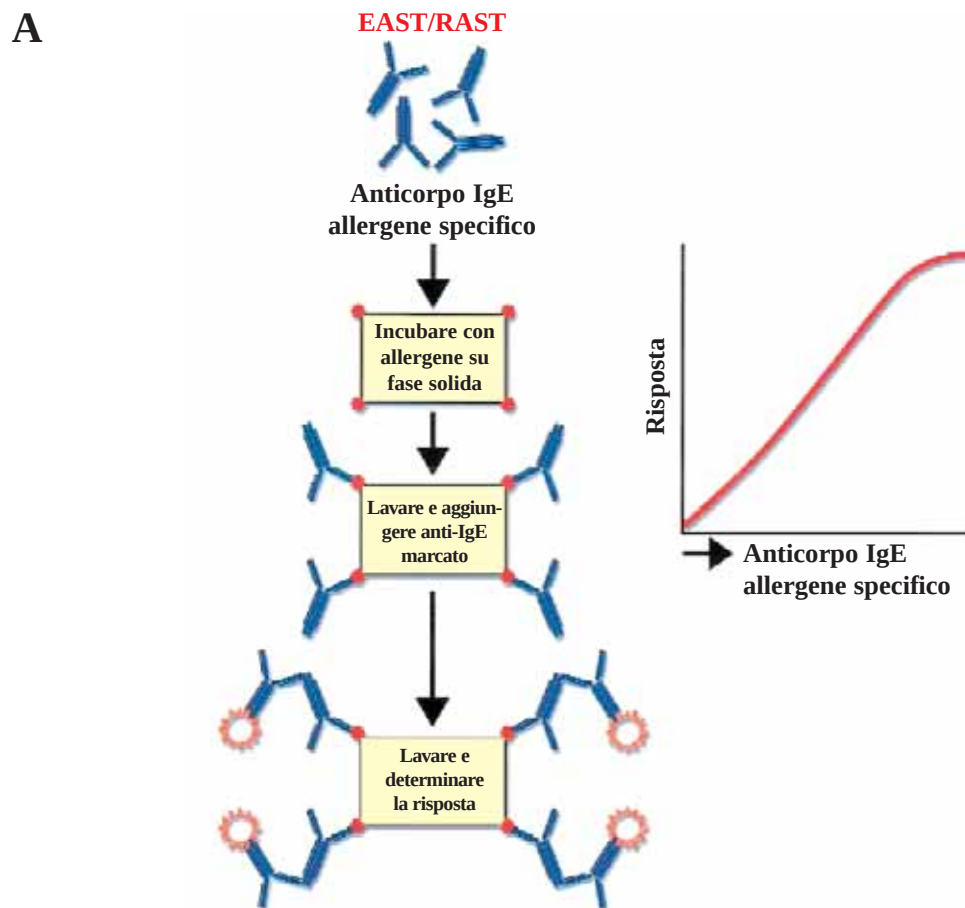


FIG 1. A, Sintesi delle fasi implicate nella esecuzione del test dell'allergosorbente. Al fine di mettere in evidenza gli anticorpi IgE, un siero con differenti isotipi (IgE, IgG, IgA) di anticorpi specifici per l'allergene viene cimentato con una quantità ottimale dell'allergene stesso (cerchi pieni), adeso ad una fase solida. Dopo la rimozione, mediante lavaggio con soluzione tamponata, degli anticorpi non legati dall'allergene, le IgE legate si evidenziano per mezzo di un anticorpo specifico per le IgE umane marcato o con ^{125}I (RAST) o con un enzima (EAST). La risposta (conteggio dei colpi per minuto [CPM] legati all'allergosorbente o calcolo della sua densità ottica residua) viene registrata dopo un ultimo lavaggio con soluzione tamponata ed è proporzionale alla quota di IgE specifiche per l'allergene presente nel campione. Sono simultaneamente analizzate diluizioni multiple sia di un siero di riferimento sia dei sieri in esame, e le loro rispettive curve di dose-risposta si valutano in parallelo.

epitopi allergenici presenti in una singola proteina produce una risposta biologica definita e misurabile negli individui allergici. Oltre 200 allergeni di rilevanza clinica sono stati identificati in un variegato insieme di fonti che comprendono: erbe infestanti, graminacee, alberi, forfore animali, acari della polvere domestica, parassiti, veleni degli imenotteri, agenti occupazionali, farmaci ed alimenti. Le singole proteine allergeniche possono essere identificate con l'uso combinato di un siero contenente gli anticorpi IgE e di vari tipi di test immunochimici che separano le proteine in base alla loro carica elettrica (focusing isoelettrico), dimensione (analisi di Western blot), e abilità di legare gli anticorpi IgE (test immunologico d'inibizione competitiva, fig. 1, B). Un compendio degli allergeni conosciuti e importanti in clinica, che include nomi scientifici, componenti purificati identificati come allergeni maggiori e codici diagnostici, è riportato in un'altra pubblicazione.⁶

Nell'ultimo decennio, molti importanti allergeni, derivati da acari della polvere, pollini, forfore animali, insetti (per es. scarafaggio), muffe ed alimenti sono stati clonati, sequenziati, con la successiva espressione delle relative proteine ricombinanti.^{7,8} Ciò ha innescato un acceso dibattito, in merito alla capacità degli allergeni nativi di possedere proprietà specifiche ed uniche, rispetto alle loro controparti ricombinanti e alla possibilità di sostituire, nei reagenti utilizzati per i test cutanei e su siero, gli estratti di allergeni con miscele di allergeni ricombinanti purificati. Gli estratti allergenici ricavati da sorgenti naturali sono notoriamente eterogenei e contengono, spesso, anche molte proteine non allergeniche. Inoltre, differenti lotti di estratti naturali (da una stessa fonte) variano nel loro contenuto di allergeni e possono essere anche contaminati da allergeni provenienti da fonti diverse. Gli allergeni ricombinanti purificati sono interessanti poi-

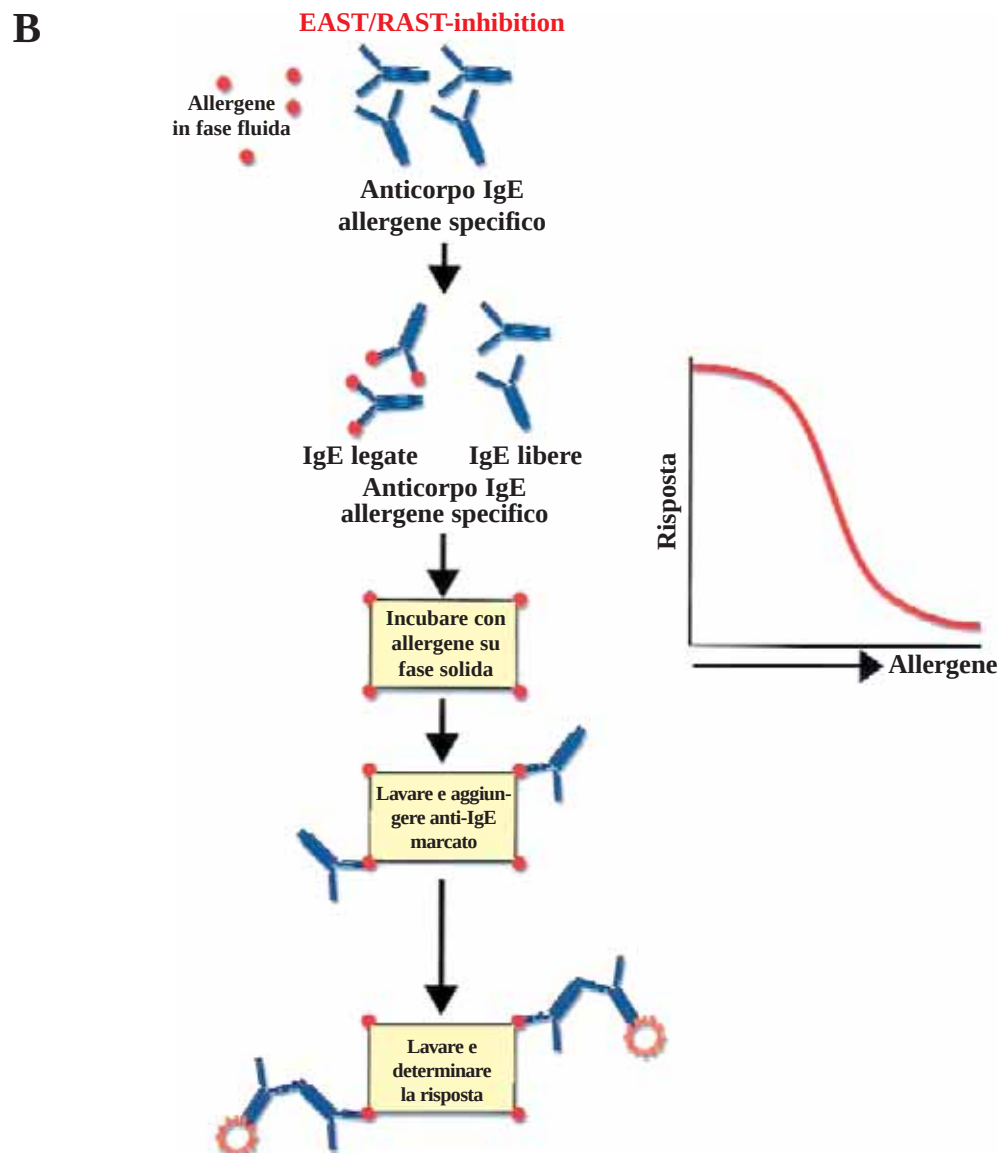


FIG 1. B, Per valutare la potenza dell'allergene, si usa il test della EAST/RAST inibizione. In questa indagine, prima dell'aggiunta dell'allergosorbente, quantità crescenti di allergene solubile vengono aggiunte ad una quota costante di siero contenente anticorpi IgE specifici per l'allergene in esame.

Quanto maggiore è la potenza di legame dell'allergene allo stato fluido, tanto minore è la quantità di IgE libere disponibile a legarsi con l'allergosorbente. Pertanto, vi è una quantità proporzionalmente ridotta di anticorpo anti-IgE marcato che si lega all'allergosorbente e una conseguente riduzione del segnale di risposta. Tutto ciò produce una curva di dose-risposta di tipo negativo.

ché la possibilità di poterne disporre in forma pura semplifica la preparazione dei reagenti e favorisce riproducibilità e standardizzazione dei test nei quali essi sono utilizzati.

È noto, comunque, che i soggetti allergici rispondono in maniera differente a combinazioni di isoallergeni che sono essenzialmente identici eccetto che per minime variazioni presenti nella loro composizione aminoacidica primaria o nelle loro catene laterali. Pertanto, un singolo allergene ricombinante, che non presenta tutte le isoforme dell'allergene, potrebbe essere incapace di individuare tutte le IgE allergene-specifiche clinicamente rilevanti.

L'attesa di usare gli allergeni purificati ricombinanti

come diagnostici è enorme. Attualmente, tuttavia, gli estratti di allergeni da fonti naturali sono gli unici usati nella pratica clinica. Per questa ragione c'è da aspettarsi che i vari allergeni disponibili sul mercato, costituiti da estratti da singole e specifiche fonti, possano presentare, per la loro diversa origine produttiva, differenze riguardanti il contenuto proteico, la potenza allergenica e la immunoreattività. Da quanto esposto si ricava la seguente regola generale per la diagnostica allergologica: ogni reagente allergenico è in grado di rilevare una popolazione leggermente diversa di anticorpi IgE e, pertanto, nelle indagini cutanee e sierologiche non è possibile sovrapporre i risultati ottenuti con reagenti di case produttrici differenti.⁶

Tab. III. Il valore predittivo delle prove diagnostiche è applicato alle popolazioni non allergiche ed allergiche

	Test positivo per IgE allergene specifiche	Test negativo per IgE allergene specifiche	Totale
Storia clinica positive per patologia allergica	VP	FN	VP + FN
Storia clinica negative per patologia allergica	FP	VN	FP + VN
Totale	VP + FP	FN + VN	VP+FP+VN+FN

Numero di pazienti con: *VP* (vero positivo), patologia allergica correttamente identificata dal test positivo per IgE; *FP* (falso positivo), assenza di patologia allergica erroneamente classificata dal test positivo per IgE ; *FN* (falso negativo), presenza di patologia allergica, erroneamente non identificata dal test negativo per IgE; *VN*, (vero negativo), assenza di patologia allergica, correttamente identificata dal test negativo per IgE.

Per un test di ricerca delle IgE: sensibilità diagnostica, percentuale di positività alla ricerca di IgE in pazienti con patologia allergica = $VP/[VP+FN] \times 100$; specificità diagnostica, percentuale di negatività alla ricerca di IgE in pazienti che non hanno nessuna patologia allergica = $VN/[VN+FP] \times 100$; valore predittivo positivo, percentuale di pazienti positivi alla ricerca di IgE

che hanno patologia allergica = $VP/[VP+FP] \times 100$; valore predittivo negativo, percentuale di pazienti negativi alla ricerca di IgE che non hanno nessuna patologia allergica = $TN/[TN+FN] \times 100$; accuratezza, percentuale di pazienti correttamente classificati come aventi o non aventi patologia allergica = $[VP+VN]/[VP+FP+FN+VN] \times 100$.

Modificata dalla tabella 2C-3 in Galen RS, Peters T Jr. Analytical goals and clinical relevance of laboratory procedures. In: Textbook of clinical chemistry, Chapter 2C. Tietz NW, editor. Philadelphia: WB Saunders Co; 1986. p. 395-7.

L'ALGORITMO DIAGNOSTICO PER LE MALATTIE ALLERGICHE

La diagnosi di una malattia allergica si fonda sulla raccolta di una storia clinica accurata e su un esame obiettivo completo.⁹ I segni e i sintomi associati alle varie malattie allergiche sono discussi in maniera estesa nei Capitoli da 6 ad 11. Una volta che la storia clinica sia stata raccolta, è possibile eseguire test di conferma di primo livello per evidenziare le IgE allergene-specifiche su cute o siero. Nell'ambito dei soggetti con una storia clinica compatibile con malattia allergica, un sottogruppo presenterà un'indagine positiva per le IgE. I risultati positivi di questi esami per la ricerca di IgE allergene-specifiche sono da considerare come dei veri positivi (Tabella III). Teoricamente, i pazienti con una storia positiva per allergia dovrebbero avere, tutti, un risultato positivo per la ricerca di IgE allergene-specifiche, mentre, i soggetti con storia negativa dovrebbero avere, tutti, un risultato negativo. Nella realtà, alcuni soggetti, sicuramente allergici, avranno un risultato negativo nella ricerca di IgE, cioè un falso negativo, mentre altri soggetti sicuramente non allergici, avranno un risultato positivo nella ricerca di IgE, cioè un falso positivo. Questi dati derivano dall'assunto che la storia clinica sia il parametro di riferimento, che indica il vero stato allergico dell'individuo. Tuttavia, poiché la storia clinica non è in grado di evidenziare in tutti i casi la causa o la stessa presenza di una malattia allergica, è spesso necessario eseguire una indagine di conferma, per verificare che lo "stato di allergia", così come accertato dalla storia, sia corretto.

I test di provocazione *in vivo* sono da considerare esami di conferma di secondo livello e il loro impiego è indicato quando sia necessario stabilire la corretta relazione fra storia clinica e risultati della ricerca di IgE allergene-specifiche, tra loro discordanti.¹⁰ In generale, la riproducibilità dei test di provocazione è inferiore rispetto alle indagini cutanee o sierologiche; inoltre, essi comportano un certo rischio per il paziente a causa della reazione indot-

ta dall'esposizione diretta all'allergene. Poiché i parametri finali di valutazione dei test di provocazione sono spesso soggettivi, anche la loro interpretazione risulta più complessa per le possibili alterazioni indotte dal pregiudizio dell'osservatore e/o del paziente. In alcuni casi, come ad esempio nell'allergia alimentare, la provocazione *in vivo*, in doppio cieco con l'alimento, controllata con placebo (DBPCFC: double-blind, placebo-controlled food challenge), è diventata il parametro principale di riferimento per diagnosticare la condizione di ipersensibilità di Tipo1 (IgE mediata) all'alimento. Il test di provocazione *in vivo* che risulta più appropriato per lo studio diagnostico del paziente, dipende, in ultima analisi, dalla natura stessa del processo patologico sotto indagine.

In alcuni pazienti, è possibile evidenziare, su cute o siero, IgE allergene-specifiche che non inducono alcun sintomo, quando questi pazienti sono esposti agli allergeni in questione. Un esempio di questa situazione è riportato in una recente pubblicazione, in cui alcuni appartenenti al personale sanitario, cutipositivi verso l'estratto di lattice utilizzato per il test (Greer Laboratories, Lenoir, SC) e/o con IgE specifiche per il lattice presenti nel siero, non hanno sviluppato alcun sintomo allergico in seguito all'utilizzo di guanti di lattice con talco (il tipo di guanto di lattice più allergizzante). Nei paragrafi successivi saranno esaminati i motivi tecnici che possono determinare risultati falsamente positivi o negativi durante l'esecuzione delle indagini utilizzate per evidenziare le IgE, e i relativi vantaggi e limiti di ciascuna di esse.

LE INDAGINI DIAGNOSTICHE CUTANEE

Le indagini cutanee sono solitamente le prime ad essere eseguite, per la diagnosi delle malattie allergiche. L'applicazione dell'estratto allergenico può essere realizzata mediante puntura superficiale dell'epidermide o iniezione intradermica (ID).¹²

L'indagine cutanea per puntura (Skin Prick Test: SPT)

Nello SPT una goccia dell'estratto di allergene, di solito in soluzione salina glicerinata, è posta sulla superficie della cute. L'allergene è introdotto nell'epidermide mediante puntura attraverso la goccia con un ago a punta singola, duplice o a punta multipla.^{12,13} Dopo avere eseguito la puntura, l'eccesso di allergene è rimosso con una garza o carta assorbente. La reazione di tipo immediato (pomfo ed eritema) è letta 15-20 minuti dopo la puntura, quando essa raggiunge il massimo diametro. Le gocce dei vari estratti di allergene vanno disposte sulla cute in maniera sufficientemente distanziata, per evitare la possibile sovrapposizione degli eritemi di due punture contigue. Il sanguinamento può indurre un risultato falsamente positivo per effetto irritante aspecifico. Il dermografismo può determinare risultati falsi positivi multipli e di conseguenza invalidare del tutto l'indagine cutanea. Risultati falsamente negativi possono essere determinati dalla precedente assunzione di anti-istaminici, dalla scarsa o nulla potenza dell'estratto usato o dall'uso di una tecnica di puntura non corretta. Un controllo positivo con istamina (1,8/10 mg/mL) e un controllo negativo con soluzione salina deve essere applicato in parallelo agli estratti allergenici, in modo da evidenziare eventuali fattori confondenti il risultato, associati all'uso precedente di anti-istaminici (controllo con istamina) o al dermografismo (controllo con soluzione salina).

Molteplici fattori contribuiscono alla variabilità del risultato delle indagini cutanee. Fra essi sono importanti la risposta biologica personale del soggetto in esame, la perizia di chi esegue il test, la tecnica generale di esecuzione della puntura (tipi diversi di ago), i caratteri generali dei reagenti utilizzati (stabilità, diluente utilizzato [per es. glicerolo al 50%], concentrazione dell'allergene, purezza), e la metodica utilizzata per delimitare, misurare e riportare la reazione cutanea. In uno studio è stato dimostrato che la contaminazione con allergeni di acaro, di un estratto di forfora di cane, era la causa di false positività per la forfora di cane in soggetti esclusivamente sensibilizzati agli acari della polvere.¹⁴ Un altro gruppo ha studiato l'importanza del volume inoculato nel determinare variazioni dei risultati dello skin prick test. Antico e coll.¹⁵ hanno praticato 16 punture sulla faccia volare dell'avambraccio (8 su ciascun braccio) di 15 soggetti sani (9 uomini, 6 donne, età media 64 ± 4 anni) con una soluzione glicerosalina contenente Tc99m e un ago in polimero acrilico e con una punta a forma piramidale di 1mm (ago di Morrow Brown). Utilizzando una g-camera, questi ricercatori hanno misurato che il volume medio inoculato era di 0,016-mL (range da 0,42 a 82,25 nanolitri). L'analisi statistica ha dimostrato che l'elevata variabilità dipendeva principalmente dalle caratteristiche della cute dei soggetti. La perizia e la tecnica dell'esecutore, così come le differenze degli estratti, erano un fattore di variabilità meno importante. Le conclusioni di questo studio sono state che la variabilità dei risultati ottenuti con i test cutanei può essere solo in parte ridotta dalla standardizzazione delle tecniche d'esecuzione e degli estratti diagnostici utilizzati.

L'indagine cutanea mediante iniezione intradermica

In alternativa al test cutaneo per puntura, l'allergene (da 0,01 a 0,05 mL) può essere somministrato per via intradermica mediante un ago di calibro 26-27g. Un'iniezione di 0,02 mL produce un pomfo iniziale (pomfo meccanico) di 2-3 mm di diametro, mentre il risultato del test va letto dopo 15-20 minuti, quando il pomfo e l'eritema raggiungono le loro massime dimensioni. In letteratura sono descritti numerosi e differenti schemi arbitrari per la valutazione del risultato di questo test, nei quali si paragona il diametro del pomfo e dell'eritema, indotto dall'estratto diagnostico, con quello indotto dalla soluzione salina.¹² Nel tentativo di uniformare i risultati sono in genere registrati i diametri medi (in mm) del pomfo e dell'eritema, indotti sia dall'estratto, sia dalle soluzioni utilizzate come controllo, positivo (istamina) e negativo (soluzione salina). Anche i test cutanei intradermici possono dare luogo a risultati falsi negativi. Minime variazioni nel volume dell'estratto iniettato influenzano solo marginalmente i diametri medi del pomfo e dell'eritema, mentre la concentrazione dell'allergene nell'estratto può influire in maniera rilevante sull'espressione del pomfo e dell'eritema osservati. La titolazione del test intradermico cutaneo si esegue iniettando lo stesso volume (per es, 0,02 mL) di una serie di diluizioni progressive ($\times 3$ o $\times 10$) di uno stesso estratto allergenico in zone diverse della cute del paziente. L'obiettivo della procedura è determinare la concentrazione di un estratto, che produce un pomfo ed un eritema di un diametro predefinito (per es, pomfo di 8 mm): quanto maggiore è la sensibilità del paziente all'allergene, tanto minore sarà la concentrazione dell'estratto, necessaria a determinare il pomfo e l'eritema con le dimensioni predefinite. Il test cutaneo intradermico richiede concentrazioni di antigene circa 1000 volte inferiori rispetto a quelle usate nello skin prick test, per produrre una reazione cutanea positiva delle stesse dimensioni.¹⁶

Una volta che la risposta cutanea sia considerata ottimale, la sua registrazione permanente può essere ottenuta delimitando i bordi delle reazioni con una penna dermografica, successivamente l'applicazione di un pezzetto di scotch consente di trasferire la circonferenza di pomfo, ed eritema, su carta. Il diametro del pomfo o dell'eritema si ottiene calcolando la media del diametro massimo, con quello che lo attraversa perpendicolarmente nel punto di mezzo. In alternativa, il diametro medio si può ottenere per interpolazione dalla curva di riferimento, costruita con la titolazione del test cutaneo, in cui sull'ascissa sono riportate le concentrazioni dell'allergene e sull'ordinata, il diametro corrispondente del pomfo o dell'eritema. Alcuni ricercatori preferiscono usare la misura dell'eritema, piuttosto che quella del pomfo, in quanto la pendenza della linea di regressione è più ripida.¹⁷ Nel test cutaneo intradermico esiste una forte relazione fra la misura dell'eritema e del pomfo, ciò torna utile nella valutazione del test nei soggetti con cute molto scura, in cui la valutazione dell'eritema può essere difficoltosa.

Tab. IV Esami effettuati nel laboratorio di diagnostica allergologica

Diagnosi

- IgE allergene-specifiche
 - screening per IgE specifiche per allergeni multipli in miscela(varianti adulte e pediatriche)
 - specificità per un singolo allergene
- IgE totali Sieriche*
- Anticorpi precipitanti specifici per proteine presenti nelle polveri di origine organica
- Triptasi (α , β) (proteasi mastocitarie, usate come marker per l'anafilassi da attivazione dei mastociti)
- Altri test: conta totale delle cellule ematiche, ricerca di eosinofili e neutrofili nell'espettorato

Gestione

- IgG allergene-specifiche [Imenotteri]
- Quantificazione degli aeroallergeni Indoor nella polvere
 - Der p 1/Der f 1 (Dust mite, *Dermatophagoides*)
 - Fel d 1 (Cat, *Felis domesticus*)
 - Can f 1 (Dog, *Canis familiaris*)
 - Bla g 1 / Bla g 2 (Cockroach; *Blattella germanica*)
 - Mus m 1 (Mouse; *Mus musculus*)
- Cotina (metabolita della nicotina misurata nel siero, urine, ed espettorato e usato come marker dell'esposizione al fumo)

Analiti ricercati

- IgE allergene-specifiche
- Proteina cationica degli eosinofili
- Mediatori†‡
 - Amine biogene preformate: istamina
 - Di nuova sintesi: leucotriene C₄(LTC₄) e prostaglandina D₂ (PGD₂)
- Proteoglicani †
 - Eparina
 - Condroitinsolfato E
- Proteasi †
 - Chimasi mastocitaria
 - Carbossipeptidasi mastocitaria
 - Catepsina G
- Fattore di crescita fibroblastica †
- Citochine
 - Interferone- γ
 - Tumor necrosis factor-?
 - IL-4, -5, -6, -13‡

*Le IgE totali sieriche sono il solo test di quelli elencati che è regolato dagli standard del CLIA-88.

†Principalmente rilasciate dai mastociti.

‡Principalmente rilasciate dai basofili.

La riproducibilità dell'interpretazione delle indagini cutanee

La misurazione e l'interpretazione del pomfo e dell'eritema risultanti dai test cutanei, da parte di singoli esecutori, è un altro motivo di variabilità di queste indagini. In uno studio recente,¹⁸ allergologi hanno dato un'interpretazione di skin prick test fotografati digitalmente; il punteggio andava da 0 (assenza di reazione o risposta non differente da quella del controllo negativo) a 4+ (pomfo con pseudopodi ed eritema circolare). L'accordo fra gli specialisti misurato come deviazione standard dalla media variava da 0.26 per le reazioni intense con punteggio 4+ a 1.35 per le reazioni deboli con un punteggio di 1+ e 2+. Questo studio indica che l'apparente facile interpretazione del risultato del test cutaneo è, in realtà, soggetta a molteplici variabili compresa l'interpretazione individuale.

LE INDAGINI LABORATORISTICHE DI DIAGNOSTICA IMMUNOLOGICA

Il riscontro di anticorpi IgE allergene-specifici costituisce una forte conferma alla diagnosi di malattia allergica. Altre indagini sierologiche che, in particolari circostanze, possono essere utili per la diagnosi o per la gestione terapeutica di soggetti con malattie IgE-mediate sono: il dosaggio delle IgE totali, il test di RAST- inibizione, la ricerca delle IgG specifiche nei pazienti con allergia a veleno di imenotteri, il dosaggio della triptasi mastocitaria, e la ricerca delle precipitine per la conferma della diagnosi di polmonite da ipersensibilità (HP). Il test del rilascio di istamina dai basofili (BHR), anche se poco pratico come esame di routine, perché richiede l'utilizzo di sangue fresco, rappresenta comunque un utile strumento diagnostico sarà trattato in questa sezione. Il dosaggio dei leucotrieni, delle proteine dei granuli degli eosinofili e dell'ossido nitrico sono test di ricerca che possono essere utili nella valutazione del paziente atopico.

Gli anticorpi IgE allergene-specifici

La Tabella IV riassume gli analiti che più comunemente sono ricercati nel laboratorio di diagnostica immunologica per la valutazione di un paziente allergico. Di questi, le IgE allergene-specifiche sono l'analita più importante nella diagnosi delle reazioni di ipersensibilità di Tipo 1.

Il Phadebas RAST (Pharmacia, Uppsala, Svezia)¹⁹ è stato il primo metodo descritto per la ricerca di anticorpi IgE allergene-specifici. Questa indagine è un test di tipo non competitivo, eterogeneo (inclusa la fase di separazione), immunoradiometrico (anticorpo radiomarcato) in fase solida (fig. 1, A). Il substrato allergenico adsorbente (allergosorbente) è preparato legando in maniera covalente un allergene specifico a dischi di cellulosa (carta) attivata per mezzo di bromuro di cianogeno. L'allergosorbente, dopo essere stato messo in contatto con il siero umano, è in grado di fissare su di sé tutti gli isotipi degli anticorpi specifici per l'allergene. Dopo un primo lavaggio con tampone, che rimuove le proteine sieriche non legate, si aggiunge un anticorpo marcato con Iodio radioattivo specifico per il frammento Fc delle IgE umane, il quale si lega alle IgE fissate sull'allergosorbente. Dopo un secondo lavaggio, che rimuove la frazione non legata degli anticorpi anti-IgE radiomarcati, la radioattività residua, legata all'allergosorbente è misurata in un contatore di radiazioni, e risulta proporzionata alla quantità di IgE allergene-specifiche presenti in origine nel siero in esame. Il livello di legame, di differenti diluizioni di un siero di riferimento, contenente IgE specifiche verso betulla costituisce la curva di taratura del test. Interpolando la curva di taratura col valore della radioattività ottenuto testando un siero ignoto, si può ottenere la concentrazione di anticorpi IgE specifici presenti nel siero in esame che è espressa in Unità Arbitrarie Phadebas RAST.

Questo primo metodo per il dosaggio delle IgE allergene-specifiche ha costituito la base per lo sviluppo di una

serie di dosaggi di seconda generazione quasi tutti basati sulla tecnica RAST. Questi metodi di seconda generazione dispongono, per l'allestimento dei loro allergosorbenti, di un numero maggiore di estratti allergenici i quali, sono anche di migliore qualità. Sono anche stati introdotti nuovi tipi di materiali per la matrice solida – quali la spugna di cellulosa del CAP System della Pharmacia – che hanno una maggiore capacità legante specifica ed una ridotta capacità legante aspecifica. Inoltre, l'uso di varie combinazioni di anticorpi policlonali e monoclonali anti-IgE conferisce a questi nuovi metodi di dosaggio una migliore sensibilità e specificità per le IgE umane. L'uso di marcatori non isotopici ha avuto come conseguenza un vantaggioso allungamento dei tempi di scadenza dei reagenti ed ha reso il procedimento di dosaggio più facile e meno pericoloso. L'automazione dei metodi ha migliorato la precisione e la riproducibilità della metodica tanto che con alcuni analizzatori automatici è possibile ottenere risultati accurati con una singola misurazione. Infine, i sistemi di taratura utilizzati nei test di seconda generazione hanno impiegato una comune strategia⁶ in cui la curva di taratura è costruita con IgE totali sieriche (eterologhe). Tutte queste modifiche hanno fatto sì che i metodi di dosaggio tipo RAST di seconda generazione mostrino una superiore specificità e sensibilità. Essi sono migliori dal punto di vista della misurazione quantitativa ed hanno migliore riproducibilità e possibilità di automazione rispetto al RAST originale che utilizzava dischi di carta. Sotto l'aspetto diagnostico, questi miglioramenti hanno reso il dosaggio degli anticorpi IgE nel siero più competitivo da un punto di vista diagnostico, nei confronti dei test cutanei. Per alcuni specifici allergeni, quali i farmaci e i veleni degli Imenotteri, il test cutaneo intradermico è ancora considerato più vantaggioso in termini di sensibilità analitica alla quale, però, questo test associa l'importante svantaggio di una ridotta specificità diagnostica.²⁰ Anche la maggiore sensibilità diagnostica dell'indagine intradermica con il veleno di Imenotteri, rispetto a quella del dosaggio delle IgE veleno-specifiche nel siero, è stata messa in dubbio: alcuni pazienti cutinegativi al veleno ma con IgE veleno-specifiche dimostrabili nel siero hanno avuto una reazione allergica sistemica a seguito della puntura dell'insetto.²¹

I diversi metodi di dosaggio delle IgE specifiche disponibili in commercio danno, in virtù dell'uso di schemi comuni di taratura, risultati sempre più convergenti in termini di capacità di misurazione quantitativa e concordanza inter-saggi. Ciononostante, i livelli sierici di anticorpi IgE specifici, ottenuti con i differenti kit di dosaggio disponibili in commercio, non possono ancora essere considerati intercambiabili o equivalenti, e ciò per diversi motivi, di seguito elencati. Le preparazioni di allergene sono, di solito, miscele di proteine che variano per la loro composizione, immunogenicità o potenza allergenica tra i diversi produttori. La composizione di un reagente allergenico commerciale può variare da produttore a produttore per una serie di fattori che includono, la stagione in cui si raccoglie il materiale originario, il grado di difficoltà nell'ottenere materiale puro, la presenza

Tab. V Sensibilità diagnostica clinica delle indagini allergologiche in pazienti con reazioni sistemiche

	IgE sieriche (RAST)	Skin Prick test	Test cutaneo ID
Allergene	Complementare al saggio ID	Non sufficiente	Preferibile
Veleno e farmaci			
Farmaci			
Lattice	Inadeguato	Accettato	Non necessario*
Alimenti	Accettabile	Accettabile	Non necessario (falsi positivi)
Pollini	Accettabile	Accettabile	Usualmente non necessario (falsi positivi)

* La disponibilità di un estratto ad alta-concentrazione rende il saggio test cutaneo per puntura sufficientemente sensibile. RAST, Radioallergosorbent test; ID, intradermico.

all'origine di materiale morfologicamente simile, che può causare contaminazione, differenze tra le diverse ditte produttrici nel processo di estrazione del reagente allergenico. Naturalmente, gli estratti allergenici usati per la preparazione di allergosorbenti sono sottoposti ad un approfondito controllo di qualità, che ricorre all'uso di isoelectrofocusing, elettroforesi su gel di poliacrilamide, immunoelettroforesi incrociata e immunoblotting. Inoltre, la potenza allergenica di un estratto può essere valutata usando il metodo dell'inibizione del test per la ricerca delle IgE allergene-specifiche mediante l'uso di antigene solubile (fig. 1, B). Infine, tra le altre cause possibili di variabilità da prendere in considerazione, vi sono la stabilità del reagente nel tempo, l'eterogeneità dei sieri contenenti anticorpi IgE umani usati per i controlli di qualità, e i criteri di valutazione diversi, da parte di produttori diversi, in base ai quali il prodotto finito è considerato accettabile per l'impiego diagnostico. Pertanto, si deve sempre tener presente che allergosorbenti di produttori diversi possano individuare, per ogni specifico allergene, popolazioni differenti di anticorpi IgE allergene-specifici.

L'importanza del dosaggio dei livelli sierici degli anticorpi IgE può essere illustrata dai risultati di uno studio prospettico sull'allergia alimentare in cui, nei sieri di cento bambini (da tre mesi a quattordici anni d'età) affetti da allergia alimentare, furono dosate le IgE specifiche per uova, latte, arachidi, soia, grano e pesce con un metodo immunoenzimatico (Pharmacia CAP System).²² Clinicamente il 61% di questi bambini era affetto da dermatite atopica, approssimativamente il 50% da asma e il 90% proveniva da famiglie atopiche. La diagnosi d'allergia alimentare era basata sulla storia clinica e su un test di provocazione alimentare. I risultati di questo studio dimostrarono che era possibile individuare in maniera corretta oltre il 95% delle allergie alimentari con l'uso di criteri diagnostici predittivi al 95%. Tali criteri erano stati precedentemente determinati in uno studio²³ nel quale erano stati individuati, in bambini con dermatite atopica, i livelli sierici di IgE al di sopra dei quali il test di provocazione alimentare era positivo con il 95% di probabilità. Gli autori dello studio concludo-

Tab VI. Performance dei test sierologici latex-specifici approvati dalla FDA*

Metodo	Soggetti e loro classificazione	Sensibilità diagnostica	Specificità diagnostica	Valore predittivo positivo	Valore predittivo negativo	Accuratezza
CAP system†	117 Hx+ 195 Hx -	75,2% (67-83%)	90,8% (87-94%)	83,0% (76-90%)	85,9% (81-91%)	84,9% (81-89%)
CAP system‡	38 Hx + 44 Hx -	97%	86%	ND	ND	ND
CAP system†	131 PST+ 181 PST-	76,3% (69-84%)	96,7% (94-99%)	94,3% (90-99%)	85,0% (80-90%)	88,1% (85-92%)
CAP system§	83 Allergici 60 non allergici al lattice	79,5%	90%	91,7%	76,1%	ND
AlaSTAT †	117 Hx+ 195 Hx -	78,6% (71-86%)	95,4% (92-98%)	91,1% (86-97%)	91,1% (84-93%)	89,1% (86-93%)
AlaSTAT RIA ‡	38 Hx + 44 Hx -	100%	33%	ND	ND	ND
AlaSTAT †	131 PST+ 181 PST-	73,3% (66-80%)	97,2% (95-99%)	95,0% (91-99%)	83,4% (78-88%)	87,2% (83-91%)
AlaSTAT §	83 allergici al lattice 60 non allergici al lattice	74,7%	91,7%	92,5%	72,4%	ND
HyTECH †	117 Hx+ 194 Hx -	89,8% (84-95%)	67,5% (61-74%)	62,5% (55-70%)	91,6% (87-92%)	75,9% (71-81%)
HyTECH †	131 PST+ 180 PST-	91,6% (87-96%)	73,3% (67-80%)	71,4% (65-78%)	92,3% (88-97%)	81,0% (77-85%)

ND, Non Disponibile; Hx +, positivi per storia di allergia al lattice; PST +, positivi allo skin prick test per lattice; CAP System (Pharmacia); AlaSTAT (Diagnostic Products Corp, Los Angeles, Calif); HyTech (Hycor, Mountain View, Calif).

*Il test cutaneo ID non è necessario come test diagnostico se la concentrazione del reagente è abbastanza alta da soddisfare l'identificazione dell'allergia al lattice.

Questa tabella mostra, la sensibilità diagnostica inadeguata delle due metodiche più usate per la ricerca di IgE (CAP System e AlaSTAT) e della specificità inadeguata del HyTECH.

†Hamilton RG, Biagini RE, Krieg EF. Diagnostic performance of FDA-cleared serological assays for natural rubber latex-specific IgE antibody. J Allergy Clin Immunol 1999;103:925-30. Le medie e (i limiti di confidenza al 95%) forniti usano la storia clinica o i risultati dello SPT con un reagente di ricerca della Greer per qualificare i pazienti, a cui i dati si riferiscono, come allergici o non allergici al lattice.

‡Ownby DR, Magera B, Williams PB: A blinded multicenter evaluation of 2 commercial in vitro tests for latex-specific IgE antibodies. Ann Allergy Asthma Immunol 2000;84:193-6. Le medie sono ottenute usando il valore 0.35 kUa/L come cutoff positivo. I soggetti in esame erano classificati come allergici o no al lattice sulla base della storia clinica e dei risultati dello SPT con un estratto di qualità di lattice naturale approntato dagli stessi autori.

§Turjanmaa K, Palosuo T, Alenius H, Leynadier F, Autegarder JE, Andre C, et al. Latex allergy diagnosis: in vivo and in vitro standardization of a natural rubber latex extract. Allergy 1997;52:41-50

no che la necessità di un test di provocazione alimentare può essere ridotta di circa il 50% se si misura preliminarmente la concentrazione sierica delle IgE specifiche verso gli alimenti citati e si applicano i criteri diagnostici predittivi da loro stabiliti. Essi notano che tutto ciò è stato reso possibile dalla disponibilità di metodi immunometrici di seconda generazione per il dosaggio delle IgE allergene-specifiche.²⁴ È necessario, tuttavia, rilevare che la maggioranza dei bambini nello studio in questione era affetta da dermatite atopica e che, pertanto, la rilevanza dei criteri predittivi utilizzati rimane tutta da valutare nel caso di bambini affetti da una malattia allergica diversa dalla dermatite atopica. Maggiori dettagli sui criteri decisionali, predittivi al 95% di allergia alimentare, sono forniti nel Capitolo 9.

LA RICERCA DEGLI ANTICORPI IgE SU CUTE E SIERO: CONFRONTO DELLA QUALITÀ DEI RISULTATI

Il confronto, attraverso i dati riportati nella letteratura peer-reviewed, fra le prestazioni diagnostiche (sensibili-

tà, specificità e valori predittivi negativi e positivi) (Tabella III) di due qualsiasi esami *in vivo* e/o *in vitro* per la ricerca delle IgE allergene-specifiche è difficile per una serie di ragioni. Primo, i differenti ricercatori utilizzano criteri clinici o diagnostici diversi per la definizione dei casi positivi (soggetti con la malattia). Secondo, gli studi di popolazione possono variare notevolmente nell'ambito della categoria di malattia esaminata, per differenze nella frequenza e nel grado di esposizione agli allergeni considerati. Terzo, la qualità di un test per la ricerca delle IgE dipende in maniera stretta dai criteri che sono utilizzati per la definizione della soglia di positività che soprattutto per le metodiche *in vivo*, risulta variabile negli studi clinici.

La Tabella V evidenzia nell'insieme l'utilità clinica relativa dei test cutanei e di quelli su siero per la valutazione dell'allergia al veleno di imenotteri, ai farmaci, al lattice, agli alimenti e agli allergeni inalanti. Per la valutazione dei pazienti con sospetta allergia al veleno di imenotteri e ai farmaci è necessaria la massima sensibilità clinica, a causa delle gravi reazioni sistemiche, con potenziale rischio per la sopravvivenza, caratteristiche di queste affezioni. In questi casi è preferibile utilizzare il test

cutaneo ID perché il prick test non è sufficientemente sensibile, e i risultati dei test sierologici sono considerati solo complementari a quelli del test cutaneo ID. Al contrario, il prick test con un estratto sperimentale per il lattice della Greer, impiegato nella valutazione di pazienti con sospetta allergia al lattice, è risultato essere sufficientemente sensibile in funzione dell'elevata concentrazione d'allergene presente nell'estratto. In questi casi, pertanto, il test intradermico non è necessario così come non lo è un test, pure approvato dalla FDA per la ricerca nel siero di IgE specifiche per il lattice, la cui sensibilità diagnostica è risultata inadeguata (Tabella VI).²⁵ Nelle allergie respiratorie ed alimentari i test per la ricerca di IgE, sia *in vitro* sia *in vivo* (prick test), sono considerati equivalenti sicché i test cutanei intradermici non sono ritenuti necessari. Un miglioramento nel processo di valutazione dei pazienti con allergia alimentare si ottiene con l'utilizzo contemporaneo delle metodiche *in vivo* (prick test) ed *in vitro*.²⁶ È possibile incorrere in fenomeni di reattività crociata fra IgE specifiche per allergeni derivati da pollini e da alimenti in quanto queste proteine possono condividere epitopi strutturali simili. Non esiste attualmente alcuna indicazione clinica per l'effettuazione di test diagnostici che valutino anticorpi non-IgE per allergeni alimentari.

L'ottimizzazione della qualità di un test si può ottenere utilizzando la "ROC analisi" che definisce la sensibilità e la specificità del test per una gamma di livelli di soglia di positività.^{6,27} In conclusione, la decisione di come utilizzare le indagini diagnostiche di conferma dell'allergia nella pratica professionale, prevede che l'allergologo prenda in considerazione svariati fattori, fra i quali la sensibilità relativa dei test, la relazione fra i livelli di IgE e le espressioni di malattia, la sicurezza e confort del paziente, i tempi di esecuzione ed i costi.^{6,24,28}

I TEST DI SCREENING PER LE IgE VERSO MISCELA DI MOLTEPLICI ALLERGENI

Occasionalmente, soggetti che accedono alla diagnostica allergologica presentano un'anamnesi dubbia o negativa per malattia atopica o una storia da cui non è possibile sospettare un ruolo significativo per uno specifico allergene, come causa della sintomatologia. Il test di screening di IgE specifiche verso una miscela di allergeni è un test simile al RAST, ma esclusivamente qualitativo, che analizza contemporaneamente nel siero del paziente la presenza di IgE specifiche verso una miscela di almeno 15 allergeni ambientali inalanti, presenti sia degli ambienti aperti (allergeni outdoor) che confinati (allergeni indoor), selezionati in quanto responsabili della maggioranza delle allergie respiratorie.⁶ Esiste anche una versione pediatrica di questo test, che analizza la presenza di IgE specifiche per allergeni alimentari (latte, uovo, arachide, grano, soia) in aggiunta alle IgE specifiche per allergeni inalanti quali graminacee, parietaria, pollini di alberi, muffe, derivati epidermici di animali e acari della polvere. Un risultato negativo di questo test qualitativo riduce a < 5% la probabilità che le IgE siano coinvolte nei disturbi clinici del paziente in esame. Questi test sono

particolarmente utili nel confermare l'assenza di una malattia atopica, nei casi in cui si sospetti l'esistenza di una malattia cutanea, respiratoria o gastrointestinale non IgE-mediata. Questo esame può ridurre al minimo la necessità di eseguire ripetuti test *in vitro* o *in vivo* per la ricerca di IgE specifiche in soggetti che hanno una bassa probabilità clinica di soffrire di una malattia atopica. Viceversa l'utilizzo di questa metodica in popolazioni non selezionate può generare un eccesso di falsi positivi perché il riscontro di anticorpi IgE è molto più frequente di quello di malattia sintomatica.

LE IgE TOTALI SIERICHE

Il dosaggio sierico delle IgE totali è attualmente l'unica indagine diagnostica in allergologia ad essere regolamentata dal Federal Clinical Laboratory Improvement Act del 1988 (CLIA-88). Delle oltre 30 modalità di dosaggio delle IgE totali sieriche riportate nel CLIA-88, nove sono quelle più comunemente utilizzate dai laboratori di analisi cliniche.²⁹ La tecnica utilizzata in questi metodi è quasi esclusivamente quella immunometrica (anticorpo marcato) non competitiva, con doppio sito di legame (anticorpo di cattura e anticorpo d'identificazione). Un anticorpo anti-IgE umane, fissato su una fase solida, è usato per legare le IgE presenti nel campione del siero in esame (anticorpo di cattura). Dopo la rimozione mediante lavaggio della quota di IgE sieriche non legate, un secondo anticorpo anti-IgE umane, marcato con radioisotopo o con enzima o con fluoroforo rivela le IgE legate (anticorpo di identificazione). La successiva rimozione, mediante lavaggio, della quota non legata dell'anticorpo d'identificazione è seguita da sviluppo e misurazione quantitativa del segnale di risposta. Ovviamente, la quantità finale di segnale di risposta misurata (come cpm legati, densità ottica o unità di segnale fluorescente) è proporzionale alla quantità di IgE legata al centro del "sandwich" formato dall'anticorpo di cattura da un lato e l'anticorpo d'identificazione dall'altro. La sensibilità analitica della maggior parte dei metodi di dosaggio delle IgE totali sieriche va da 0,5 a 1 µg/L. La concordanza tra i vari metodi disponibili in commercio, valutabile attraverso i coefficienti di variazione intermetodi, è < 10% quando i livelli sierici di IgE sono ≥ a 30 kIU/L.²⁹ La taratura dei metodi di dosaggio delle IgE totali mediante l'utilizzo di uno standard comune di riferimento, il WHO IgE International Reference Preparation (WHO 75/502), ha accresciuto la loro concordanza a livello mondiale. I principali limiti diagnostici della misura delle IgE totali sono la variazione in rapporto all'età e l'ampia sovrapposizione dei livelli sierici tra popolazioni di soggetti atopici e non atopici. Pertanto, il livello delle IgE totali andrebbe sempre parametrato sul livello di riferimento della popolazione di non atopici di corrispondente fascia d'età.³

IL CONTROLLO DI QUALITÀ DEI DOSAGGI DI IgE TOTALI E IgE ALLERGENE-SPECIFICHE

Il regolamento CLIA-88 dispone che tutti i laboratori autorizzati che eseguono test di diagnostica allergologi-

ca, partecipino ad un controllo di qualità esterno. Negli Stati Uniti, il Collegio dei Patologi Americani conduce in modo indipendente un controllo di qualità della diagnostica di laboratorio in allergologia.²⁹ Il controllo di qualità prevede un'analisi su 5 sieri scelti casualmente ogni 17 settimane (3 cicli per anno) che sono verificati per IgE totali, IgE specifiche verso 5 allergeni, e test per miscela di allergeni multipli. Le variazioni inter-laboratorio (intra-metodo) sono verificate criticamente e rese note ai laboratori partecipanti al controllo di qualità ed alle agenzie di accreditamento.

I risultati dei test per le IgE sieriche totali sono riportati come media, deviazione standard (DS), coefficiente di variazione, mediana, valore minimo e massimo per ciascun metodo di dosaggio. La notifica del risultato del controllo di qualità delle IgE totali, è inviata ai laboratori partecipanti ed alle agenzie statali deputate alla concessione delle autorizzazioni. I laboratori che riportano valori di IgE sieriche totali non compresi entro la media $\pm$ 3DS dei risultati del gruppo di laboratori equivalenti di riferimento, sono classificati come "fuori controllo" e rischiano di perdere la licenza federale per eseguire test di laboratorio. Fatta eccezione per qualche occasionale siero proveniente da soggetti non atopici, i coefficienti di variazione tra laboratori, sia intra-metodo sia inter-metodi, relativi alla misurazione delle IgE totali sono di regola uguali o inferiori al 15%.

Attualmente, il dosaggio delle IgE allergene-specifiche è un'analisi diagnostica non regolata dagli statuti del CLIA-88. Nei diversi metodi di dosaggio, i risultati delle IgE allergene-specifiche sono espressi come unità arbitrarie tra loro non equivalenti, o come classi, analogamente, non sempre comparabili. Inoltre, la qualità dei risultati dei dosaggi degli anticorpi IgE può variare ampiamente tra differenti laboratori in funzione della scarsa precisione ed accuratezza di alcuni metodi di dosaggio.³⁰ Nonostante vi siano ancora sostanziali differenze nella sensibilità e specificità dei vari metodi disponibili, la maggior parte dei metodi di seconda generazione e dei laboratori riescono a distinguere correttamente tra sieri dei soggetti non atopici (negativo, classe 0) e quelli che contengono IgE allergene-specifiche. È specifica responsabilità del medico che assiste il paziente, assicurarsi che il laboratorio scelto per eseguire la ricerca degli anticorpi IgE sia un laboratorio certificato CLIA-88, abbia superato i controlli di qualità in diagnostica allergologica ed utilizzi metodi di dosaggio validati.³¹

METODICA DELLA RAST-INIBIZIONE PER ALLERGIA A VELENO DI IMENOTTERI

Somiglianze strutturali del veleno di *Vespula sp.* e di *Polistes sp.* che riguardano la fosfolipasi A1/B (*Ves g I*; *Pol a I*) e la ialuronidasi (*Ves g II*; *Pol a II*) sono causa di reattività crociata dei relativi anticorpi IgE. In questi casi si usa la tecnica della RAST-inibizione competitiva per precisare la scelta del veleno da impiegare nell'immunoterapia di pazienti allergici alle punture d'insetto con sensibilità multiple, potenzialmente crociate.³² Questo test è indicato, ad esempio, in pazienti che presentano una forte reazione cutanea, o alti livelli sierici di anticor-

pi IgE, verso il veleno di *Vespula sp.* (Yellow jacket venom: YJV) e una reattività cutanea debole o un basso livello di IgE specifiche per il veleno di *Polistes sp.* (Polistes wasp venom: PWV).

Il metodo consiste nel preincubare separatamente il siero del paziente con frazioni solubili di YJV (veleno eterologo), PWV (veleno omologo di controllo) o con una soluzione tampone (controllo non inibente). I sieri così pretrattati sono cimentati in provette contenenti un allergosorbente specifico per PWV. Il test si conclude come al solito con l'aggiunta di anticorpi marcati anti-IgE umane per valutare il livello di adesione della IgE specifiche all'allergosorbente. Il riscontro di un'inibizione maggiore del 95%, del legame IgE anti-PWV col allergosorbente specifico per PWV da parte del siero preincubato con la frazione solubile di YJV, è indice di un'inibizione crociata completa. In uno studio sono stati analizzati con questo metodo i sieri di 305 pazienti allergici al veleno d'imenotteri, che avevano livelli di IgE anti-YJV e anti-PWV maggiori di 2 ng/mL, per stabilire se nel regime d'immunoterapia, andassero impiegati uno o due veleni. La RAST inibizione ha evidenziato che un terzo dei pazienti (36.4%) era sensibile esclusivamente allo YJV e non necessitava di immunoterapia con PWV, in quanto il legame delle IgE anti-PWV all'allergosorbente PWV era inibito, per più del 95%, dall'aggiunta di YJV solubile.³²

LE IgG SPECIFICHE PER VELENO DI IMENOTTERI

È noto che l'immunoterapia specifica per via sottocutanea stimola la produzione di anticorpi IgG allergene-specifici di tipo "bloccante" (Tabella I).³³ In generale, gli studi sulla rinite allergica evidenziano che la quantità di anticorpi IgG (o sottoclassi di IgG) allergene-specifici non correla in maniera significativa con il miglioramento dei sintomi clinici, nel singolo paziente sottoposto ad immunoterapia specifica. Tuttavia, l'efficacia clinica dell'immunoterapia specifica si associa quasi sempre al riscontro di elevati valori serici di IgG allergene specifiche. Viceversa nell'allergia alimentare, la dimostrazione di anticorpi IgG specifici per specifici alimenti non mostra alcune correlazione con l'esito del test di provocazione alimentare eseguito in doppio cieco e controllato con placebo (DBPCFC).

Una possibile applicazione del test quantitativo degli anticorpi IgG allergene-specifici è come supporto alla dimostrazione di efficacia della immunoterapia specifica, nei pazienti allergici al veleno degli Imenotteri.

In uno studio di tipo prospettico, i livelli sierici delle IgG specifiche per il veleno di Imenotteri sono stati monitorati in 109 pazienti per valutare se essi potevano prevedere il rischio di recidiva di reazioni sistemiche di pazienti sottoposti ad immunoterapia.³⁴ Nell'arco di 4 anni sono state effettuate 211 punture d'insetto in ambiente controllato (sting challenge): reazioni sistemiche sono state registrate nel 16% dei soggetti con valori di IgG veleno-specifiche $< 3 \mu\text{g/mL}$ ma solo nell'1.6% degli individui con livelli di IgG veleno-specifiche $> 3 \mu\text{g/mL}$. La percentuale più elevata di reazioni (26%) è stata osservata

nei pazienti che avevano sia livelli di IgG veleno specifiche $< 3 \mu\text{g/mL}$ sia una durata complessiva dell'immunoterapia inferiore ai 4 anni. Le conclusioni dello studio suggeriscono che il dosaggio quantitativo delle IgG veleno-specifiche può essere utile per ottimizzare le dosi e la frequenza delle iniezioni nei singoli pazienti in trattamento immunoterapico, con l'intento di ottenere il massimo effetto protettivo. La utilità clinica della misurazione quantitativa delle IgG veleno-specifiche sembra, comunque, essere limitata solo ai primi 4 anni di immunoterapia specifica con veleno degli Imenotteri.

GLI ANTICORPI IgG AD AZIONE PRECIPITANTE (LE PRECIPITINE)

La Polmonite da Ipersensibilità (HP: hypersensitivity pneumonitis), anche nota come alveolite allergica estrinseca, è una malattia infiammatoria che si sviluppa a carico dell'interstizio polmonare e dei bronchioli terminali ed è determinata da esposizione cronica a polveri antigeniche di origine organica (per es. muffe, escrementi di uccelli). Se da un lato l'istologia delle lesioni polmonari evidenzia un meccanismo di danno prevalentemente di tipo cellulo-mediato, la maggioranza dei pazienti con HP sviluppa elevati livelli sierici di IgG specifiche per l'antigene causale.³⁵ I laboratori clinici ancora eseguono la ricerca della precipitine con il sistema classico della doppia diffusione secondo Ouchterlony. Questa metodica prevede la deposizione dell'estratto antigenico in esame nel pozzetto di una piastra di gel di agarosio e, in un altro pozzetto strettamente adiacente, la deposizione del siero del paziente in esame e di un siero di controllo positivo. L'esame può essere considerato diagnostico per HP, se la diffusione dell'antigene e dell'anticorpo producono nel giro, di 2-3 giorni, linee di precipitazione nel gel di agarosio analoghe a quelle, che si ottengono con la diffusione dell'estratto antigenico e del siero positivo di controllo. Le precipitine possono essere dimostrate nel siero di quasi tutti i pazienti affetti da HP in fase attiva, ma anche in quasi il 50% dei soggetti che, pure essendo completamente privi di sintomi o segni di malattia, sono stati esposti alle polveri organiche causa della malattia.³⁶ I più recenti metodi di analisi delle IgG precipitanti, costituiti da test immunoenzimatici verso gli antigeni specifici delle polveri organiche, risultano al momento ancora troppo sensibili e sono, perciò, considerati poco utili per l'uso in clinica. La ricerca delle precipitine viene eseguita nei confronti di polveri organiche contenenti actinomiceti termofili (*M. faeni*, *T. vulgaris*, e *T. candidus*), aspergilli (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*), siero di piccione, *Aureobasidium pullulans*, particelle fecali del parrocchetto, o di altri pappagalli, di uso domestico.

LA TRIPTASI MASTOCITARIA

I mastociti che vengono attivati nel corso di una reazione di ipersensibilità IgE-mediata liberano nei tessuti circostanti proteasi ed istamina preformate ma anche

mediatori vasoattivi neoformati. (Tabella IV). La triptasi mastocitaria è una serino-esterasi costituita da 4 subunità, ciascuna con un sito enzimatico attivo. La triptasi, quando si dissocia dai granuli di eparina, si degrada rapidamente in monomeri e perde l'attività enzimatica. Anche i basofili umani contengono triptasi ma in una concentrazione che è circa 300-700 volte minore di quella dei mastociti polmonari e della cute; di conseguenza il livello di triptasi rinvenibile nel siero è un marcatore della condizione di attivazione sistemica dei mastociti.³⁷

Nel siero sono evidenziabili mediante l'uso di anticorpi monoclonali specifici due forme di triptasi. I livelli di α -protriptasi, sono indicativi del numero dei mastociti mentre i livelli di β -triptasi, sono, correlati al numero di mastociti attivati. Analiticamente, il valore dell' α -protriptasi si ricava sottraendo il valore della β -triptasi dal valore della triptasi sierica totale. I valori normali di β -triptasi nel siero sono $< 1 \text{ ng/mL}$ mentre valori di β -triptasi $> 1 \text{ ng/mL}$ sono indice di una condizione di attivazione dei mastociti. I valori medi di triptasi totale nel siero di soggetti normali si aggirano intorno ai 5 ng/mL (range $1-10 \text{ ng/mL}$).

Picchi di β -triptasi sono dimostrabili nel siero nei 30-60 minuti successivi a puntura di Imenottero nei pazienti allergici al veleno che manifestano reazione sistemica.

Livelli di β -triptasi $> 5 \text{ ng/mL}$ possono essere riscontrati nei pazienti con ipotensione severa nel corso di anafilassi: questi valori presentano un'emivita biologica di circa 2 ore. Se i valori di β -triptasi vengono determinati dopo 3-4 ore dall'inizio dell'anafilassi, possono risultare normali, nonostante la condizione di attivazione dei mastociti. Il riscontro di valori elevati di triptasi ($> 10 \text{ ng/mL}$), nel siero di soggetti deceduti è suggestivo di decesso da anafilassi. Valori basali di α -protriptasi $> 20 \text{ ng/mL}$ e un rapporto α -protriptasi / β -triptasi > 10 dovrebbero indurre a formulare una diagnosi di mastocitosi sistemica.^{37,38}

La triptasi è reperibile anche nel liquido di lavaggio broncoalveolare, nasale, nelle lacrime e nei fluidi di lavaggio delle camere cutanee, anche se, per il momento, non esiste un'indicazione clinica per tali dosaggi.

IL TEST DI RILASCO DI ISTAMINA DAI BASOFILI

Il test del rilascio di istamina dai basofili (BHR) è stato un mezzo utile per definire la potenza degli estratti allergenici. In alternativa, esso è stato utilizzato per individuare la presenza di IgE allergene-specifiche sulla superficie dei basofili mediante della loro stimolazione diretta con allergeni o loro sensibilizzazione passiva con anticorpi sierici. Questa ultima metodica può essere utilizzata come metodo alternativo per la ricerca di IgE allergene-specifiche dal momento che i risultati del test di BHR sono fortemente correlabili con quelli dei test cutanei e del test di broncoprovocazione.³⁹

Nel test BHR con stimolazione diretta, i leucociti periferici vengono isolati dal sangue intero per mezzo di un processo di sedimentazione con destrano, lavati in una soluzione tampone isotonica e incubati con concentrazioni progressivamente crescenti (per es. diluizioni seria-

li x3 o x10) dell'estratto di un allergene o, come controllo positivo, di un siero contenente anticorpi anti-IgE umane. Nel test BHR che utilizza la sensibilizzazione passiva, i basofili, privati delle IgE adese alla membrana attraverso un procedimento di eluizione acida, sono incubati con un siero contenente anticorpi IgE e poi stimolati con l'antigene. In entrambi i tipi di test BHR, il rilascio di istamina si completa nell'arco di 30 minuti e il suo dosaggio viene eseguito nel soprannatante delle sospensioni cellulari con una delle varie tecniche disponibili di tipo enzimatico, radiometrico o spettrofluorimetrico. La curva dose-risposta, che risulta da un test BHR è una caratteristica curva a campana con un segmento lineare ascendente, un picco corrispondente alla concentrazione ottimale di legame dell'allergene, e un segmento discendente corrispondente alle concentrazioni sopraottimali di allergene. La concentrazione di allergene necessaria ad indurre il rilascio del 50% di istamina è utilizzata per definire la sensibilità relativa dei basofili di un dato paziente nei confronti di uno specifico estratto allergenico. Per il test di BHR si può anche utilizzare sangue intero trattato con un anticoagulante. Attualmente, questo tipo di test è quello più diffusamente utilizzato nei laboratori di ricerca in relazione ai suoi costi e alla necessità dell'utilizzo di sangue fresco. Questa metodica è utilizzata in particolare per chiarire le discrepanze nei risultati fra i saggi cutanei e sierologici di ricerca di IgE specifiche. I dettagli del test di BHR sono riportati altrove.⁴⁰

I TEST DIAGNOSTICI DI PROVOCAZIONE IN VIVO

Qualora esista una discordanza fra la storia clinica e risultati delle indagini diagnostiche di primo livello, è possibile effettuare uno dei vari test di provocazione esistenti. I test di provocazione nasale e bronchiale sono mezzi in grado di identificare una eventuale relazione fra l'inalazione di una sostanza e modifiche della funzione nasale e bronchiale del paziente. Il test di provocazione controllato in doppio cieco verso placebo con alimenti è utilizzato nella valutazione dei pazienti che presentino una reazione avversa gastrointestinale (per es. colica, nausea, vomito, diarrea), insorta nel giro di minuti o ore dall'assunzione di un determinato alimento. Ognuna di queste indagini sarà presa in esame in maniera sintetica.

Il test di provocazione bronchiale

Il test di provocazione bronchiale con metacolina è una metodica particolarmente utile nella diagnosi dei casi dubbi di asma. In generale, la procedura di broncoprovocazione prevede la somministrazione di un aerosol di metacolina o istamina erogato mediante dosimetro. La concentrazione iniziale che va da 0,05 a 0,1 mg/mL e viene progressivamente raddoppiata fino a raggiungere concentrazioni di 10-25 mg/mL. La metacolina non induce il rilascio da parte dei mastociti di enzimi o mediatori ma, essendo un analogo dell'acetilcolina, stimola direttamente il muscolo liscio bronchiale. In alternativa si possono impiegare dosi crescenti di estratti

allergenici. A differenza della metacolina, l'allergene modifica la funzionalità polmonare in conseguenza della attivazione diretta dei mastociti polmonari. Dopo la nebulizzazione di ogni singola dose, si misura la funzionalità polmonare per valutare l'impatto clinico della sostanza inalata. La risposta positiva al test è abitualmente definita dalla concentrazione della sostanza inalata che induce una caduta del Volume Espiratorio Massimo nel 1° secondo (VEMS) $\geq$ del 20% rispetto al valore basale, che deve essere sempre $> 70\%$ del valore teorico affinché l'interpretazione della prova sia valida. Dettagli più precisi riguardanti i metodi e l'interpretazione dei test di provocazione bronchiale sono discussi altrove.⁴¹

Il test di provocazione nasale

La provocazione nasale implica la somministrazione nelle cavità nasali di una soluzione tampone di controllo (es. albumina umana in soluzione salina) e di dosi crescenti di estratto allergenico, il punteggio dei sintomi registrati dopo ciascuna provocazione (per es. il numero degli starnuti) e/o la concentrazione dei mediatori mastocitari o di albumina documentabili nel fluido del lavaggio nasale, sono indice della sensibilità individuale nei confronti dell'allergene in questione. La TAME-esterasi e l'istamina sono le sostanze che sono dosate più frequentemente nei lavaggi nasali. La misura della resistenza delle vie aeree superiori è un indice di riferimento meno soddisfacente in quanto soggetto a variazioni intrinseche molto elevate. Altri dettagli relativi alla procedura possono essere reperiti altrove.⁴²

Il test di provocazione con alimenti in doppio cieco, controllato con placebo

Il test di provocazione con alimenti in doppio cieco, controllato con placebo (DBPCFC) implica l'ingestione controllata di alimenti, notoriamente contenenti allergeni, come il latte di mucca (caseina, β -lattoglobulina, α -lattalbumina), l'albume d'uovo (ovalbumina, ovomucoide, ovotransferrina), i cereali (grano, segale, orzo, avena), la frutta secca e i legumi (arachide, soia, fagioli), il pesce, i frutti di mare e i crostacei (gambero, granchio, aragosta, ostriche). Il test generalmente inizia con la completa eliminazione dell'alimento sospetto nei 7-14 giorni che precedono la fase vera e propria di provocazione. Questa prevede che un numero uguale di porzioni di placebo e di allergene, distribuite alternativamente in maniera casuale, vengano somministrate al paziente a digiuno; la dose iniziale dell'alimento, in confezione liofilizzata, varia da 25 a 500 mg e viene raddoppiata ogni 15-60 minuti. La reattività clinica all'alimento può essere esclusa dopo che siano stati tollerati almeno 10 gr dell'alimento liofilizzato e somministrato in una forma non riconoscibile liquida o solida (capsule). Il test in doppio cieco negativo deve essere confermato da un test di provocazione in aperto, sempre eseguito sotto osservazione medica, per escludere la possibilità di un risultato falsamente negativo. Una estesa discussione su questa metodica e sulle variabili che possono influenzare i risultati è riportata altrove²² e nel Capitolo 9.

LE INDAGINI PER LA RICERCA DEGLI ALLERGENI INALANTI NEGLI AMBIENTI CONFINATI

Una nuova era per la diagnostica si è sviluppata nella passata decade come risultato delle ricerche sugli aereoallergeni presenti negli ambienti confinati, capaci di indurre rinite ed asma. Considerato che gli esseri umani passano dal 30% al 60% della loro vita mangiando, dormendo, lavorando ed oziando in ambienti confinati,⁴³ questi ultimi sono diventati il bersaglio di campagne mirate al controllo ed eliminazione degli allergeni in essi presenti. Numerosi laboratori effettuano test di controllo ambientale su campioni di polveri, raccolti con aspirapolvere da ambienti confinati. Case private, scuole e, più recentemente, gli ambienti di lavoro vengono sempre più frequentemente ispezionati e valutati perché le tecniche edilizie sono mutate e gli edifici sono progettati con un numero di aperture e finestre sempre minore. La raccolta della polvere prevede l'uso di un dispositivo di raccolta da apporre su un comune aspirapolvere, che viene inviato ad un laboratorio specializzato. In laboratorio si eliminano le particelle di dimensioni $> 300 \mu\text{m}$, e la polvere sottile viene sottoposta ad estrazione quantitativa (es. 100 mg di polvere in 2 mL di soluzione tampone di fisiologica e albumina). Gli allergeni solubili, una volta estratti, vengono quantificati utilizzando dei test immunoenzimometrici che prevedono l'uso di anticorpi monoclonali per *Der f 1* e *Der p 1* (allergeni con p.m. di 25.000 che sono escreti nelle particelle fecali dagli acari della polvere [*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*]), *Fel d 1* (allergene con p.m. di 35.000 che è escretto dalle ghiandole salivari del gatto [*Felis domesticus*]), *Bla g 1*/*Bla g 2* (allergeni con p.m. di 25.000/36.000 che sono prodotti dallo scarafaggio [*Blattella germanica*]), e *Mus m 1* (allergene di p.m. di 19.000 che è escretto dal topo nelle urine [*Mus musculus*]). Alcuni laboratori eseguono un test per la ricerca di spore fungine vitali che prevede la messa in coltura di 5 mg di polvere fine su piastre per microbiologia contenenti terreno di Sabouraud.⁴⁴ Campioni di polveri ottenuti con campionatori volumetrici, prelevati ad intervalli regolari in ambienti confinati, sono stati analizzati per la presenza di spore fungine; la presenza di > 1000 colonie per m^3 di aria è un indicatore molto probabile di contaminazione da micofiti degli ambienti confinati esaminati.⁴⁵

Il concetto chiave è che il riscontro di questi importanti allergeni consente di valutare il livello di contaminazione degli ambienti confinati e permette di attuare bonifiche mirate sugli specifici allergeni. Esistono dei livelli di rischio per alcuni allergeni, come gli acari della polvere. Concentrazioni di *Der p 1* e/o *Der f 1* $> 2.000 \text{ ng/g}$ di polvere fine si associano ad un aumentato rischio di scatenamento di sintomi allergici in soggetti sensibilizzati, mentre concentrazioni $> 10.000 \text{ ng/g}$ di polvere fine si associano ad un aumentato rischio di sensibilizzazione. Per quanto riguarda altri allergeni, come quelli dello scarafaggio o del topo, la loro semplice presenza nell'ambiente è già un chiaro indice che l'ambiente necessita di una bonifica.⁴⁴

LE INDAGINI PER LA RICERCA DI ALLERGENI INALANTI IN ATMOSFERA

Postazioni di monitoraggio aereobiologico sono state installate in tutte le maggiori città degli Stati Uniti. Queste postazioni, costituite da un campionatore per pollini e spore fungine montato su una piattaforma o su un tetto all'altezza, in genere, di un primo piano (4 m circa), sono installate in spazi aperti, distanti da alberi, i cui pollini possono indurre distorsioni nella rilevazione. Un modello di campionatore sporo-pollinico è costituito da un collettore a caduta con asse rotante chiamato rotorod. Il rotorod si compone di una serie di piani di plastica di 1,59 mm di diametro che, a intervalli di tempo definito (per es. 10-60 secondi ogni 10 minuti), si espongono all'ambiente esterno ruotando sull'asse centrale.⁴⁶ Un sottile strato di silicone riveste il piano di plastica e cattura per adesione le particelle aerodisperse che vi impattano durante il campionamento. Ogni 24 ore, il dispositivo di cattura viene rimosso dall'apparecchio, colorato ed analizzato al microscopio per la ricerca quantitativa di pollini e spore. Le concentrazioni di pollini e spore sono valutate da personale tecnico, addestrato e qualificato, e vengono espresse in maniera uniforme, in grani di polline o spore per m^3 di aria campionata nelle precedenti 24 ore. L'efficienza del campionamento con il rotorod decresce con il diminuire delle dimensioni della particella (per es. si passa da un 10% di efficienza per particelle con dimensioni di $7 \mu\text{m}$ a una efficienza del 100% per particelle di $25 \mu\text{m}$).⁴⁷ In generale le spore fungine (diametro compreso tra $1 \mu\text{m}$ e $100 \mu\text{m}$, in media: $7-12 \mu\text{m}$) sono più piccole dei grani pollinici (diametro medio: $20-70 \mu\text{m}$). I più recenti apparecchi per la raccolta di pollini e spore comprendono alcuni campionatori di tipo inerziale, che favoriscono l'impatto attraverso fenomeni di suzione. Questi apparecchi presentano due aspetti di interesse: un'efficienza maggiore per la cattura delle particelle più piccole e la possibilità di continuare la campionatura per periodi più lunghi che vanno da 1 a 5 giorni. Benché le conte sporo-polliniche possano essere rese di pubblico dominio molto rapidamente, mediante i bollettini meteo ed i giornali locali, la loro reale utilità è limitata dal fatto che i dati si riferiscono comunque ad osservazioni relative almeno alle 24 ore precedenti la loro diffusione.

CONCLUSIONI

Numerose indagini diagnostiche sono impiegate per cercare di rendere più accurata la diagnosi e migliore la gestione dei soggetti allergici. Il clinico, però, dovrebbe sempre avere in mente che tutte le analisi *in vitro* ed *in vivo* possono essere soggette ad interferenze od errori. Pertanto, è sempre opportuno e prudente valutare criticamente qualsiasi risultato di indagini di laboratorio *in vitro* o *in vivo* non coerente con la storia clinica raccolta in maniera accurata. In questi casi c'è indicazione a ripetere un test *in vivo* in un giorno differente o un test *in vitro* in un altro laboratorio o su un campione di sangue differente. Test che indagano gli stessi parametri con

metodi diversi possono sembrare ridondanti, ma possono essere utili nel confermare un dato clinico, in quanto l'utilizzo di metodiche differenti (per es. la ricerca delle stesse IgE allergene-specifiche su cute e su siero) può consentire di misurare differenti sottotipi della risposta anticorpale IgE. È molto importante non tener conto del singolo risultato di un'indagine di laboratorio ma considerare che i dati ricavati dall'esame obiettivo e dalla storia clinica sono quelli che indirizzano la diagnosi. Il clinico dovrebbe mantenere un costante atteggiamento di sano scetticismo nei confronti dei risultati delle indagini diagnostiche, verificando sempre i controlli di qualità e la validità dei reagenti diagnostici che utilizza *in vivo*, e gli standard di qualità dei laboratori dove sono eseguiti i test *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

1. Ishizaka K, Ishizaka T. Physicochemical properties of reaginic antibody. I. Association of reaginic activity with an immunoglobulin other than gamma A or gamma G globulin. *J Allergy* 1967;37:169-72.
2. Johansson SGO, Benich H. Immunological studies of an atypical (myelo-ma) immunoglobulin. *Immunology* 1967;13:381-94.
3. Barbee RA, Halomen M, Lebowitz M, Burrows B. Distribution of IgE in a community population sample: correlation with age, sex and allergen skin test reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:106-12.
4. Wittig HJ, Belloit J, DeFillippi I, Royal G. Age related serum IgE levels in healthy subjects and in patients with allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:305-9.
5. Buckley RH, Wray BB, Belmaker EZ. Extreme hyperimmunoglobulinemia E and undue susceptibility to infection. *Pediatrics* 1972;49:59-65.
6. Matsson P, Hamilton RG, Adkinson NF Jr, Esch R, Homburger HA, Maxim P, et al. Evaluation methods and analytical performance characteristics of immunologic assays for human immunoglobulin E (IgE) antibodies of defined allergen specificities. Wayne (PA): National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Approved guideline. 1997;17:24.
7. Chapman MD, Smith AM, Vailes LD, Arruda LK, Dhanaraj V, Pomes A. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:409-18.
8. Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, Enrique E, Cistero-Bahima A, Haase T, et al. Component resolved diagnosis with recombinant allergens in patients with cherry allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:167-73.
9. Hamilton RG. Assessment of human allergic diseases. In: RR Rich, TA Fleisher, WT Shearer, HW Schroeder, B Kotzin, editors. *Clinical immunology: principles and practice*. 2nd ed. London: Mosby; 2001. p. 124.1-14.
10. Kurtz MK, Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Role and application of provocation in the diagnosis of occupational latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;83:634-9.
11. Brown RH, Schauble JA, Hamilton RG. Prevalence of latex allergy in occupationally exposed healthcare workers: identification of sensitised but non-symptomatic latex allergic anesthesiologists. *Anesthesiology* 1998;89:292-9.
12. Norman PS, Peebles RS. In vivo diagnostic allergy testing methods. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2002. p. 875-90.
13. Nelson HS, Lahr J, Buchmeier A, McCormick D. Evaluation of devices for skin prick testing. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:153-6.
14. van der Veen MJ, Mulder M, Witteman AM, van Ree R, Aalberse RC, Jansen HM, et al. False positive skin prick test responses to commercially available dog dander extracts caused by contamination with house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:1028-34.
15. Antico A, Lima G, Arisi M, Ostan A, Morrica B. Assay of prick test inoculum volume. II. Average values and individual variability. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;85:145-9.
16. Belin LG, Norman PS. Diagnostic tests in the skin and serum of workers sensitized to *Bacillus subtilis* enzymes. *Clin Allergy* 1977;7:55-68.
17. Turkeltaub PC, Rastogi SC, Baer H, Anderson MC, Norman PS. A standardized quantitative skin test assay for allergen potency and stability: studies on the allergen dose-response curve and effect of wheal, erythema and patient selection on assay results. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:343-52.
18. McCann WA, Ownby DR. The reproducibility of the allergy skin test scoring and interpretation by board-certified/board eligible allergists. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89:368-71.
19. Wide L, Bennich H, Johansson SGO. Diagnosis by an in vitro test for allergen specific IgE antibodies. *Lancet* 1967;2:1105-9.
20. Wood RA, Phipatanakul W, Hamilton RG, Eggleston PA. A comparison of prick skin tests, intradermal skin tests and the radioallergen sorbent test in the diagnosis of cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:773-9.
21. Golden DBK, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Hamilton RG, Lichtenstein LM. Insect sting allergy with negative venom skin tests. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:897-901.
22. Sampson HA. Utility of food specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:891-6.
23. Sampson HA, Ho DG. Relationship between food specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:444-51.
24. Yunginger JW, Ahlstedt S, Eggleston PA, Homburger HA, Nelson HS, Ownby DR, et al. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1077-84.
25. Hamilton RG, Peterson EL, Ownby DR. Clinical and laboratory based methods in the diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:S47-56.
26. Rance F, Abbal M, Lauwers-Cances V. Improved screening for peanut allergy by the combined use of skin prick tests and specific IgE assays. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:1027-33.
27. Biagini RE, Krieg EF, Pinkerton LE, Hamilton RG. Receiver operating characteristics analyses of Food and Drug Administration cleared serological assays for natural rubber latex specific immunoglobulin E antibody. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:1145-9.

28. Bernstein IL. Proceedings of the task force on guidelines for standardizing old and new technologies used for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:487-526.
29. Diagnostic allergy (SE) proficiency survey for North America, cycle A. Northfield (IL): College of American Pathologists. 2002. p. 1-7.
30. Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: establishing a standard. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1221-30.
31. Hamilton RG. Responsibility for quality IgE antibody results rests ultimately with the referring physician. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;86:353-4.
32. Hamilton RG, Wisenauer JA, Golden DB, Valentine MD, Adkinson NF Jr. Selection of Hymenoptera venoms for immunotherapy based on patient's IgE antibody cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:651-9.
33. Lichtenstein LM, Holtzman NA, Burnett LS. A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody. *J Immunol* 1968;101:317-21.
34. Golden DBK, Lawrence ID, Hamilton RG, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Clinical correlation of the venom specific IgG antibody level during maintenance venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:386-93.
35. Zacharisen MC, Schuleter DR, Kurup VP, Fink JN. The long-term outcome in acute, subacute and chronic forms of pigeon breeder's disease hypersensitivity pneumonitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;88:175-82.
36. Fan LL. Hypersensitivity pneumonitis in children. *Curr Opin Pediatr* 2002;14:323-6.
37. Duff Hogan A, Schwartz LB. Markers of mast cell degranulation. *Methods* 1997;13:43-52.
38. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren SL, Zweiman B, Worobec AS, et al. The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995;96:2702-10.
39. Levy D, Osler A. Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena. XIV. Passive sensitization in vitro of human leukocytes to ragweed pollen antigen. *J Immunol* 1966;97:203-12.
40. Schroeder JT, Kagey-Sobotka A. Assay method for measurement of mediator and markers of allergic inflammation. In: Rose NR, Conway de Macario E, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; p. 899-907.
41. Chai H. Bronchial challenges. *Clin Rev Allergy Immunol* 1998;6:231-43.
42. Naclerio RM, Norman PS, Fish JE. In vivo methods for study of allergy: mucosal tests, techniques and interpretation. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, editors. *Allergy: principles and practice*. 3rd ed. St. Louis (MO): Mosby; 1988. p. 437.
43. Hamilton RG, Chapman MD, Platts-Mills TAE, Adkinson NF Jr. House dust aeroallergen measurements in clinical practice. A guide to allergen free home- and work- environments. *Immunol Allergy Practice* 1992;14:96-112.
44. Hamilton RG, Eggleston PA. Environmental allergen analyses. *Methods* 1997;13:53-60.
45. Bush RK, Portnoy JM. The role and abatement of fungal allergens in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:S430-40.
46. Solomon WR. Techniques of air sampling. In: Sheldon JM, Lovell RM, Mathews KP, editors. *Manual of clinical allergy*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1967.
47. Edmonds RL. Collection efficiency of rotorod samplers for sampling fungal spores in the atmosphere. *Plant Disease Reporter* 1972;56:704-9.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

La maggior parte dei test in vivo e in vitro presi in considerazione in questo capitolo e abitualmente utilizzati nella pratica clinica, è rivolta alla diagnosi eziologica delle malattie da ipersensibilità IgE-mediata.

Va peraltro rilevato che in molte forme di “malattie allergiche” non è dimostrabile un meccanismo IgE-mediato (come ad esempio in alcune forme di asma, rinite e congiuntivite o nella maggior parte delle forme di orticaria-angioedema). La valutazione clinica e di laboratorio di queste forme manca pertanto, a tutt'oggi, di test adeguati per una loro migliore caratterizzazione fisiopatologica.

D'altra parte, anche per forme IgE-mediate, quali la maggior parte delle allergopatie respiratorie, le attuali linee guida (GINA, ARIA) tendono a sminuire il valore della diagnosi eziologica, privilegiando nei loro criteri diagnostico-classificativi e nei relativi schemi di trattamento, il grado di gravità e di controllo dell'inflammazione piuttosto che la valutazione dei fattori che la provocano.

Pur non disconoscendo il valore clinico-pratico della diagnostica eziologica dell'ipersensibilità IgE-mediata per un'adeguata identificazione di specifici fenotipi di malattia, va comunque sottolineato come la diagnostica delle “malattie allergiche” sia tuttora imperfetta per l'esiguità di test in vivo e in vitro relativi a fenotipi di malattie allergiche non IgE-mediata, nonché per l'obiettività del grado di inflammation allergica e della sua modulazione a seguito del trattamento. Crescente attenzione dovrebbe essere pertanto rivolta in futuro a quest'ultimo tipo di parametri diagnostici che al momento attuale sono limitati alla determinazione degli eosinofili circolanti o tissutali e dei loro prodotti (ECP)¹ o di variabili correlate all'inflammazione locale per la quale esiste un crescente interesse (ad esempio determinazione dell'ossido nitrico-NO-esalato)^{1,3}.

Maggiore attenzione e più ampio impiego andrebbero anche rivolti ai test per lo studio della reattività d'organo non specifica⁴, in quanto capaci di consentire lo studio della reattività dei bronchi o della mucosa nasale e congiuntivale indipendentemente dal fatto che questa sia indotta da meccanismi IgE-mediati o non IgE-mediati.

Per quanto riguarda le forme di ipersensibilità IgE-mediata un certo interesse è stato di recente rivolto ad una diagnostica in-vitro che utilizza proteine allergeniche purificate naturali e/o ricombinanti al posto dei classici estratti allergenici⁵.

Nel campo delle allergie respiratorie ad inalanti stagionali, tale approccio offre la possibilità di distinguere la reattività IgE-mediata nei confronti degli allergeni maggiori specie-specifici da quella dovuta a pan-allergeni altamente cross-reagenti (quali, ad esempio, profilina e calcium-binding proteins), rappresentando uno strumento di una certa utilità nella diagnostica di pazienti polisensibilizzati (se si tratti cioè di una poli-sensibilizzazione o di una sensibilizzazione a pan allergeni). Tale quesito diagnostico riguarda anche pazienti polireattivi a micofiti, i quali possono essere sensibilizzati a proteine allergeniche cross-reagenti come l'enolasi.

Nel campo delle allergie alimentari è stato riportato che l'approccio molecolare possa essere utile per distinguere componenti allergeniche labili o stabili o proteine cross-reattive con allergeni inalanti⁴.

La diagnostica allergenica molecolare è oggi possibile applicando uno dei più diffusi metodi di determinazione delle IgE specifiche (Immuno-CAP, Phadia) allo studio di allergeni quali quelli di Graminacee, Parietaria, Betulla, Olivo, Dermatofagoidi, Aspergillus, Lattice di gomma e alimenti.

Recentemente è stata anche introdotta una metodica per lo studio contemporaneo mediante microarray di circa novanta specificità allergeniche utilizzando pochi microlitri di siero (ISAC, Phadia).

Il reale significato clinico di tale approccio di diagnostica molecolare è tuttora oggetto di studio, risultando forse più utile per una migliore fenotipizzazione delle forme IgE-mediate piuttosto che per nuove forme di terapia che impieghino allergeni ricombinanti.

Riferimenti bibliografici

1. **The clinical utility of biomarkers in asthma and COPD**
Snell L, Newbold P
Curr Opin Pharmacol. 2008;8:222-35
2. **Tailored interventions based on exhaled nitric oxide versus clinical symptoms for asthma in children and adults**
Petsky HL, Cates LJ, Li AM, et al.
Cochrane Database Syst Rev 2008 Ago. 16(2): CD 006340
3. **Exhaled breath condensate in patients with asthma: implications for application in clinical practice**
Kostikas K, Koutsokera A, Papiris S, et al.
Clin exp allergy 2008;38:557-65.

4. **Nonspecific provocation of target organs in allergic diseases: EAACI-GA²LEN consensus report**
Bonini S, Rasi G, Brusasco V, Carlsen KH, et al.
Allergy 2007;62(6):683-94
5. **Allergy testing. The role of recombinant allergens**
Mothes N, Valenta R, Spitzauer S, et al.
Clin Chem Lab Med 2006;44:125-32

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Negative venom skin test results in patients with histories of systemic reaction to a sting

GoldenDBK, Tracy JM, Freeman TM, Hoffman DR, for the Insect Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology
September 2003 (Vol. 112, Issue 3, Pages 495-98)

Development and validation of challenge materials for double-blind, placebo-controlled food challenges in children

Vlieg-Boerstra B J, Bijleveld CHA, van der Heide S, Beusekamp BJ, Wolt-Plompen SAA, Kukler J, et al
February 2004 (Vol. 113, Issue 2, Pages 341-6)

In vitro assays for the diagnosis of IgE-mediated disorders

Hamilton RG and Adkinson NF
August 2004 (Vol. 114, Issue 2, Pages 213-25)

Current approach to the diagnosis and management of adverse reactions to foods

Sicherer SH, Teuber S, for the Adverse Reactions to Food Committee
November 2004 (Vol. 114, Issue 5, Pages 1146-50)

Update on food allergy

Sampson HA
May 2004 (Vol. 113, Issue 5, Pages 805-19)

The diagnosis and management of anaphylaxis: An updated practice parameter

Phillip Lieberman, Stephen F. Kemp, John Oppenheimer, David M. Lang, I. Leonard Bernstein, et al
March 2005 (Vol. 115, Issue 3, Pages S483-S523)

Comparison of test devices for skin prick testing

Car WW, Martin B, Howard RB, Cox L, Borish L, the Immunotherapy Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology
August 2005 (Vol. 116, Issue 2, Pages 341-46)

Advances in allergic skin disease, anaphylaxis, and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insects in 2007

Scott H. Sicherer, Donald Y.M. Leung
June 2008 (Vol. 121, Issue 6, Pages 1351-1358)

24. La valutazione clinica e laboratoristica dell'immunità

Specifici test di laboratorio permettono di stabilire la diagnosi di immunodeficienza, sia essa immunodeficienza ereditaria (primaria) o immunodeficienza acquisita (secondaria). La valutazione clinico-immunologica dei pazienti con sospetta immunodeficienza segue una metodologia che parte dai test di screening per arrivare ai test più sofisticati. Spesso l'anamnesi e l'esame clinico del paziente forniscono le informazioni necessarie a stabilire il livello di ingresso nel percorso diagnostico. Sono disponibili specifici test per valutare i quattro meccanismi immunologici basilari di difesa dell'ospite: anticorpi, cellule T, fagociti, e complemento. Il laboratorio di immunologia clinica costituisce un importante strumento nella valutazione iniziale dei disordini delegati all'immunodeficienza e per lo sviluppo di test più sofisticati in pazienti selezionati.

Negli ultimi 10 anni c'è stato un rapido aumento delle conoscenze scientifiche su eziologia e patogenesi di un gran numero di immunodeficienze primarie. La ricerca nell'immunologia di base e clinica e nella genetica ha consentito di conseguire importanti avanzamenti nella comprensione dei disordini immunitari. La valutazione dell'immunità è diventata più complessa e sofisticata. Molti dei nuovi metodi diagnostici richiedono tecniche e reagenti sofisticati e restano nel campo del laboratorio di ricerca. In questa sezione illustreremo un percorso che prevede l'utilizzo dei test più semplici per le fasi iniziali dello studio dell'immunità, per poi passare in rassegna i metodi più specifici e sofisticati. Le figure 1 e 2 illustrano schematicamente i prodotti e le funzioni dei linfociti B e T. È inoltre inclusa una breve descrizione di un approccio alla valutazione dei componenti dell'immunità innata: cellule NK, neutrofili polimorfonucleari e complemento. L'approccio delineato in questa sezione dovrebbe permettere la valutazione iniziale dell'immunità e fornire le indicazioni per ulteriori accertamenti.

Valutazione dell'immunità umorale

Esistono diversi difetti relativamente ben definiti nel braccio umorale della risposta immune¹. In generale, alcuni indizi, come lo sviluppo di numerose infezioni nell'infanzia e la loro mancata risoluzione dopo un'appropriate terapia antibatterica, portano al sospetto di una deficienza dell'immunità umorale o dei linfociti B. L'anomalia dei linfociti B può essere relativamente lieve e creare solo sporadici problemi, o può risultare in una

Abbreviazioni utilizzate:

B cell:	Linfocita B/B Lymphocyte
CBC:	Complete blood count/Emocromo completo
CH50:	Attività emolitica totale del complemento/Total hemolytic complement
cpm:	Conta per minuto/Counts per minute
C1, C2, C3, etc:	Componenti del complemento da 1 a 9
DTH:	persensibilità ritardata/Delayed-type hypersensitivity
ELISPOT:	Enzyme-linked immunospot
FCM:	Citometria di flusso/Flow cytometry
Ig:	Immunoglobuline/Immunoglobulin
LAD:	Deficit di adesione dei leucociti/Leukocyte adhesion deficiency
NADPH:	Nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate reduced)
NBT:	Nitroblu di tetrazolo/Nitroblue tetrazolium
NK:	Natural killer
PBCM:	Cellule periferiche mononucleari/Peripheral blood mononuclear cells
PMN:	Neutrofili polimorfonucleari/Polymorphonuclear neutrophil
PPD:	Derivato proteico purificato/Purified protein derivative
PWM:	Mitogeno pokeweed-Pokeweed mitogen
T cell:	Linfocita T/T Lymphocyte

grave deficienza con la completa incapacità a sintetizzare e secernere anticorpi.

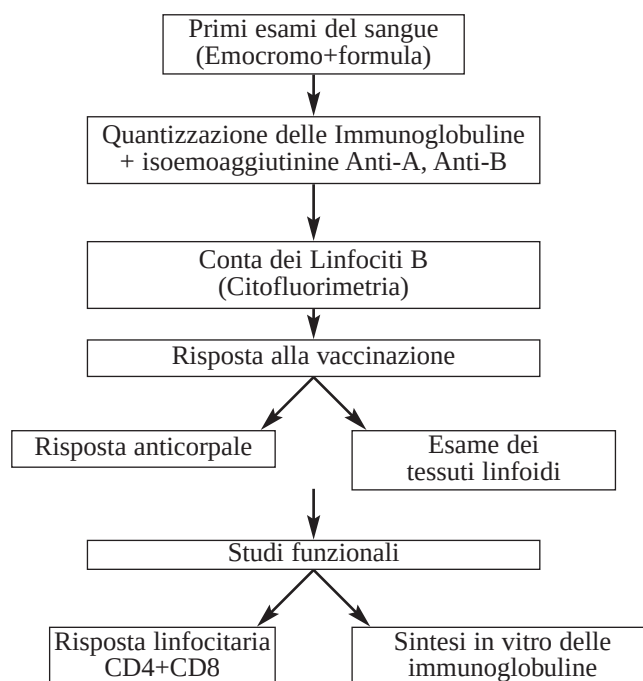
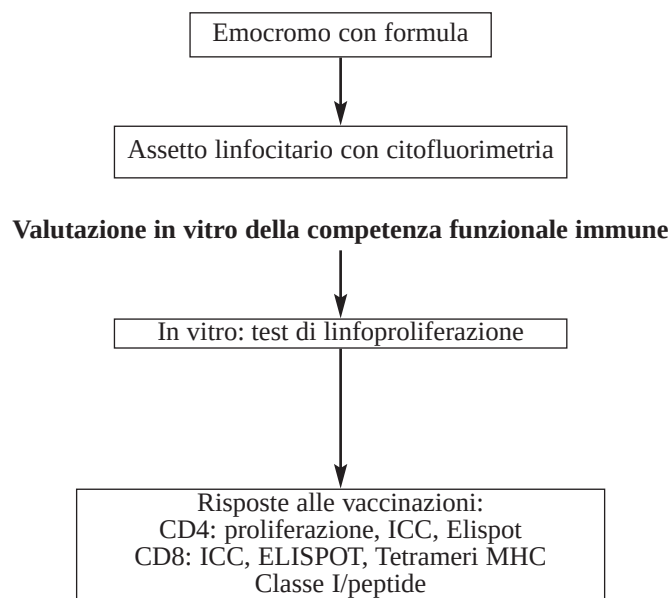
La natura dell'agente infettivo e l'età del paziente sono quasi sempre le prime indicazioni della necessità di valutare le immunodeficienze dei linfociti B. È importante notare la tipologia delle infezioni che si verificano nell'infanzia. Ripetute infezioni causate da organismi patogeni comuni, come *Streptococcus Pneumoniae*, *Staphylococcus Aureus*, *Haemophilus Influenzae* tipo b, e *Neisseria Meningitidis* possono costituire indicatori significativi per la valutazione della maggior parte delle immunodeficienze ereditate (Tavola 1). Condizioni ricorrenti o non completamente risolte, come otite, sinusite, bronchite, faringite o congiuntivite sono importanti fattori da tenere in considerazione. Alcuni pazienti con grave agammaglobulinemia possono non rispondere ai tossoidi vaccinali e possono sviluppare gravi infezioni in seguito alla somministrazione di vaccini virali attenuati. (Vedi capitolo 12 per una descrizione più completa delle immunodeficienze umorali).

In figura 1 è rappresentato uno schema dei test di laboratorio esistenti per la valutazione dell'immunocompeten-

Traduzione italiana del testo di:

James D. Folds e John L. Schmitz

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S702-711

Sospetto ragionevole di un difetto dei linfociti B**FIG 1.** Schema per la valutazione dell'immunità umorale**Sospetto ragionevole di difetto della risposta cellulo-mediata****FIG 2.** Schema per la valutazione dell'immunità cellulare

za dei linfociti B. L'analisi iniziale può essere eseguita nei normali laboratori ospedalieri. La valutazione della risposta immunitaria umorale inizia solitamente con la conta completa e differenziale delle cellule del sangue. Nella maggior parte delle immunodeficienze B, la conta linfocitaria non è particolarmente indicativa, in quanto

può essere sia normale che significativamente diminuita, ma rappresenta comunque il primo passo per la documentazione della presenza di linfociti. Il passo successivo nella valutazione dell'immunocompetenza umorale include la quantizzazione del livello sierico e delle classi delle immunoglobuline. I livelli norma-

TABELLA I. Agenti infettivi frequentemente associati a immunodeficienze

Deficit umorali o dei linfociti B
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Giardia lamblia</i>
Deficit cellulari o dei linfociti T
<i>Mycobacteria species</i>
<i>Salmonella species</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Pneumocystis carinii</i>
Miceti
Virus
Immunodeficienze combinate umorali e cellulari
<i>Candida albicans</i>
<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Aspergillus species</i>
Virus (specialmente herpes virus)
Deficit del sistema fagocitico o delle cellule fagocitarie
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Klebsiella species</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Enterobacter</i>
<i>Serratia marcescens</i>
<i>Salmonella species</i>
<i>Pseudomonas species</i>
Deficit del complemento
<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

TABELLA II. Designazione CD con più comuni anticorpi monoclonali usati (singoli o in combinazione) in citofluorimetria.

Antigene	Cellula bersaglio riconosciuta
CD3	Cellule T - tutte
CD3+CD4	Cellule T helper
CD3+CD8	Cellule T citotossiche
CD16+CD56	Cellule NK
CD19 o CD20	Cellule B
CD25	Cellule attivate
CD38	Cellule attivate
CD45	Leucociti tutti
CD45RO+CD4 o CD8	Cellule T di memoria
CD45RA+CD62L+CD4 o CD8	Cellule T naive

li di immunoglobuline dipendono da diversi fattori, tra cui l'età e il sesso dell'individuo, il suo background etnico e genetico. Le immunoglobuline primarie normalmente misurate nel siero sono le IgG, IgA, e IgM. La determinazione dei livelli di IgE e IgD richiede test più specialistici. In alcune circostanze può essere importante misurare i livelli sierici delle sottoclassi delle IgG. Sono disponibili valori normali o valori di riferimento per tutte le classi di immunoglobuline e sottoclassi delle IgG, in relazione all'età del paziente e ai differenti metodi di misurazione². I livelli di immunoglobuline dovrebbero essere determinati in ogni paziente con sospetta immunodeficienza. Sono impiegati diversi metodi standardizzati e ben defini-

ti per la determinazione del livello di immunoglobuline³. Il metodo classico, l'immunodiffusione singola radiale, è stato il metodo standard per molti anni, ma la maggior parte dei laboratori clinici utilizzano ora alcune forme di nefelometria per la misurazione totale dei livelli di immunoglobuline, delle loro classi e delle sottoclassi delle IgG. La nefelometria è una modificazione della reazione alle precipitine. Essa si basa sulla misurazione della percentuale di formazione di immunocomplesso solubile come rilevato dalla interferenza alla diffusione della luce. I risultati sono espressi in unità di densità ottica, rapportate ad una curva standard e convertite a milligrammi per decilitro. Queste reazioni alle precipitine avvengono in condizione di eccesso di anticorpi, cosicché quando la concentrazione di antigene aumenta, aumenta anche l'interferenza alla diffusione della luce. I metodi di nefelometria automatizzati permettono dosaggi altamente riproducibili per la quantizzazione delle IgG, IgA, IgM e delle sottoclassi IgG nel siero o in altri fluidi⁴.

In base ad età e gruppo sanguigno del paziente (ad eccezione del gruppo AB) è possibile misurare le isoemoagglutinine anti-A e anti-B nel siero. Queste sono prevalentemente anticorpi di classe IgM. Il riscontro di isoemoagglutinine in un paziente sospettato di essere ipo- o agammaglobulinemico dimostra la sua capacità di sintetizzare anticorpi. Titoli di isoemoagglutinine bassi o assenti in un paziente che non abbia il gruppo sanguigno AB può essere indicativo di bassa sintesi di IgM e dovrebbe suggerire la necessità di ulteriori studi.

Se i livelli di immunoglobuline del siero sono eccessivamente alti in un paziente con infezioni ripetute, particolarmente se adulto, può essere importante effettuare l'elettroforesi delle proteine sieriche, per verificare la presenza di una paraproteina (con la morfologia elettroforetica di picco monoclonale) come prova di un disordine linfoproliferativo. Alti livelli sierici di immunoglobuline possono essere indice di infezione da HIV.

In alcune circostanze può essere utile misurare il numero dei linfociti B circolanti per cercare di individuare la causa l'immunodeficienza. I linfociti B hanno caratteristici antigeni di superficie che possono essere rilevati con diversi metodi: più frequentemente si utilizza la combinazione di anticorpi monoclonali e citometria di flusso (FCM)⁴. Sono stati sviluppati anticorpi monoclonali per i markers di superficie cellulare delle cellule ematiche, che sono stati attentamente definiti e standardizzati attraverso l'uso della FCM⁵. Per identificare i linfociti B vengono usati diversi markers specifici (Tabella 2); quelli più comunemente utilizzati sono CD19 e CD20. I normali linfociti B periferici (definiti con l'utilizzo di anti-CD19, anti-CD 20 o entrambi) costituiscono tra il 4 e il 10 % dei linfociti. Un numero marcatamente inferiore di cellule B nel sangue periferico può suggerire una possibile immunodeficienza correlata ad un deficit del differenziamento delle cellule B⁶.

Anticorpi monoclonali e citofluorimetria possono essere anche impiegati per caratterizzare ulteriormente i linfociti B e le altre popolazioni cellulari del sangue, la funzione dei T e dei B-linfociti, e per quantificare il numero dei linfociti citotossici e helper nel sangue periferico. Le cellule T helper sono definite dalla reattività con l'anticor-

po anti-CD4, mentre quelle citotossiche sono identificate dalla reattività con l'anticorpo anti-CD8. La riduzione dei linfociti T CD4+ è associata all'infezione da HIV e può contribuire all'incapacità a montare una risposta immune umorale primaria⁷.

In base ad età e storia delle vaccinazioni di un paziente per il quale si sospetti una immunodeficienza B, si può misurare la risposta anticorpale agli agenti usati per la vaccinazione. La maggior parte dei bambini riceve un ciclo di vaccinazioni nel primo anno di vita. Queste vaccinazioni includono solitamente tossoide tetanico e difterico, comuni vaccini virali, e vaccino al polisaccaride C di H. Influenzae tipo b. La presenza di anticorpi indotti da una o più di queste vaccinazioni dovrebbe essere indicativa di un sistema immune umorale intatto. Livelli insolitamente bassi di uno o più anticorpi contro gli antigeni vaccinali può supportare una diagnosi di deficienza cellulare B. In caso di infezioni multiple o ricorrenti dovute allo stesso microrganismo, può essere utile ottenere l'isolamento per determinare se il paziente è incapace di rispondere a quello specifico agente infettivo. Nella deficienza specifica di IgG, gli individui non reagiscono a microrganismi che presentano tipicamente capsule polisaccaridiche⁸. Solitamente non si tratta di infezioni pericolose per la vita; tali manifestazioni possono essere correlate ad una specifica deficienza della sottoclasse IgG2. Questo tipo di immunodeficienza è di solito riconosciuta attraverso una storia clinica dettagliata e l'analisi dei microrganismi infettanti. Comunque, nel deficit delle sottoclassi IgG i livelli totali delle immunoglobuline sieriche possono essere normali o leggermente ridotti: solo la determinazione dei livelli delle sottoclassi IgG può rivelare un decremento in una o più di esse. Sono stati riportati deficit di IgG2 e deficit combinati di IgG2 e IgA⁹.

In alcuni casi di sospetta immunodeficienza dei linfociti B, può essere utile un esame bioptico dei linfonodi periferici. L'esame istologico dei linfonodi drenanti dopo la vaccinazione può mostrare una mancanza di centri germinativi e dei follicoli secondari dei centri germinativi. Nella maggior parte dei casi di deficit B-linfocitari, tutti i tessuti linfoidi, eccetto il timo, sono ipoplasici, mancano di un centro germinativo definito, e sono deficitari in plasmacellule¹⁰.

Per definire la natura di una immunodeficienza umorale possono essere utili studi funzionali sui linfociti B. Questi studi non si fanno normalmente in un laboratorio clinico ma possono essere utili soprattutto per la ricerca di specifici deficit in sottopopolazioni di cellule T-regolatorie e di altri deficit della sintesi e secrezione delle immunoglobuline.

La funzione dei linfociti può essere studiata *in vitro*, isolando i linfociti dal sangue periferico del paziente e mettendoli in coltura con agenti mitogeni, ossia sostanze che causano proliferazione o differenziamento dei linfociti. Gli effetti della stimolazione mitogenica possono essere misurati come turnover del DNA con diversi metodi. Il mitogeno Pokeweed (PWM- fitolacca americana) è un derivato di una pianta, che induce sia le cellule T che le B alla proliferazione ed al differenziamento. Come per la maggior parte dei mitogeni, sia le cellule T che le B devono essere presenti, in quanto la PWM richiede la

presenza di cellule T per indurre un effetto mitogeno sui linfociti B. Altri mitogeni, come S.Aureus ucciso (proteina A, ceppo Cowan 1) possono essere usati per stimolare le cellule B alla proliferazione e al differenziamento. Questi tipi di studi possono essere utili nel determinare la natura del difetto B-cellulare in individui con sospetta deficienza dei linfociti B.

La capacità dei linfociti B di sintetizzare e secernere le immunoglobuline *in vitro* può essere impiegata per valutare la funzione B-linfocitaria. I linfociti B (da pazienti e controlli) possono essere stimolati *in vitro* con antigeni o mitogeni e, con l'uso di metodi sensibili, può essere rilevata la secrezione immunoglobulinica. Ovviamente, nella coltura *in vitro* sono secrete quantità molto piccole di immunoglobuline e per il rilevamento è necessario impiegare il radioimmunoassay o l'enzyme-linked immunosorbent assay. Sono disponibili diversi metodi, ma si tratta di tecniche altamente specialistiche da impiegare per delineare più approfonditamente il deficit immunitario.

L'immunità umorale può essere valutata con numerose metodiche laboratoristiche, da banali indagini di routine molto semplici come la conta totale e differenziale delle cellule ematiche ed il dosaggio delle immunoglobuline sieriche, alle complesse tecniche del laboratorio di ricerca, che misurano i potenziali deficit dell'immunoregolazione. I metodi disponibili permettono di individuare e caratterizzare accuratamente le deficienze B-linfocitarie attualmente note.

La valutazione dell'immunità cellulo-mediata

Le risposte immuni cellulo-mediate sono dovute a complesse interazioni tra cellule presentanti l'antigene che catturano, processano ed espongono gli antigeni estranei in modalità MHC-ristretta, e linfociti T che possiedono recettori antigene-specifici. Questa fase di riconoscimento è seguita dall'attivazione cellulare, l'elaborazione di mediatori solubili, proliferazione, ed attività citotossica. Difetti di una di queste fasi della risposta possono portare ad un'aumentata suscettibilità alle infezioni o ai tumori (tabella 1). Deficit isolati delle cellule T sono relativamente rari, per l'importante ruolo che le cellule T giocano nella generazione della risposta anticorpale.

Come i difetti dell'immunità umorale, i deficit cellulo-mediate sono associati a infezioni frequenti o gravi, solitamente del sistema respiratorio, della cute, o dell'intestino, che possono essere difficili da trattare con terapie standard. In contrasto rispetto ai deficit del sistema immunitario umorale, i deficit dell'immunità cellulo-mediata sono associati a infezioni causate da organismi intracellulari, in particolare organismi virali e fungini che, nell'ospite immunocompetente, non sono virulenti. Difetti congeniti dell'immunità cellulo-mediata possono presentarsi nei primissimi mesi dopo la nascita e possono manifestarsi come un deficit della crescita in aggiunta all'infezione. Gli anticorpi materni non ritardano la manifestazione dei deficit cellulo-mediate¹.

La valutazione del sistema immunitario cellulo-mediato è ovviamente importante per la diagnosi e il monitoraggio di questi tipi di deficit^{11,13}. Inoltre, può essere utile per la diagnosi di infezioni¹⁴, per monitorare gli effetti di una

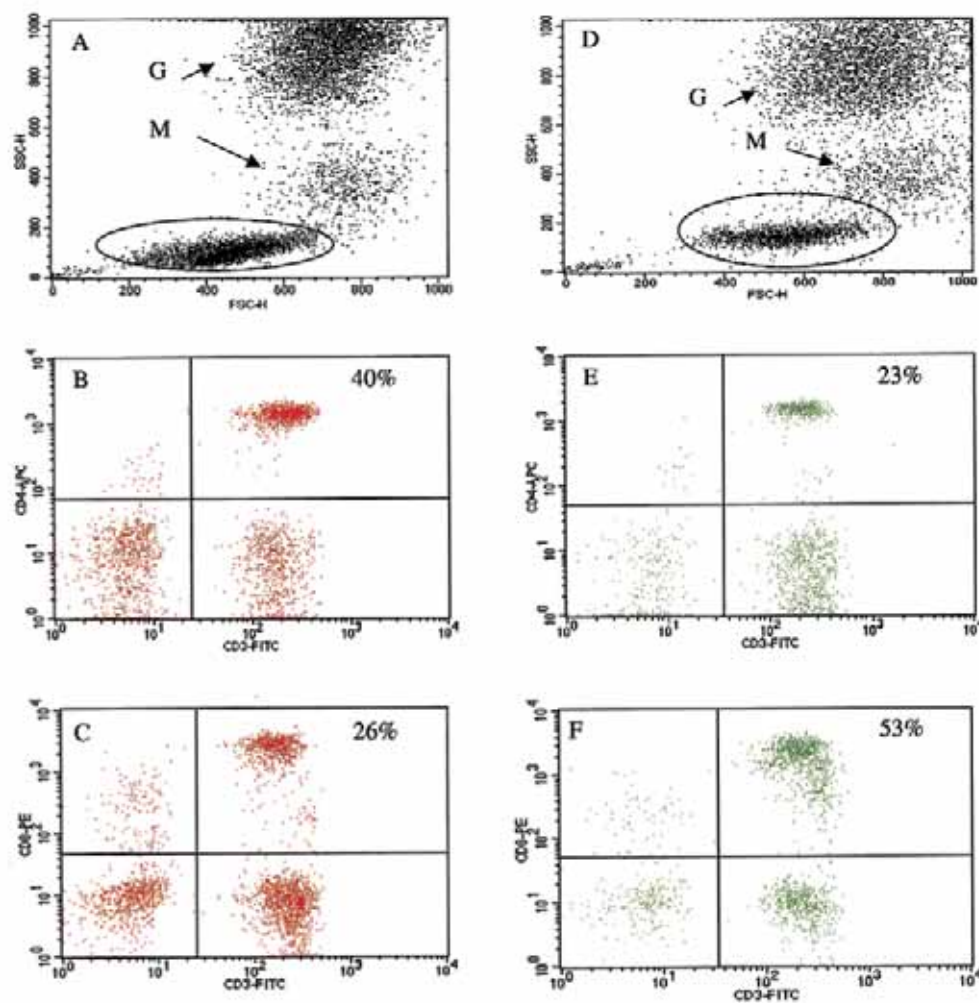


FIG 3. Analisi dei linfociti T CD4 e CD8 mediante citofluorimetria. nei pannelli a punti a doppio parametro da A a C è rappresentato un paziente normale (Donatore HIV sieronegativo). I pannelli da D a F sono rappresentativi di un donatore sieropositivo per HIV. I pannelli A e D rappresentano un citogramma a punti in cui si individuano le popolazioni di linfociti (ovale), di monociti (M) e di granulociti (G). In B ed E si vedono le proporzioni di linfociti T helper con doppia positività CD3/CD4 (visibili in A nell'ovale). In C ed F si vede la proporzione di linfociti T citotossici con doppia positività CD3/CD8. Si noti l'inversione del rapporto CD4: CD8 nel donatore HIV positivo.

terapia immunomodulatoria¹⁵, e per valutare la risposta ad una vaccinazione. La lista delle sue applicazioni crescerà probabilmente appena saranno scoperte le terapie per i disordini immuno-mediati e le ultime tecnologie diventeranno di uso comune.

Un'iniziale analisi dell'integrità del sistema immunitario cellulo-mediato si ottiene con la conta totale e differenziale delle cellule ematiche (CBC). Con questa valutazione è possibile determinare la proporzione e il numero assoluto delle maggiori linee cellulari. La linfopenia può associarsi a severi deficit congeniti cellulo-mediati. Ciò non avviene comunque in tutte le deficienze, né è associato a specifiche forme di immunodeficienza; per questo motivo è giustificata una analisi più dettagliata, che includa gli specifici subsets cellulari e la valutazione del loro fenotipo e delle loro caratteristiche funzionali¹.

Immunofenotipizzazione delle cellule attraverso citometria di flusso (FCM)

La citometria a flusso (FCM) è usata per determinare la

proporzione e il numero assoluto dei sottogruppi linfocitari e degli altri tipi cellulari⁴. Il vantaggio di questa tecnologia per la tipizzazione cellulare è la sua capacità di analizzare con precisione, rapidamente e obiettivamente un gran numero di cellule.

Le potenzialità della FCM sono dipendenti, in parte, dall'uso di anticorpi monoclonali fluorocromo-marcati. Con i più nuovi strumenti, capaci di misurare la fluorescenza di quattro o più fluorocromi simultaneamente, possono essere utilizzati anticorpi monoclonali multipli, ognuno marcato con un distinto fluorocromo, per identificare subsets molto specifici di cellule in insiemi complessi, come il sangue intero (Fig. 3). È possibile utilizzare anticorpi monoclonali che si legano selettivamente ad uno specifico bersaglio nel grande numero di antigeni di superficie cellulare o antigeni intracellulari per definire lo stato della maturazione, attivazione, e la capacità funzionale di specifici tipi cellulari (Tabella 2). Un pannello immunofenotipico di base per valutare la proporzione dei maggiori subsets cellulari nel sangue periferico include anticorpi per il CD3, CD4, CD8, per identificare i sub-

sets di linfociti T-helper e citotossici; CD19 per tipizzare le cellule B e CD16 e CD56 per tipizzare le cellule NK (Tabella 2)⁵. La citometria a flusso standard fornisce la proporzione di queste cellule nella popolazione linfocitaria. Il numero assoluto di questi vari tipi cellulari può anche essere calcolato come prodotto della proporzione dei subsets rispetto alla conta linfocitaria assoluta. Più di recente, conte assolute affidabili sono state ottenute direttamente con il citofluorimetro per mezzo di biglie di conteggio¹⁶ o di un analizzatore volumetrico che calcoli la frequenza delle cellule in un volume di campione definito¹⁷. La tipizzazione della sottofamiglia cellulare è solo un'applicazione dell'analisi immunofenotipica con FCM. Questa tecnologia può anche essere usata per identificare la presenza o l'assenza di antigeni di superficie o intracellulari critici per il funzionamento del sistema immunitario cellulare. Per esempio, è possibile valutare la presenza di molecole critiche per l'attività delle cellule, come il CD154 (ligando di CD40) sulle cellule T, che è carente in pazienti con sindrome da iper-IgM¹. La citometria a flusso è anche il metodo di scelta da utilizzare per valutare la deplezione di cellule T-CD3 positive in pazienti sottoposti a trapianto trattati con OKT3 o terapia timoglobulina¹⁸.

La tipizzazione del sistema cellulare è un processo di primaria importanza per la valutazione dell'integrità del sistema immunitario. Comunque, la funzionalità di queste cellule può non essere valutabile solo sulla base del loro numero dal numero. Recentemente, sono stati sviluppati molti nuovi metodi sia *in vivo* che *in vitro* che permettono la tipizzazione e la valutazione della funzionalità del sistema immunitario cellulare. Fanno parte di questo elenco la tipizzazione dei T-linfociti CD8 specifici con complesso maggiore di istocompatibilità mediante complessi tetramerici (MHC)/peptide e il rilevamento della produzione di citochine intracellulari antigene-indotte. Questi nuovi metodi giocheranno probabilmente in futuro un ruolo importante nella valutazione dell'immunità.

Il test cutaneo dell'ipersensibilità ritardata

La reazione di ipersensibilità ritardata (DTH) è considerata un indicatore *in vivo* dell'immunità cellulo-mediata. Il test cutaneo DTH può essere un metodo utile per controllare i difetti dell'immunità cellulo-mediata¹³.

Il test cutaneo DTH prevede l'inoculazione intracutanea di una quantità definita di un antigene standardizzato con una siringa da tuberculina (metodo di Mantoux). Per la valutazione dell'immunità cellulo-mediata, vengono utilizzati tre antigeni: il derivato proteico purificato (PPD), la candidina e l'antigene della parotite. È inoltre possibile utilizzare il tossoide tetanico e l'antigene di trichophyton. L'utilizzo di antigeni multipli riduce la possibilità di un risultato falso-negativo da mancata esposizione all'antigene. Il sito di iniezione è monitorato per la presenza di reazione da 48 a 72 ore dopo l'inoculazione dell'antigene. Il risultato positivo è caratterizzato da un indurimento di almeno 2 mm.

La maggioranza di individui immunocompetenti manifesterà una risposta DTH per almeno uno dei tre antigeni. Una mancata risposta per tutti i tre antigeni è indicativa di anergia. Deficienze congenite T-cellulari, neoplasie,

alcune infezioni virali (ad es. HIV) e terapie immunosoppressive possono causare una mancata risposta DTH¹⁹.

Proliferazione *in vitro* dei linfociti

Il test *in vitro* standard per la valutazione della funzione dei linfociti è il dosaggio della proliferazione linfocitaria (LPA). Il test è stato usato per diagnosticare e monitorare pazienti con immunodeficienze primarie e secondarie, per monitorare la terapia immunomodulatoria, per valutare la ricostituzione della funzione immunitaria nei trapianti di midollo osseo e in pazienti HIV sottoposti a una terapia antiretrovirale altamente attiva, per valutare l'istocompatibilità e l'iporeattività donatore-specifica nel trapianto, per valutare l'esposizione a patogeni o allergeni, per valutare la risposta alla vaccinazione¹¹.

L'LPA valuta la capacità dei linfociti di proliferare in risposta a stimoli differenti. Le cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) vengono messe in coltura per 3-7 giorni in presenza di numerosi agenti stimolanti. La durata della coltura dipende dallo specifico agente impiegato; le PBMC sono incubate anche in assenza di stimolo per misurare la quota basale di proliferazione del preparato. Alla fine del periodo di incubazione, i pozzetti della piastra di coltura sono marcati con timidina triaziata (H³-timidina), che è incorporata nel DNA in replicazione. Dopo 6-18 ore, necessarie per l'incorporazione dell'H³-timidina, le cellule sono raccolte e il DNA separato all'interno di dischi di carta filtro. La quantità di H³-timidina incorporata è determinata con uno scintillometro in fase liquida ed espresso come colpi per minuto (cpm). La quantizzazione dell'H³-timidina permette di valutare la capacità proliferativa delle cellule; infatti la quantità incorporata è proporzionale al grado di proliferazione. I risultati dell'LPA sono presentati come indice di stimolazione, che si ottiene dal cpm dei pozzetti stimolati diviso per il cpm dei pozzetti di controllo. I risultati possono anche essere presentati come cpm netto che equivale al cpm dei pozzetti stimolanti meno il cpm dei pozzetti di controllo. Idealmente, dovrebbero essere forniti entrambi i tipi di risultato.

Molti tipi di agenti stimolanti possono essere usati nell'LPA e forniscono informazioni precise sulla capacità funzionale del sistema immunitario cellulare. I mitogeni, incluse le lectine vegetali, quali la fitoemoagglutina o anticorpi anti-CD3, sono potenti stimolanti per la proliferazione. Si tratta di attivatori policlonali che stimolano la proliferazione della maggior parte dei linfociti T presenti nella coltura. Una risposta al mitogeno scarsa o assente indica un grave deficit nell'immunità cellulo-mediata. Gli antigeni "di richiamo", inclusi il tossoide tetanico, l'antigene di *C. Albicans*, e la streptochinasi, inducono risposte proliferative solo in soggetti che sono stati precedentemente esposti. La frequenza delle cellule responsive a questi antigeni è molto inferiore rispetto a quella presente verso i potenti stimolatori policlonali. La valutazione della responsività agli antigeni "di richiamo" è particolarmente utile nello studio della ricostituzione immunitaria²⁰.

Gli LPA sono test complessi, non disponibili nella maggior parte dei laboratori clinici, nonostante forniscano

Valutazione dei polimorfonucleati neutrofili

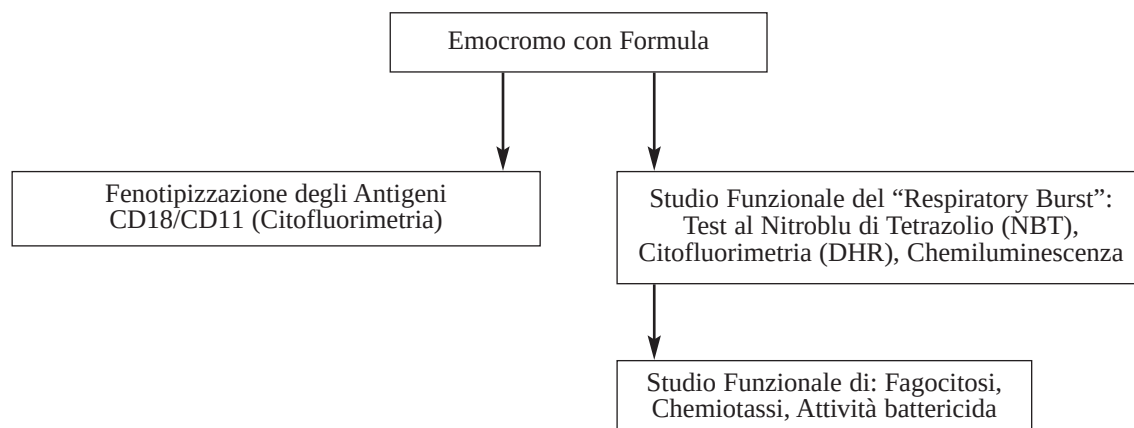


FIG 4. Flow chart per la valutazione funzionale dei neutrofili

informazioni clinicamente rilevanti sullo stato dell'immunità cellulare, il monitoraggio longitudinale degli individui o la comparazione interindividuale è complicata dall'alto grado di variabilità di questi dosaggi. Per questo l'LPA è più adatto a essere utilizzato come indicatore qualitativo piuttosto che quantitativo della funzione dei linfociti.

Analisi delle cellule T CD8

L'attività citolitica è un meccanismo effettore critico per le infezioni virali ed è mediato dalle cellule T CD8. Le prove di citotossicità per la funzione delle cellule T CD8 sono molto complesse, disponibili in laboratori di ricerca, e non saranno considerate in questo capitolo. Recentemente, lo sviluppo dei complessi MHC di classe 1/peptide tetrameric hanno semplificato la tipizzazione delle cellule T CD8 antigene-specifiche²¹.

I complessi tetrameric MHC/peptide sono reagenti composti da quattro molecole MHC di classe 1 legate insieme con un ponte biotina/avidina. Le molecole di classe 1 sono assemblate con un peptide specifico dall'antigene di interesse e anche marcate con un fluorocromo come la ficoeritrina (rilevabile con citofluorimetri standard). Questo complesso imita la presentazione dell'antigene ristretto per classe 1 alle cellule T che presentano il CD8. La configurazione tetrameric aumenta l'affinità di legame alle cellule T CD8 rispetto ad un singolo complesso MHC classe 1/peptide. La maggiore affinità risulta in un legame alla superficie cellulare più stabile e aumenta l'utilità per l'analisi citofluorimetrica. I tetrameri MHC classe 1/peptide possono essere aggiunti al sangue intero o a preparazioni PBMC, insieme ad anticorpi per le cellule T CD8, per valutare la frequenza di cellule T CD8 antigene-specifiche in questi campioni biologici.

La semplicità di questo approccio ha enormemente facilitato l'analisi delle risposte T CD8-mediate a patogeni virali, come l'HIV, e la valutazione della risposta alla vaccinazione. La sua applicazione è limitata dalla neces-

sità di conoscere il fenotipo di classe 1 del paziente e il peptide pertinente dell'agente infettivo, tumore, o vaccino per la produzione del tetramero. I tetrameri di classe 2 sono più problematici da produrre e non sono normalmente disponibili.

Produzione di citochine mitogeno/antigene-indotta

In aggiunta alla proliferazione e alla citotossicità, l'altra importante funzione delle cellule T è la produzione di mediatori solubili, come le citochine, che sono coinvolte in vari aspetti della risposta immunitaria. Ci sono molte situazioni in cui si effettua il rilevamento e la misurazione di questi mediatori, i cui livelli plasmatici sono confrontati in condizioni normali e patologiche²². L'analisi di molte citochine può essere utilizzata per valutare la natura qualitativa della risposta immune come l'analisi Th1/Th2. La secrezione di citochine indotta da mitogeno o antigene nel sangue intero, o in colture PBMC, può essere usata per valutare se la citochina di interesse è prodotta nelle quantità attese in una condizione patologica, o per valutare la risposta alla vaccinazione. Per queste applicazioni, i livelli di citochine sono determinate con test ELISA.

Un terzo e sempre più diffuso obiettivo è la determinazione della secrezione di citochine antigene-indotte per singola cellula come marker per la tipizzazione delle cellule antigene-specifiche²³. Il rilevamento della produzione di citochine a livello della singola cellula permette di identificare ed tipizzare le cellule T CD4 o CD8 antigene-specifiche. Le determinazioni per singola cellula offrono una maggiore semplicità e riproducibilità rispetto ai metodi usati in precedenza, specialmente per la tipizzazione delle cellule T CD8 antigene-specifiche.

I due approcci più frequentemente usati per la valutazione della produzione di citochine nella singola cellula sono l'immunospot enzimatico (ELISPOT) e il rilevamento della produzione intracellulare di citochine.

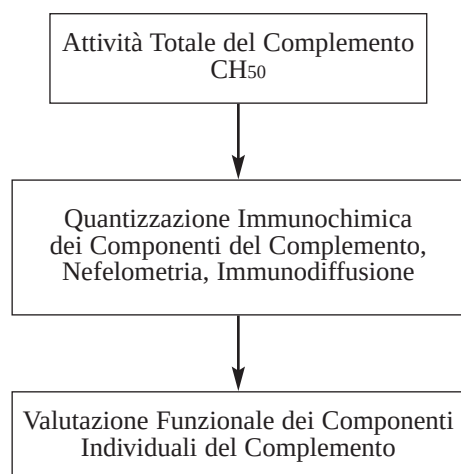


FIG 5. Flow chart per la valutazione del sistema del complemento.

Elispot

Le tecniche ELISPOT²⁴ quantificano le cellule antigene-specifiche in base alla loro produzione di citochine, di solito interferon gamma (IFN γ). PBMC, cellule T CD4 o CD8 purificate, sono incubate in pozzetti contenenti una membrana che è rivestita con un anticorpo di cattura anti-IFN γ . Viene aggiunto un mitogeno o uno specifico antigene (peptide o virus da vaccino ricombinante) e le piastre sono messe in coltura per molte ore. Se nella coltura sono presenti cellule T antigene-specifiche, esse produrranno IFN γ , che è catturato sulla membrana nel sito della sua produzione. Dopo la rimozione delle cellule, l'IFN γ legato è rilevato tramite l'aggiunta di un secondo anticorpo monoclonale specifico per IFN γ . Questo secondo anticorpo è marcato con un enzima che causerà la formazione di un precipitato nel sito della produzione di IFN γ quando viene aggiunto il substrato. Il numero di spots per pozzetto viene diviso per il numero delle cellule inserite per ottenere il numero delle cellule formanti-spot rispetto al numero di cellule inserite.

Questo test costituisce un mezzo relativamente semplice per la quantizzazione della frequenza di cellule antigene-specifiche, difficile da ottenere con le metodiche basate sulla proliferazione e sulla citotossicità.

Rilevamento intracellulare di citochine

Questo metodo, noto anche come citochine FCM, si attua attraverso l'incubazione di cellule mononucleate isolate (PBMC) o di sangue intero trattato con anticoagulante, con uno specifico antigene e anticorpo costimolatorio; in seguito si aggiunge un agente che impedisce la secrezione di citochine dalla cellula. Dopo circa 6 ore le cellule sono marcate per l'identificazione degli antigeni di superficie che consentono di identificare il tipo cellulare, come le cellule T CD4 o CD8, e per la produzione intracellulare di citochine. La proporzione delle cellule secernenti citochine nel campione è determinata rapidamente dall'analisi citofluorimetrica. Questo metodo, come l'ELISPOT, è un'alternati-

va più semplice per la tipizzazione delle cellule T CD4 o CD8 antigene-specifiche.

Il citochine FCM ha un vantaggio su ELISPOT in quanto non richiede la deplezione dei subsets cellulari per determinare la sorgente della secrezione di citochine. Questa metodologia è stata usata nello studio della risposta a numerosi antigeni²⁵ ed è stata particolarmente utile nella valutazione della risposta delle cellule T CD4 e CD8 a patogeni virali.

Valutazione delle cellule NK

Le cellule NK sono una componente importante del sistema di difesa immunitario innato. Queste cellule sono capaci di lisare cellule infette da virus o cellule tumorali e sono anche fonte di diverse citochine. I deficit di cellule NK aumentano la suscettibilità a infezioni virali, ma sono condizioni rare. La valutazione quantitativa del numero di cellule NK si effettua attraverso l'FCM. Le cellule NK si trovano tipicamente nella regione linfocitaria del citogramma e coesprimono le molecole di adesione CD16 e CD56. L'analisi con citometria di flusso multiparametrica, che combina la diffusione della luce e l'espressione dei marker di superficie, fornisce una stima affidabile del numero delle cellule NK. La funzione delle cellule NK si valuta in base alla capacità di lisare specifiche cellule tumorali NK-sensibili²⁶. La linea cellulare K562 è una linea eritroleucemica suscettibile alla lisi mediata dalle cellule NK. Cellule mononucleate ottenute da sangue periferico sono incubate con cellule K562 marcate con cromo radioattivo 51. Le cellule con funzione NK liseranno le cellule target marcate, causando il rilascio di cromo radioattivo nel soprannatante di coltura. La quantità di cromo radioattivo rilasciato dalle cellule target è proporzionale all'attività litica delle cellule NK. Questa metodica non è disponibile nella maggior parte dei laboratori clinici per la necessità di impiegare radioisotopi e di mantenere colture cellulari. Inoltre, le prove citotossiche sono variabili e difficili da standardizzare. Sono disponibili altri metodi basati sul FCM²⁷, ma anche questi utilizzano una linea cellulare NK-suscettibile.

Valutazione delle cellule polimorfonucleate (PMN)

I PMN sono i componenti più numerosi del sangue e sono importanti nelle risposte infiammatorie acute. La loro capacità di rispondere ed eliminare le infezioni è il risultato di una serie di fenomeni che includono la migrazione (chemotassi), l'infiltrazione nel sito di infezione, il riconoscimento, la captazione, l'attivazione metabolica e l'uccisione degli organismi infettanti. Una patologia risultante in una neutropenia o in un marcato deficit di una delle suddette funzioni può provocare una significativa morbidità e mortalità¹.

Come per le altre maggiori linee cellulari del sangue periferico, un deficit numerico è facilmente determinato con la conta totale e differenziale delle cellule ematiche. Un numero di PMN inferiore a 1500/ γ L si associa ad aumentata suscettibilità alle infezioni. La valutazione funzionale dell'attività dei PMN include la valutazione di una qualunque delle fasi della funzione dei PMN come

sottolineato sopra. La maggior parte di questi test sono complessi e non disponibili routinariamente. Le anomalie identificabili con questi test sono alterazioni di espressione delle molecole di adesione di superficie o del burst respiratorio, tali condizioni più frequenti rispetto ai difetti della chemotassi o della fagocitosi (Fig. 4).

Delle varie molecole di adesione sulla superficie dei PMN, i difetti più comuni riguardano la sovrapproduzione delle beta-2 integrine (CD18, CD11a-c). Queste molecole di adesione di superficie promuovono l'adesione a ligandi sulle cellule endoteliali vascolari, e i difetti nella loro espressione causano il deficit dell'adesione leucocitaria (LAD). La fenotipizzazione citofluorimetrica può essere usata per determinare il loro livello basale di espressione, e con appropriata stimolazione, la loro capacità di aumentare sulla superficie cellulare²⁸.

In seguito al riconoscimento e all'ingestione di materiale estraneo, i PMN operano cambiamenti metabolici che portano alla generazione di specie reattive dell'ossigeno e perossido di idrogeno (burst respiratorio). Queste molecole, in aggiunta agli altri meccanismi non-ossidativi, determinano l'uccisione dei microbi ingeriti. L'importanza del burst respiratorio è evidenziato dalla morbidità e mortalità associate ai difetti di questo sistema. Sono state descritte diverse mutazioni che provocano la malattia granulomatosa cronica (CGD), incluse le mutazioni legate al cromosoma X (le più comuni) e le mutazioni autosomiche in geni del sistema dell'adenina nicotinamide dinucleotide fosfato (NADPH). L'attività di burst respiratorio può essere valutata attraverso diversi metodi, inclusi il test di riduzione al colorante nitroblu di tetrazolio (NBT), la chemiluminescenza, e FCM²⁸.

Il test NBT prevede la captazione del NBT da parte delle cellule, l'aggiunta di uno stimolo di attivazione, come particelle di latex, ed il monitoraggio (fotometricamente o microscopicamente) della ossidoriduzione del colorante, che causa il cambiamento del colore blu. Un secondo metodo che si basa sulla riduzione di un colorante captato dai PMN è il FCM con uso di diidrorodamina-123 o DHR. Questo colorante è captato dai PMN ed è non-fluorescente nelle cellule in riposo. Quando viene indotto il burst respiratorio, il colorante viene ossidato ed emette una fluorescenza che può essere rilevata con il citofluorimetro. Entrambi i metodi, NBT e FCM, consentono di identificare i pazienti affetti da malattia granulomatosa cronica e i portatori.

La chemiluminescenza è la generazione di luce indotta dall'interazione di specie reattive dell'ossigeno (generate durante il burst respiratorio) con gli organismi ingeriti¹³. Con l'aggiunta di agenti potenziatori, questa luce può essere rilevata in uno scintillometro e la sua intensità riflette l'attività del burst respiratorio in queste cellule. La chemiluminescenza è ridotta in pazienti con CGD e portatori. Questo metodo offre una maggiore sensibilità rispetto al test NBT.

Valutazione del sistema del complemento

Il sistema del complemento è un altro importante componente del sistema immunitario innato. Esso contribuisce, con altri agenti dell'immunità innata e con il sistema

immunitario adattativo ad eliminare microrganismi estranei o cellule danneggiate. Il sistema del complemento consiste di più di 40 proteine (in particolare, glicoproteine) che interagiscono in modo coordinato attraverso differenti percorsi di attivazione per ottenere tale scopo. Il sistema del complemento è strettamente controllato da meccanismi di regolazione, per impedirne un'attivazione incontrollata che potrebbe causare gravissimi danni tissutali all'ospite.

Le proteine del complemento esistono come precursori nel plasma e si attivano "a cascata". Dopo l'attivazione, le proteine interagiscono in maniera sequenziale per diventare enzimi che attivano la proteina successiva nel sistema. Ci sono diverse vie attraverso cui la cascata del complemento può essere innescata e produrre importanti risultati²⁹. Il sistema del complemento, le sue varie vie, ed i prodotti della sua attività forniscono una formidabile prima linea di difesa per l'ospite. Sono state definite almeno tre vie dell'attivazione del complemento (vedi capitolo 12 per una revisione), le quali contribuiscono tutte a formare un sistema immunitario complessivamente efficiente.

Ci sono vari deficit ereditari del sistema del complemento. Poiché il sistema è ridondante, anomalie lievi o parziali delle proteine del complemento di solito non causano malattia. Poiché la maggioranza delle proteine del complemento sono codificate da geni autosomici gli individui eterozigoti non sono solitamente a rischio di infezioni. Viceversa gli individui omozigoti per un difetto, anche di un singolo componente, sono di solito sintomatici, e possono essere individuati con test funzionali specifici per il complemento. Per esempio, un individuo con un difetto a livello del C5 dovrebbe avere un'interruzione nella cascata di reazioni che coinvolgono l'attivazione del complemento, e il processo dovrebbe fermarsi a questo punto. In relazione al livello in cui si trova il difetto, può rimanere qualche attività residua grazie alla ridondanza delle vie di attivazione del complemento, che possono aggirare il difetto.

Difetti ereditari nelle prime proteine del complemento, C1, C4, C2, C3, si associano solitamente ad un aumento di patologie reumatiche, o ad un incremento delle infezioni da piogeni, o ad entrambe le condizioni²⁹. Gli organismi infettanti sono sia agenti infettivi inusuali, sia agenti a bassa capacità patogena. Deficit ereditari dei componenti tardivi della cascata del complemento (C5, C6, C7, C8, o C9) sono di solito associate a una maggiore suscettibilità alle infezioni da *Neisseria*, di solito *N. Meningitidis*. Gli organismi infettanti possono essere specie non comuni, che normalmente non causano infezioni in individui sani. Un leggero incremento nell'incidenza di malattie autoimmuni si associa a difetti di C5, C6, C7, o C8.

Le condizioni che dovrebbero far sospettare un difetto del sistema del complemento possono essere patologie autoimmuni, specialmente con presentazioni inusuali o non caratteristiche, le infezioni ricorrenti da microbi inusuali o scarsamente patogeni, o le infezioni disseminate da *Neisseria* in giovani adulti.

Due test di screening di base sono usati per la valutazione dell'attività del complemento (Fig. 5). L'attività emolitica totale del complemento (CH50) misura la funzione

della cascata classica del complemento, mentre l'AH50 misura la funzione della via alternativa³⁰. I test valutano l'attività emolitica di differenti diluizioni del plasma del paziente su emazie di pecora rivestite da anticorpi anti-emazie. Le emazie di pecora rivestite con anticorpo specifico sono il complesso immune che attiva la cascata del complemento. Se tutti i componenti sono presenti e funzionanti, le emazie di pecora sono lisate e l'emolisi può essere misurata. Rispetto al controllo, il siero del paziente con un difetto totale in uno dei componenti della via classica non dovrebbe causare emolisi. Pazienti con difetti leggeri (eterozigoti) di C1, C4, C2, C3 possono non mostrare un decremento dell'emolisi per la ridondanza nel sistema.

Per confermare il difetto del componente specifico del complemento, dovrebbe essere usato un metodo immunochimico che quantifichi le componenti individuali. Indagini nefelometriche, simili a quelle usate per il rilevamento dei livelli di immunoglobuline, sono disponibili per tutti i maggiori componenti del complemento e sono anche disponibili livelli di riferimento per ognuno di essi³⁰. I test immunochimici misurano solo la presenza o la quantità di ogni componente e non rilevano i componenti alterati o disfunzionali.

Se si sospetta che il deficit complementare sia il risultato dell'attivazione del sistema del complemento, singoli componenti attivati come C4a, C4d, o Bb possono essere quantificati³⁰. La loro presenza indica l'attivazione del sistema del complemento.

Ci sono laboratori di riferimento che offrono prove funzionali per deficit di specifici componenti. Questi sistemi valutano la capacità del siero del paziente di lisare gli eritrociti di pecora rivestiti di anticorpo in presenza di reagenti privi di specifici componenti del complemento. Se il siero in esame contiene la proteina complementare assente nel suddetto sistema, c'è la lisi. In caso contrario, la lisi non avviene. Usando un processo di eliminazione, si possono identificare i componenti mancanti o disfunzionali nel siero del paziente.

In conclusione, sono disponibili metodi di rilevamento per la maggior parte dei deficit ereditari e delle possibili affezioni del complemento. I deficit del complemento sono rari, coinvolgendo circa lo 0,03 % della popolazione; anamnesi e presentazione clinica sono importanti per fare una corretta diagnosi.

BIBLIOGRAFIA

1. Primary immunodeficiency disease. Report of an IUIS scientific committee. *Clin Exp Immunol* 1999;18(suppl 1):1-28.
2. Folds JD, Normansell DE. Immunologic methods and testing: reference intervals. In: *Pocket guide to clinical immunology*. Washington, DC: ASM Press; 1999. p. 241-2.
3. Keren DF. Immunoglobulin quantification. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 92-6.
4. Nicholson JKA. Immunophenotyping of lymphocytes by flow cytometry. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 137-47.
5. Calvelli T, Denny TN, Paxton H, Gelman R, Kagan J. Guidelines for flow cytometric immunophenotyping: a report from the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. *Cytometry* 1993;14:702-15.
6. Buckley RH. Primary immunodeficiency diseases due to defects in lymphocytes. *N Engl J Med* 2000;343:1313-20.
7. Shearer GM, Clerici M. Early helper T cell defects in HIV infection. *AIDS* 1991;5:245-53.
8. Aucouturier P, Lacombe C, Preud'homme JL. Serum IgG subclass level determination: methodological difficulties and practical aspects. *Ann Biol Clin (Paris)* 1994;52:53-6.
9. Bjorklander J, Bake B, Oxelius VA, Hanson LA. Impaired lung function in patients with IgA deficiency and low levels of IgG2 or IgG3. *N Engl J Med* 1985;313:720-4.
10. Ballou MD. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:581-91.
11. Fletcher MA, Urban RG, Asthana D, Walling J, Friedlander A, Page JB. Lymphocyte proliferation. In: Rose NR, Conway de Macario A, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 5th ed. Washington, DC: ASM Press; 1997. p. 313-9.
12. Lucey R, Clerici M, Eisenstein E, Fleisher TA, Shearer GM. Assessment of lymphocyte and monocyte function. In: Rich RR, editors. *Clinical immunology: principles and practice*, vol II. St. Louis: CV Mosby; 1996. p. 2124-40.
13. Stites DP, Folds JD, Schmitz JL. Clinical laboratory methods for detection of cellular immunity. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, editors. *Medical immunology*. 9th ed. Stanford: Appleton & Lange; 1997. p. 254-74.
14. Bothamley GH. Immunologic tests in tuberculosis and leprosy. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 502-10.
15. Whiteside TL, Henk JA. Monitoring of Immunologic therapies. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 1108-17.
16. Schnizlein-Bick CT, Spritzler J, Wilkening CL, Nicholson JKA, O'Gorman MRG, Site Investigators, NIAID New Technologies Evaluation Group. Evaluation of true count CD4 and CD8 cell numbers in human immunodeficiency virus—positive adults. *Clin Diag Lab Immunol* 2000;7:336-43.
17. Mercolino TJ, Connelly MC, Meyer EJ, Knight MD, Parker JW, Stelzer GT. Immunologic differentiation of absolute lymphocyte count with an integrated flow cytometric system: a new concept for absolute T cell subset determinations. *Cytometry* 1995;22:48-59.
18. Hurtubise PE. Monitoring of monoclonal antibody therapy in transplant patient. In: Keren DF, Hanson CA, Hurtubise PE, editors. *Flow cytometry and clinical diagnosis*. Chicago: ASCP Press; 2001. p. 357-67.
19. Purified protein derivative (PPD)—tuberculin anergy and HIV infection: guidelines for anergy testing and management of anergic patients at risk of tuberculosis. *Recommendations and Reports*. *MMWR* 1991;40(RR-5):27-33.
20. Toubert A, Clave E, Talvensaari K, Douay C, Charron D. New tools in assessing immune reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation. *Vox Sang* 2000;78(52):29-31.
21. Altman JD, Moss PAH, Golder PJR, Barouch DH,

- McHeyzer-Williams MG, Bell JI, et al. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996;274:94-6.
22. Remick DG. Protein analysis and bioassay of cytokines and cytokine receptor. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 320-37.
 23. Maino VC, Picker LJ. Identification of functional subsets by flow cytometry: intracellular detection of cytokine expression. *Cytometry* 1998;74:207-215.
 24. Lalvami A, Brookes R, Hambleton S, Britton WA, Hill AB, McMichael AJ. Rapid effector function in CD8 and memory T cells. *J Exp Med* 1997;186:859-65.
 25. Maecher HT, Picker LJ, Maino VC. Flow cytometric analysis of cytokines. In: Rose MP, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington DC: ASM Press; 2002. p. 338-46.
 26. Whiteside TL. Measurement of NK-cell activity in humans. In: Rose MP, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC. ASM Press; 2002. p. 296-300.
 27. Kane K, Ashton F, Schmitz JL, Folds JD. Measurement of natural killer cell function by flow cytometry. *Clin Diag Lab Immunol* 1996;3:295-300.
 28. O'Gorman MRG. Evaluation of phagocytic cell function. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 265-73.
 29. Sullivan KE, Winkelstein JA. Genetically determined deficiencies of the complement system. In: Ochs HD, Edvard Smith CI, Puch JM, editors. *Primary immunodeficiency diseases. A molecular and genetic approach*. New York: Oxford University Press; 1999. p. 397-416.
 30. Ciclas PC. Choosing complement tests: differentiating between hereditary and acquired deficiency. In: Rose NR, Hamilton RG, Detrick B, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press; 2002. p. 111-6.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

La valutazione della funzionalità del sistema immunitario è basata su una serie di metodiche che consentono di valutare le tre componenti, ovvero l'immunità naturale, nelle sue componenti cellulari (ad es. cell. polimorfonucleate) e l'immunità acquisita, comprendente sia la parte cellulo-mediata che umorale (ad. es. citochine, immunoglobuline, ecc.).

Dal momento che la risposta immune è un cardine fondamentale di numerose reazioni dell'ospite sia fisiologiche che patologiche (ad esempio nelle malattie autoimmuni), la sua valutazione ha sempre rivestito un ruolo di primo piano nella ricerca di base e tale ruolo è stato poi nel tempo integrato in ambito clinico.

La componente clinica ha poi dato, innanzitutto, le opportune indicazioni su quali elementi della risposta immune fosse più corretto focalizzare l'attenzione: ad esempio, le metodiche per lo studio del complemento non hanno subito drastiche modificazioni nel tempo, data la rarità dei deficit del complemento.

Dopo aver individuato gli elementi della risposta immune con maggiore rilevanza clinica, è stato dato l'impulso per lo sviluppo di numerose tecniche per la valutazione della risposta immunitaria che rispondessero, innanzitutto, ai requisiti fondamentali di a) rapida risposta diagnostica, e b) facilità di esecuzione, tale da consentirne l'esecuzione in quasi tutte le strutture diagnostiche.

Deve però essere precisato come attualmente lo sviluppo delle tecnologie sia strumentali che informatiche ha permesso un netto salto di qualità nell'ambito della valutazione laboratoristica dell'immunità e, a fronte di un maggior investimento iniziale per l'acquisto di strumentazioni sofisticate, tali apparecchiature permettono una valutazione laboratoristica di determinati parametri che è nel contempo all'avanguardia e di una notevole facilità d'uso, e quindi applicabile ad una attività di routine.

Nel campo della valutazione della produzione di citochine, ad esempio, è attualmente disponibile una sofisticata metodica (Luminex) che consente, tramite l'accoppiamento di un laser a doppia emissione (rosso e verde) con biglie fluorescenti legate a specifici anticorpi, il dosaggio in un singolo campione, di numerose citochine (fino a 30).

È da rilevare come il singolo campione possa essere anche molto esiguo (sino a 100 microlitri) e di varia provenienza (fluidi biologici, lisati cellulari), e che la sensibilità con tale metodica risulta anche di 1000 volte superiore ai comuni test ELISA.

I test sono di semplice esecuzione, immediata lettura per ciascuna citochina e sono eseguibili in comuni piastre da ELISA¹.

Per ribadire come sia al momento possibile associare un'alta complessità diagnostica con una certa facilità di esecuzione, sono già disponibili test in multiplex in grado di poter valutare simultaneamente diverse citochine correlate alle risposte Th1/Th2, infiammatoria, ecc.. Le applicazioni di tale metodica sono state notevolmente ampliate, implementando tale tecnologia ad esempio per la diagnostica multiplex di autoanticorpi in apparecchiature già licenziate per uso clinico² (vedi anche <http://www.biorad.com>).

Riguarda la valutazione della risposta umorale e del repertorio di autoanticorpi, nel caso delle malattie autoimmuni, molto recentemente è stata sviluppata anche una metodica definita *Nanodot Array Luminometric Immunoassay* (NALIA) che, mediante l'immobilizzazione di antigeni e/o anticorpi su piastre da 96 pozzetti dotate di membrana sul fondo, permette l'analisi simultanea di numerosi autoanticorpi, tra cui anti-DNA a doppio strand (dsDNA), proteina B-centromerica (CENP-B), PCNA, Sm, Sm ribonucleoproteina (Sm-RNP), U1-snRNP, Scl70, SSA/Ro, SSB/La, Jo-1. Il siero o fluido biologico viene caricato nel pozzetto, l'antigene e/o anticorpo legato al proprio specifico ligando adeso alla membrana e quindi quantificati mediante chemiluminescenza³.

L'accoppiamento delle procedure informatiche può consentire di aggiungere informazioni importanti a particolari test di laboratorio. Nel caso dell'ELISpot, è possibile conoscere se un determinato paziente può montare una risposta immune verso uno specifico peptide, ma senza definire da quale HLA tale risposta viene ristretta. Mediante specifici software, è possibile predire quali alleli tra gli HLA di classe I sono responsabili delle reattività identificate dall'ELISPOT⁴.

IL *CELLDyn-Sapphire Hematology Analyser* (Abbott) può essere considerato un semplice test d'analisi eseguibile in qualunque laboratorio di ematologia per lo studio delle sottopopolazioni linfocitarie, ed integrabile poi da un'analisi più sofisticata con il FACS. È un apparecchiatura che può essere usata routinariamente su campioni di sangue in EDTA ed è basata sull'uso di un laser blu a 488-nm e tre lettori di fluorescenza, che consentono la lettura in simultanea delle popolazioni linfocitarie, reticolociti ed emazia enucleate⁵.

Un altro notevole impulso alle metodiche diagnostiche per la valutazione dell'immunità è giunto dall'uso delle tecniche di biologia molecolare.

Alcune tecniche, sebbene non soltanto promettenti ma effettivamente in grado di fornire informazioni di notevole importanza, non sono sicuramente utilizzabili da molti laboratori. È il caso delle tecniche di proteomica che consentono, grazie all'accoppiamento di tecniche di PCR (reazione a catena della polimerasi) con l'immobilizzazione di un numero elevatissimo di peptidi (fino a 10.000) su di un singolo vetrino, di valutare la risposta immune di un singolo paziente ad un numero così elevato di antigeni⁶.

Al contrario, alcune tecniche di biologia molecolare sono ampiamente utilizzate in molti laboratori di diagnostica dell'immunità. È il caso delle tecniche di PCR sia convenzionale che *real-time*. Tali metodiche permettono non soltanto

l'identificazione e l'amplificazione di specifiche sequenze di DNA, caratteristica questa già ampiamente e routinariamente usata in ambito virologico⁷, ma consentono anche il sequenziamento dei prodotti amplificati.

La sequenza del DNA amplificato permette innanzitutto di conoscere qualitativamente il prodotto della PCR, come nel caso della genotipizzazione dell'HLA mediante PCR, tecnica indispensabile non soltanto per la determinazione degli alleli HLA dell'individuo⁸ ma anche per l'identificazione di eventuali nuovi alleli HLA⁹.

Inoltre, la PCR *real-time* permette l'accoppiamento di analisi qualitativa e quantitativa. Infatti, ad esempio nel caso del monitoraggio della reazione immunitaria dell'ospite all'allogranto (*graft-vs-host disease*, GVHD) la PCR può essere utilizzata inizialmente per l'amplificazione delle sequenze di specifici cloni CD3+ alloreattivi per poter poi approntare, nel corso del monitoraggio clinico e laboratoristico del paziente, una PCR *real-time* cosiddetta "clono-specifica" in grado di identificare e soprattutto quantificare la presenza dei cloni alloreattivi e quindi il rischio di un eventuale GVHD¹⁰.

In conclusione, un fenomeno biologico così complesso come la risposta immunitaria, e soprattutto composto da numerosi componenti biologiche, necessita dell'integrazione di sofisticate tecniche basate sull'analisi di cellule e componenti umorali che attualmente possono essere eseguite con diversi tipi di metodiche, apparecchiature e personale ormai alla portata di numerosi laboratori.

Riferimenti bibliografici

1. **Multiplexed particle-based flow cytometric assays**
Vignali D.A.A
J Immunol Meth 2000, 243, 243–255
2. **A novel HLA-Cw*16 allele, Cw*160102, identified by cloning and sequencing**
Nesci S., Iliescu A., Buffi O., Sista T., Luchetti M.M., Gabrielli A., Rinaldi G.
Tissue Antigens, 2005, 65, 580–581
3. **Evaluation of the BioPlex 2200 ANA screen for the detection of antinuclear antibodies and comparison with conventional methods**
Desplat-Jego S, Bardin N, Larida B, Sanmarco M
Ann N Y Acad Sci 2007, 1109, 245-55
4. **A statistical framework for modeling HLA-dependent T cell response data**
Listgarten J, Frahm N, Kadie C, Brander C, Heckerman D
PLoS Comput Biol. 2007 Oct;3(10):1879-86
5. **Monoclonal antibody fluorescence for routine lymphocyte subpopulation analysis with the Abbott CELL-DYN Sapphire haematology analyser**
Molero T, Lemes A, DE LA Iglesia S, Scott CS
Int J Lab Hematol. 2007 Dec;29(6):446-53
6. **Validation of peptide epitope microarray experiments and extraction of quality data**
Nahtman T, Jernberg A, Mahdavi S, Zerweck J, Schutkowski M, Maeurer M, Reilly M
J Immunol Methods. 2007 Dec 1;328(1-2):1-13
7. **Quantitative real-time PCR detection of adenovirus in clinical blood specimens: a comparison of plasma, whole blood and peripheral blood mononuclear cells**
Perlman J, Gibson C, Pounds SB, Gu Z, Bankowski MJ, Hayden RT
J Clin Virol 2007 Dec;40(4):295-300
8. **An overview of HLA typing for hematopoietic stem cell transplantation**
Little A.M.
Methods Mol Med. 2007;134:35-49
9. **Molecular analysis of alloreactive CTL post-hemopoietic stem cell transplantation**
O'Keefe CL, Gondek L, Davis R, Kuczkowski E, Sobecks RM, Rodriguez A, Narvaez Y, McIver Z, Tuthill R, Laughlin M, Bolwell B, Maciejewski JP
J Immunol. 2007 Aug 1;179(3):2013-22
10. **Screening Autoantibody Profiles in Systemic Rheumatic Disease with a Diagnostic Protein Microarray That Uses a Filtration-Assisted Nanodot Array Luminometric Immunoassay (NALIA)**
McBride JD, Gabriel FG, Fordham J, Kolind T, Barcenas-Morales G, Isenberg DA, Swana M, Delves PJ, Lund T, Cree IA, Roitt IM
Clin Chem. 2008 May; 54(5):883-90

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Functional and molecular evaluation of lymphocytes

Fleisher TA, Bosco Oliveira J.
August 2004 (Vol. 114, Issue 2, Pages 227-234)

IL-17 cytokine family

Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK
2004;114:1265-73

Childhood infections, the developing immune system, and the origins of asthma

Openshaw PJM, Yamaguchi Y, Tregoning JS
2004;114:1275-7

**For the International Union of Immunological Societies
Primary Immunodeficiency diseases classification committee
Primary immunodeficiency diseases: An update**

Notarangelo L, Casanova JL, Fischer A, Puck J, Rosen F, Seger R, Geha R
2004;114:677-87

Functional and molecular evaluation of lymphocytes

Fleisher TA, Bosco Oliveira J
2004;114:227-34

Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency

Wen L, Atkinson JP, Giclas PC
2004;113:585-93

T regulatory cells in allergy: Novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases

Akdis M, Blaser K, Akdis CA
2005;116:961-8

Overview of the human immune response

Chaplin, David D
2006;117:S430-5

Update on primary immunodeficiency diseases

Bonilla, Francisco A.; Geha, Raif S
2006;117:S435-41

Cytokines and chemokines

Steinke JW; Borish L
2006;117:S441-5

Chemokines and their receptors in allergic disease

Pease JE, Williams TJ
2006;118:305-18

25. Immunoterapia delle malattie allergiche

L'immunoterapia specifica (SIT) si effettua attraverso la somministrazione di estratti allergenici al fine di diminuire o eliminare i sintomi legati all'allergia. Il processo è specifico, per il fatto che il trattamento viene mirato contro quegli allergeni che, secondo il paziente ed il medico, sono responsabili dei sintomi. La decisione di effettuare la SIT richiede quindi una attenta valutazione della condizione clinica del paziente e del ruolo degli allergeni che scatenano i sintomi. L'immunoterapia fu inizialmente sviluppata al S. Mary's Hospital di Londra alla fine del 19° secolo¹ e molti dei principi di base descritti da Noon e Freeman rimangono validi anche oggi. Generalmente il paziente effettua una serie di iniezioni, partendo con una dose di allergene molto bassa, crescendo gradualmente fino a che non si raggiunge un plateau o una dose di mantenimento. Le dosi di mantenimento sono quindi somministrate ad intervalli di 4-6 settimane per un periodo che va dai 3 ai 5 anni. La fase di incremento si effettua di solito con un ciclo di iniezioni settimanali, ma sono stati sperimentati numerosi schemi alternativi di incremento: alcuni autori effettuano la somministrazione di numerose dosi di estratto in un giorno e quindi attendono una settimana prima di effettuare l'ulteriore ciclo di iniezioni (protocollo semi-rush-cluster), altri somministrano tutte le iniezioni di incremento in un unico giorno (protocollo rush). L'unico svantaggio di questi metodi è il rischio di reazioni avverse, che è molto più elevato rispetto ai protocolli convenzionali. D'altro lato però è possibile ottenere una protezione completa in pochi giorni, rispetto ai tre mesi che sono necessari seguendo il protocollo tradizionale. Ciò è utile soprattutto in quei pazienti che sono andati incontro ad episodi clinici gravi quali l'anafilassi da puntura di imenottero.

La crescita dell'importanza della medicina basata sulle evidenze, ha imposto agli allergologi di fornire dati a sostegno dell'efficacia dell'immunoterapia. Mentre esistevano numerosi vecchi studi di dubbia qualità, recenti trials clinici hanno confermato l'utilità della SIT come trattamento per la rinite allergica e l'allergia al veleno di ape e vespa. Più controversa è stata la dimostrazione del valore della SIT come trattamento primario per l'asma.

MECCANISMI DELL'IMMUNOTERAPIA

Sono stati proposti numerosi meccanismi per spiegare gli effetti dell'immunoterapia (Tabella I).

Fino a poco tempo fa si pensava che la SIT fosse effica-

Abbreviazioni utilizzate:

ACPC:	Cytosine-phosphate-guanosine
DBPC:	Double-blind placebo controlled/ Doppio cieco contro placebo
DNA:	Deoxyribose nucleic acid/Acido desossiribonucleico
EAACI:	European Academy of Allergy and Clinical Immunology
EPD:	Enzyme-potiated desensitization/ Desensibilizzazione potenziata con enzimi
IFN:	Interferon/Interferone
Ig:	Immunoglobulin/Immunoglobuline
IL:	Interleukin/Interleuchina
ODN:	Oligodeoxynucleotides/Oligonucleotidi
SIT:	Systemic immunotherapy/Immunoterapia sistemica
Th:	T helper/Cellule T helper

ce grazie al suo effetto sugli anticorpi allergene-specifici. Il livello delle immunoglobuline (Ig)E allergene-specifiche aumenta temporaneamente durante la fase iniziale della SIT, ma ritorna ai livelli pre-trattamento durante la fase di mantenimento². Dopo la SIT la risposta immediata al test cutaneo si può ridurre, ma questo è un effetto relativamente modesto rispetto al grado del beneficio clinico. Al contrario, la risposta ritardata allo skin test è teoricamente abolita dopo una SIT efficace. Ciò avviene anche per le risposte ritardate nasali e bronchiali³. La SIT induce anche anticorpi IgG allergene-specifici e ciò ha fatto ipotizzare che gli anticorpi potessero legare l'allergene e "bloccare" la risposta allergica. Attualmente si ritiene ciò poco plausibile, perché molti mastociti sono presenti sulla superficie delle mucose e quindi incontrano l'allergene prima che gli anticorpi "bloccanti" si possano interporre, inoltre l'aumento delle IgG segue e non precede l'instaurarsi dei benefici clinici. Infine la quantità delle IgG allergene-specifiche correla maggiormente con la dose dell'allergene inoculato che col livello di protezione clinica. In particolare, mentre nei pazienti allergici al veleno di imenotteri lo sviluppo di anticorpi IgG allergene-specifici, indotto dalla SIT, correla con l'efficacia clinica, nel caso degli allergeni inalanti l'entità della risposta IgG non correla con il grado di efficacia. La SIT influenza le risposte allergene-specifiche delle cellule T. Nel modello del test di provocazione con allergene, sia a livello della cute, che della mucosa nasale, una SIT efficace si accompagna ad una riduzione del reclutamento delle cellule T e degli eosinofili. Parallelamente c'è uno spostamento nel rapporto di espressione delle citochine T helper 1 (Th1) e Th2 nella

Traduzione italiana del testo di:

Anthony J. Frew

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S712-9

TABELLA I. Possibili meccanismi d'azione dell'immunoterapia

Induzione di anticorpi IgG (bloccanti)
Riduzione delle IgE specifiche (nel lungo termine)
Riduzione del reclutamento di cellule effettrici
Variazione del bilancio citochinico delle cellule T (spostamento da Th1 a Th2)
Anergia delle cellule T
Induzione di cellule T regolatorie

sede di provocazione con allergene. L'espressione delle citochine Th2 non viene influenzata, ma c'è una quota maggiore di cellule T che esprimono interleuchina-2 (IL-2), interferon-gamma (IFN- γ) e IL-12 (citochine Th1)^{4,6}. Dopo la SIT per il veleno di imenotteri, si evidenzia sia l'induzione di cellule T regolatorie che producono IL-10, sia la variazione del rapporto Th1/Th2⁷⁻⁸. La SIT con allergeni inalanti ha determinato analoghi risultati^{8,9}. L'IL-10 svolge una complessa serie di azioni sulla risposta immune, compresa la stimolazione della produzione della sottoclasse delle IgG4, il cui aumento può essere considerato come un indicatore di efficacia piuttosto che come un "attore" del meccanismo d'azione della SIT¹¹. Nel complesso questi dati suggeriscono che la SIT svolge un effetto modulatore sulle cellule T allergene-specifiche e ciò contribuisce a spiegare l'efficacia clinica e la riduzione della risposta ritardata, in assenza di un effetto simile sul livello degli anticorpi allergene-specifici.

Sulla base di tale modello fisiopatologico sono state sperimentate numerose nuove forme di immunoterapia utilizzando peptidi riconosciuti dalle cellule T, o forme coniugate di allergene al fine di stimolare un pattern di risposta citochinica di tipo Th1. Di seguito saranno discusse più in dettaglio alcune di queste promettenti forme di immunoterapia, utilizzate in alcuni trial clinici.

LA SIT PER L'ALLERGIA AL VELENO DI IMENOTTERI

L'anafilassi da veleno di imenotteri è piuttosto rara, ma può essere fatale. Gli anticorpi IgE specifici per veleno di imenotteri si possono trovare nel 30%-40% degli adulti dopo la puntura, ma di solito scompaiono nel giro di pochi mesi. Questa risposta non è in relazione alle IgE sieriche totali e alla risposta IgE del paziente agli allergeni inalanti. Alcuni sfortunati individui reagiscono in maniera differente, producendo anticorpi specifici per il veleno che possono persistere per molti anni senza che vi siano ulteriori esposizioni a punture. In caso di ripuntura questi soggetti sono a rischio di anafilassi e, in piccola percentuale, di morte per anafilassi. È difficile quantizzare questo fenomeno ma negli USA si stimano 10-20 morti per anno. Le morti per anafilassi non devono essere confuse, con le morti da "api killer", questa sottospecie di api è istintivamente condizionata ad infliggere punture multiple. Le api sono richiamate dall'odore stesso del veleno: una volta che un insetto ha punto, altre api nelle vicinanze attaccheranno. La morte è causata da un avvelenamento da sovradosaggio e non da un processo allergico o immunologico.

La decisione di prescrivere l'immunoterapia per veleno di imenotteri dovrebbe essere basata su un'attenta valutazione del paziente, e dalla conoscenza della storia naturale dell'allergia a veleno di imenotteri²². Rispetto ai pazienti che hanno avuto solo una reazione locale estesa, chi ha presentato sintomi sistemici dopo una puntura è a maggior rischio di anafilassi alle successive punture. Il rischio di reazioni sistemiche alla ripuntura in bambini ed adulti con una storia di reazioni locali estese è compreso tra il 5% ed il 10%, invece in pazienti con anamnesi positiva per reazione sistemica il rischio è compreso tra il 30% e il 70%. In generale i bambini hanno meno rischio di reazioni sistemiche, così come i soggetti con anamnesi di reazioni lievi. Il rischio di reazione sistemica alla ripuntura diminuisce col passare degli anni: dieci anni dopo una reazione sistemica, il rischio è di circa il 15%, rispetto al 2%-3% stimato nella popolazione generale. Nella valutazione della probabilità di una nuova puntura vanno presi in considerazione anche il tipo di occupazione ed il fattore geografico. Le punture di ape sono particolarmente frequenti tra gli apicoltori, i loro familiari e vicini, mentre le punture di vespa sono generalmente occasionali, ma possono rappresentare un rischio occupazionale per i alcune categorie, come i fruttivendoli. Altri fattori da prendere in considerazione sono i potenziali rischi del trattamento di emergenza con adrenalina e le varie controindicazioni mediche alla SIT (vedi sotto).

L'introduzione di preparazioni purificate di veleno ha indotto un sostanziale miglioramento nell'efficacia della SIT, infatti le vecchie preparazioni con l'estratto del corpo intero dell'animale avevano un'efficacia simile al placebo. La SIT con gli estratti di veleno conferisce protezione molto rapidamente. Il rischio residuo di reazioni sistemiche dopo SIT è di circa il 10% e la loro severità è comunque ridotta. Si dovrebbe fornire adrenalina iniettabile ai pazienti con anamnesi di reazione sistemica severa, fino a quando l'efficacia della SIT non sia stata verificata dalla tolleranza alla ripuntura. Nei pazienti con anamnesi di reazioni meno severe, la prescrizione dell'adrenalina iniettabile non si ritiene più necessaria dopo il raggiungimento della dose di mantenimento della SIT.

LA SIT PER LA RINITE ALLERGICA

La SIT è un utile trattamento per la rinite allergica, specialmente quando il numero di allergeni responsabili è limitato. Come per altri usi della SIT, è importante selezionare i pazienti in modo appropriato. La base allergica della rinite dovrebbe essere attentamente valutata sia anamnesticamente, sia mediante skin prick test o dosaggio delle IgE specifiche, sia escludendo altre cause dei sintomi nasali. I test di provocazione specifici per valutare la sensibilizzazione nasale agli allergeni non vengono più usati nella routine clinica, ma possono essere utili per valutare l'efficacia del trattamento negli studi clinici controllati. Il gruppo di pazienti più difficile da identificare è quello affetto da rinite persistente non stagionale, che presenta una debole positività all'acaro della polvere domestica. In questo gruppo può essere estremamente

difficile capire se il paziente presenta sintomi correlati all'acaro della polvere o se è affetto da rinite non allergica e sensibilizzato ad un allergene, clinicamente non rilevante. La difficoltà nell'accertare il ruolo clinico dell'allergene contribuisce all'apparentemente minor grado di efficacia, che sembra mostrare la SIT verso l'acaro della polvere domestica. L'efficacia della SIT nelle riniti allergiche intermittenti (stagionali) è stata confermata in numerosi studi clinici, che hanno utilizzato estratti pollinici di graminacee, ambrosia e betulla. La SIT si è inoltre dimostrata efficace perfino in pazienti con riniti stagionali gravi, resistenti alla terapia tradizionale¹³. Pochi dati sono disponibili sull'efficacia a lungo termine nelle riniti, ma alcuni indicano che tre anni di terapia sono sufficienti per conferire un beneficio duraturo, gli effetti sembrano persistere per almeno sei anni dopo l'interruzione della terapia¹⁴. Ciò è in contrasto con le cure tradizionali, la cui efficacia solitamente si esaurisce molto presto dopo l'interruzione. Altri studi hanno dimostrato che un anno di trattamento è insufficiente nel garantire effetti duraturi¹⁵. I benefici della SIT per le riniti perenni sono minori rispetto a quelli ottenuti per le riniti stagionali. Ciò riflette in parte la difficoltà nel determinare quanto l'allergia sia responsabile di sintomi perenni. La sensibilizzazione all'acaro della polvere è comune e non sempre causa sintomi. Inoltre esistono altre cause di rinite perenne, che includono la rinite vasomotoria, le infezioni, la sensibilizzazione all'aspirina, ecc. Ciononostante i trials clinici hanno dimostrato un netto beneficio per i soggetti selezionati in modo appropriato. Ancor più chiare evidenze sono state ottenute per le riniti causate dall'allergia ad animali domestici. Numerosi studi hanno dimostrato un importante miglioramento nella tolleranza all'esposizione al gatto dopo la SIT, che è stata confermata sia con test di scatenamento, sia con la simulazione dell'esposizione naturale¹⁶.

Come per ogni terapia anche per la SIT, si devono valutare caso per caso i rischi ed il rapporto costo/beneficio. Le terapie tradizionali per la rinite possono essere molto efficaci, ma una significativa quota di pazienti rinitici riferisce sanguinamenti nasali dopo l'utilizzo di steroidi topici e sonnolenza dopo l'assunzione di antistaminici. Altri considerano la terapia farmacologica scomoda o inefficace. D'altra parte oggi siamo più consapevoli degli effetti negativi della rinite sulla qualità della vita. La SIT offre un'utile opzione terapeutica per questi pazienti e costituisce un approccio logico per affrontare la patologia in chiave eziologica.

LA SIT PER L'ASMA

L'immunoterapia è stata largamente usata per trattare l'asma allergico sebbene l'introduzione di terapie inalatorie efficaci ha modificato l'impostazione generale della cura dell'asma. L'attenzione verso le reazioni avverse, compresa una piccola quota di reazioni fatali, ha indotto alcuni paesi a proibire l'uso della SIT per il trattamento dell'asma, viceversa nel nord America e nell'Europa continentale la malattia asmatica è una indicazione comunemente accettata per l'effettuazione della SIT^{17,18}.

Le usuali terapie per l'asma spengono l'infiammazione delle vie aeree e diminuiscono il broncospasmo. Nessuno di questi trattamenti è curativo e l'asma si manifesta di nuovo rapidamente in caso di interruzione del trattamento. Evitare l'esposizione all'allergene può essere di aiuto nei pazienti con asma allergico, ma mentre evitare l'allergene in modo estremo (es., il ricovero in ospedale, il soggiorno di bambini in case vacanze ad elevate altitudini) può migliorare il controllo dell'asma, esistono minori evidenze per quando riguarda il grado di beneficio che si ottiene evitando l'allergene nella residenza abituale. Esiste quindi un margine significativo di miglioramento della cura dell'asma attraverso terapie allergene-specifiche. La SIT offre la possibilità di orientare la risposta immune dal profilo allergico, ad una risposta meno dannosa. In ogni caso, a causa dei potenziali effetti collaterali, l'utilizzo della SIT nell'asma resta ancora controverso.

Negli ultimi 50 anni l'efficacia della SIT nell'asma dell'adulto è stata accertata da numerosi trials. Alcuni di questi studi sono di difficile interpretazione a causa della scarsa qualità degli estratti allergenici utilizzati o a causa di un non ottimale disegno dello studio. Una meta-analisi di tutti gli studi pubblicati tra il 1954 e il 1998 ha comunque chiaramente evidenziato l'efficacia della SIT nell'asma¹⁸. L'analisi complessiva dei punteggi sintomatologici (registrati in 22 studi) ha documentato un modesto ma netto miglioramento nel gruppo di pazienti trattati con la SIT per acari della polvere o pollini rispetto a pazienti trattati con placebo. Si è evidenziata anche un parallela riduzione nell'uso di farmaci per l'asma, ma nessun miglioramento per quanto riguarda gli indici di funzionalità polmonare. Comunque la SIT ha ridotto la reattività bronchiale specifica all'allergene.

Tre studi condotti in doppio cieco contro placebo (DBPC) hanno evidenziato che la SIT ha effetti positivi nei pazienti affetti da asma da graminacee, come dimostrato da una riduzione dei sintomi asmatici e dell'utilizzo dei farmaci. Rispetto ai pazienti trattati con placebo, il trattamento attivo ha indotto una riduzione dal 60% al 75% dello score sintomatologico. Un importante, recente studio sulla SIT per l'allergia ad ambrosia ha dimostrato che i pazienti trattati con estratto attivo manifestavano, rispetto ai controlli, un miglioramento del picco di flusso durante la stagione pollinica, una diminuzione dei sintomi allergici e una ridotta suscettibilità alla provocazione specifica con estratto di polline di ambrosia¹⁹. Il gruppo trattato inoltre ha utilizzato meno farmaci sintomatici per l'asma. Tuttavia, l'analisi farmacoeconomica ha mostrato che il risparmio sui costi dei farmaci per l'asma era inferiore rispetto al costo della SIT.

In pazienti asmatici allergici al gatto la SIT riduce sia la risposta bronchiale immediata al test di inalazione bronchiale dell'allergene, sia la risposta alla simulazione di esposizione ambientale in una stanza in cui siano presenti gatti. È degno di nota il fatto che la SIT non è efficace nell'impedire l'aumento dell'iperreattività bronchiale aspecifica indotto dall'allergene, nonostante si evidenzino un chiaro ritardo nell'inizio dei sintomi e una riduzione dei sintomi e della caduta del picco di flusso dopo l'esposizione ai gatti. Altri soggetti dopo la SIT per allergia al

gatto hanno manifestato una riduzione sia della reattività bronchiale specifica che aspecifica (misurata, rispettivamente, attraverso test inalatorio di provocazione con estratto di gatto e istamina)²⁰.

Confronto tra SIT e altri tipi di trattamento dell'asma

La maggior parte degli studi clinici sulla SIT per l'asma hanno valutato l'efficacia della SIT o verificandone l'effetto rispetto all'entità della sintomatologia prima della SIT (controllo storico) o valutandone l'effetto rispetto a gruppi trattati con placebo. Fino ad oggi l'efficacia della SIT nell'asma è stata raramente confrontata con la gestione tradizionale della malattia (misure di allontanamento dell'allergene e/o farmaci somministrati per via inalatoria o per via orale). Un recente studio ha valutato la SIT in bambini asmatici trattati con terapia farmacologica e non ha evidenziato benefici aggiuntivi nei pazienti che ricevevano già una terapia ottimale²¹. Contro questo studio sono state mosse critiche rilevanti, che rendono urgenti ulteriori studi di questo tipo. È anche importante che tali studi includano l'analisi costo-beneficio e costo-efficacia: dal momento che le risorse destinate alla salute sono limitate, i decisori istituzionali richiedono sempre più prove in tal senso, prima di finanziare qualsiasi terapia, compresa la SIT.

GLI EFFETTI DELLA STORIA NATURALE DELLA MALATTIA ALLERGICA

Ogni anno una quota di pazienti affetti da rinite allergica sviluppa asma. È stato suggerito che la SIT possa modificare la storia naturale dell'asma nei bambini atopici che non hanno ancora sviluppato l'asma. Durante gli anni '60 e '70, tra gli studenti dei college, il tasso annuale di progressione della malattia era stimato attorno al 5%²², ma questa cifra non è stata aggiornata. Un primo studio in aperto che ha utilizzato estratti allergenici misti non standardizzati ha suggerito che la SIT può aumentare la quota di bambini in remissione per asma e può anche ridurre la severità dei sintomi, in quelli con sintomatologia residua²³. Ulteriori evidenze del ruolo della SIT nella storia naturale della malattia allergica sono emerse da studi che dimostravano come la SIT possa ridurre la probabilità di sviluppare nuove sensibilizzazioni (verso allergeni diversi da quello usato per la terapia)²⁴. Un importante studio multicentrico sta valutando se la SIT possa prevenire lo sviluppo di asma in bambini allergici di età compresa tra i 7 e i 13 anni. Dopo tre anni di terapia, rispetto al gruppo di controllo, il 28% in meno di bambini manifestava sintomi asmatici, suggerendo che la SIT incida positivamente sugli effetti della sensibilizzazione allergica. Il punto critico è se la SIT ritardi la comparsa dell'asma o la prevenga completamente; in ogni caso la risposta non emergerà dallo studio ancora per molti anni²⁵. Al contrario non ci sono evidenze che la SIT influenzi l'evoluzione di un'asma stabilizzata. Gli studi che hanno indagato gli effetti della sospensione della terapia hanno evidenziato una rapida ricorrenza dei sin-

tomi asmatici, sebbene i sintomi rinitici sembrano mostrare una remissione prolungata dopo la SIT²⁶.

La SIT si dimostra così un valido, seppur controverso, strumento per trattare l'asma. Sebbene sembri logico trattare le malattie allergiche attraverso una soppressione specifica della risposta immune nei confronti degli antigeni scatenanti, il problema critico è se la SIT, allo stato attuale, è la migliore opzione per trattare pazienti affetti da asma. L'accertamento richiede adeguati confronti tra la migliore SIT oggi a disposizione e la migliore terapia, con solidi endpoints che includano sintomi, misure oggettive di funzionalità polmonare, valutazione del rapporto costo-beneficio, della sicurezza e della qualità di vita. Le misure *in vivo* ed *in vitro*, le risposte ai test cutanei o la misura delle IgG4 allergene-specifiche, non sono sufficientemente specifiche o sensibili per essere considerate markers surrogati di efficacia clinica. Ad oggi esistono relativamente pochi studi controllati sulla SIT nell'asma, ma ci sono evidenze crescenti, della sua efficacia nell'asma scatenata dall'acaro della polvere e dai pollini. È meno certa l'efficacia clinica della SIT nei pazienti asmatici adulti sensibilizzati al gatto o alle muffe e non sono stati fatti studi di confronto con i trattamenti farmacologici. Sono necessari ulteriori studi clinici, in modo particolare in bambini con asma moderata e grave e in pazienti atopici che non hanno ancora manifestato sintomi asmatici, ma che hanno un elevato rischio di sviluppare la malattia.

SICUREZZA DELLA SIT

Il principale elemento contro un diffuso uso della SIT per l'asma è il rischio di importanti reazioni avverse. Nel Regno Unito tra il 1957 e il 1986 sono stati registrati dal Committee on Safety of Medicines 26 decessi²⁷. In 17 era stata documentata l'indicazione alla SIT: 16 dei 17 pazienti effettuavano la SIT come trattamento per l'asma. Analogamente nell'inchiesta dell'American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology sulle morti legate alla SIT, l'asma era teoricamente presente in tutti i casi²⁸. Nei casi in cui l'asma non era esplicitamente citata come un fattore concomitante, mancava la documentazione che ne negasse la presenza, inoltre il broncospasmo era il sintomo principale del decorso clinico della reazione anafilattica. L'incidenza di reazioni sistemiche nei pazienti sottoposti a SIT per asma varia tra le casistiche ed è stimata tra il 5% e il 35%. La questione centrale nell'impiego della sicurezza come parametro di valutazione di una terapia è ammettere che tutti i trattamenti comportino dei rischi. Se esistono rischi diversi tra le terapie, quella più rischiosa può essere giustificata solo se offre notevoli benefici aggiuntivi, rispetto alla terapia più sicura. La scienza della valutazione del rapporto rischio-beneficio è ancora agli albori e si deve constatare che, perfino di fronte agli stessi eventi pazienti e/o analisti diversi possono arrivare a conclusioni molto differenti.

È generalmente condiviso che i trattamenti immunomodulatori non dovrebbero essere prescritti a pazienti con disordini autoimmuni o neoplasie. Sebbene non sussistano sicure evidenze che la SIT sia realmente pericolosa

per questi soggetti, è opinione comune che il tentare di manipolare il sistema immune di questi pazienti sia piuttosto avventato, se non altro perché non si può escludere che alterazioni, spontanee e non correlate, del sistema immune o neoplastiche possano essere associate alla SIT. Comunque, dopo che rischi e benefici siano valutati e discussi con il paziente, la SIT può essere prescritta quando il rapporto rischio-beneficio è in modo evidente a favore del trattamento. Altre controindicazioni mediche alla SIT comprendono la concomitante presenza di importanti patologie cardiovascolari, che possono essere aggravate da un'eventuale reazione avversa alla SIT. Anche i beta-bloccanti sono controindicati in pazienti che effettuano la SIT. Sebbene essi non aumentino il rischio di reazioni avverse potrebbero impedire che il paziente risponda all'adrenalina, nel caso in cui tale farmaco si renda necessario per il trattamento di gravi reazioni avverse. Se esiste una forte indicazione alla SIT, i beta-bloccanti dovrebbero essere sostituiti da farmaci alternativi che consentano di migliorare la sicurezza di somministrazione della SIT.

FORME ALTERNATIVE DI IMMUNOTERAPIA

Le pratiche allergologiche alternative si dividono principalmente in tre gruppi: l'uso di test diagnostici non convenzionali per indagare gli agenti causali delle malattie allergiche, l'uso di terapie non convenzionali per trattare le malattie allergiche e la diagnosi e terapia di malattie che non sono ufficialmente considerate conseguenza di meccanismi allergici. Le forme alternative di immunoterapia ricadono nella seconda categoria, mentre le altre due categorie esulano dallo scopo di questa revisione. Numerose forme di immunoterapia non convenzionale sono state descritte e sperimentate compreso l'uso dell'immunoterapia topica, della desensibilizzazione potenziata con enzimi e la desensibilizzazione omeopatica.

IMMUNOTERAPIA TOPICA

Regimi con alte dosi di immunoterapia topica sono stati impiegati nella prima metà del ventesimo secolo, ma l'interesse per tali approcci è progressivamente scomparso. Negli ultimi dieci anni ha conquistato sempre più interesse l'immunoterapia sublinguale, che si basa sull'assunto di una diversa processazione dell'allergene, introdotto attraverso la superficie mucosa, rispetto alla via iniettiva. In modelli animali le risposte di tipo IgE verso gli allergeni possono essere ridotte o prevenute dalla somministrazione orale dell'allergene ed esistono numerosi studi clinici incoraggianti anche nell'uomo. È ancora sconosciuto il preciso meccanismo con il quale si induce questa "tolleranza orale", ma sembra che il percorso di processazione e presentazione dell'allergene siano fattori determinanti per la successiva risposta delle cellule T. Nel topo l'allergene somministrato localmente è processato dalle cellule dendritiche della mucosa e poi presentato alle cellule T, orientando attraverso l'IL-12, la risposta più verso il profilo Th1 che non verso il profilo

Th2. Non è ben chiaro se questo meccanismo possa sopprimere una risposta allergica già stabilizzata. In contrasto con il modello animale, la risposta immunologica alla SIT sublinguale è relativamente modesta negli esseri umani. Sono stati evidenziati alcuni cambiamenti della sensibilità cutanea, ma la maggior parte degli studi non ha evidenziato alcun cambiamento per quanto riguarda le IgE allergene-specifiche, le IgG allergene-specifiche o le citochine prodotte dalle cellule T.

Nel 1998 l'European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) ha pubblicato una revisione sulla immunoterapia non iniettiva analizzando 31 studi²⁹: in 14 era stata usata la via nasale, in 9 la via orale, in 6 la via sublinguale ed in 2 si somministrava l'allergene direttamente nelle vie aeree. La maggior parte di questi studi erano stati condotti su pochi pazienti, inoltre sono state usate metodologie differenti ma dopo attente meta-analisi si possono trarre alcune conclusioni. Innanzitutto è risultato evidente che l'immunoterapia per via nasale è efficace, con un beneficio riscontrato in 13 dei 14 studi. Gli effetti positivi della SIT per via nasale sembrano manifestarsi solo durante la terapia: nella stagione successiva a due anni di immunoterapia efficace, la gravità dei sintomi ritornava uguale a quella dei pazienti non trattati. Gli effetti collaterali locali sono riportati come abbastanza comuni. Piuttosto che attraverso un effetto immunologico vero e proprio, si può supporre che l'immunoterapia nasale possa agire attraverso la stimolazione continua della degranulazione mastocitaria locale, con conseguente induzione di tolleranza. A differenza della via sublinguale, l'immunoterapia per via orale appare inefficace. Per quanto riguarda la via sublinguale sono stati presi in considerazione solo 6 studi: 4 in adulti e 2 in bambini. In totale 117 pazienti hanno effettuato una immunoterapia attiva. In tutti gli studi si è dimostrato un beneficio dall'uso dell'immunoterapia attiva, in tutti la via di somministrazione sublinguale è stata seguita dalla deglutizione dell'estratto (l'estratto veniva cioè posizionato sotto la lingua e trattenuto lì per alcuni minuti e quindi inghiottito). Gli effetti collaterali sistemici sono stati rari e nessuno è stato giudicato tale da mettere in pericolo la vita del paziente. In uno studio si è verificata una significativa riduzione della reattività cutanea, ma non sono stati evidenziati cambiamenti oggettivi per quanto riguarda la reattività bronchiale verso l'allergene o la metacolina. Il Position Paper dell'EAACI ha concluso che l'immunoterapia sublinguale si è dimostrata efficace in pazienti con rinite, ma non vi sono ancora informazioni sufficienti per trarre conclusioni circa il suo impiego nell'asma. Dal 1999 sono stati pubblicati numerosi altri studi la maggior parte dei quali sembrano mostrare alcuni benefici sui sintomi nasali, anche se ad un livello minore rispetto a quanto trovato per la SIT iniettiva. Nonostante le affermazioni di alcuni sostenitori di tale procedura e di alcune ditte produttrici, sembra ancora prematuro considerare la SIT sublinguale una valida alternativa alla SIT per via iniettiva.

Desensibilizzazione potenziata dall'enzima

Nella desensibilizzazione potenziata da enzima (EPD)

TABELLA II. Nuove possibili tecnologie per l'immunoterapia

Allergeni ricombinanti
Allergeni ipoallergenici (molecole ricombinanti bioingegnerizzate)
Vaccini con peptici delle cellule T
Immunostimolatori Th1 (es, micobatteri, CpG)
Complessi allergene-immunostimolatoreAnti-IgE

piccolissime dosi di allergene vengono somministrate insieme con l'enzima beta-glucuronidasi. Le dosi di allergene sono approssimativamente lo 0,1% delle dosi usate nella tradizionale SIT e apparentemente non si va incontro a effetti indesiderati. La teoria che sta dietro alla EPD è che la beta-glucuronidasi favorisca l'accesso dell'allergene al sistema immunitario in modo più efficace di quanto non possa avvenire per la SIT tradizionale. Non esistono comunque evidenze convincenti pubblicate a supporto dell'efficacia della EPD.

Desensibilizzazione omeopatica

Una discussione dettagliata dei principi che stanno alla base dell'omeopatia esula da questa trattazione. In ogni modo l'omeopatia sposa il concetto che le malattie possono essere trattate con dosi piccolissime delle sostanze che causano i sintomi stessi. Alcuni rimedi omeopatici mimano la malattia, mentre altri utilizzano ciò che scatena la malattia. Per tale motivo i rimedi omeopatici per la febbre da fieno apparentemente assomigliano alla SIT. Una revisione sistematica sull'omeopatia ha concluso che questa pratica medica sembra offrire alcuni benefici per la febbre da fieno³⁰. In uno studio controllato più recente, l'omeopatia come trattamento dell'asma da allergia all'acaro della polvere, non ha dimostrato alcuna evidenza di efficacia³¹.

ORIENTAMENTI FUTURI

I progressi nel campo della biologia molecolare dovrebbero portare a miglioramenti della tradizionale SIT (tabella II).

Una possibile via prevede l'uso di allergeni ricombinanti, che dovrebbero permettere una migliore standardizzazione dei vaccini, così come una personalizzazione del vaccino per quei pazienti con profili di reattività inusuali. La maggior parte dei pazienti reagisce agli stessi componenti di un estratto allergenico, i cosiddetti allergeni maggiori, che sono definiti come quegli allergeni riconosciuti da più del 50% dei sieri di pazienti, che hanno un'allergia clinicamente rilevante verso l'allergene in questione. Comunque non tutti i pazienti riconoscono tutti gli allergeni maggiori e alcuni pazienti riconoscono solo allergeni, che non sono riconosciuti dalla maggior parte dei pazienti allergici. Quest'ultimo gruppo potrebbe non rispondere agli estratti standard, ma potrebbero essere trattati con successo con la specifica combinazione di allergeni verso cui sono sensibili. Fino all'avvento della biologia molecolare, ciò non era possibile. La disponibilità di allergeni ricombinanti per la SIT dovrebbe

be quindi portare a una migliore caratterizzazione del tipo di sensibilizzazione e in ultima analisi alla produzione di vaccini migliori.

La tecnologia molecolare ricombinante ha anche reso possibile lo sviluppo di nuove forme di molecole allergeniche. Un gruppo di ricercatori ha creato un trimero ricombinante composto da tre coppie di allergene maggiore della betulla, Bet v 1, legate covalentemente. Questo trimero ha mostrato una attività allergenica notevolmente ridotta pur avendo, come la molecola originale, gli stessi epitopi riconosciuti dalle cellule B e T inoltre il trimero è capace di indurre il rilascio di citochine Th1. È interessante notare che il trimero rBet v 1 induce la produzione di anticorpi IgG in modo analogo a quanto si verifica nella SIT^{32,33}.

Poiché gli epitopi riconosciuti dalle molecole IgE sono di solito tridimensionali, mentre gli epitopi riconosciuti dalle cellule T sono piccoli frammenti lineari di peptide dell'antigene, dovrebbe essere possibile usare frammenti peptidici degli allergeni per modulare le cellule T senza andare incontro al rischio di anafilassi. Sono stati sperimentati due distinti modi. O si somministrano grandi dosi di sequenze peptidiche naturali, inducendo le cellule T alla tolleranza ad alte dosi³⁴, o somministrando un peptide-ligando modificato. Entrambi gli approcci devono tener conto del complesso maggiore di istocompatibilità del soggetto che dovrà effettuare il trattamento. Attraverso l'alterazione sequenziale dei peptidi Der p è possibile sopprimere la proliferazione dei cloni delle cellule T che riconoscono i peptidi originali Der p, ed inibire l'espressione del CD40 e la produzione di IL-4, IL-5 e IFN-gamma. Queste cellule T anergiche bloccano lo switch verso le IgE delle cellule B e ancor più importante questa condizione di anergia non può essere invertita fornendo IL-4 esogena³⁵.

In un modello animale l'applicazione intranasale di ricombinanti ipoallergenici dei Bet v 1 ha indotto una tolleranza della mucosa con una significativa riduzione delle risposte anticorpali IgE e IgG1, così come una riduzione in vitro della produzione delle citochine (IL-5, IFN-gamma, IL-10). La riduzione di queste risposte immunologiche è stata accompagnata dall'inibizione della risposta cutanea e delle vie aeree verso l'allergene completo di Bet v 1. Il meccanismo di immunosoppressione sembra differente per i frammenti allergenici e per l'intera molecola, in quanto la tolleranza indotta dall'intera molecola Bet v 1 era trasferibile con le cellule spleniche, mentre la tolleranza indotta dai frammenti non lo era³⁶.

Da studi epidemiologici e sperimentali sappiamo che la vaccinazione con micobatteri possiede proprietà anti-allergiche. In Giappone la precoce vaccinazione con il bacillo di Calmette-Guerin si è associata ad una sostanziale riduzione del rischio di sviluppare allergia³⁷, anche se una tale associazione non si è confermata in Svezia³⁸. In un modello animale si è dimostrato che la somministrazione del bacillo di Calmette-Guerin prima o durante la sensibilizzazione all'ovalbumina riduce il grado di eosinofilia delle vie aeree, che fa seguito al successivo challenge con ovalbumina. Questo effetto non è mediato da nessun effetto diretto sulla produzione delle IgE o del

numero degli eosinofili circolanti, ma è mediato dall'IFN-gamma e può essere invertito da IL-5 esogena³⁹. Importanti sviluppi riguardano anche due nuovi approcci che usano vaccini a DNA. Il primo di questi è un approccio che fa uso degli oligodeossinucleotidi (ODN) citosina-fosfato-guanosina (CpG). I CpG ODN imitano il DNA batterico e stimolano le risposte citochiniche di tipo Th1. In un modello animale di asma, la precoce somministrazione di CpG ODN ha prevenuto sia l'eosinofilia delle vie aeree che iperreattività bronchiale⁴⁰. Questi effetti inoltre si sono mantenuti per almeno 6 settimane dalla somministrazione di CpG ODN⁴¹. Un approccio alternativo è quello di associare i CpG ODN alla proteina allergenica, il che aumenta l'immunogenicità in termini di produzione di risposta di tipo Th1 verso l'allergene, riducendone l'allergenicità⁴² e stimolando, in culture di cellule umane mononucleate del sangue periferico, l'espressione di citochine Th1⁴³. I primi trials clinici hanno confermato che il vaccino ibrido determina un pattern di risposta Th1⁴⁴ e si attendono con impazienza studi clinici su campioni più numerosi. Vaccini con DNA anti-senso potrebbero anche essere impiegati per inibire i recettori adenosinici delle vie aeree. In modelli animali di asma ciò ha determinato una riduzione della risposta delle vie aeree indotta dall'allergene⁴⁵. Un approccio contrastante è l'utilizzo come vaccino di sequenze di DNA "nudo", specifiche per l'allergene. Questa tecnologia è ancora agli albori, ma dati preliminari suggeriscono che il fornire DNA "nudo" induce la produzione di allergeni da parte delle cellule epiteliali delle vie aeree^{46,47}. In considerazione delle differenti modalità di risposta del sistema immunitario agli allergeni endogeni e esogeni, sembra che la produzione endogena degli allergeni provochi una risposta di tipo Th1; se ciò può essere riprodotto negli esseri umani allergici, è ipotizzabile che si possa superare il preesistente pattern di risposta Th2 ed eliminare l'allergia. D'altra parte la possibilità di generare una potente risposta Th1 verso agenti ubiquitari, richiede che tale approccio sia attentamente valutato in modelli animali prima di poter essere perseguito nell'uomo.

CONCLUSIONI

La SIT è in uso da più di un secolo ed è clinicamente efficace nei pazienti con rinite o asma i cui sintomi sono chiaramente indotti dagli allergeni. Può essere sorprendente che solo ora si stia comprendendo il meccanismo d'azione: la visione generale è che la vaccinazione induca cellule T regolatorie, che riducono l'entità della risposta all'esposizione allergenica dei soggetti sensibilizzati. Quando viene utilizzata in pazienti appropriatamente selezionati, la SIT è efficace e sicura, ma è necessario porre attenzione nel riconoscere, e quindi trattare, le reazioni avverse. Così come deve essere attenta la selezione del paziente, è essenziale un'appropriata formazione degli allergologi e di tutto lo staff clinico. Orientamenti futuri nel campo della SIT comprendono lo sviluppo di vaccini meglio standardizzati e l'uso di allergeni ricombinanti, entrambi dovrebbero migliorare il profilo di

sicurezza della SIT. Lo sviluppo di terapie con un effetto immunomodulatorio più ampio potrebbe permettere di sviluppare approcci terapeutici particolarmente vantaggiosi per i pazienti polisensibilizzati.

BIBLIOGRAFIA

1. Freeman J. Vaccination against hay fever: report of results during the first three years. *Lancet* 1914;1:1178.
2. Creticos PS, Van Metre TE, Mardiney MR, Rosenberg GL, Norman PS, Adkinson NF. Dose-response of IgE and IgG antibodies during ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:94-104.
3. Iliopoulos O, Proud D, Adkinson NF, Creticos PS, Norman PS, Kagey-Sobotka A, et al. Effects of immunotherapy on the early, late and rechallenge nasal reaction to provocation with allergen: changes in inflammatory mediators and cells. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:855-66.
4. Durham SR, Ying S, Varney VA, Jacobson MR, Sudderick RM, Mackay IS, et al. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T-lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing mRNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1356-65.
5. McHugh SM, Deighton J, Stewart AG, Lachmann PJ, Ewan PW. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from a Th2 to a Th1 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:828-38.
6. Ebner C, Siemann U, Bohle B, Willheim M, Wiedermann U, Schenk S, et al. Immunological changes during specific immunotherapy of grass pollen allergy: reduced lymphoproliferative responses to allergen and shift from Th2 to Th1 in T-cell clones specific for Phl p1, a major grass pollen allergen. *Clin Exp Allergy* 1997;27:1007-15.
7. Bellinghausen I, Metz G, Enk AH, Christmann S, Knop J, Saloga J. Insect venom immunotherapy induces IL-10 production and a Th2 to Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997;27:586-96.
8. Nasser SM, Ying S, Meng Q, Kay AB, Ewan PW. IL-10 levels increase in cutaneous biopsies of patients undergoing wasp venom immunotherapy. *Eur J Immunol* 2001;31:3704-13.
9. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. Role of IL-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98-106.
10. Akdis CA, Blaser K. IL-10 induced anergy in peripheral T cells and reactivation by microenvironmental cytokines: two key steps in specific immunotherapy. *FASEB J* 1999;13:603-9.
11. Bellinghausen I, Knop J, Saloga J. The role of IL-10 in the regulation of allergic immune responses. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 2001;126:97-101.
12. Golden DB, Marsh DG, Freidhoff LR, Kwitrovich KA, Addison B, Kagey-Sobotka A, et al. Natural history of hymenoptera venom sensitivity in adults. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:760-6.
13. Varney VA, Gaga M, Frew AJ, Aber VR, Kay AB, Durham SR. Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer hay fever uncontrolled by anti-allergic drugs. *Br Med J* 1991;302:265-9.
14. Durham SR, Walker SM, Varga EM, Jacobson MR, O'Brien F, Nobel W, et al. Long-term clinical efficacy of grass pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999;341:468-75.

15. Naclerio RM, Proud D, Moylan B, Balcer S, Freidhoff L, Kagey0-Sobotka A, et al. A double blind study of the discontinuation of ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:293-300.
16. Varney VA, Edwards J, Tabbah K, Brewster H, Mavroleon G, Frew AJ. Clinical efficacy of specific immunotherapy to cat dander: a double blind placebo controlled trial. *Clin Exp Allergy* 1997;27:860-7.
17. Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ. WHO position paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic disease. *Allergy* 1998;53(S44):1-42.
18. Abramson M, Puy R, Weiner J. Immunotherapy in asthma: an updated systematic review. *Allergy* 1999;54:1022-41.
19. Creticos PS, Reed CE, Norman PS, Khoury J, Adkinson NF, Buncher CR, et al. Ragweed immunotherapy in adult asthma. *N Engl J Med* 1996;334:501-6.
20. Lilja G, Sundin B, Graff-Lonnevig V, Hedlin G, Heilborn H, Norrlind K, et al. Immunotherapy with partially purified and standardised animal dander extracts. IV. Effects of 2 years of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:37-44.
21. Adkinson NF, Eggleston PA, Eney D, Goldstein EO, Schuberth KC, Bacon JR, et al. A controlled trial of immunotherapy for asthma in allergic children. *N Engl J Med* 1997;336:324-31.
22. Horak F. Manifestation of allergic rhinitis in latent sensitised patients. A prospective study. *Arch Otorhinolaryngol* 1985;242:242-9.
23. Johnstone DE, Dutton A. The value of hyposensitization therapy for bronchial asthma in children: a 14 year study. *Pediatrics* 1968;42:793-802.
24. Des Roches A, Paradis L, Menardo JL, Bouges S, Daures JP, Bousquet J. Immunotherapy with a standardised Dermatophagoides pteronyssinus extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitisations in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:450-3.
25. Moller C, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Host A, Jacobsen L, et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:251-6.
26. Shaikh WA. Immunotherapy vs inhaled budesonide in bronchial asthma: an open parallel comparative trial. *Clin Exp Allergy* 1997;27:1279-84.
27. Committee on the Safety of Medicines. CSM update: immunotherapy. *Br Med J* 1986;293:948.
28. Stewart GE, Lockey RF. Systemic reactions from allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:567-78.
29. Malling HJ, Abreu-Nogueira J, Alvarez-Cuesta E, Bjorksten B, Bousquet J, Caillot D, et al. Local immunotherapy (position paper). *Allergy* 1998;53:933-44.
30. Reilly DT, Taylor MA, McSharry C, Aitchison T. Is homeopathy a placebo response? Controlled trial of homeopathic potency with pollen in hay fever as a model. *Lancet* 1986;2:1272.
31. Lewith GT, Watkins AD, Hyland ME, Shaw S, Broomfield JA, Dolan G, et al. Use of ultramolecular potencies of allergen to treat asthmatic people allergic to house dust mite: double blind randomised controlled clinical trial. *Br Med J* 2002;324:520.
32. Vrtala S, Hirtenlehner K, Susani M, Akdis M, Kussebi F, Akdis CA, et al. Genetic engineering of a hypoallergenic trimer of the major birch pollen allergen Bet v 1. *FASEB J* 2001;15:2045-7.
33. Vrtala S, Akdis CA, Budak F, Akdis M, Blaser K, Kraft D, et al. T cell epitope-containing hypoallergenic recombinant fragments of the major birch pollen allergen, Bet v 1, induce blocking antibodies. *J Immunol* 2000;165:6653-9.
34. O'Hehir RE, Yssel H, Verma S, de Vries JE, Spits H, Lamb JR. Clonal analysis of differential lymphokine production in peptide and superantigen-induced T-cell anergy. *Int Immunol* 1991;3:819-26.
35. Fasler S, Aversa G, de Vries JE, Yssel H. Antagonistic peptides specifically inhibit proliferation, cytokine production, CD40L expression and help for IgE synthesis by Der p1-specific human T-cell clones. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:521-30.
36. Wiedermann U, Herz U, Baier K, Vrtala S, Neuhaus-Stemmetz U, Bohle B, et al. Intranasal treatment with a recombinant hypoallergenic derivative of the major birch pollen allergen Bet v 1 prevents allergic sensitization and airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:68-77.
37. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu SI, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997;275:77-9.
38. Strannegaard IL, Larsson LO, Wennergren G, Strannegaard O. Prevalence of allergy in children in relation to prior BCG vaccination and infection with atypical mycobacteria. *Allergy* 1998;53:249-54.
39. Erb KJ, Holloway JW, Sobock A, Moll H, Le Gros G. Infection of mice with mycobacterium bovis-BCG suppresses allergen-induced airways eosinophilia. *J Exp Med* 1998;187:561-9.
40. Kline JN, Waldschmidt TJ, Businga TR, Lemish JE, Weinstock JV, Thorne PS, et al. Modulation of airway inflammation by CpG oligodeoxynucleotides in a murine model of asthma. *J Immunol* 1998;160:2555-9.
41. Sur S, Wild JS, Choudhury BK, Sur N, Alam R, Klinman DM. Long-term prevention of allergic lung inflammation in a mouse model of asthma by CpG oligodeoxynucleotides. *J Immunol* 1999;162:6284-93.
42. Tighe H, Takabayashi K, Schwartz D, van Nest G, Tuck S, Eiden JJ, et al. Conjugation of immunostimulatory DNA to the short ragweed allergen Amb a1 enhances its immunogenicity and reduces its allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:124-34.
43. Marshall JD, Abtahi S, Eiden JJ, Tuck S, Milley R, Haycock F, et al. Immunostimulatory sequence DNA linked to the Amb a 1 allergen promotes Th1 cytokine expression while downregulating Th2 cytokine expression in PBMCs from human patients with ragweed allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:191-7.
44. Creticos PS, Eiden JJ, Broide D, Balcer-Whaley SL, Schroeder JT, Khattignavong A, et al. Immunotherapy with immunostimulatory oligonucleotides linked to purified ragweed Amb a 1 allergen: effects on antibody production, nasal allergen provocation and ragweed seasonal rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:743-4.
45. Metzger WJ, Nyce JW. Oligonucleotide therapy of allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:260-6.
46. Hsu CH, Chua KY, Tao MH, Lai YL, Wu HD, Huang SK, et al. Immunoprophylaxis of allergen-induced IgE synthesis and airway hyperresponsiveness in vivo by genetic immunisation. *Nature Med* 1996;2:540-4.
47. Hartl A, Kiesslich J, Weiss R, Bernhaupt A, Mostböck S, Scheiblhofer S, et al. Immune responses after immunisation with plasmid DNA encoding Bet v 1, the major allergen of birch pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:107-13.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Negli ultimi cinque anni notevole interesse è stato rivolto ai meccanismi di azione della SIT, con particolare riferimento al ruolo svolto dalle cellule Treg e dagli anticorpi bloccanti IgG^{1,4}.

Per quanto attiene l'ITS per veleno di imenotteri, indicazioni, controindicazioni e limiti di impiego sono state ulteriormente precisate e dettagliate, sulla base di studi clinici e osservazionali pubblicati negli ultimi 4 anni. Il nuovo documento EAACI estende l'indicazione dell'immunoterapia a tutti i soggetti che abbiano avuto reazioni sistemiche alla puntura, indipendentemente dalla loro età, ed aggiunge raccomandazioni pratiche sulla durata dell'ITS e sul perdurare della sua efficacia.⁵

L'impiego della SIT nelle allergopatie respiratorie è stato oggetto di ulteriori valutazioni sia negli Stati Uniti sia in Europa che ne hanno dimostrato, ove esiste una precisa indicazione, la sicura efficacia sia nella rinite sia nell'asma.

Negli USA è stato prodotto un ampio documento congiunto dell'AAAAI e dell'ACAI nel quale i molteplici aspetti clinici della SIT sono rivisitati alla luce dei criteri basati sull'evidenza⁶; inoltre le linee guida NAEPP ne valorizzano l'indicazione anche nell'asma bronchiale allergico.⁷

In Europa la maggior attenzione è stata rivolta a:

- effetti positivi a lungo termine⁸;
- possibilità di prevenire lo sviluppo di asma nei soggetti rinitici^{9,10};
- utilizzo della via di somministrazione sub-linguale^{11,13} (SLIT).

Inoltre, per la prima volta un estratto allergenico di graminacee è stato registrato come farmaco dall'ente regolatorio europeo (EMA), aprendo la strada ad una prevedibile futura disponibilità nella farmacopea ufficiale di ulteriori altri estratti allergenici.

Significativi contributi alla SLIT sono derivati da studi italiani su farmacocinetica, meccanismo d'azione, efficacia e sicurezza di allergoidi monomerici.

Sebbene sia stato redatto un documento congiunto AAAAI e EAACI sull'impiego della SIT nell'asma pediatrico¹⁴ esistono tutt'ora numerose divergenze tra Stati Uniti ed Europa, con particolare riferimento al tipo di estratti impiegati ed alla via di somministrazione.¹⁵

Sulla base di misure standardizzate di outcome, definite dalla World Allergy Organization¹⁶, la SIT, per via iniettiva¹⁷ e per via sublinguale^{11-13,18} ha mostrato efficacia e sicurezza; esiste tuttavia un ampio dibattito sull'opzione da preferire in rapporto a tipologia del paziente, grado di efficacia, livello di sicurezza e costi del trattamento.

Un certo interesse nell'ambito delle prospettive future di trattamento, riveste l'impiego di allergeni modificati o ricombinanti¹⁹ e soprattutto di sostanze in grado di modulare l'immunità innata.²⁰

Riferimenti bibliografici

1. **Update on mechanisms of allergen injection immunotherapy**
James LK, Durham SR.
Clin Exp Allergy. 2008;38:1074-88
2. **Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy**
Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, Durham SR
J Allergy Clin Immunol 2003; 112:915-22
3. **IgG-blocking antibodies inhibit IgE-mediated anaphylaxis in vivo through both antigen interception and FcγRIIb cross-linking**
Strait RT, Morris SC, Finkelman FD
J Clin Invest 2006; 116:833-41
4. **Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity**
Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK et al
J Immunol 2004; 172: 3252-9
5. **Prevention and treatment of hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice**
Bonifazi F, Jutel M, Bilo BM, Birnbaum J, Muller U; EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity*
Allergy. 2005 Dec;60(12):1459-70
6. **Allergen Immunotherapy: A practice parameter**
Cox L, Li JT, Nelson H, Lockey R
J Allergy Clin Immunol. 2007;120: S25-S83

7. **Guidelines for diagnosis and management of asthma. Expert Panel Report 3: Moving forward to improve asthma care**
Busse WW, Lemanske RF Jr
J Allergy Clin Immunol. 2007 Nov;120: S94-S138
8. **Twelve-year follow-up after discontinuation of preseasonal grass pollen immunotherapy in childhood**
Eng PA, Borer-Reinhold M, Heijnen IA, Gnehm HP
Allergy 2006; 61: 198-201
9. **Five-year follow up on the PAT study: Specific immunotherapy and longterm prevention of asthma in children**
Niggemann B, Jacobsen L, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A et al
Allergy 2006; 61: 865-869
10. **Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis**
Novembre E, Galli E, Landi F, Caffarelli C, Pifferi M, De Marco E et al
J Allerg Clin Immunol. 2004; 114: 851-7
11. **Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis**
Wilson DR, Torres L, Durham SR
Allergy 2005; 60: 3-8
12. **Efficacy of Sublingual immunotherapy in asthma. Systematic review of randomized clinical trials**
Calamita Z, Saconato H, Bronhara Pelà A, Nagib Atallah A
Allergy 2006; 61: 1162-72
13. **Efficacy of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis in children. Meta analysis of randomized controlled trials**
Penagos M, Compalati E, Tarantini F, Baena Cagnani R, Huerta Lopez J, Passalacqua G et al
Ann Allergy Asthma Immunol 2006; 97: 141-8
14. **Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report**
Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Götz M, Helms PJ, Hunt J, Liu A, Papadopoulos N, Platts-Mills T, Pohunek P, Simons FE, Valovirta E, Wahn U, Wildhaber J; European Pediatric Asthma Group
Allergy. 2008; 63 :5-34
15. **Sublingual immunotherapy: a comprehensive review**
Cox LS, Linnemann DL, Nolte H, Weldon D, Finegold I, Nelson HS
J Allergy Clin Immunol. 2006; 117: 1021-35
16. **ARIA Update: specific immunotherapy**
Passalacqua G, Durham S
J Allergy Clin Immunol 2007;119; 881-91
17. **Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy**
Canonica GW, Baena Cagnani C, Bousquet J, Bousquet PJ, Passalacqua G, Potter P, Lockey RF, Valovirta E
A statement of a WAO
18. **Allergen immunotherapy for asthma**
Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM
Cochrane Database Syst Rev. 2003;(4):CD001186
19. **Sublingual immunotherapy with once-daily grass-allergen tablets: a randomised controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis**
Durham SR, Yang WH, Pedersen MR, Johansen N, Rak S
J Allergy Clin Immunol 2006; 117: 802-9
20. **Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens**
Jutel M, Jaeger L, Suck R, Meyer H, Fiebig H, Cromwell O
J Allergy Clin Immunol. 2005; 116: 608-13
21. **Monophosphoryl lipid A (MPL) promotes allergen-induced immune deviation in favour of Th1 responses**
Puggioni F, Durham SR, Francis JN
Allergy. 2005; 60: 678-84

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Inhibition of allergen-IgE binding to B cells by IgG antibodies after grass pollen immunotherapy

Wachholz PA, Soni NK, Till SJ, Durham SR
J Allergy Clin Immunol 2003; 112:915-22

Coseasonal sublingual immunotherapy reduces the development of asthma in children with allergic rhinoconjunctivitis

Novembre E, Galli E, Landi F, Caffarelli C, Pifferi M, De Marco E et al
J Allergy Clin Immunol. 2004; 114: 851-7

Dose dependence and time course of the immunologic response to administration of standardized cat allergen extract

Nanda A, O'Connor M, Anand M, Dreskin SC, Zhang L, Hines B et al
J Allergy Clin Immunol 2004; 114: 1339-44

Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens

Jutel M, Jaeger L, Suck R, Meyer H, Fiebig H, Cromwell O
J Allergy Clin Immunol. 2005; 116: 608-13

Sublingual immunotherapy with once-daily grass-allergen tablets: a randomised controlled trial in seasonal allergic rhinoconjunctivitis

Durham SR, Yang WH, Pedersen MR, Johansen N, Rak S
J Allergy Clin Immunol 2006; 117: 802-9

Sublingual immunotherapy: A comprehensive review

Linda S. Cox, Désirée Larenas Linnemann, Hendrik Nolte, David Weldon, Ira Finegold, Harold S. Nelson
The Journal of Allergy and Clinical Immunology May 2006 (Vol. 117, Issue 5, Pages 1021-1035)

Sublingual immunotherapy: a comprehensive review

Cox LS, Linnemann DL, Nolte H, Weldon D, Finegold I, Nelson HS
J Allergy Clin Immunol. 2006; 117: 1021-35

Allergen immunotherapy: Where is it now?

The Journal of Allergy and Clinical Immunology April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 778-779)

Recombinant allergens for immunotherapy, 10 March 2007

Rudolf Valenta, Verena Niederberger
The Journal of Allergy and Clinical Immunology April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 826-830)

Update on the current status of peptide immunotherapy

Mark Larché
The Journal of Allergy and Clinical Immunology April 2007 (Vol. 119, Issue 4, Pages 906-909)

Allergen immunotherapy: A practice parameter second update

Linda Cox, James T. Li, Harold Nelson, Richard Lockey
The Journal of Allergy and Clinical Immunology September 2007 (Vol. 120, Issue 3, Pages S25-S85)

ARIA Update: specific immunotherapy

Passalacqua G, Durham S
J Allergy Clin Immunol 2007

Altri articoli di interesse (2003/2008)

IgG-blocking antibodies inhibit IgE-mediated anaphylaxis in vivo through both antigen interception and FcγRIIb cross-linking

Strait RT, Morris SC, Finkelman FD
J Clin Invest 2006;116:833-41

A novel human immunoglobulin Fc gamma Fc epsilon bifunctional fusion protein inhibits Fc epsilon RI-mediated degranulation

Zhu D, Kopley CL, Zhang M, Zhang K, Saxon A
Nat Med 2002;8:518-21

Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity

Nouri-Aria KT, Wachholz PA, Francis JN, Jacobson MR, Walker SM, Wilcock LK et al
J Immunol 2004;172:3252-9

Five-year follow up on the PAT study: Specific immunotherapy and long-term prevention of asthma in children

Niggemann B, Jacobsen L, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A et al
Allergy 2006;61:865-869

Twelve-year follow-up after discontinuation of preseasonal grass pollen immunotherapy in childhood

Eng PA, Borer-Reinhold M, Heijnen IA, Gnehm HP
Allergy 2006;61:198-201

Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis

Wilson DR, Torres L, Durham SR
Allergy 2005;60:3-8

Efficacy of Sublingual immunotherapy in asthma. Systematic review of randomized clinical trials

Calamita Z, Saconato H, Bronhara Pelà A, Nagib Atallah A
Allergy 2006;61:1162-72

Efficacy of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis in children. Meta analysis of randomized controlled trials

Penagos M, Compalati E, Tarantini F, Baena Cagnani R, Huerta Lopez J, Passalacqua G et al
Ann Allergy Asthma Immunol 2006;97:141-8

Post marketing survey on the safety of sublingual immunotherapy in children below the age of 5 years

Di Rienzo V, Musarra A, Sambugaro R, Minelli M, Pecora S, Canonica GW, Passalacqua G
Clin Exp Allergy 2005;35:560-564

Prevention and treatment of hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice

Bonifazi F, Jutel M, Bilo BM, Birnbaum J, Muller U; EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity*
Allergy. 2005 Dec;60(12):1459-70

Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis

Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, Balcer-Whaley SL, Khattignavong AP, Lindblad R et al
N Engl J Med. 2006; 355: 1445-55

Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a WAO taskforce

Canonica GW, Baena Cagnani C, Bousquet J, Bousquet PJ, Passalacqua G, Potter P, Lockey RF, Valovirta E
Allergy. 2007 Mar;62(3):317-24

Specific immunotherapy for respiratory allergy: state of the art according to current meta-analyses

Compalati E, Penagos M, Tarantini F, Passalacqua G, Canonica GW
Ann Allergy Asthma Immunol 2009;102:22-8

26. Immunomodulazione e immunoterapia: farmaci, citochine, recettori di citochine e anticorpi

Nei precedenti capitoli di questo testo abbiamo descritto la risposta immune, base fondamentale per capire i siti potenziali per l'immunomodulazione e l'immunoterapia. Una serie di fattori di crescita e di attivazione vengono rilasciati dalle diverse cellule coinvolte nella risposte immune. Queste molecole giocano un ruolo fondamentale nell'avvio, nella propagazione e nella regolazione della risposta immunitaria. Tra i farmaci immunomodulatori vi sono agenti sia soppressori che stimolatori. Le terapie immunosoppressive includono antimetaboliti, farmaci citotossici, radiazioni, glucocorticosteroidi, immunofilline, e anticorpi terapeutici. Il campo dell'immunostimolazione clinica si sta dimostrando un'importante strada terapeutica per moltissime patologie da immunodeficienza, infezioni virali croniche, e per il cancro. Queste molecole verranno illustrate in termini di principi generali, bersagli molecolari, principali indicazioni ed effetti collaterali.

Numerosissime terapie in grado di interagire con le funzioni immunologiche sono state messe a punto per il trattamento di molte patologie umane. Da molti anni abbiamo a disposizione le terapie radianti, agenti citotossici chemioterapici e glucocorticosteroidi (GCS) che inducono potenti effetti immunosoppressori, insieme a frequenti e talvolta letali, effetti collaterali. I progressi nel campo dell'immunomodulazione clinica al momento attuale comprendono modificazioni nei dosaggi delle preparazioni classiche e realizzazione di nuovi farmaci.

Gli immunologi di base hanno chiarito i meccanismi alla base della specificità immunologica, del riconoscimento, attivazione, regolazione e induzione della tolleranza, che dipendono dall'interazione di molteplici tipi cellulari e dei loro prodotti. Queste scoperte hanno condotto allo sviluppo di terapie mirate che consentono una modulazione selettiva dell'equilibrio immunologico senza gravi effetti collaterali (Fig. 1). Gli agenti attualmente disponibili comprendono sia nuove classi di terapie immunosoppressive aspecifiche, sia agenti rivolti contro cellule specifiche, citochine o recettori per citochine.

L'immunoterapia include anche trattamenti che stimolano le difese dell'individuo fornendogli dosaggi fisiologici o soprafisiologici di citochine esogene, per combattere le infezioni virali croniche e la malattia neoplasica.

Abbreviazioni utilizzate:

AITP:	Porpora autoimmune trombocitopenica
ANCA:	Anticorpi contro il citoplasma dei neutrofili
AP-1:	Proteina attivante 1
CSA:	Ciclosporina A
CRS:	Sindrome da rilascio di citochine
COX-2:	Ciclossigenasi 2
FDA:	Food and Drug Administration
GCS:	Glucocorticosteroidi
GR:	Recettore per i glucocorticosteroidi
GRE:	Elementi di risposta ai glucocorticosteroidi
GVHD:	Reazione del trapianto contro l'ospite
HCT:	Trapianto di cellule emopoietiche
ICAM:	Molecole di adesione intercellulare
IMDP:	Inosina monofosfato deidrogenasi
INF:	Interferone
ITIM:	Motivo di inibizione immunoregolatoria basata sulla tirosina
IVIG:	Immunoglobuline endovenose
MMF:	Micofenolato mofetil
mTOR:	Bersaglio della rapamicina
NF-kB:	Fattore nucleare kB
NF-AT:	Fattore nucleare delle cellule T attivate
RCC:	Carcinoma a cellule renali
RSV:	Virus respiratorio sinciziale
RSV-IGIV:	Immunoglobuline endovenose contro il virus respiratorio sinciziale
TEN:	Necrosi epidermica tossica
TBI:	Irradiazione total body
TNF:	Tumor necrosis factor
VZIG:	Immunoglobuline per il virus varicella-zoster
VZV:	Varicella-zoster virus

stica. Un altro gruppo di agenti stimola la ripresa del compartimento emopoietico, in pazienti affetti da citopenia derivante da soppressione del midollo osseo patologica o terapia-dipendente. È importante ricordare anche gli anticorpi monoclonali e le molecole ibride: queste ultime combinano la specificità dell'immunoterapia con effetti citotossici chimici o radioattivi. Alcuni trattamenti approvati solo di recente, stanno rapidamente diventando procedure primarie standard, o trattamenti aggiuntivi, per pazienti che vengono gestiti da clinici e chirurghi (trapiantisti). Questo capitolo illustra le terapie attualmente disponibili per l'uomo. Il futuro dell'immunoterapia clinica presenta ampie prospettive dato che la conoscenza di base dell'immunofisiologia umana sta raggiungendo nuovi spazi e nuove dimensioni.

Traduzione italiana del testo di:
Robert P. Nelson e Mark Ballow
J Allergy Clin Immunol 2003; 111: S720-32

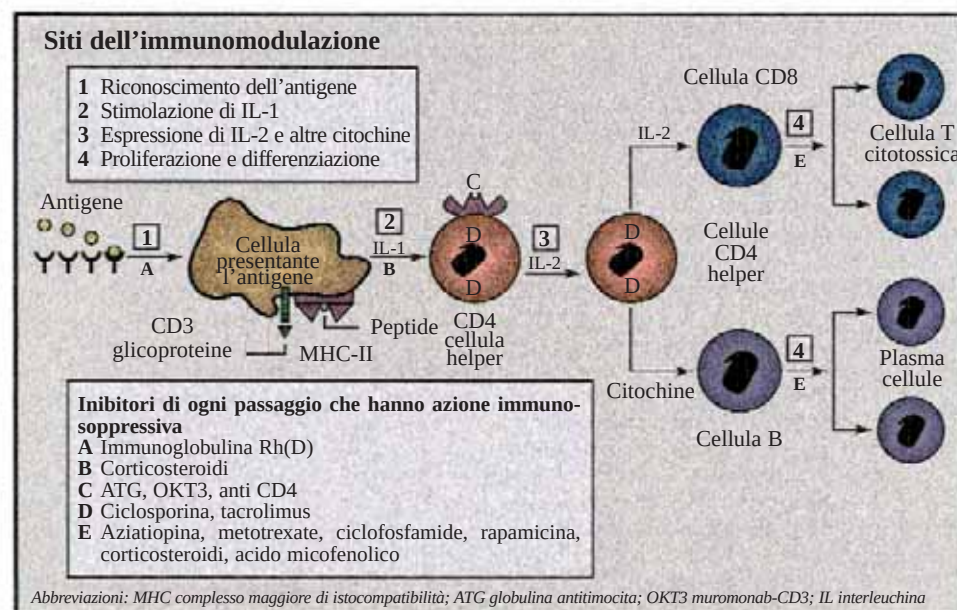


FIG 1. Siti di immunomodulazione. Le fasi della risposta immunitaria agli antigeni, sia anticorpale, che cellulo-media-ta (così come nelle malattie autoimmuni), sono indicate con i numeri. Con le lettere sono indicati esempi dei diversi immunomodulatori che possono sopprimere questi passaggi. Ad esempio l'immunoglobulina (A) Rh (D), previene la sensibilizzazione del sistema immunitario attaccando gli eritrociti estranei al passaggio iniziale (step 1) delle cellule presentanti gli antigeni. I corticosteroidi (B) riducono la reattività delle cellule CD4+ con le cellule presentanti gli anti-geni (step 2). Gli anticorpi contro le cellule T (C) inattivano le cellule T CD4+ (step 3). Le immunofilline agiscono all'interno delle cellule (linfociti CD4+ e CD8+ attivati), riducendo il loro stato di attivazione (step 3). Gli antimetabo-liti ed altri farmaci interferiscono con la funzione di effettori dei linfociti CD8+ e delle cellule B attivate che causano ad esempio malattie autoimmuni (step 4).

RADIAZIONI E FARMACI

Le radiazioni e i chemioterapici citotossici possiedono potenti effetti immunosoppressori che li candidano al trattamento di patologie caratterizzate da disordini immunologici. Le radiazioni (total body o localizzate) e i farmaci citotossici e antimetaboliti, come azatioprina, methotrexate, e ciclofosfamida sono al momento le terapie immunomodulanti più comunemente utilizzate per molteplici scopi di immunomodulazione. Il micofenolato mofetil si è recentemente aggiunto a questo gruppo di farmaci.

Radiazioni

L'irradiazione total body (TBI) ad alte dosi ha importan-ti effetti immunosoppressori, che vengono usati per la preparazione di alcuni pazienti prima del trapianto di cel-lule emopoietiche (HCT). Dopo il TBI, l'80% dei linfo-citi va incontro rapidamente a morte intermitotica. Tra questi vi sono linfociti B ed i precursori di tutte le sotto-popolazioni della linea T; inoltre viene interessata anche la homing activity delle cellule.¹

La TBI è più efficace nel prevenire la risposta immunita-ria primaria verso neoantigeni, piuttosto che nel modifi-care la risposta verso antigeni di memoria. Approcci alternativi prevedono l'irradiazione linfonodale totale che risulta efficace per la terapia del linfoma di Hodgkin, per la reazione di rigetto d'organo, per l'artrite reumatoi-de severa e come componente preparatoria all'HCT.

L'irradiazione locale, inclusa quella dei linfonodi locore-gionali, induce linfopenia e deficit di ipersensibilità ritar-data, ma non aumenta la suscettibilità alle infezioni.²

Azatioprina

L'azatioprina viene convertita dal fegato nell'analogo purinico 6-mercaptopurina dopo somministrazione orale. Questo metabolita si inserisce nel DNA, provocando la morte delle cellule in rapida divisione del midollo osseo e dell'epitelio intestinale. La 6-mercaptopurina impedi-sce, o comunque riduce, il rigetto immuno-mediato di organi trapiantati, modula le reazioni autoimmuni, inclu-se quelle alla base dell'artrite reumatoide, del morbo di Crohn, della rettocolite ulcerosa e della Graft Versus Host Disease (GVHD) dopo HCT.^{3,4}

L'immunosoppressione terapeutica interviene alle dosi di 1,5mg/kg, che riduce al minimo la conta leucocitaria nella maggioranza dei soggetti. La terapia protratta a lungo termine si associa ad un aumentato rischio di car-cinoma squamoso della pelle, linfoma, infezioni batteri-che e opportunistiche.

Methotrexate

Il methotrexate inibisce la diidrofolato reductasi, con il conseguente accumulo di folati ossidati e inibizione della sintesi nucleotidica. Questa attività distrugge principal-mente le cellule che si trovano in fase S (sintesi di DNA); le cellule non proliferanti sono resistenti. Il methotrexate

inoltre inibisce l'attivazione macrofagica, come dimostrato in modelli animali di artrite da adiuvante.⁵

Il methotrexate viene somministrato all'uomo per prevenire la GVHD dopo HCT e per la terapia dell'artrite reumatoide, del lupus eritematoso sistemico (LES), e della psoriasi.⁶

La somministrazione settimanale di methotrexate orale è stata proposta per il suo effetto risparmiatore di steroidi nell'asma severo, ma l'efficacia in questo settore è ancora argomento di dibattito.^{7,8}

Il methotrexate ha dimostrato efficacia a breve termine per il trattamento dell'artrite reumatoide giovanile.⁹

Fattori di rischio per la tossicità ematologica includono: l'insufficienza renale, l'assunzione contemporanea di farmaci antinfiammatori non steroidei, la somministrazione di trimetoprim-sulfametossazolo, la deplezione del volume intravascolare, o il deficit di folati. L'uso a lungo termine è associato a fibrosi epatica che in alcuni pazienti sfocia in cirrosi: condizione non sempre predetta dall'innalzamento degli enzimi epatocellulari; pertanto, la biopsia epatica periodica dovrebbe essere praticata in soggetti sottoposti alla terapia per lunghi periodi. Il methotrexate è teratogeno e dovrebbe essere evitato, se possibile, nelle donne gravide; tuttavia non sembra essere cancerogeno.

Ciclofosfamide

La ciclofosfamide è un agente alchilante che forma legami covalenti col DNA, determinando così la frammentazione del DNA, mutazioni e morte cellulare. Sopprime l'immunità cellulare e inibisce la produzione di anticorpi e autoanticorpi. La ciclofosfamide viene utilizzata principalmente come terapia di preparazione prima del HCT e per il trattamento del LES e delle vasculiti. Lo schema a singola dose giornaliera è tipicamente usato per la granulomatosi di Wegener, mentre la terapia "alternata" mensile, di solito in combinazione col prednisone, è lo schema di trattamento del LES e delle nefriti.^{11,12}

Gli effetti indesiderati comprendono leucopenia, sterilità, cistite emorragica e neoplasie maligne, tra le quali leucemia e carcinoma a cellule transizionali. Questi potenziali effetti indesiderati devono essere accuratamente discussi con la famiglia del paziente ed essere documentati nella cartella clinica prima di iniziare il trattamento (consenso informato). Dovrebbe inoltre essere consigliato ai giovani adulti di prelevare sperma e ovociti prima della terapia.

Micofenolato mofetil

Il micofenolato mofetil (MMF) è un estere dell'acido micofenolico che inibisce l'enzima inosina monofosfato deidrogenasi (IMDP), inibendo la via della sintesi *de novo* del nucleotide guanosina e la sua incorporazione nel DNA. I linfociti T e B sono strettamente dipendenti dalla sintesi *de novo* delle purine per la replicazione del DNA, mentre altre cellule possono fare affidamento sulla via alternativa di sintesi dei nucleotidi. L'esposizione all'MMF determina pertanto un effetto citostatico sui linfociti T e B. L'MMF inibisce la proliferazione delle cel-

lule T dopo stimolazione, inibisce la produzione di anticorpi da parte dei linfociti B, previene la glicosilazione delle proteine di adesione.¹³ e conseguentemente inibisce il reclutamento dei linfociti nei foci infiammatori. L'MMF viene usato per prevenire il rigetto nei riceventi di allotrapianto renale, cardiaco ed epatico e viene solitamente somministrato in combinazione con i GCS e la ciclosporina.^{14,15}

Inoltre, è in corso di studio per il trattamento di numerose malattie autoimmuni.

Glucocorticosteroidi

I glucocorticosteroidi (GCS) sono ormoni estremamente potenti ad effetto antinfiammatorio/immunosoppressivo; la loro azione si esplica mediante una varietà di meccanismi che alterano il numero e la funzione cellulare. Le molecole steroidee interagiscono con un recettore intracitoplasmatico per i glucocorticosteroidi (GR) che migra all'interno del nucleo, dove il complesso GR attivato lega le sequenze di DNA, note come glucocorticoid response elements (GRE). Questo processo influenza la trascrizione di specifici geni bersaglio.¹⁷

Viene inibita la sintesi delle citochine pro-infiammatorie IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, interferone (IFN)- γ e tumor necrosis factor (TNF)- α . I GCS potenziano la produzione di lipocortina, che inibisce la fosfolipasi A2, interrompendo il metabolismo dell'acido arachidonico a livello di membrana.¹⁷

Questo si traduce in un'importante riduzione nella sintesi dei leucotrieni, che è in parte responsabile dell'attività antiasmatica dei GCS. I GCS inibiscono la trascrizione del gene della cicloossigenasi (COX)-2, enzima coinvolto nella sintesi delle prostaglandine, mentre l'IL-1 si oppone a questa attività. Anche la collagenasi, un enzima che degrada i tessuti nelle sedi di infiammazione, viene inibita a livello trascrizionale dal legame del complesso GR al proto-oncogene c-JUN, un componente del fattore di trascrizione della proteina attivante-1 (AP-1). L'attività dell'AP-1 viene così downregolata, ostacolando in tal modo la trascrizione del gene della collagenasi.¹⁸ Inoltre, i GCS inibiscono la ossido nitrico sintetasi, con decremento della produzione di ossido nitrico, un potente vasodilatatore e mediatore dell'infiammazione.¹⁹

Gli effetti bioclinici di questa inibizione diffusa dei mediatori proinfiammatori sono la riduzione della distruzione tissutale, della vasodilatazione, della permeabilità vascolare, e della reattività di fase acuta. I GCS alterano il numero e la funzione di neutrofili, eosinofili, macrofagi e linfociti in circolo.²⁰

I neutrofili circolanti aumentano, ma nei siti di infiammazione sono ridotti dalla downregulation, glucocorticoidemediata, delle molecole di adesione endoteliali, delle molecole di adesione intercellulare (ICAM), e della molecola di adesione leucocitaria endoteliale-1. L'attivazione dei neutrofili è ridotta, almeno in parte, dall'inibizione dell'IL-8 glucocorticoidemediata. È inibita l'adesione e la degranulazione eosinofila. Gli effetti monocito-mediati sono inibiti dall'interferenza nel reclutamento, nella funzione dei recettori per il frammento Fc, nell'elaborazione dell'antigene, nella produzione del

Tabella I. Efficacia farmacologia relativa, dosaggi equivalenti, emivita biologica e plasmatica dei GCS

	Efficacia Antinfiammatoria*	Dose farmacologia equivalente (mg)	Efficacia Mineralocorticoide⁺	Emivita Plasmatica t 1/2 (hr)	Emivita Biologica t 1/2 (hr)	Soppressione dell'asse HPA (mg)⁺⁺
Idrocortisone	1	20	2	1,5	8-12	20-30
Cortisone	0,8	25	2	1,5	8-12	20-35
Prednisone	2,7	5	1	2,7	12-36	7,5
Prednisolone	4	5	1	2,75	12-26	7,5
Metilprednisolone	5	4	0	3	12-26	7,5
Triamcinolone	5	4	0	4,2	24-48	5-7,5
Desametasone	30	0.75	0	5	36-54	1-1,5

*relativa all'idrocortisone, a cui è assegnato il valore di 1

+ range 0-4

++ dose giornaliera che porta solitamente a soppressione dell'asse HPA

complesso maggiore di istocompatibilità di classe II e dell'IL-1. Il pool linfocitario è incanalato dal compartimento ricircolante a quello non ricircolante nei linfonodi e nel midollo osseo. In modelli sperimentali i linfociti immaturi ed i timociti possono essere indotti in apoptosi per effetto dei glucocorticoidi. È anche inibita la proliferazione dei linfociti T in seguito ad esposizione agli antigeni solubili e cellulari ed è inibita la produzione di IL-2. Le cellule B sono ridistribuite, ma la produzione di immunoglobuline non è inibita direttamente, nonostante i livelli sierici di IgG nei soggetti trattati con GCS possano essere inferiori alla norma a causa di meccanismi citochine-mediati, o per aumentato catabolismo immunoglobulinico. Pertanto, è importante considerare che i soggetti asmatici steroide-dipendenti possono avere una riduzione dei livelli totali di IgG a causa di un loro aumentato catabolismo più che per una ridotta produzione. Questo rende la terapia sostitutiva con immunoglobuline raramente indicata nel trattamento dell'asma grave. Le diverse attività antinfiammatoria ed immunosoppressiva dei GCS si traducono in effetti clinici potenti per il trattamento della allergie, delle malattie dermatologiche e autoimmuni. I GCS sono usati per prevenire la GVHD ed il rigetto di trapianto nei riceventi di HCT e di organo allogenici. I GCS sono usati in combinazione con terapia antimicrobica per il trattamento della polmonite da *Pneumocystis carinii*, in quanto, grazie alla loro attività antinfiammatoria, aumentano l'ossigenazione e riducono il rischio di ricorso alla ventilazione assistita, mentre i farmaci antimicrobici hanno la funzione di eliminare il micorganismo.

Molti GCS sistemici sono disponibili per uso clinico, e una grande varietà di preparazioni possono essere applicate per via topica su cute, congiuntiva, mucosa nasale, bronchiale e rettale. L'emivita plasmatica dei GCS è il tempo di scomparsa nei tessuti della metà della concentrazione plasmatica.

L'emivita biologica è la misura della durata dell'attività antinfiammatoria, che indica approssimativamente la durata della soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisario. Gli effetti tissutali sono valutati col test al metapirone e possono persistere a lungo dopo la scomparsa dal circolo dei GCS. L'efficacia glucocorticosteroidea del cortiso-

lo dipende dal suo gruppo 11- idrossilico; gli 11-cheto-composti (cortisone e prednisone) devono essere convertiti nelle corrispondenti molecole 11- idrossilate per essere attivi. Il prednisolone ed il metilprednisolone, composti 11- idrossilici, sono da preferire in pazienti con funzione epatica compromessa o con scompenso cardiaco congestizio.

I GCS possono essere divisi in tre gruppi, a seconda dell'emivita plasmatica e biologica: ad azione breve, ad azione intermedia, ad azione protratta. L'idrocortisone è un GCS ad azione breve, cui è attribuita, una limitata attività antinfiammatoria ed un discreto effetto endocrino e sodio-ritentivo (tabella I). Il prednisone, il prednisolone ed il metilprednisolone sono GCS ad azione intermedia che hanno un potere sodio-ritentivo inferiore all'idrocortisone. I composti a azione protratta, solitamente privi di attività sodio-ritentiva, includono desametasone, triamcinolone acetone, fluticasone propionato, budesonide e betametasone dipropionato. Nella tabella I sono incluse efficacia ed emivita plasmatica dei preparati più importanti.

La somministrazione di GCS quotidiana in dosi multiple, ad esempio ogni 6 o 8 ore, amplifica gli effetti antinfiammatori, ma anche quelli collaterali. Regimi meno efficaci (e meno tossici) includono una somministrazione al giorno, al mattino, oppure a mattine alternate. Di introduzione relativamente recente è la somministrazione di un bolo o "pulse-dose" (es. metilprednisolone, 15-30 mg/kg) al giorno per 1-3 giorni, a intervalli mensili, per ottenere un effetto antinfiammatorio potente, limitando l'esposizione cronica quotidiana. Una linea guida comune nelle patologie allergiche, infiammatorie, e autoimmuni prevede l'impiego di dosi elevate per ottenere il controllo della malattia, per poi scendere alla dose minima necessaria a mantenere la patologia in remissione, limitando gli effetti collaterali. Gli effetti indesiderati sono ridotti dalla somministrazione orale a giorni alterni, dalla pulse therapy, dall'uso di preparazioni topiche, e dall'aggiunta di trattamento antinfiammatorio non-steroido o immunosoppressivo. Queste strategie possono evitare la tossicità che interessa tutti i pazienti sottoposti a dosi quotidiane soprafisiologiche di GCS esogeni.²¹

Tabella II. Indicazioni all'uso di interferone ricombinante nelle patologie umaneInterferone alfa-2aInterferone alfa-n

Melanoma maligno
Linfoma follicolare
Sarcoma di Kaposi AIDS-correlato
Condilomi acuminati
Epatite C cronica
Leucemia mieloide cronica

Interferone beta-1b

Sclerosi multipla recidivante remittente (pazienti ambulatoriali)

Interferone gamma

Patologia cronica granulomatosa
Fibrosi polmonare idiopatica
Infezioni da *Micobacterium-avium-complex* ricorrenti

Interferone alfa-2b

Melanoma maligno, condiloma acuminato
Linfoma follicolare
Sarcoma di Kaposi AIDS-correlato
Condilomi acuminati
Epatite B cronica
Epatite C cronica

I principali effetti collaterali nell'adulto sono lo sviluppo di intolleranza al glucosio, aumento di peso, osteoporosi, ipertensione, gastrite, cataratta e, occasionalmente, necrosi asettica delle grandi articolazioni, effetti psicogeni e aumentata suscettibilità alle infezioni virali, fungine e micobatteriche. È importante riconoscere l'insorgenza di una soppressione a lungo termine dell'asse ipotalamo ipofisario. I pazienti trapiantati, in terapia con GCS per lungo periodo, dovrebbero essere trattati con dosi più elevate (es. due-tre volte le dosi di mantenimento) prima delle principali procedure chirurgiche. Crisi addisoniane, occasionalmente anche fatali, possono presentarsi in questi pazienti dopo procedure chirurgiche, nei periodi di sospensione della terapia steroidea. Una complicanza dell'uso dei GCS nei bambini è il difetto della crescita. L'alta probabilità di complicanze iatrogene per l'uso prolungato, pone l'accento sulla responsabilità dei medici di informare i pazienti di questi potenziali effetti indesiderati. Molti medici richiedono la firma del consenso informato da parte dei pazienti prima dell'inizio della terapia, ma questa pratica non è universale.

Agenti leganti l'immunofillina

Ciclosporina, tacrolimus e sirolimus, molecole di origine fungina, sono importanti farmaci immunosoppressori che inibiscono l'attivazione delle cellule T, interferendo nella trascrizione dei geni delle citochine. Questi composti non solo giocano un ruolo importante nell'inibizione del rigetto dell'organo trapiantato, ma sono il fondamento della prevenzione della GVHD dopo HCT e trovano un uso crescente per il trattamento delle patologie autoimmuni. La ciclosporina (CsA) è un esapeptide ciclico che blocca la via di trasduzione del segnale calcio-dipendente a partenza dai T-cell receptor, inibendo così l'attivazione delle cellule T helper. Il tacrolimus (FK506) si distingue strutturalmente dalla CsA, ma anch'esso interferisce con l'attivazione cellulare attraverso il T-cell receptor. Una volta entrati nelle cellule, questi composti formano dei complessi con recettori citosolici chiamati immunofilline, che successivamente legano la calcineurina, inibendo la sua attività fosfatase. Questo evento impedisce la defosforilazione e la traslocazione intranucleare della subunità citosolica del fattore nucleare delle cellule T attivate

(nuclear factor of activated T-cell, NF-AT), inibendone la funzione. La CsA e il tacrolimus impediscono la produzione di IL-2, IL-3, IL-4, IFN- γ , GM-CSF e TNF- α . Inoltre inibiscono i fattori di trascrizione NF-AT, il fattore nucleare kappaB (NF- κ B) e PU-box. Il tacrolimus, a differenza della CsA, induce l'apoptosi T cell receptor-mediata dei linfociti, che rappresenta un ulteriore meccanismo facilitante la tolleranza all'allograppianto.^{22,23}

La CsA è usata nella pratica clinica per prevenire la GVHD dopo il trapianto di midollo osseo e il rigetto dopo il trapianto d'organo solido. La CsA è utile anche nella terapia della psoriasi, delle lesioni oculari associate al morbo di Bechet, dell'uveite endogena, della dermatite atopica, dell'artrite reumatoide, del morbo di Crohn, della sindrome nefritica, dell'anemia aplastica, dell'aplasia pura degli eritrociti, della polimiosite/dermatomiosite, dell'ipoderma gangrenoso, dell'asma grave.²⁴⁻²⁶

Il tacrolimus è usato per indurre la tolleranza d'organo, e sono in corso studi clinici per il suo utilizzo in diverse condizioni autoimmuni. CsA e tacrolimus presentano notevole tossicità; ciò richiede il monitoraggio dei livelli ematici, dei farmaci che possono essere influenzati da assorbimento irregolare o da farmaci metabolizzati dal citocromo P450. Gli effetti indesiderati comprendono nefropatia, ipertensione, diabete mellito, suscettibilità alle infezioni, sviluppo di neoplasie maligne e disordini linfoproliferativi post-trapianto.²⁷

Il tacrolimus è associato a minore incidenza di ipertensione e minore necessità di terapia corticosteroidica nei trapiantati renali, ma presenta una più alta frequenza di manifestazioni neurotossiche da moderate a severe nei trapiantati di fegato con epatite C.

Il sirolimus (rapamicina) è un lattone macrociclico prodotto dallo *Streptomyces hygroscopicus* che inibisce, con un meccanismo specifico, l'attivazione dei linfociti T e la proliferazione che avviene in risposta alla stimolazione antigenica e citochinica. Il sirolimus si lega all'interno della cellula a una immunofillina, l'FK binding protein-12, dando luogo a un complesso immunosoppressore, che a sua volta impedisce l'attivazione della chinasi regolatoria, nota come bersaglio della rifampicina (mTOR).²⁷

Ciò inibisce la proliferazione citochino-guidata dei linfociti T, bloccando la progressione dalla fase G alla fase S

Tab. III. Anticorpi terapeutici e recettori di citochine per l'immunomodulazione e l'immunoterapia

Agente terapeutico	Brevetto (nome commerciale)	Bersaglio	Indicazioni principali	Reazioni avverse
Anticorpi policlonali				
Immunoglobuline endovenose	Multipli* Recettori per Fc Idiotipi	Organismi Post BMT CLL AIDS pediatrico ITP Malattia di Kawasaki Disordini neurologici	Immunodeficienze	Anafilattiche
Immunoglobuline Rh (D)	Rhogam	antigeneD	Madri Rh-neg	Minime
Globuline antitumori	Atgam	Timociti	Anemia aplastica	Malattia da siero
Immunoglobuline anti varicella zoster virus	Timoglobulina		Rigetto d'organo	Infezioni opportunistiche
Immunoglobuline anti RSV	VZIG	Soggetti recentemente esposti	Modificare il decorso della malattia	Minime
	RSV-IGIV	Soggetti con compromissione respiratoria	Prevenzione durante la stagione del RSV	Minime, eccetto in bambini con cardiopatia
Anticorpi monoclonali				
Anticorpi monoclonali anti RSV (palivizumab)	Synagis	Soggetti con compromissione respiratoria	Prevenzione durante la stagione del RSV	In attesa dell'approvazione dell'FDA
Muromonab CD3	OKT3	Linfociti CD3	Rigetto d'organo	Sindrome da rilascio di citochine
Infliximab	Remicade	TNF-alfa	Artrite reumatoide, morbo di Crohn, infezione micobatterica	Sindrome lupoide
Alemtuzumab	Campath-1H	Cellule CD52+	CLL refrattaria	Linfopenia
Rituximab	Rituxin	Cellule CD20+	Infezioni opportunistiche	Infezioni opportunistiche
Ibritumomab tiuxetan	Zevulin	Cellule CD20+	NHL	Infezioni opportunistiche
Omalizumab	RhuMAB-25	Dominio l'Fc legante IgE	NHL refrattario	Possibili anticorpi IgG
Recettori di citochine				
Etanercept	Enbrel	TNF-alfa	Asma steroide-dipendente	Artrite reumatoide
				Possibile irritazione nel sito di iniezione, soppressione midollare
Anakinra	Forma non glicosilata dell'IL-1Ra	IL-1	Artrite reumatoide	Irritazione nel sito di iniezione
Demileukina diftotox		IL-2	Nessuna dose stabilita	

BMT, trapianto di midollo osseo; CLL, leucemia linfatica cronica; ITP, porpora idiopatica trombocitopenica; RA, artrite reumatoide; NHL, linfoma non Hodgkin.

* Marchi multipli di differenti aziende produttrici.

del ciclo cellulare. Il sirolimus è indicato nella profilassi del rigetto nel trapianto renale e, probabilmente, come terapia nella GVHD acuta steroide-refrattaria.

CITOCHINE

Fattori di crescita emopoietici

I fattori di crescita emopoietici per uso clinico, comprendenti l'eritropoietina, il granulocyte colony stimulating factor ed il granulocyte/monocyte colony stimulating factor, sono delle glicoproteine prodotte mediante la tecnologia del DNA ricombinante. Questi composti hanno rivoluzionato la terapia dell'anemia e della leucopenia iatrogena, sono utilizzati in pazienti sottoposti a chemioterapia o trapianto, in pazienti con anemia associata ad insufficienza renale cronica ed in quelli che richiedono una terapia antiretrovirale.²⁸⁻³¹

I farmaci recentemente approvati presentano una maggior durata d'azione che rende possibile la somministrazione settimanale o bisettimanale.

Interferoni

Gli interferoni (IFN) per uso terapeutico sono costituiti da prodotti di DNA ricombinante disponibili in preparati iniettabili intramuscolo, sottocute, in sede lesionale, o endovena.³²

L'attività biologica mima quella delle molecole endogene sintetizzate e secrete dalle cellule ematiche della serie bianca in risposta alle infezioni virali. Questa famiglia di molecole deve il suo nome alla capacità di "interferire" nelle cellule di mammifero con l'infezione di virioni. L'IFN si lega alla membrana cellulare e dà inizio a una complessa sequenza di eventi intracellulari, che includono l'attivazione di alcuni enzimi, l'inibizione della proliferazione cellulare, l'aumento della fagocitosi monocito/macrofagica e l'aumento della citotossicità linfocitaria contro le cellule bersaglio.³³

Questi eventi in vitro non corrispondono esattamente ai risultati clinici, ma sono comunque in grado di suggerire come queste molecole modulino l'immunofisiopatologia di numerose patologie cliniche. IFN- α 2b, IFN- β , ed IFN- γ trovano indicazione (approvata dalla Food and

Tabella IV. Meccanismi immunomodulatori delle IVIG

Modulazione o blocco del recettore per il frammento Fc
Blocco del recettore per il frammento Fc delle cellule del sistema reticoloendoteliale e dei fagociti mononucleati
Interazione competitiva delle IVIG con le piastrine IgG-sensibilizzate circolanti per il recettore sui macrofagi
Recettori solubili per l'Fc competono con i recettori di membrana per l'Fc (RES) per le piastrine IgG-sensibilizzate circolanti
Immunomodulazione
Reclutamento della funzione soppressoria delle cellule T
Inibizione della funzione delle cellule B e/o delle cellule processanti l'antigene
Neutralizzazione o legame di anticorpi monoclonali da parte di anticorpi anti-idiotipo nelle IVIG con conseguente restaurazione della rete anti-idiotipica
Inibizione della captazione del complemento sui tessuti bersaglio; prevenzione del danno immunitario complemento-dipendente di tessuti e cellule
Inibizione della produzione/attivazione di citochine/interleuchine
Neutralizzazione di superantigeni di enterotossine batteriche
Inibizione della morte cellulare Fas-mediata da parte di anticorpi bloccanti il Fas nelle IVIG

Drug Administration) in una serie di condizioni proliferative e infezioni virali, come elencato nella tabella II.³⁴ La somministrazione può associarsi, anche se raramente, alla comparsa di reazioni di ipersensibilità (es. orticaria, angioedema, broncocostrizione, anafilassi). Effetti collaterali più comuni comprendono febbre, rash cutanei transitori, sintomi similinfluenzali, soppressione del midollo osseo. Del tutto raramente i pazienti vanno incontro a disordini autoimmuni, eventi ischemici ed infezioni. Alcuni pazienti affetti da psoriasi possono presentare un'esacerbazione della patologia. La somministrazione contemporanea di teofillina e IFN- α porta all'innalzamento dei livelli di teofillina del 100%.

IL-2

L'IL-2, descritta nel 1976 come fattore di crescita per le cellule T, ha la funzione di stimolare la crescita dei linfociti T nel midollo osseo umano normale.^{35,36}

Il gene dell'IL-2 fu scoperto nel 1983, e questo ha reso possibile la sua produzione su larga scala grazie all'espressione genica nell'*Escherichia coli*; il prodotto è biologicamente e funzionalmente simile all'IL-2 naturale. La somministrazione di IL-2 per via parenterale è associata a varie modificazioni nella funzione immunitaria che sono state riassunte in una recente review.³⁷

L'IL-2 è approvata dalla FDA per la terapia del carcinoma a cellule renali (RCC) metastatico. Questo trattamento induce effetti terapeutici all'incirca nel 15-20% dei pazienti. Un effetto terapeutico completo è documentabile nel 5-7% dei soggetti trattati; l'80% circa di questi soggetti mantiene questo risultato per più di 2 anni. La tossicità per la terapia ad alte dosi di IL-2 è significativa, ma la mortalità è inferiore all'1%. Tra i possibili effetti tossici vanno elencati un'importante ipotensione, insufficienza multiorgano, infarto del miocardio e stravasos capillare potenzialmente fatali.³⁸

Fisher ha riportato un follow-up a lungo termine di una coorte originariamente di 255 pazienti affetti da RCC trattati con IL-2 ad alte dosi. La mediana della durata di risposta era di 54 mesi (intervallo di 3-131 mesi). La mediana della durata della remissione completa, era maggiore o uguale a 80 mesi (intervallo di 7-131

mesi). La mediana del tempo di sopravvivenza in tutti i 255 pazienti era di 16,3 mesi, con un 10-20% ancora in vita a distanza di 5-10 anni dalla terapia.³⁹

ANTICORPI TERAPEUTICI

Immunoglobuline endovena (policlonali): immunoterapia sostitutiva e immunomodulazione

Le immunoglobuline sono disponibili per via endovenosa dal 1981, e questa via di somministrazione ha completamente sostituito l'uso di preparati intramuscolo per la terapia delle immunodeficienze. Le immunoglobuline per somministrazione endovenosa (IVIG) vengono preparate attraverso il frazionamento a freddo in etanolo del plasma di molteplici donatori (10000-60000), seguito da processi atti a rimuovere aggregati anticorpali e inattivare eventuali patogeni virali. I preparati vengono poi diluiti come soluzioni proteiche al 5% o al 10%. Dal 95 al 99% delle IVIG sono IgG, con tracce di IgA ed IgM. La distribuzione per sottotipi delle IgG è simile a quella del siero normale. Alcune preparazioni che contengono bassissimi livelli di IgA possono essere utili per ridurre il rischio di sensibilizzazione alle IgA e quindi di reazioni anafilattiche in pazienti con deficit selettivo di IgA e anticorpi IgE anti-IgA.⁴⁰

Tutte le preparazioni attualmente disponibili sono essenzialmente equivalenti e possono essere selezionate in base a costo, disponibilità e convenienza (ad esempio: liofilizzati verso forme liquide).

Immunoterapia sostitutiva. La terapia con IVIG è indicata come terapia sostitutiva in pazienti con immunodeficienza congenita che presentano un deficit di produzione di anticorpi (Tabella III). Vengono somministrate infusioni ogni 3-4 settimane alla dose di 400-600 mg/kg fino ad ottenere livelli di IgG superiori a 500 mg/dL, livello correlato ad una riduzione del rischio di infezioni.⁴¹

Quartier ed associati hanno condotto uno studio retrospettivo sulle caratteristiche cliniche e sugli esiti di 31 pazienti con agammaglobulinemia legata al sesso, sottoposti a terapia sostitutiva tra il 1982 ed il 1997.⁴²

Il trattamento precoce con IVIG e il raggiungimento di un livello di IgG superiore a 500 mg/dL si è dimostrato

efficace nel prevenire severe infezioni batteriche acute; si sono comunque manifestate infezioni polmonari e sinusiti. Gli autori hanno suggerito che una terapia più intensa, mantenendo le IgG sieriche ad un livello più alto, ad esempio superiore a 800 mg/dL, potrebbe migliorare la prognosi polmonare. Il numero di infezioni, di giorni persi a scuola o al lavoro e di giorni di ospedalizzazione non sono probabilmente buoni indicatori dell'adeguatezza del trattamento. Il miglioramento o il mantenimento della funzione polmonare può risultare unità di misura idonea del successo terapeutico. Generalmente ci vogliono da 3 a 6 mesi dall'inizio delle infusioni mensili di IVIG o dal cambiamento di dose per raggiungere l'equilibrio (steady state). Per i soggetti che hanno un alto catabolismo delle IgG infuse, infusioni più frequenti – ad esempio ogni 2 o 3 settimane – di dosi inferiori possono mantenere i livelli sierici nel range normale. Occorre avere presente che il tasso di eliminazione delle IgG può essere più alto in corso di infezione attiva, perciò può essere necessario misurare e correggere i livelli sierici di IgG ad intervalli più ristretti.

Il rischio di reazioni avverse all'inizio del trattamento è relativamente alto, e in genere riguarda infezioni concomitanti e la formazione di immunocomplessi. In pazienti con infezioni attive la dose dovrebbe essere dimezzata, ossia 200 mg/kg, e ripetuta dopo due settimane, per raggiungere la dose piena. È importante che il trattamento non venga interrotto. Dopo aver raggiunto livelli sierici normali di IgG, le reazioni avverse sono rare, ad eccezione dei pazienti con infezioni in atto. I più comuni effetti collaterali comprendono flushing, cefalea, nausea, vomito e mialgia, spesso dipendenti dalla velocità di infusione. Rari sono gli episodi anafilattici, in pazienti con anticorpi IgE diretti verso IgA.

La meningite asettica è una rara complicanza delle IVIG, specialmente dopo rapida infusione di dosi elevate (1-2 g/kg) in pazienti con disordini autoimmuni o patologie infiammatorie.⁴³

Una premedicazione con aspirina (15 mg/kg/dose), acetaminofene (15 mg/kg/dose), difenidramina (1 mg/kg/dose) e/o idrocortisone (6 mg/kg/dose, massimo 100 mg) un'ora prima dell'infusione può essere utile per prevenire le reazioni avverse.⁴⁴

L'insufficienza renale acuta è una rara ma significativa complicanza della terapia con IVIG, soprattutto in pazienti con patologie autoimmuni che ricevono alte dosi di IVIG. Le IVIG contenenti sucrosio, come stabilizzatore, possono indurre un serio rischio di sviluppare insufficienza renale. Insufficienza renale preesistente, diabete mellito, disidratazione, età superiore ai 65 anni, sepsi, paraproteinemia e uso concomitante di agenti nefrotossici rappresentano fattori di rischio per questa complicanza. È necessario tenere sotto controllo i livelli ematici di azotemia e creatinina prima di iniziare il trattamento, e in seguito, periodicamente.

Nel 1994 un preparato è stato ritirato dal mercato in seguito a una serie di casi di epatite C.⁴⁵

Lo screening per l'RNA del virus delle epatite C con la PCR e l'aggiunta di un processo di inattivazione virale nella fase terminale della fabbricazione, ad esempio un trattamento con solventi/detergenti, pastorizzazione, o

entrambi, hanno significativamente ridotto il rischio di trasmissione del virus dell'epatite C e di altri. Non ci sono state segnalazioni di trasmissione del virus HIV o della malattia di Creutzfeldt-Jacob in pazienti sottoposti a terapia sostitutiva con IVIG.

Immunomodulazione. Fin dalla prima pubblicazione di Imbach et al sull'uso delle IVIG in bambini con porpora trombocitopenica autoimmune (AITP), le IVIG sono state usate per vari disordini infiammatori ed autoimmuni.⁴⁶

Diversi meccanismi sono stati ipotizzati per spiegare gli effetti immunomodulatori delle IVIG (Tabella IV).⁴⁷

Il meccanismo d'azione ipotizzato per l'innalzamento della conta piastrinica negli ITP è il blocco del recettore per il frammento Fc sulle cellule fagocitiche del sistema reticoloendoteliale di milza e fegato. Il blocco di questo recettore spiega il rapido incremento della conta piastrinica dopo somministrazione di IVIG e porta ad un aumento della sopravvivenza di piastrine ricoperte di autoanticorpi. Elementi a suffragio di questa ipotesi vengono dagli studi clinici di Debre et al, nei quali dei bambini con AITP furono trattati con frammenti Fcy purificati estratti dalle IVIG.⁴⁸

Takei e collaboratori hanno riportato che le IVIG contengono anticorpi per la tossina superantigenica stafilococcica e possono bloccare l'attività stimolante i linfociti T di questo superantigene T. Le IVIG contengono anticorpi contro un ampio range di enterotossine stafilococciche e streptococciche.⁴⁹

È stato ipotizzato che uno dei meccanismi d'azione delle IVIG nella malattia di Kawasaki sia, almeno in parte, la neutralizzazione di queste enterotossine batteriche superantigeniche, che blocca l'infiammazione ed il danno vascolare endoteliale.⁵⁰

Le IVIG sono utili anche nella sindrome da shock tossico, se usate nelle fasi iniziali della malattia. Studi in patologie umane ed animali hanno dimostrato che le IVIG possono inibire l'adsorbimento del complemento sulle cellule bersaglio. Le IVIG inibiscono il legame dei frammenti attivati di C3 e C4 alle cellule bersaglio.⁵¹

Molte pubblicazioni di Dalakas e colleghi hanno mostrato che le IVIG possono invertire il danno complemento-mediato dei capillari endomisiali nei pazienti con dermatomiosite.^{52,53}

È stata postulata l'importanza di anomalie del network idiotipico nella fisiopatologia di molte malattie autoimmuni. La presenza di anticorpi anti-idiotipo nelle IVIG è stata ipotizzata per la prima volta per la risposta di un paziente con autoimmunità verso il fattore VIII sottoposto a terapia con IVIG.^{54,55}

Rossi e Kazatchkine hanno preparato dei frammenti F(ab)'2 dalle IVIG in commercio così da neutralizzare o legare autoanticorpi noti, come gli anti-fattore VIII, anti-tireoglobulina, anti-DNA, anti-fattore intrinseco ed anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA).⁵⁴

Molti gruppi di ricerca hanno riportato che le IVIG possono rivelarsi utili nel trattamento di pazienti con vasculite ANCA-positiva, refrattari alla terapia convenzionale.⁵⁶

La necrosi tossica epidermica (toxic epidermal necrosis, TEN, o sindrome di Lyell) è una grave reazione bollosa epidermica farmaco-indotta. Il tasso di mortalità può rag-

giungere il 30%. Lo scollamento di ampie aree cutanee alla giunzione dermo-epidermica, dovuto all'apoptosi dei cheratinociti, dà luogo al distacco epidermico ed all'aspetto di cute ustionata. Viard e colleghi hanno riportato che le IVIG proteggevano i cheratinociti dall'apoptosi bloccando gli effetti del Fas-ligando (L) sul recettore Fas dei cheratinociti. In uno studio aperto, non controllato, vennero somministrate IVIG (0,2-0,75 g/kg/die per 4 giorni consecutivi) a dieci pazienti affetti da TEN. La progressione del danno epidermico venne interrotta in 1 o 2 giorni, con rapida guarigione della cute e prognosi favorevole.⁵⁷

Questi effetti immunomodulatori delle IVIG sui pazienti affetti da TEN rappresentano un altro meccanismo grazie al quale le IVIG sono in grado di modificare il processo patologico. Le IVIG possono rivelarsi utili anche in altre malattie autoimmuni, o infiammatorie, Fas-mediate.

Le IVIG hanno dimostrato di avere molti altri effetti immunomodulatori. Sigman et al hanno riportato che un'alta concentrazione di IVIG inibisce la produzione in vitro di IgE, con modalità dose-dipendente.⁵⁸

Gli effetti inibitori sulla produzione di IgE erano associati ad una riduzione dei trascritti di mRNA per $\text{C}\gamma$. Le IVIG inibiscono inoltre la proliferazione delle cellule B. Sembra che possano regolare la sintesi di IgE attraverso il recettore per il frammento Fc sulle cellule B. Questa attività inibitoria si esercita grazie al frammento Fc delle IVIG, mentre il frammento F(ab)'2 non ha alcun effetto. Le IVIG possono inibire la sintesi di molte citochine da parte dei monociti. Gli effetti immunomodulatori delle IVIG sulla produzione di citochine sembrano essere mediati dal recettore per il frammento Fc γ sulle cellule mononucleate e sulle cellule T.

Le cellule B, e una sottopopolazione di cellule T, esprimono un recettore a bassa affinità per il frammento Fc γ (Fc γ RIIB). Questo sottotipo recettoriale trasmette un segnale inibitorio alle cellule attraverso una via di trasmissione mediata da un motivo di inibizione tirosino-basato immunoregolatore (ITIM). Il collegamento del B-cell receptor e del Fc γ RIIB può essere indotto dal legame delle IVIG al recettore Fc γ RIIB attraverso la porzione Fc delle IgG ed al B-cell receptor grazie alla specificità anticorpale anti-idiotipica delle molecole IgG. Simili recettori inibitori per le Fc γ sono presenti anche sui basofili e sui mastociti. Samuelsson et al studiando un modello murino di trombocitopenia immune hanno evidenziato che gli effetti protettivi delle IVIG richiedevano il recettore Fc inibitorio, Fc γ RIIB, e che, per contro, la distruzione o il blocco dello stesso recettore con anticorpi monoclonali era in grado di ribaltare gli effetti terapeutici.⁵⁹

Pertanto, uno dei meccanismi grazie a cui le IVIG possono modulare la sintesi di immunoglobuline delle cellule B – e le risposte immunitarie degli altri tipi di cellule che hanno il recettore per Fc γ , (es. macrofagi, mastocellule etc.) – è attraverso il recettore Fc γ RIIB e i suoi motivi con funzione regolatoria negativa. Probabilmente alla base delle attività delle IVIG non c'è un singolo meccanismo, gli effetti immunomodulatori delle IVIG sono mediati da effetti multipli su varie vie di risposta immunitaria ed infiammatoria.

Anticorpi policlonali diretti contro le cellule

L'immunoglobulina Rh (D) è una soluzione di IgG umane contenente una frazione arricchita di anticorpi contro l'antigene del gruppo sanguigno D (Tabella III). Quando somministrata ad una madre Rh-negativa entro 72 ore dal parto di un bambino Rh-positivo, determina un'inibizione della produzione di anticorpi materni diretti verso le cellule Rh-positive del feto ed in grado di attraversare la placenta. Questo rappresenta una delle terapie immunosoppressive più efficaci e specifiche disponibili, che ha evitato migliaia di casi di eritroblastosi fetale, o malattia emolitica del neonato.⁶⁰

Il razionale dell'immunosoppressione in questo contesto è basato sul fatto che la risposta anticorpale primaria agli antigeni D estranei viene bloccata dalla somministrazione passiva di anticorpi anti-D al momento dell'esposizione.

La globulina antitimocitica è un'immunoglobulina purificata preparata dal siero iperimmune di cavallo, coniglio, pecora o capra dopo immunizzazione con linfociti timici umani (Tabella III). Se somministrata per via endovenosa si lega alla superficie dei linfociti T circolanti, con conseguente linfopenia e profonda soppressione della risposta immune cellulo-mediata. L'emivita è tra le 3 e le 9 ore. Le principali manifestazioni di tossicità includono malattia da siero e nefrite. È in uso per il trattamento dell'anemia aplastica idiopatica e del rigetto acuto nei trapianti renali e cardiaci.⁶¹

Globuline iperimmuni (policlonali e monoclonali) per le malattie infettive

Immunoglobuline specifiche, chiamate anche "globuline iperimmuni", si ottengono da sieri di donatori selezionati, che presentano alti titoli dell'anticorpo desiderato, o acquisiti naturalmente o stimolati tramite immunizzazione. Esempi di immunoglobuline specifiche per la protezione passiva di alcune malattie infettive sono le immunoglobuline per epatite B, rabbia, tetano, varicella-zoster, citomegalovirus e virus respiratorio sinciziale (per queste ultime due i preparati sono per iniezione endovenosa)

Varicella-zoster virus (VZV) policlonale. Le immunoglobuline per la varicella-zoster (VZIG) vengono usate per prevenire o modulare il decorso della varicella, ma non hanno efficacia una volta che la malattia si è stabilizzata.⁶²

Le VZIG dovrebbero essere somministrate appena possibile, e non oltre 96 ore dopo l'esposizione (Tabella III). Accertato che vi sia stata una esposizione significativa, sono candidati potenziali alle VZIG: bambini immunocompromessi senza storia di varicella, donne gravide sensibili, neonati la cui madre ha mostrato un quadro di varicella entro 3 giorni prima del parto o 48 ore dopo, bambini prematuri ospedalizzati (≥ 28 settimane di gestazione) la cui madre non abbia storia di varicella e sia sieronegativa ed i bambini pretermine ospedalizzati (<28 settimane di gestazione o ≤ 1000 g), qualunque sia la storia materna. In America le VZIG possono essere

ottenute tramite il servizio di Ematologia della Croce Rossa Americana. Probabilmente le VZIG dovrebbero essere somministrate anche a bambini immunocompromessi senza storia di varicella, a prescindere dalle indagini sierologiche. I pazienti con immunodeficienza primaria, sottoposti a un regime mensile di IVIG ad alte dosi, dovrebbero essere protetti e non necessitare di VZIG. Le VZIG vanno somministrate per iniezione intramuscolare (una fiala contenente 125 U per ogni kg di peso corporeo; il massimo suggerito è di 625 U).

Anticorpi specifici contro il virus respiratorio sinciziale. Il virus respiratorio sinciziale (RSV) è la causa principale di infezioni delle basse vie respiratorie nei bambini. È un importante agente patogeno negli individui immunocompromessi, specialmente nei bambini prematuri e nei bambini con patologie polmonari croniche, patologie cardiache congenite, multiple anomalie congenite ed alcune immunodeficienze (Tabella III). Sono possibili due approcci per prevenire l'infezione da parte del RSV in questi bambini a rischio: immunoglobuline endovenose anti-RSV (RSV-IGIV), preparate da donatori selezionati per l'alto titolo sierico di anticorpi neutralizzanti il RSV, ed il palivizumab, un anticorpo monoclonale murino umanizzato, somministrato per via intramuscolare.⁶³ Entrambi gli agenti sono approvati per la prevenzione dell'infezione da RSV in bambini di età inferiore ai 24 mesi con displasia broncopolmonare o con storia di nascita prematura (gestazione inferiore alle 35 settimane). Le RSV-IGIV vanno somministrate mensilmente per tutta la stagione del RSV alla dose di 15 mL/kg (750mg/kg). Si preferisce il palivizumab per i bambini a più alto rischio a causa della sua semplicità di somministrazione, sicurezza ed efficacia. Pazienti con patologie polmonari croniche severe possono trarre beneficio dalla profilassi per il RSV per due stagioni, specialmente quelli con altre patologie in atto. Le RSV-IGIV sono controindicate nei bambini con cardiopatia congenita. Il palivizumab è in attesa di approvazione dalla Food and Drug Administration per la somministrazione in bambini con cardiopatia congenita cianotica.

Anticorpi monoclonali come immunomodulatori

Il muromonab-CD3 è un anticorpo monoclonale murino rivolto verso l'antigene CD3 dei linfociti T umani (Tabella III). È un'immunoglobulina IgG2a, biologicamente purificata, diretta contro una glicoproteina di superficie delle cellule T umane CD3 positive, che è associata in vitro alla struttura di riconoscimento dell'antigene delle cellule T, essenziale per la trasduzione del segnale. In vivo, si determina una rapida diminuzione delle cellule CD3+ CD8+ e CD3+ CD4+, che non sono più reperibili nel sangue periferico da 2 a 7 giorni dopo l'infusione. I pazienti sviluppano anticorpi neutralizzanti con trattamenti ripetuti, che annullano parte di questa attività. Il muromonab-CD3 è approvato per il trattamento del rigetto acuto nell'allopiancto renale e per il rigetto acuto GCS-resistente nell'allopiancto di cuore e fegato.⁶⁴ Nella maggioranza dei pazienti si verifica una sindrome clinica acuta (sindrome da rilascio di citochine) dopo la somministrazione della

dose iniziale di muromonab-CD3, le cui manifestazioni variano da un malessere simil-influenzale a stravasamento capillare, ipotensione ed insufficienza multiorgano. L'infliximab è un anticorpo monoclonale IgG1k chimerico (regione costante umana e regione variabile murina) che lega specificamente e ad alta affinità il TNF- α (Tabella III). Il TNF- α stimola la sintesi di IL-1 ed IL-6, promuove la chemiotassi leucocitaria, attiva neutrofili ed eosinofili e induce la produzione di sostanze della fase acuta e di enzimi proteolitici.⁶⁵ L'infliximab è un'importante strumento nel trattamento dei pazienti con artrite reumatoide e viene usato in associazione col methotrexate. È inoltre indicato nei pazienti affetti da morbo di Crohn, che non hanno ottenuto una risposta adeguata con la terapia convenzionale. Gli effetti collaterali comprendono la produzione di autoanticorpi e una sindrome lupoide, reazioni acute all'infusione, infezioni e possibile aumento di incidenza di neoplasie maligne.

L'alemtuzumab è un anticorpo monoclonale prodotto con metodiche di DNA ricombinante (Campath-1H) diretto contro la proteina di superficie di 21-28 Kd (CD52), espressa sulla superficie delle cellule B, T, NK, monociti, macrofagi normali e neoplastici e tessuti del sistema riproduttivo maschile (Tabella III).⁶⁶ Il CD52 non è presente sugli eritrociti o sulle cellule staminali emopoietiche. L'alemtuzumab è indicato per il trattamento della leucemia linfoide cronica a cellule B in pazienti che sono stati trattati con agenti alchilanti e che non hanno tratto beneficio dalla terapia con fludarabina.⁶⁷

L'elevato numero di cellule immunitarie che presentano il recettore CD52 indica che le proprietà immunosoppressive sono molto più importanti rispetto ad anticorpi monoclonali diretti contro recettori "selettivi".

L'alemtuzumab induce una importante linfopenia che si associa allo sviluppo di infezioni opportunistiche. La profilassi anti-infettiva è raccomandata sin dall'inizio della terapia e per un minimo di 2 mesi dopo l'ultima dose o finché il numero assoluto dei linfociti CD4+ non ritorni al di sopra di 200 cellule per mm³. La mediana del tempo di recupero dei livelli di linfociti è di 2 mesi, anche se livelli normali di linfociti CD4+ potrebbero non essere raggiunti per 12 mesi. In alcuni pazienti, trattati con le dosi raccomandate, si è manifestata un'aplasia midollare severa. Questi anticorpi sono ancora oggetto di studio, per quanto riguarda il loro uso nella profilassi della GVHD e come terapia preparatoria all'HCT non ablative.

Il rituximab è un anticorpo monoclonale chimerico umano/murino rivolto contro l'antigene superficiale CD20 dei linfociti B normali o neoplastici (Tabella III). La somministrazione endovenosa del rituximab nell'uomo determina la scomparsa delle cellule B dal circolo per settimane o mesi, a seconda della dose programmata. CD20 si trova espresso su più del 90% delle cellule B mature normali e dei linfomi non-Hodgkin, ma non sulle cellule emopoietiche, sulle cellule pro-B, sulle normali plasmacellule o su altri tessuti normali. È il trattamento universalmente approvato per pazienti con linfoma non-Hodgkin a cellule B, di basso grado o follicolare CD20-positivo, recidivante o refrattario.⁶⁸

Inoltre è oggetto di studio per il trattamento di molte condizioni autoimmuni.

Un anticorpo monoclonale alternativo anti-CD20, l'ibritumomab, è stato coniugato con l'isotopo ittrio-90 usando il tiuxetan (un agente chelante) per creare un agente radioimmunoterapico.⁶⁹ L'ibritumomab tiuxetan, il primo agente radioimmunoterapico che ha ottenuto l'approvazione dell'FDA (febbraio 2002), è utile per la terapia del linfoma non-Hodgkin recidivante o refrattario, follicolare, o a cellule B. L'aggiunta di un radionuclide sembra aumentare il tasso di risposta alla terapia anticorpale, in quanto combina la specificità dell'anticorpo con l'impatto citotossico della radioterapia molecolare. In uno studio multicentrico si è ottenuta una risposta positiva nell'80% dei pazienti (il 30% hanno raggiunto la remissione completa), portando a una rapida approvazione di questo tipo di approccio.⁷⁰

Altri anticorpi monoclonali si stanno facendo strada nella clinica, inclusi anticorpi umanizzati anti-CD25, usati per trattare alcune neoplasie a cellule T, e il rigetto nel trapianto d'organo, sono oggetto di studio per alcune patologie autoimmuni.

L'omalizumab è un anticorpo monoclonale murino umanizzato (rhuMab-E25) specifico per il dominio delle IgE legante il frammento Fc (Tabella III). Questo anticorpo monoclonale anti-IgE è stato testato nei soggetti con asma allergico ed ha dimostrato un'attività inibitoria sia nella risposta immediata che in quella ritardata ad allergeni inalati.⁷¹ In uno studio contro placebo di 20 settimane in soggetti asmatici steroide-dipendenti, il trattamento con omalizumab ha ridotto significativamente sia i punteggi dell'asma che l'uso di steroidi.⁷² Questo ed altri anticorpi monoclonali anti-IgE proposti per l'uso nell'uomo possono rivelarsi utili per la terapia dell'asma grave o moderato. Una spinta alla cautela viene dall'osservazione che l'inalazione di anti-IgE ha generato anticorpi IgG anti-rhuMab-E25.⁷³ Il meccanismo d'azione del rhuMab-E25 si ritiene sia la competizione esercitata dalla molecola con il frammento Fc delle IgE circolanti, che inibisce il legame delle IgE alla superficie delle mastocellule.

INIBITORI DEI RECETTORI PER LE CITOCINE

Recettore solubile per il TNF

Il TNF è un'importante citochina proinfiammatoria che gioca un ruolo nella patogenesi dell'artrite reumatoide. Sono disponibili agenti immunomodulatori che inibiscono l'attività del TNF per il trattamento di molte malattie infiammatorie, inclusa l'artrite reumatoide. (Tabella III). L'etanercept (Enbrel) è una proteina geneticamente modificata costituita da due catene identiche di monomero p75 ricombinante del recettore umano per il TNF, fuse con il dominio Fc delle IgG1 umane.⁷⁴

Questa proteina di fusione solubile lega e inattiva il TNF, competendo, per il legame del TNF libero, con i recettori per il TNF espressi sulla superficie cellulare. Molti studi randomizzati, a doppio cieco, controllati con placebo, hanno dimostrato che il trattamento con etanercept

può portare significativi benefici clinici, con minima tossicità, in pazienti con artrite reumatoide che hanno mostrato una risposta inadeguata ai farmaci disponibili in uno studio condotto su adulti, l'aggiunta del methotrexate alla terapia con etanercept ha dimostrato un rapido e duraturo miglioramento in pazienti con artrite reumatoide. I pazienti ricevevano 25 mg di etanercept per via sottocutanea due volte alla settimana. Sebbene il trattamento con etanercept sia ben tollerato (lieve eritema nella sede di iniezione), si consiglia un'accurata sorveglianza poiché alcuni pazienti sono andati incontro a soppressione midollare.

Recettore per l'IL-1 solubile

L'IL-1 è una citochina proinfiammatoria che viene sintetizzata in risposta agli stimoli infiammatori e media molte risposte fisiologiche, inclusa l'infiammazione e la risposta immunitaria (Tabella III). Ha un vasta gamma di attività biologiche, inclusa la degradazione cartilaginea, in quanto è in grado di indurre la rapida perdita di proteoglicani e la stimolazione del riassorbimento osseo. L'anakinra è una forma ricombinante non glicosilata dell'antagonista del recettore per l'IL-1 umana (IL-1Ra).⁷⁵ L'anakinra blocca l'attività biologica dell'IL-1, inibendo competitivamente il legame al recettore per l'IL-1, espresso su un'ampia varietà di tessuti ed organi. L'anakinra è stata valutata in tre studi randomizzati, a doppio cieco, (placebo-controllati) su pazienti con artrite reumatoide attiva. L'anakinra può essere utilizzata, in monoterapia, e, più comunemente, in combinazione con un DMARD (disease-modifying antirheumatic drug), come il methotrexate. La dose raccomandata per il trattamento di pazienti con artrite reumatoide è di 100 mg/die, somministrato quotidianamente per iniezione sottocutanea. Gli eventi avversi più comuni sono reazioni nel sito di iniezione. Altri effetti collaterali si verificano con la stessa frequenza che nel gruppo di controllo con placebo.

Inibitori del recettore per l'IL-2

La denileukina diftotox è una proteina citotossica, ottenuta con tecniche di DNA ricombinante, composta dalla sequenza aminoacidica dei frammenti A e B della tossina difterica, seguita dalla sequenza del recettore per l'IL-2. È disponibile per l'uso clinico, ma al momento non trova una specifica indicazione per la somministrazione nell'uomo.

Plasmaferesi

La plasmaferesi è un particolare metodo di aferesi che rimuove le proteine del plasma, incluse le immunoglobuline e gli immunocomplessi, dal distretto intravascolare. Le IgM e le IgG vengono effettivamente ridotte, e la procedura è efficace clinicamente per il trattamento della porpora trombotica trombocitopenica, della miastenia gravis, della sindrome di Goodpasture e dell'iperviscosità secondaria alla macroglobulinemia di Waldenström. Il fatto che la plasmaferesi non si sia dimostrata sempre efficace nel trattamento delle malattie da immunocom-

plessi, come il LES e la crioglobulinemia, è dovuto, almeno in parte, alla continua o aumentata produzione di anticorpi che si verifica dopo i trattamenti. Nelle malattie croniche la plasmateresi è solitamente combinata con una terapia immunosoppressiva, (es. ciclofosfamide e/o glucocorticoidi), che può essere somministrata prima o dopo i trattamenti di plasmateresi, di solito protratti per 12 settimane. La plasmateresi semi-selettiva usa dei metodi di separazione per affinità che consentono la rimozione di componenti ematiche specifiche. Il filtro di Cowan con colonne di proteina A derivata dallo *Staphylococcus aureus*, lega la porzione Fc delle IgG e viene usato per il trattamento della porpora trombocitopenica idiopatica.

SOMMARIO

Gli immunologi clinici, pur confidando ancora prevalentemente negli strumenti farmacologici di immunosoppressione, hanno scoperto agenti a lungo sognati per affrontare con mezzi più selettivi e specifici l'immunomodulazione, l'immunosoppressione e l'immunoterapia. Le tecniche di DNA ricombinante e la biologia molecolare hanno prodotto anticorpi monoclonali ed antagonisti recettoriali, che stanno modificando la pratica dell'immunologia clinica. L'applicazione di queste nuove tecnologie a malattie comuni, come l'asma allergico, offre la possibilità di cambiare la storia naturale delle malattie allergiche ed immunologiche.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson RE, Warner NL. Ionizing radiation and the immune response. *Adv Immunol* 1976;24:215-335.
2. Fletcher GH. Clinical dose-response curves of human malignant epithelial tumors. *Br J Radiol* 1973;46:1-12.
3. Present DH, Korelitz BJ, Wisch H, Glass JL, Sachar DB, Paternack BS. Treatment of Crohn's disease with 6-mercaptopurine. *N Engl J Med* 1980;302:981-86.
4. Sullivan KM, Mori M, Sanders J, Siadak M, Witherspoon RP, Anasetti C, et al. Late complications of allogeneic and autologous marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1992;10:127-34.
5. Johnson WJ, Dimartino MJ, Melnier PC, Muirhead KA, Hanna N. Methotrexate inhibits macrophage activation as well as vascular and cellular inflammatory events in rat adjuvant induced arthritis. *J Rheumatol* 1988;15:745-9.
6. Roenigk HH Jr, Auerbach R, Maibach HI, Weinstein GD. Methotrexate in psoriasis: revised guidelines. *J Am Acad Dermatol* 1988;19:145.
7. Mullarkey M. Immunosuppressive therapy for asthma. *Allergy Proceedings* Mar-Apr. 1995;16:81-4.
8. Stewart GE II, Diaz JD, Lockey RF, Seleznick MJ, Trudeau WL, Ledford DK. Comparison of oral pulse methotrexate with placebo in the treatment of severe glucocorticosteroid-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:482-9.
9. Giannini EH, Brewer EJ, Kuzmina N, Shaikov A, Maximov A, Vorontsov I, et al. Methotrexate in resistant juvenile rheumatoid arthritis. Results of the U.S.A.-U.S.S.R. double blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1992;326:1043-9.
10. Dahl MGC, Gregory MM, Schener PJ. Liver damage due to methotrexate in patients with psoriasis. *Br Med J* 1971;1:625-30.
11. Boumpas DT, Fessler BJ, Austin HA 3rd, Ballow JE, Klippel JH, Lockshin MD. Systemic lupus erythematosus: emerging concepts. I: renal, neuropsychiatric, cardiovascular, pulmonary, and hematologic disease. *Ann Intern Med* 1995;122:940.
12. Fauci AS, Haynes BF, Katz P, Wolff SM. Wegener's granulomatosis: prospective clinical and therapeutic experience with 85 patients for 21 years. *Ann Intern Med* 1983;98:76.
13. Morris RE. New small molecule immunosuppressants for transplantation: review of essential concepts. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:S275.
14. Ensley RD, Bristow MR, Olsen SL, Taylor DO, Hammond EH, O'Connell JB, et al. The use of mycophenolate mofetil (RS-61443) in human heart transplant recipients. *Transplantation* 1993;56:75-82.
15. Moser MA. Options for induction immunosuppression in liver transplant recipients. *Drugs* 2002;62:995-1011.
16. Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 1989;3:335-45.
17. Burnstein KL, Cidlowski JA. Regulation of gene expression by glucocorticoids. *Annu Rev Physiol* 1989;51:683.
18. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin AS Jr. Role of transcriptional activation of 1 kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 1995;270:283-6.
19. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cell. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:10043-7.
20. Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988;240:889.
21. Nelson RP, Lockey RF. Treatment of asthma with glucocorticosteroids. *South Med J* 1988;81:761-9.
22. Mattila PS. The actions of cyclosporine A and FK 506 on T-lymphocyte activation. *Biochem Soc Trans* 1996;24:45-9.
23. Muraoka K, Fujimoto K, Sun X, Yoshioka K, Shimizu K, Yagi M, et al. Immunosuppressant FK506 induces interleukin-6 production through the activation of transcription factor nuclear factor (NF)-kappa B. *J Clin Invest* 1996;97:2433-9.
24. Faulds D, Goa KL, Benfield P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993;45:953-1040.
25. Masuda K, Nakajima A, Urayama A, Nakae K, Kogure M, Inaba G. Double-masked trial of cyclosporine versus colchicine and long-term open study of cyclosporine in Behcet's disease. *Lancet* 1989;1:1093-96.
26. Cockfield SM, Preiksaitis JK, Jewell LD, Parfrey NA. Post-transplant lymphoproliferative disorder in renal allograft recipients, clinical experience and risk factor analysis in single center. *Transplantation* 1993;56:88-93.
27. Brazelton TR, Morris RE. Molecular mechanisms of action of new xenobiotic immunosuppressive drugs: tacrolimus (FK506), sirolimus (rapamycin), mycophenolate mofetil and leflunomide. *Curr Opin Immunol* 1996;8:710-20.
28. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1989;321:158-63.
29. Fischl M, Galpin JE, Levine JD, Henry DH, Kennedy P, et al. Recombinant human erythropoietin therapy for

- AIDS patients treated with AZT: a double-blind, placebo-controlled clinical study. *N Engl J Med* 1990;322:1488-93.
30. Brandt SJ, Peters WP, Atwater SK, Kurtzberg J, Borowitz MJ, Jones RB, et al. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous bone marrow transplantation. *N Eng J Med* 1988;318:869-76.
31. Hammond WP IV, Price TH, Souza LM, Dale DC. Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N Eng J Med* 1989;320:1306-11.
32. Balkwill FR. Interferons. *Lancet* 1989;1:1060-3.
33. Kimchi A. Autocrine interferon and the suppression of the c-myc nuclear oncogene. *Interferon* 1987;8:86-110.
34. Dorr RT. Interferon-alpha in malignant and viral diseases. *Drugs* 1993;45:1977-211.
35. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 1976;193:1007-8.
36. Bindon C, Czerniecki M, Ruell P, Edwards A, McCarthy WH, Harris R, et al. Clearance rates and systemic effects of intravenously administered interleukin-2 (IL-2) containing preparations in human subjects. *Br J Cancer* 1983;47:123-33.
37. Schwartzentruber DJ. Biologic therapy with interleukin-2: clinical applications. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Biologic therapy of cancer*. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1995. p. 235-49.
38. Dutcher JP, Logan T, Gordon M, Sosman J, Weiss G, Margolin K, et al. Phase II trial of interleukin 2, interferon alpha and 5-fluoruracil in metastatic renal cell cancer: a cytokine working group study. *Clin Cancer Res* 2000;6:3442-50.
39. Fisher RI, Rosenberg SA, Fyfe G. Long-term survival update for highdose recombinant interleukin-2 in patients with renal cell carcinoma. *Cancer J Sci Am* 2000;6 Suppl 1:S55-7.
40. Burks AW, Sampson HA, Buckley RH. Anaphylactic reactions after gamma globulin administration in patients with hypogammaglobulinemia: defection of IgE antibodies to IgA. *N Engl J Med* 1986;314:560.
41. Roifman CM, Levison H, Gelfand EW. High-dose versus low-dose intravenous immunoglobulin in hypogammaglobulinaemia and chronic lung disease. *Lancet* 1987;i:1075-7.
42. Quartier P, Debre M, De Blic J, de Sauverzac R, Sayegh N, Jabado N, et al. Early and prolonged intravenous immunoglobulin replacement therapy in childhood agammaglobulinemia: a retrospective survey of 31 patients. *J Pediatr* 1999;134:589-97.
43. Kressebuch H, Schaad UB, Hirt A, Bianchetti MG. Cerebrospinal fluid inflammation induced by intravenous immunoglobulin. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:894-6.
44. Lederman HM, Roifman CM, Lavi S, Gelfand EW. Corticosteroids for prevention of adverse reactions to intravenous immune serum globulin infusions in hypogammaglobulinemic patients. *Am J Med* 1986;81:443-6.
45. Anonymous. Outbreak of hepatitis C associated with intravenous immunoglobulin administration—United States, October 1993-June 1994. *MMWR* 1994;43:505-9.
46. Imbach P, Barandun S, d'Apuzzo V, Baumgartner C, Hirt A, Morell A, et al. High dose intravenous gamma globulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Lancet* 1981;1:1228-31.
47. Ballow M. Mechanisms of action of intravenous immune serum globulin in autoimmune and inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:151-7.
48. Debre M, Bonnet MC, Fridman WH, Carosella E, Philippe N, Reinert P, et al. Infusion of Fc gamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1993;342:945-9.
49. Takei S, Arora YK, Walker SM. Intravenous immunoglobulin contains specific antibodies inhibitory to activation of T cells by staphylococcal toxin superantigens. *J Clin Invest* 1993;91:602-7.
50. Leung DY. Kawasaki syndrome: immunomodulatory benefit and potential toxin neutralization by intravenous immune globulin. *Clin Exp Immunol* 1996;104(suppl):1:49.
51. Basta M, Fries LF, Frank MM. High doses of intravenous Ig inhibit invitro uptake of C4 fragments onto sensitized erythrocytes. *Blood* 1991;77:376-80.
52. Basta M, Dalakas MC. High-dose intravenous immunoglobulin exerts its beneficial effect in patients with dermatomyositis by blocking endomysial deposition of activated complement fragments. *J Clin Invest* 1994;94:1729-35.
53. Dalakas MC, Illa I, Dambrosia JM, Soueidan SA, Stein DP, Otero C, et al. Controlled trial of high-dose immune globulin infusions as treatment for dermatomyositis. *N Engl J Med* 1993;329:1993-2000.
54. Rossi F, Kazatchkine MD. Anti-idiotypes against autoantibodies in pooled normal human polyspecific IgG. *J Immunol* 1989;143:4104-9.
55. Sultan Y, Rossi F, Kazatchkine MD. Recovery from anti-VIIIc (antihemophilic factor) autoimmune disease is dependent on generation of anti-idiotypes against anti VIIIc autoantibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:828-31.
56. Jayne DRW, Esnault VLM, Lockwood CM. Anti-idiotypic antibodies to antimyeloperoxidase autoantibodies in patients with systemic vasculitis. *J Autoimmunity* 1993;6:221-6.
57. Viard I, Wehrli P, Bullani R, Schneider P, Holler N, Salomon D, et al. Inhibition of toxic epidermal necrolysis by blockade of CD95 with human intravenous immunoglobulin. *Science* 1998;282:490-3.
58. Sigman K, Ghibu W, Sommerville B, Toledano BJ, Bastein Y, Cameron L, et al. Intravenous immunoglobulin inhibits IgE production in human B lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:421-7.
59. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science* 2001;291:484-6.
60. Contreras M, de Silva M. The prevention and management of haemolytic disease of the newborn. *J R Soc Med* 1994;87:256-8.
61. Schwinghammer TL, Bloom EJ. Pharmacologic prophylaxis of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Clin Pharm* 1993;12:736-61.
62. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of varicella: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 1996;45:1-36.
63. American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. The prevention of respiratory syncytial virus infections: indications for the use of palivizumab: an update on the use of RSV-IVIG. *Pediatrics* 1998;102:1211-6.
64. Waid TH, Lucas BA, Thompson JS, Brown SA, Munch L, Prebeck RJ, et al. Treatment of acute cellular rejection with T10B9.1A-31 or OKT3 in renal allograft recipients. *Transplantation* 1992;53:80-6.
65. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's diseases. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997;337:1029-35.
66. Waldmann H. A personal history of the CAMPATH-1H antibody. *Med Oncol* 2002;19(suppl):S3-9.

67. Rai KR, Freter CE, Mercier RJ, Cooper MR, Mitchell BS, Stadtmauer EA, et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. *J Clin Oncol* 2002;20:3891-7.
68. Wiseman GA, White CA, Witzig TE, Gordon LI, Emmanouilides C, Raubitschek A, et al. Radioimmunotherapy of relapsed non-Hodgkin's lymphoma with zevulin, a 90Y-labeled anti-CD20 monoclonal antibody. *Clin Cancer Res* 1999;5(suppl):3281s-6s.
69. Anti-CD20 mAbs: modifying therapeutic strategies and outcomes in the treatment of lymphoma patients. *Expert Rev Anticancer Ther* 2002;2:323-9.
70. Witzig TE, Flinn IW, Gordon LI, Emmanouilides C, Czuczman MS, Saleh MN, et al. Treatment with ibritumomab tiuxetan radiotherapy in patients with rituximab-refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002;20:3262-9.
71. Boulet LP, Chapman KR, Cote J, Kalra S, Bhagat R, Swystun VA, et al. Inhibitory effects of an anti-IgE antibody E25 on allergen-induced early asthmatic response. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1835-40.
72. Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ, Reimann JD, Bush RK, Watrous ML, et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. rhuMAB-E25 Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:1966-73.
73. Fahy JV, Fleming HE, Wong HH, Liu JT, Su JQ, Reimann J, et al. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1828-34.
74. Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, Bulpitt KJ, Fleischmann RM, Fox RI, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999;340:253-9.
75. Bresnihan B, Alvaro-Gracia JM, Cobby M, Doherty M, Domljan Z, Emery P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 1998;41:2196-204.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Il capitolo 26 descrive analiticamente le terapie in grado di interagire con le funzioni immunologiche disponibili ormai da anni e convalidate per il trattamento di molte patologie umane.

Negli ultimi 3 anni grandi passi sono stati fatti nella conoscenza dei meccanismi immunologici che stanno alla base di molte patologie, e parallelamente alcune nuove terapie sono già state messe a punto (agonisti dei toll like receptors), mentre altre rappresentano un affascinante possibile campo di applicazione per il futuro.

I Toll-like receptor (TLR) e campi di applicazione

I TLR appartengono alla grande famiglia dei PRRs (Pattern-Recognition Receptors). Intervengono nei meccanismi dell'immunità innata in quanto sono capaci di riconoscere profili molecolari altamente conservati nei patogeni (denominati PAMP, Pathogen-Associated Molecular Patterns). I profili molecolari riconosciuti originano da germi molto diversi (batteri, virus, parassiti) e sono di natura molto varia (proteine, saccaridi, acido nucleico)¹.

Le funzioni scatenate dai TLR, attraverso vie di segnalazione non ancora completamente note, portano alla rapida produzione di citochine proinfiammatorie, promuovono la maturazione delle cellule dendritiche e favoriscono una risposta Th1 di tipo T helper 1; essi inoltre possono direttamente influenzare le funzioni antimicrobiche. I recettori intracellulari TLR3 e TLR9, in particolare, sono specifici per l'RNA a doppia elica e per oligodeossinucleotidi ricchi in sequenze CpG non metilate (CpG ODN), prodotti comuni del metabolismo di diversi agenti microbici.

L'applicazione clinica comporta l'utilizzo di agonisti di tali recettori che inducono la produzione di citochine, l'attivazione di effettori cellulari dell'immunità innata ed eventualmente una risposta immunitaria aspecifica contro le cellule tumorali e contro gli agenti infettivi, che possa portare ad una protezione a lungo termine. Numerosi studi clinici sono stati condotti per testare l'efficacia dell'utilizzo di agonisti di tali recettori nella cura di malattie infettive, tumorali e allergiche.

Vaccini: Alcuni agonisti sono già presenti come adiuvanti nei vaccini in commercio; per esempio il Monophosphoryl lipid-A (MPL), analogo del ligando del TLR4, è contenuto nel vaccino per l'epatite B² e il suo utilizzo è approvato nei pazienti ad alto rischio. Il MPL è anche efficace nei vaccini contro il papillomavirus e contro il virus erpetico (HSV-2).

Malattie infettive: I macrofagi e le cellule dendritiche sono fonti importanti di interferone di tipo I, di citochine infiammatorie e di chemochine che sono stimulate dalla maggior parte degli agonisti dei TLR; numerosi studi clinici sono stati condotti con agonisti del TLR7 nella cura dell'epatite C³.

Tumori: Diversi agonisti dei TLR sono stati utilizzati nel trattamento dei tumori; il meccanismo d'azione ipotizzato consiste nella neutralizzazione dei meccanismi di sopravvivenza dei tumori, che secernono citochine immunosoppressive. È stato approvato l'utilizzo di Imiquimod nella cura del carcinoma basocellulare della cute⁴.

Allergie: Dati incoraggianti sono emersi in questo campo su modelli animali. Gli agonisti dei TLR portano alla produzione di citochine infiammatorie di tipo Th1, inibendo così la produzione di IL-4, IL-5 e IL-10. Molti studi sono stati condotti sul TLR9, e dimostrano la sua efficacia sia come terapia immunomodulante (non allergene-specifica) che immunoterapica (allergene-specifica) nell'asma e nella rinocongiuntivite in modelli animali. Questo approccio potrebbe rivoluzionare il trattamento delle allergopatie⁵.

I Linfociti T regolatori e campi di applicazione

I linfociti T regolatori (Treg) sono una sottopopolazione di linfociti, scoperta 10 anni fa, che aiuta a prevenire l'attivazione di altre componenti cellulari del sistema immune e in questa maniera a mantenere l'omeostasi del sistema immunitario, la tolleranza del self e il controllo di eventuali risposte eccessive ad antigeni estranei; sono quindi essenziali per mantenere la tolleranza periferica. I Treg sono caratterizzati dai markers di superficie CD4 e CD25 allo stato basale ed esprimono la molecola FOXP3. La loro funzione spiega la loro importanza potenziale in numerose condizioni patologiche caratterizzate dall'alterazione di meccanismi della tolleranza immunologica, come avviene in malattie autoimmuni, allergie, tumori⁶, trapianti d'organo ed infezioni⁷. Nella sindrome IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy and enteropathy X-Linked) causata da una mutazione del gene che codifica per FOXP3, i pazienti sviluppano gravi endocrinopatie autoimmuni, manifestazioni allergiche respiratorie e cutanee, dermatiti e infezioni di grado severo.

Sono stati descritti un numero e una funzionalità ridotta dei T regolatori in pazienti affetti da diversi tipi di *malattie allergiche* (pollinosi, dermatiti da contatto) e *autoimmuni* (artrite reumatoide, sclerosi multipla, diabete mellito insulino-dipendente).

In pazienti affetti da *malattie infiammatorie e infettive*, i linfociti T regolatori controllano l'entità della risposta immune evitando i danni legati ad eccessiva reattività dell'ospite stesso. Questa caratteristica può essere utilizzata da alcuni patogeni (virus di Epstein Barr, Micobatterio tubercolare etc.) e dalle cellule tumorali per evitare la risposta dell'ospite e indurre manifestazioni patologiche.

La modulazione positiva (nelle allergie, nelle malattie autoimmuni e nelle reazioni verso il trapianto d'organo) o negativa (in alcuni tumori e infezioni) di questo sottotipo di linfociti appare dunque fondamentale nell'omeostasi della reattività del sistema immunitario.

Riferimenti bibliografici

1. **Toll-like receptors (TLRs) and immune disorders**
Akashi-Takamura S, Miyake K
J Infect Chemother 2006;12(5):233-40. Epub 2006 Nov 6. Review
2. **TLR4 agonists as immunomodulatory agents**
Alderson MR, McGowan P, Baldrige JR, Probst P
J Endotoxin Res 2006;12(5):313-9
3. **Masked oral prodrugs of toll-like receptor 7 agonists: a new approach for the treatment of infectious disease**
Fletcher S, Steffy K, Averett D
Curr Opin Investig Drugs 2006;7(8):702-8
4. **Cost-effectiveness of treatment of superficial basal cell carcinoma: surgical excision vs. imiquimod 5% cream**
Vanaclocha F, Dauden E, Badia X, Guillen C, Conejo-Mir JS, Sainz de Los Terreros M, Hamel L, Llorens MA; for the HEIS Study Group
Br J Dermatol 2007; 156(4):769-71
5. **TLR9-based immunotherapy for allergic disease**
Hayashi T, Raz E
Am J Med 2006;119(10):897.e1-6
6. **FOXP3+ Regulatory T Cells Affect the Development and Progression of Hepatocarcinogenesis**
Kobayashi N, Hiraoka N, Yamagami W, Ojima H, Kanai Y, Kosuge T, Nakajima A, Hirohashi S
Clin Cancer Res 2007;13(3):902-11
7. **CD4+CD25+ regulatory T-cell therapy for allergy, autoimmune disease and transplant rejection**
Jiang S, Lechler RI
Inflamm Allergy Drug Targets 2006;5(4):239-42

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Potential adverse effects of the inhaled corticosteroids

H. William Kelly, Harold S Nelson
September 2003 (Vol. 112, Issue 3, Pages 469-478)

Inhaled Corticosteroids: Past Lessons and Future Issues

Allen DB, Bielory L, Derendorf H, Dluhy R, Colice GL, Szefer SJ
September 2003 (Vol. 112, Issue 3, Supplement Pages S1-S40)

Anti-allergic Properties of Antihistamines

Erwin W Gelfand
October 2003 (Vol. 112, Issue 4, Supplement Pages S41-S100)

Verdict in the case of therapies versus eosinophils: The jury is still out

Bruce S Bochner
January 2004 (Vol. 113, Issue 1, Pages 3-9)

Diet as a risk factor for atopy and asthma

Graham Devereux, Anthony Seaton
June 2005 (Vol. 115, Issue 6, Pages 1109-1117)

Mechanisms of nutrient modulation of the immune response

Susanna Cunningham-Rundles, David F. McNeeley, Aeri Moon
June 2005 (Vol. 115, Issue 6, Pages 1119-1128)

The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma

Noah J. Friedman, Robert S. Zeiger
June 2005 (Vol. 115, Issue 6, Pages 1238-1248)

New therapeutic strategy for combating the increasing burden of allergic disease: Probiotics-A Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology and Intestinal Microbiota (NAMI) Research Group report

Samuli Rautava, Marko Kalliomäki, Erika Isolauri
July 2005 (Vol. 116, Issue 1, Pages 31-37)

*** Control of allergic airway inflammation through immunomodulation**

David B. Corry, MD, Farrah Kheradmand,
Mini Primer 2006 February 2006 (Vol. 117, Issue 2, Supplement , Pages S461-S464)

Use of intravenous immunoglobulin in human disease: A review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology

Jordan S. Orange, Elham M. Hossny, Catherine R. Weiler, Mark Ballow, Melvin Berger, Francisco A. Bonilla, Rebecca Buckley, Javier Chinen, Yehia El-Gamal, Bruce D. Mazer, Robert P. Nelson, Dhavalkumar D. Patel, Elizabeth Secord, Ricardo U. Sorensen, Richard L. Wasserman, Charlotte Cunningham-Rundles
April 2006 (Vol. 117, Issue 4, Pages S525-S553)

Anti-IgE as a mast cell-stabilizing therapeutic agent

June 2006 (Vol. 117, Issue 6, Page 1213)

Immunomodulators for allergic respiratory disorders

Thomas B. Casale, Jeffrey R. Stokes
February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages 288-296)

Therapeutic approaches for control of transcription factors in allergic disease

David J. Cousins, Joanne McDonald, Tak H. Lee
April 2008 (Vol. 121, Issue 4, Pages 803-809)

27. Immunologia dei trapianti d'organo e midollo osseo

La scoperta del sistema maggiore di istocompatibilità umano (MHC) nel 1967 ha aperto il campo al trapianto di organi e tessuti. Da allora sono stati eseguiti più di 800.000 trapianti. Sebbene la compatibilità negli antigeni MHC tra ricevente e donatore abbia rappresentato e tuttora rappresenta il punto cruciale, lo sviluppo dei nuovi farmaci e degli anticorpi anti-linfociti che interferiscono con la reazione di rigetto ha avuto un ruolo critico nel successo del trapianto nelle ultime due decadi. Considerevoli progressi sono stati compiuti nella comprensione dei meccanismi immunologici di rigetto del trapianto e della reazione del trapianto verso l'ospite; è stato così chiarito il ruolo di anticorpi, cellule presentanti l'antigene, linfociti T helper e citotossici, molecole di superficie, vie di attivazione del segnale e citochine. Queste conoscenze hanno portato allo sviluppo di nuovi farmaci immunosoppressori diretti contro le varie componenti del processo di rigetto che, agendo in maniera sinergica in associazione tra loro, richiedono il ricorso a dosi più basse e causano una minore tossicità. Allo stesso modo, lo sviluppo di più efficaci metodiche di deplezione delle cellule T è stato di grande importanza per il trapianto di midollo osseo in caso di mancanza di un donatore compatibile. Oggi il maggiore ostacolo all'esecuzione di un trapianto risiede nella carenza di donatori.

Il trapianto di organi o tessuti da un essere umano ad un altro è stato per secoli oggetto di infruttuosi tentativi, ma la sua realizzazione si è compiuta solo negli ultimi 35 anni dopo la scoperta, nel 1967, del sistema MHC¹. L'identificazione di questa regione genetica ha aperto il campo al trapianto di organi e tessuti. Nel 1968 il *World Health Organization Nomenclature Committee* ha denominato HLA (human leukocyte antigen) gli antigeni leucocitari controllati dai geni strettamente correlati dell'MHC.

ANTIGENI DEI TRAPIANTI

Il sistema maggiore di istocompatibilità (MHC)

Gli antigeni di istocompatibilità sono antigeni presenti sulla superficie cellulare, capaci di indurre una risposta immune in un ricevente geneticamente diverso (allogeni-

Abbreviazioni utilizzate:

ALG:	Globulina anti-linfociti/Antilymphocyte globulin
APC:	Cellula presentante l'antigene/Antigen-presenting cell
ATG:	Globulina anti-timociti/Antithymocyte globulin
GVHD:	Reazione del trapianto verso l'ospite/Graft-versus-host disease
HLA:	Antigeni leucocitari umani/Human leukocyte antigen
IL:	Interleuchina/Interleukin
MHC:	Sistema maggiore di istocompatibilità umano/Major histocompatibility complex
SCID:	Immunodeficienza combinata severa/Severe combined immunodeficiency

co), che è alla base del rigetto di tessuti o cellule che possiedono alloantigeni. Nell'uomo, i geni che codificano per questi antigeni si trovano nella regione MHC sul braccio corto del cromosoma 6 (Fig. 1).

Il sistema HLA contiene circa 200 geni, 40 dei quali codificano per antigeni leucocitari^{2,3}. Questi geni e i rispettivi prodotti proteici, presenti sulla superficie cellulare o solubili, sono distinti in tre classi (I, II e III) a seconda della loro distribuzione tissutale, struttura e funzione^{3,5}. I geni MHC di classe I e II codificano in maniera codominante per gli antigeni cellulari HLA di superficie, quelli di classe III per le diverse componenti del sistema del complemento; tutti hanno un ruolo importante nella funzionalità del sistema immunitario.

Gli antigeni MHC di classe I sono presenti su tutte le cellule nucleate; ognuno è composto da una catena pesante α di 45-kd codificata dai loci genici HLA-A, HLA-B o HLA-C, posti sul cromosoma 6, e legata in maniera non covalente con una proteina di 12-kd, la β 2-microglobulina, codificata a sua volta da un gene sul cromosoma 15 (Fig. 2)³. Gli antigeni MHC di classe II hanno una distribuzione tissutale più limitata e sono espressi solo su linfociti B, linfociti T attivati, monociti, macrofagi, cellule di Langerhans, cellule dendritiche, cellule endoteliali ed epiteliali⁵. Ognuno di questi è un eterodimero composto da catene α e β di circa 230 aminoacidi, legate in maniera non covalente e codificate dai geni della regione HLA-D (Fig. 2).

Sulle cellule che esprimono gli antigeni HLA di entrambe le classi I e II, si trovano tre antigeni di classe I e tre o più (di solito quattro) eterodimeri di classe II. I geni

Traduzione italiana del testo di:
Rebecca H. Buckley
J Allergy Clin Immunol 2003; 111: S733-44

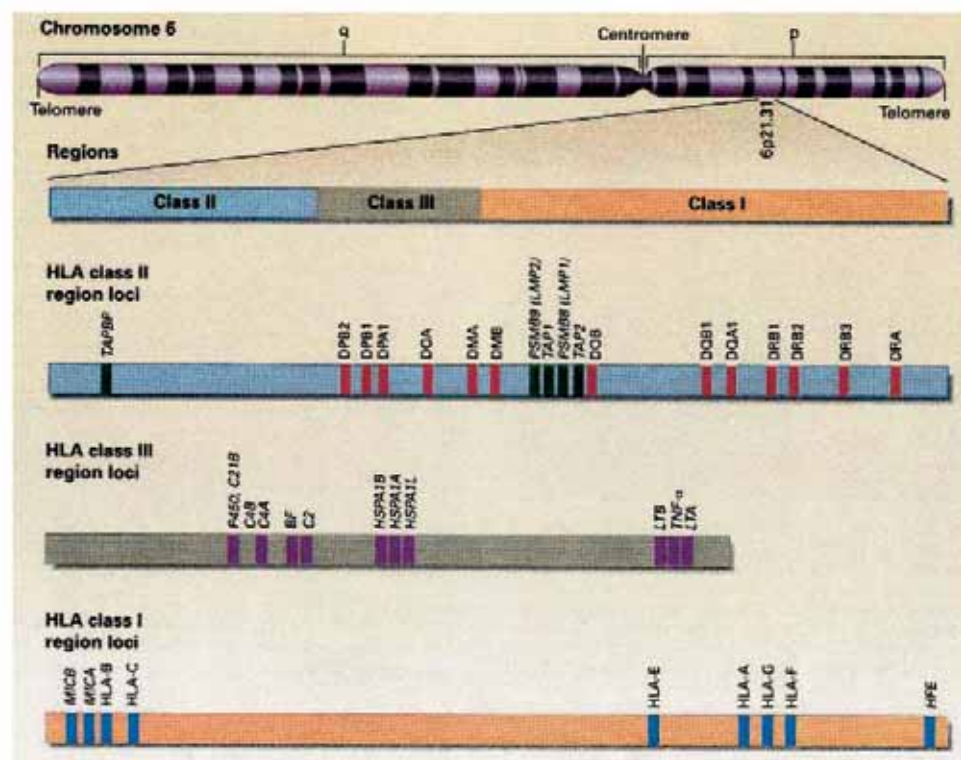


FIG 1. Posizione e organizzazione del complesso HLA sul cromosoma 6. *BF*, Fattore B del complemento; *C2*, Componente 2 del complemento; *C4A*, Componente 4A del complemento; *C4B*, Componente 4B del complemento; *TAP1*, trasportatore 1 dei peptidi antigenici; *TAP2*, trasportatore 2 dei peptidi antigenici; *LTA*, linfotossina A; *LTB*, linfotossina B. Da Klein J, Sato A. The HLA system: first of two parts. N Engl J Med 2000; 343:703. Stampato con autorizzazione.

della classe III si trovano tra i loci HLA-B e HLA-D e determinano la struttura di tre componenti del sistema del complemento: C2, C4 e il fattore B^{3,4}.

Gli antigeni HLA sono ereditati per via mendeliana in maniera dominante; a causa della vicinanza dei diversi loci del MHC e la conseguente bassa frequenza di cross-over, tuttavia, i geni HLA sono quasi sempre ereditati insieme. Questa combinazione fissa di determinanti antigenici viene chiamata aplotipo. Poiché il cromosoma 6 è un autosoma, tutti gli individui hanno due aplotipi HLA (uno per ogni cromosoma) e ci sono solo quattro possibili combinazioni di aplotipi tra i figli di due genitori.

Il sistema AB0

L'incompatibilità AB0 dei gruppi ematici non determina una stimolazione nelle colture miste leucocitarie, il che sottolinea come la compatibilità AB0 sia meno importante di quella HLA nella sopravvivenza del trapianto. L'incompatibilità AB0 può comunque determinare un rigetto iperacuto degli organi trapiantati più vascolarizzati, come rene e cuore⁶. Questo si verifica perché (a) gli antigeni AB0 sono presenti anche sui tessuti trapiantati di rene e di cuore, in modo particolare nei secretori A e B, e (b) nei riceventi non AB0 compatibili si trovano anticorpi preformati "naturali" diretti verso gli antigeni dei gruppi ematici.

Compatibilità donatore-ricevente

Per il successo di un trapianto esistono due metodi per rilevare la compatibilità tra donatore e ricevente. Il primo prevede l'individuazione degli antigeni HLA sui leucociti del donatore e del ricevente attraverso metodiche sierologiche o di tipizzazione del DNA; il secondo comporta la valutazione della risposta delle cellule immunocompetenti del ricevente nei confronti degli antigeni presenti sulle cellule del donatore (e viceversa per il trapianto di midollo osseo). Le diversità che sono evidenziabili sierologicamente sono definite *incompatibilità antigeniche*, mentre quelle identificate solo attraverso la tipizzazione del DNA sono denominate *incompatibilità alleliche*.

Cross-matching

Il test sierologico di cross-matching (compatibilità crociata) è di particolare importanza per il successo del trapianto degli organi più vascolarizzati come il rene e il cuore. Il siero proveniente dal ricevente viene testato nei confronti delle cellule del potenziale donatore alla ricerca di anticorpi diretti verso i globuli rossi o gli antigeni HLA. La presenza di questi anticorpi correla con il rigetto iperacuto di trapianto renale⁶. Per tale ragione un cross-match sierologico positivo viene considerato una controindicazione assoluta al trapianto renale.

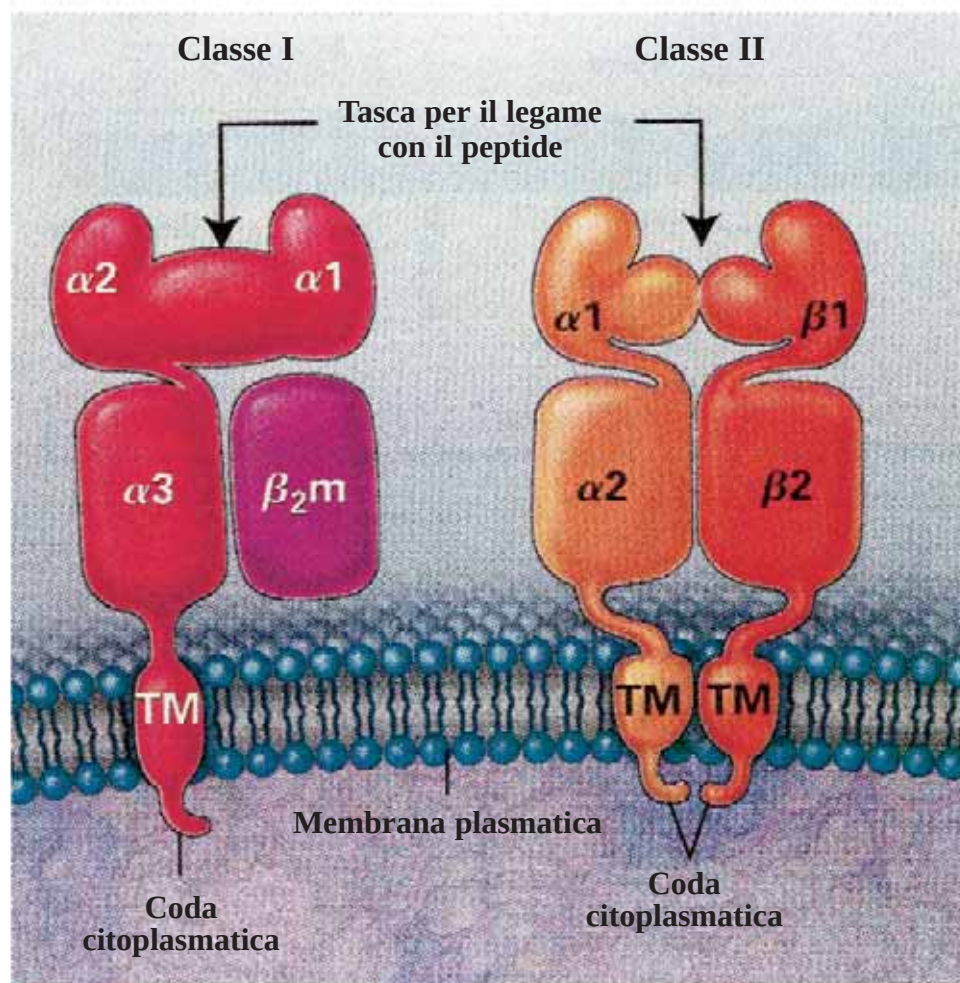


FIG 2. Struttura delle molecole HLA di classe I e II. La β_2 -microglobulina (β_2m) è la catena leggera della molecola di classe I. TM, Componente transmembrana. Da Klein J, Sato A. The HLA system: first of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343:704. Stampato con autorizzazione.

Utilità della tipizzazione HLA nel trapianto di organi e tessuti

La tipizzazione HLA è necessaria in caso di trapianto di qualsiasi organo tra soggetti della stessa famiglia, mentre la sua utilità nel trapianto di rene da cadavere è stata dibattuta fino all'avvento della ciclosporina⁷. La percentuale di sopravvivenza a breve termine non sembra differire per i trapianti di rene da cadavere con alta o bassa compatibilità, mentre il grado di compatibilità HLA correla con la sopravvivenza a lungo termine. Fino al 1980 si riteneva possibile il trapianto di midollo osseo solo tra fratelli HLA-identici, perché, in caso contrario, si poteva andare incontro sia a rigetto sia ad una reazione del trapianto verso l'ospite potenzialmente fatale (graft-versus-host disease, GVHD)⁸. Fortunatamente lo sviluppo, durante le ultime due decadi, di metodiche per la deplezione delle cellule T post-timiche dal midollo del donatore ha permesso di compiere con successo numerosi trapianti di midollo con compatibilità parziale, senza nessuna o rarissime GVHD^{9,10}.

MECCANISMI DI RIGETTO DEL TRAPIANTO

Ruolo degli anticorpi

I dati più convincenti a sostegno del ruolo degli anticorpi nel rigetto d'un trapianto si hanno nel rigetto iperacuto degli organi più vascularizzati come il rene e il cuore; in questi casi, nel ricevente, si possono rilevare anticorpi anti-donatore⁶. Questi anticorpi si legano con gli antigeni HLA espressi sulle cellule endoteliali, con conseguente fissazione del complemento e richiamo di leucociti polimorfonucleati. Il danno endoteliale che ne consegue dipende probabilmente dal rilascio di enzimi da queste cellule e conseguente accumulo di piastrine e formazione di trombi con necrosi della corticale renale o infarto del miocardio.

Leucociti e citochine nel rigetto di trapianto

L'allorigetto è dovuto all'attivazione coordinata di cellule T alloreattive e di cellule presentanti l'antigene (APC). Il rigetto acuto è un processo dipendente dalle cellule T,

ma la distruzione dell'allograpianto è il risultato di più meccanismi effettori. Le interazioni intracellulari e il rilascio di differenti citochine da parte delle cellule T-helper attivate (IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-15, fattore di necrosi tumorale- α e interferone- γ) portano al reclutamento non solo di cellule immunocompetenti donatore-specifiche come linfociti T CD4+, T citotossici CD8+ e linfociti B che producono anticorpi, ma anche di cellule infiammatorie aspecifiche che costituiscono la maggior parte della popolazione cellulare che infila un allograpianto¹¹.

La stimolazione dei recettori antigenici (TCR) non è sufficiente per promuovere l'attivazione dei linfociti T CD4+, a meno che non vi sia una co-stimolazione dovuta all'interazione di altre coppie ligando-recettore presenti sulla superficie degli stessi linfociti T e delle APC. Alcune di queste coppie di interazione includono la molecola di superficie CD2 delle cellule T e il suo ligando CD58 sulle APC; CD11a/CD18: CD54; CD5: CD72; CD40 ligando: CD40; e CD28: CD80 o CD86. Quando il recettore della cellula T si lega sulla APC, se il segnale non è mediato dalle interazioni recettore-ligando (in modo particolare attraverso CD40L: CD40 e CD28: CD80 o CD86) o da citochine (come IL-1 e IL-6 prodotte dalle APC), si ha anergia delle cellule T CD4+ o induzione della tolleranza¹². Le proteine accessorie delle cellule T e i loro ligandi sulle APC rappresentano quindi delle molecole bersaglio per la terapia anti-rigetto. Se avviene la co-stimolazione, le cellule T CD4+ si attivano con successiva trascrizione permanente di geni importanti per la loro stessa attivazione.

Le cellule T CD8+ riconoscono i peptidi antigenici all'interno delle molecole MHC di classe I e costituiscono, nel rigetto del trapianto, la principale popolazione linfocitaria effettrice ad azione citotossica. Le molecole di classe I presenti sulle cellule APC del donatore all'interno del trapianto attivano direttamente i linfociti effettori citotossici. Tuttavia, l'attivazione delle cellule CD8 necessita di un secondo segnale co-stimolatorio, così come di un segnale da parte di IL-2. È stato dimostrato che l'attivazione dei linfociti citotossici effettori CD8+ è strettamente dipendente dal segnale mediato dalla catena γ dei recettori di diverse citochine, mentre questo non è necessario per l'attivazione delle cellule T CD4+¹². Le cellule T CD8+ attivate proliferano e maturano in specifici cloni alloreattivi capaci di rilasciare granzyme (serina esterasi), perforine e citochine citotossiche come il fattore di necrosi tumorale- α .

La ciclosporina e il tacrolimus interferiscono significativamente con il processo di attivazione innescato dall'interazione delle APC con il TCR e le diverse molecole co-stimolatorie. Un'eccezione in ogni caso è la via co-stimolatoria CD28: CD80 o CD86, che, pur essendo indipendente dalla proteina chinasi C e dal calcio, può comunque portare ad una duratura trascrizione del gene per IL-2 e di altri geni di attivazione. Questa via è, inoltre, resistente all'inibizione da parte della ciclosporina e del tacrolimus. La stimolazione delle cellule B da parte dell'antigene avviene attraverso lo specifico recettore (l'immunoglobulina di superficie). Anche per queste cellule, tuttavia, è necessaria una co-stimolazione che può

essere promossa da citochine rilasciate dai linfociti T o dalle stesse interazioni che intervengono tra proteine della cellula T e ligandi importanti nella co-stimolazione tra T e APC, dato che questi ligandi sono presenti anche sulle cellule B.

Una volta avvenuta l'attivazione, continua la proliferazione delle cellule T in maniera autocrina per effetto dell'espressione del recettore per IL-2 (IL-2R). L'interazione di IL-2 con il relativo recettore innesca l'attivazione delle proteine tirosin-chinasi e fosfatidilinositol-3-chinasi, con conseguente spostamento nel citosol di una serina-treonina-chinasi legata a IL-2R, Raf-1. Questa, a sua volta, induce l'espressione di diverse proteine che legano il DNA, come c-Jun, c-Fos e c-Myc, e la progressione del ciclo cellulare¹¹. La conseguenza di questa serie di eventi è lo sviluppo di linfociti T citotossici e infiltranti, specifici per il trapianto. Le citochine prodotte dalle cellule T attivano i macrofagi ed altri leucociti e causano una up-regulation delle molecole HLA sulle cellule del trapianto. Le cellule T attivate inoltre stimolano le cellule B a produrre anticorpi anti-trapianto. Tutti questi elementi, cellulari ed umorali, portano alla fine alla distruzione del trapianto.

IMMUNOSOPPRESSIONE

Non esiste ancora un agente in grado di sopprimere selettivamente la risposta immunitaria dell'ospite agli antigeni del trapianto, mantenendo allo stesso tempo integre le risposte immunitarie fisiologiche, per cui la prevenzione del rigetto si avvale dell'uso di agenti immunosoppressivi aspecifici. Lo sviluppo delle strategie immunosoppressive durante le ultime 4 decadi riflette l'enorme progresso che c'è stato nella comprensione dei meccanismi cellulari e molecolari che determinano l'allorigetto¹³. Il successo del trapianto tra soggetti non correlati può essere attribuito al miglioramento di queste conoscenze. Gli immunosoppressori, tuttavia, sopprimono l'immunità specifica e non specifica, rendendo il ricevente più suscettibile sia alle infezioni sia alle neoplasie. Le infezioni sono infatti la causa più importante di decesso nel trapiantato. Tutti i soggetti devono essere quindi sottoposti ad un regime immunosoppressivo tale da impedire il rigetto, pur tuttavia minimizzando il rischio di infezione: in caso di una dose troppo alta compaiono infezioni; in caso di una dose troppo piccola si ha rigetto del trapianto. Gli agenti immunosoppressivi usati nella maggior parte dei centri per quasi venti anni sono stati i corticosteroidi, l'azatioprina e la ciclosporina. Negli ultimi anni sono stati introdotti nuovi agenti: il micofenolato mofetile, con un meccanismo di azione simile, ma più efficace, di quello dell'azatioprina; il tacrolimus, che ha meccanismo di azione ed effetti collaterali sovrapponibili a quelli della ciclosporina e il sirolimus, che blocca la progressione del ciclo cellulare del linfocita T indotto da IL-2. Gli agenti immunosoppressivi possono essere distinti in base alle capacità di (1) arrestare la divisione cellulare del linfocita, (2) portare a deplezione dei linfociti, (3) interferire con i processi di maturazione del linfocita, (4) influire nella co-stimolazione delle cellule

Tab. I. Patterns di rigetto degli organi solidi: esempio di rigetto di rene

Tipo	Tempo dopo il trapianto	Segni e sintomi	Rapidità di inizio	Componenti immuni	Quadri patologici	Trattamento	Percentuale di successo (%)
Iperacuto	<24 ore	Febbre, anuria	Ore	Anticorpi e complemento	Deposizione di neutrofili polimorfonucleati e trombosi	Nessuno	0
Accelerato	3-5 g	Febbre, edema dell'organo, oliguria, debolezza	1 g	Anticorpi non fissanti il complemento	Danno vascolare, emorragia	ALG, ATG, anti-CD3	60
Acuto	6-90 g	Oliguria, ritenzione di sali, edema dell'organo, debolezza, occasionalmente febbre	Da giorni a settimane	Cellule T e anticorpi	Flogosi tubulare, endovasculari	Steroidi, ALG, ATG, anti-CD3	60-90
Cronico	>60 g	Edema, ipertensione, proteinuria, occasionale ematuria	Da mesi ad anni	Anticorpi	Lesioni vascolari a sfoglia di cipolla	Nessuno	0

Da Buckley R. Capitolo 42: transplantation. In: Stiehm ER, editore. Immunologic disorders in infants children and adults. 5th edizione. Philadelphia: WB Saunders; in stampa. Stampato con autorizzazione.

immuni, (5) modulare il danno da ischemia-riperfusion, o (6) facilitare l'induzione della tolleranza¹³. Possono anche essere classificati in base al loro impiego in agenti per la terapia di induzione, la profilassi del rigetto, il controllo degli episodi acuti di rigetto e il mantenimento dell'immunosoppressione.

Globuline anti-linfociti e anti-timociti

Gli anticorpi ottenuti da animali immunizzati con cellule linfoidi umane sono presidi utili per la terapia di induzione e per il controllo degli episodi di rigetto acuto¹⁴. Sono costituiti dalla frazione di IgG del siero di cavalli o di conigli immunizzati con linfociti (globulina antilinfocita [ALG]) o timociti (globulina antitimocita [ATG, Timoglobulina]) o da anticorpi monoclonali murini diretti contro antigeni linfocitari T (CD3, OKT3)¹⁵. In generale ALG, ATG ed OKT3 riducono l'entità all'esordio, la severità ed il numero di episodi di rigetto.

Anticorpi monoclonali contro i recettori delle citochine

Prevenzione del rigetto del trapianto si ottiene anche attraverso il blocco dell'interazione delle citochine con i loro recettori. Sono stati sviluppati per uso clinico anticorpi murini, chimerici o umanizzati, diretti contro la catena α del IL-2R^{16,17}, molecola presente soltanto sui linfociti T attivati; il vantaggio degli anticorpi monoclonali è nella loro selettività d'azione nei confronti dei linfociti T attivati dagli antigeni del trapianto.

Inibitori della calcineurina

L'azione principale degli inibitori della calcineurina (ciclosporina e tacrolimus) è il blocco della sintesi

dell'IL-2 e di altre citochine che potrebbero essere prodotte dalle cellule T attivate dall'allotrapianto¹⁸. Grazie alla sua natura idrofobica, la ciclosporina penetra attraverso la membrana cellulare e si lega alla ciclofillina, una isomerasi citoplasmatica. Il complesso inibisce la calcineurina, una fosfatasi intracellulare critica per la traslocazione del segnale dal recettore della cellula T al nucleo, impedendo in questo modo la trascrizione del gene per IL-2. Anche la sintesi di altre citochine è inibita, interferendo così con le funzioni del linfocita T-helper CD4+ attivato¹⁸, la proliferazione delle cellule T e la differenziazione dei precursori dei linfociti citotossici. Il Tacrolimus si lega ad una isomerasi citoplasmatica allo stesso modo della ciclosporina, ma combinandosi ad una differente proteina, la FK-binding protein¹⁹. Il complesso formato impedisce che la calcineurina attivi la trasduzione del segnale dal recettore della cellula T al nucleo, inibendo così la sintesi di IL-2, IL-3, interferone γ e di altre citochine. L'attività immunosoppressiva del tacrolimus è circa 100 volte più potente di quella della ciclosporina^{19,20}.

Inibitori della trasduzione del segnale del recettore per le citochine

Il Sirolimus (Rapamune) ha una struttura simile al tacrolimus e la sua azione dipende dal legame con la FK-binding protein. Tuttavia, il complesso formato non agisce sulla calcineurina, ma impedisce la fosforilazione della chinasi p70S6, inibendo così la trasduzione del segnale di molti recettori per le citochine presenti sulla superficie cellulare, come IL-2R, IL-4R, IL-15R ed IL-10R²¹. Studi in vitro e in vivo hanno documentato un effetto sinergico del sirolimus e della ciclosporina, conseguente al loro meccanismo d'azione; infatti il sirolimus blocca

la trasduzione del segnale dal recettore delle citochine mentre la ciclosporina inibisce la produzione delle citochine^{22,23}.

Terapia di associazione

Non esiste un farmaco immunosoppressivo aspecifico perfetto. Gli anticorpi antilinfociti, gli inibitori della sintesi dei nucleosidi, gli steroidi, la ciclosporina (o il tacrolimus), gli anticorpi diretti contro la catena α dell'IL-2R ed il sirolimus interferiscono nei meccanismi di "alloriconoscimento" e nella proliferazione antigene-guidata della cellula T in punti differenti nel processo di attivazione della stessa. L'uso combinato di alcuni di questi farmaci determina un effetto sinergico, più che un semplice effetto cumulativo¹³.

TRAPIANTO DI ORGANI SOLIDI

Dalla scoperta dell'HLA nel 1967, lo sviluppo esponenziale dei trapianti viene attestato dal fatto che dal 2001 sono stati registrati 535.075 trapianti di rene in 588 centri trapiantologici in tutto il mondo, 117.984 trapianti di cellule staminali in 249 centri, 61.195 trapianti di cuore in 236 centri, 100.179 trapianti di fegato in 235 centri, 17.002 trapianti di pancreas o pancreas-rene in 163 centri, 297 trapianti di intestino in 10 centri e 16.432 trapianti di polmone o cuore-polmoni in 120 centri, per un totale di 848.164 trapianti nell'ultima metà del secolo²⁴.

Trapianto di rene

Malgrado gli importanti miglioramenti nelle tecniche di dialisi, il trapianto renale rimane il trattamento di scelta per la fase terminale della insufficienza renale in soggetti di quasi tutte le età^{25,26}. Non c'è mancanza di riceventi per questi trapianti. Le stime di nuovi casi di insufficienza renale in fase terminale variano da 1,5 a 3 casi/milione per anno.

La procedura per il trapianto renale per gli adulti e la maggior parte dei bambini, è ormai standardizzata²⁷. La pratica iniziale che prevedeva la rimozione dei reni malati 2 - 3 settimane prima del trapianto non è più applicata in modo routinario negli ultimi anni, tranne che nei soggetti con ipertensione o infezione ed oggi la nefrectomia viene effettuata nel momento del trapianto.

Trattamenti immunosoppressivi. Fino all'avvento della ciclosporina, agli inizi degli anni 80, la maggior parte dei centri impiegava una combinazione di azatioprina (Imuran) e prednisone per prevenire il rigetto. A partire dal 1983, molti centri hanno sostituito all'azatioprina la ciclosporina associata a prednisone a dosi basse a scopo immunosoppressivo²⁸. La ciclosporina è impiegata a dosi differenti nei diversi centri: generalmente si somministra per via endovenosa durante o subito dopo il trapianto ed il giorno seguente. Successivamente la somministrazione prosegue per via orale con riduzione graduale, consentendo ai segni di tossicità e di rigetto ed ai livelli plasmatici. Il controllo dei livelli plasmatici con metodica

radioimmunologica consente di modulare le dosi affinché questi si mantengano sopra i 200 ng/mL. Il prednisone è somministrato il giorno del trapianto e ridotto gradualmente nell'arco di 12 settimane. In molti centri gli agenti utilizzati per l'induzione comprendono uno tra gli anticorpi diretti contro la catena α di IL-2R, il Dacluzimab o il Basileximab, insieme agli steroidi, il micofenolato mofetile (anziché l'azatioprina) ed il tacrolimus (al posto della ciclosporina). Alcuni chirurghi somministrano il tacrolimus insieme agli steroidi e al sirolimus²⁹. Gli episodi acuti di rigetto sono trattati con boli endovenosi di metil-prednisolone ad alte dosi^{30,31}. Gli schemi più utili includono l'ALG per 5 giorni, l'ATG per 5 giorni ed l'OKT3 per 1 - 14 giorni.

Rigetto. Il rigetto è il problema più comune nei 3 mesi successivi al trapianto di rene^{32,33}. Tranne il rigetto iperacuto, la maggior parte degli episodi può essere parzialmente o completamente controllata da uno degli agenti immunosoppressivi precedentemente descritti. Gli episodi di rigetto sono classificati come segue (Tabella I):

1. Il rigetto iperacuto si presenta nelle prime 48 ore successive all'anastomosi fatta nel ricevente ed è causato da anticorpi preformati antileucociti. È caratterizzato da febbre ed anuria. Il legame degli anticorpi citotossici all'endotelio vascolare attiva il complemento, con conseguente aggregazione di neutrofili e piastrine e successiva trombosi. Questo è un evento irreversibile e l'unica opzione possibile è l'immediata rimozione dell'organo.
2. Il rigetto accelerato si presenta dal terzo al quinto giorno dopo trapianto ed è accompagnato da febbre, edema dell'organo trapiantato, oliguria e dolorabilità. Si pensa che sia mediato da anticorpi, non fissanti il complemento, diretti verso antigeni presenti sul rene del donatore. Dal punto di vista istopatologico, è caratterizzato da danno vascolare ed emorragia. I trattamenti più efficaci sono gli agenti anti-linfociti, associati o meno a plasmateresi; questi hanno una percentuale di successo attorno al 60%.
3. Il rigetto acuto, la forma più comune, è dovuto alla risposta allogenica primaria nei primi 6 - 90 giorni dopo il trapianto. È mediato sia da cellule T sia da anticorpi, che causano rispettivamente flogosi tubulare e vasculite. Boli di steroidi ad alte dosi e agenti anti-linfociti sono in grado di bloccare la risposta T-cellulare nell'80%-90% dei casi; gli anticorpi anti-linfociti sono efficaci nella vasculite soltanto nel 60% dei casi.
4. Il rigetto cronico compare quando è compromessa la fragile tolleranza dell'innesto, due o più mesi dopo trapianto. È caratterizzato da marcata proteinuria, ematuria saltuaria, ipertensione arteriosa e sindrome nefrosica. Il primo meccanismo di questo tipo di rigetto è di tipo anticorpale. Una biopsia renale è di solito necessaria per differenziare il rigetto dalla nefrotossicità da tacrolimus o da ciclosporina. Non esiste un trattamento efficace.

Efficacia. I trapianti renali da fratello donatore HLA-identico hanno una sopravvivenza a dieci anni di circa il 74%. Quelli da cadavere "con compatibilità per 6 anti-

geni" hanno una sopravvivenza a 10 anni del 57% (65% con HLA identico alla tipizzazione del DNA). I trapianti da famigliari che condividono un aplotipo hanno una sopravvivenza a 10 anni del 54%; quelli da cadavere HLA-non compatibile hanno una sopravvivenza del 40% a 10 anni²⁶.

Trapianto di fegato

Il primo trapianto di fegato è stato eseguito nel 1963, quando fu sostituito l'organo malato in un bambino di 3 anni con atresia biliare extra-epatica³⁴. Sebbene l'esito sia stato infausto, i successi ottenuti in seguito hanno confermato come il trapianto del fegato sia la terapia standard per le epatopatie croniche in fase avanzata³⁵. Dal 1983, la percentuale di sopravvivenza ad un anno è aumentata dal 25 al 78%, a seconda dell'età, lo stato di salute del ricevente, le patologie concomitanti e altre condizioni cliniche.

Il trapianto del fegato è indicato in caso di epatopatia cronica in fase terminale, epatite acuta fulminante e neoplasia epatica circoscritta³⁶. Come per quello renale, anche nel trapianto di fegato si utilizza una terapia combinata attiva sui diversi meccanismi del processo di rigetto. Gli anticorpi diretti contro la catena α di IL-2R si somministrano per via endovenosa il giorno del trapianto, seguiti dal tacrolimus, che è inizialmente assunto per via endovenosa e successivamente orale, e quindi dal micofenolato mofetile e dagli steroidi che vengono scalati gradualmente nell'arco di un anno. La sopravvivenza è aumentata del 20% negli ultimi 12 anni grazie all'introduzione del tacrolimus. Benché questo miglioramento possa essere il risultato di più fattori, si è documentato un azzeramento dei casi di re-trapianto, come conseguenza di rigetto acuto o cronico, nei soggetti trattati con il tacrolimus.

Anche per il trapianto del fegato, come per quelli di altri organi solidi, la mancanza di donatori idonei è un problema importante. Dal 1988 si è fatto fronte alla scarsità di organi effettuando epatectomie parziali nei trapianti da donatori imparentati³⁷. Un singolo fegato da cadavere viene inoltre usato per due riceventi. La sicurezza del donatore è maggiore quando si preleva il segmento epatico laterale di sinistra; i riceventi sono invece sottoposti ad epatectomie totali.

Il trapianto di cuore, cuore-polmoni e polmone

Le diverse cardiomiopatie, seguite dalle cardiopatie congenite, sono le principali indicazioni al trapianto di cuore. I trattamenti immunosoppressivi per il trapianto del cuore sono simili per molti aspetti a quelli già descritti per il trapianto di rene e fegato. Gli anticorpi monoclonali diretti contro la catena α di IL-2R si somministrano per la terapia di induzione il giorno del trapianto, insieme al metil-prednisolone endovena ad alte dosi. La somministrazione di prednisone per via orale inizia dopo l'intervento ed continua sino alla prima biopsia endomiocardica ad esito normale, quando si inizia la somministrazione del tacrolimus, considerato il principale farmaco immunosoppressivo³⁸.

Dall'introduzione della ciclosporina, venti anni fa, i risultati del trapianto cardiaco sono migliorati. L'*International Heart Transplantation Registry* indica una sopravvivenza a quattro anni per il 71% dei soggetti che assumono una triplice terapia immunosoppressiva comprendente ciclosporina o tacrolimus³⁹. La sopravvivenza è tuttavia influenzata dall'età del ricevente ed è maggiore nei soggetti con meno di 40 anni di età.

Il trapianto cuore-polmoni è stato effettuato con maggiore successo nel trattamento della fibrosi cistica⁴⁰. Il trapianto di polmone è stato principalmente eseguito per le seguenti patologie: fibrosi cistica, malattia vascolare polmonare, bronchiolite obliterante, proteinosi alveolare polmonare e fibrosi polmonare.

IL TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO

Dal 1955, più di 117.984 trapianti di midollo osseo sono stati effettuati in tutto il mondo in 249 centri per il trattamento di più di 50 diverse patologie fatali²⁴. La maggior parte di questi, 25000 - 35000 all'anno, sono trapianti autologhi, mentre circa 15000 all'anno sono i trapianti allogenici.

Specifici problemi rendono il trapianto del midollo osseo diverso da quello di organi solidi, quali rene, fegato e cuore. Il primo consiste nella capacità delle cellule immunocompetenti del ricevente e del donatore di riconoscersi come estranee e quindi di reagire tra di loro, con una reazione di rigetto del trapianto da un lato e la comparsa di malattia del trapianto verso l'ospite (GVHD) dall'altro⁴¹. Il secondo problema è legato alla necessità di una stretta compatibilità tra gli antigeni MHC di classe II di donatore e ricevente, affinché un trapianto di midollo osseo abbia buon esito⁴¹. Infine, tranne che nei soggetti con immunodeficienza combinata severa (SCID) o malattia completa di DiGeorge, o nei gemelli omozigoti, anche i riceventi HLA-identici devono essere trattati in anticipo con agenti citotossici e mieloablativi per impedire il rigetto del trapianto⁴¹.

Le patologie trattate con successo mediante il trapianto allogenico di midollo osseo includono danno da radiazione, immunodeficienze primarie, emoglobinopatie, anemia aplastica, mieloma multiplo, leucemia, neuroblastoma, linfoma non-Hodgkin, errori congeniti del metabolismo e alcune malattie autoimmuni⁴². Il trapianto autologo di midollo, inoltre, è stato impiegato insieme all'irradiazione ablativa o alla chemioterapia, nel trattamento dei soggetti con alcune neoplasie ematologiche, tumori solidi o carcinoma della mammella ed è il tipo più comune di trapianto di midollo osseo oggi effettuato⁴³.

Caratteristiche cliniche della malattia del trapianto verso l'ospite (GVHD)

La GVHD acuta inizia dopo 6 o più giorni dal trapianto (o dopo l'infusione, nel caso di derivati ematologici non irradiati)⁴⁴. I segni della GVHD includono febbre, eruzione eritematosa morbilliforme e diarrea severa⁴⁵. L'eruzione tende progressivamente a confluire e può

coinvolgere l'intera superficie corporea; è pruriginosa e dolorosa ed alla fine esita in una marcata esfoliazione. Compaiono quindi eosinofilia e linfocitosi, seguite dalla rapida comparsa di epatosplenomegalia, dermatite esfoliativa, enteropatia protido-disperdente, aplasia midollare, edema generalizzato, suscettibilità alle infezioni sino all'exitus⁴⁶. I campioni biotici cutanei evidenziano degenerazione vacuolare basale o necrosi, spongiosi, discheratosi a singole cellule, necrosi eosinofila delle cellule epidermiche ed infiltrato perivascolare a cellule rotonde del derma. Alterazioni necrotiche simili si manifestano nel fegato, nell'intestino e, infine, in molti altri tessuti.

Trattamento della GVHD

Diversi schemi terapeutici sono stati impiegati per controllare la GVHD nei trapianti di midollo osseo HLA-compatibili e non compatibili. Nel caso di trapianto di midollo osseo MHC-compatibile in soggetti con SCID o malattia completa di DiGeorge, non è solitamente necessario somministrare immunosoppressori per impedire o attenuare una possibile GVHD, anche se gli steroidi vengono talvolta impiegati per trattare le forme più severe. Per il trapianto di midollo osseo HLA-identico, in tutti i soggetti nei quali viene effettuata una chemioterapia pre-trapianto per impedire il rigetto, è necessario ricorrere alla profilassi per la GVHD. A questi viene di solito somministrato il metotrexate il primo, terzo, sesto ed undicesimo giorno dopo il trapianto e quindi settimanalmente fino al centesimo giorno, associando la somministrazione quotidiana di ciclosporina per 6 mesi⁴⁷. Sono stati valutati anche schemi immunosoppressivi più nuovi, come il micofenolato mofetile insieme al metotrexate ed alla ciclosporina⁴⁸.

Una volta instauratasi, la GVHD diventa estremamente difficile da trattare. Alcuni casi migliorano grazie all'impiego di siero anti-timociti, steroidi, ciclosporina, tacrolimus, anticorpi diretti contro la catena α dell'IL-2R, micofenolato mofetile e anticorpi monoclonali murini diretti contro gli antigeni di superficie della cellula T umana, ma il decorso è risultato inesorabilmente fatale in molti soggetti trattati con questi agenti^{49,50}. Il migliore approccio nei confronti della GVHD è la prevenzione ed il metodo preventivo di gran lunga più efficace è l'ablazione delle cellule T post-timiche dal midollo o dal sangue del donatore.

Trapianto di midollo osseo HLA-identico nell'immunodeficienza severa delle cellule T

L'unica terapia adeguata per i soggetti con forme severe di immunodeficienza cellulare è la ricostituzione immunologica mediante il trapianto di tessuto immunocompetente. Fino al 1980, a questo scopo si poteva utilizzare soltanto midollo osseo HLA-identico, per l'insorgenza di GVHD letale in caso di impiego di midollo non compatibile⁵¹. Nella maggior parte dei casi, grazie a trapianti completamente compatibili, si è ottenuto un veloce recupero funzionale con piena ricostituzione dell'immunità legata alle cellule T e B⁵². Attraverso l'analisi dell'origine genetica delle cellule immuni nei soggetti trapiantati,

si è documentato che, sebbene le cellule T originino tutte dal donatore, le cellule B appartengono spesso al ricevente⁹. Inizialmente, si riteneva che il midollo osseo fosse efficace nel conferire immunità nei soggetti con SCID, perché forniva cellule staminali sane, ma dalle esperienze successive condotte con midolli depleti di cellule T⁵³ si è compreso che il precoce ripristino della funzione immune, dopo trapianto di midollo osseo HLA-identico, è dovuto al trasferimento adottivo di cellule B e T mature presenti nel midollo del donatore⁵². Purtroppo, fino al 1982, la mancanza di donatori HLA-identici ha impedito il trapianto di midollo osseo in più dell'85% dei soggetti con immunodeficienza che ne avrebbero potuto trarre vantaggio¹⁰. La maggior parte di questi morì quindi prima del 1982⁵¹.

Trapianto di midollo osseo di HLA-aploidentico per l'immunodeficienza severa delle cellule T

Cellule epatiche fetali totalmente HLA-differenti possono correggere il difetto immune in alcuni soggetti con immunodeficienza severa delle cellule T, senza indurre la comparsa di GVHD. Questo dato ha fatto ipotizzare che cellule staminali prelevate da midollo osseo HLA-differente possano comportarsi analogamente, una volta rimosse le cellule T post-timiche del donatore. Gli iniziali tentativi di deplezione delle cellule T sono stati coronati da successo in alcuni modelli sperimentali, trattando il midollo o le cellule spleniche del donatore con l'antisiero anti-cellule-T o mediante l'agglutinamento delle cellule non volute con la lectina vegetale⁵⁴. Il rimanente midollo immaturo o le cellule spleniche non-T sono in grado di ripristinare la funzione linfoemopoietica nei riceventi MHC-differenti, irradiati in modo letale, senza che si instauri una GVHD fatale. Questo metodo è stato applicato nell'uomo all'inizio degli anni '80 e si è dimostrato efficace nei bambini affetti da SCID.

Il tempo necessario al ripristino della funzione immunitaria dopo trapianto di cellule staminali aplo-identiche è diverso da quello richiesto dopo trapianto di midollo HLA-identico non frazionato. I linfociti con il fenotipo e le funzioni delle cellule T mature non riescono ad aumentare in modo significativo fino a 3 - 4 mesi dopo il trapianto; una normale funzionalità T si realizza nei 4-7 mesi successivi¹⁰. La funzionalità della cellula B si sviluppa molto più lentamente, raggiungendo la normalità in media in 2 - 2,5 anni; in molti soggetti non si ha recupero della funzione delle cellule B, malgrado una normale funzionalità delle cellule T¹⁰. L'analisi genetica dei linfociti di questi soggetti chimerici ha rivelato che tutte le cellule T appartengono geneticamente al donatore, mentre le cellule B ed le APC rimangono quasi sempre quelle del ricevente¹⁰.

Queste osservazioni indicano che il microambiente timico nella maggior parte dei bambini con SCID è capace di differenziare le cellule staminali normali compatibili per metà in cellule mature e di far funzionare i linfociti T che possono cooperare efficacemente con le cellule B dell'ospite per la produzione di anticorpi⁵⁶. Il difetto genetico, quindi, nella maggior parte dei casi non coinvolge il timo.

Efficacia del trapianto di midollo osseo nelle immunodeficienze

Sebbene non siano disponibili dati precisi, negli ultimi 34 anni, in tutto il mondo più di 1200 soggetti affetti da forme diverse di immunodeficienze geneticamente determinate sono stati sottoposti a trapianto di midollo osseo nel tentativo di correggere il difetto immunitario di fondo. I risultati sono migliorati notevolmente nelle ultime due decadi, probabilmente grazie ad una diagnosi precoce, posta prima dello sviluppo di infezioni opportunistiche non trattabili⁵⁵. L'analisi su scala mondiale, condotta dall'Autore dal 1994 al 1997, con la successiva aggiunta dei casi pubblicati in letteratura, ha rivelato che sopravvivono 239 dei 302 (79%) soggetti con immunodeficienza primaria trapiantati con midollo HLA-identico negli ultimi 34 anni.

SCID. Il trapianto del midollo osseo è stato effettuato soprattutto, ed ha avuto un maggior successo, nei bambini affetti da SCID più che in qualunque altra immunodeficienza primaria. Alcuni ricercatori sostengono il ricorso alla terapia mielosoppressiva o mieloablativa di condizionamento prima del trapianto. Secondo altri Autori, non vi è in realtà necessità di effettuare una chemioterapia pre-trapianto, dato che i bambini affetti da SCID non hanno cellule T. Dal 1968 al 1977, soltanto 14 di 48 bambini affetti da SCID (29%) sono sopravvissuti a lungo termine dopo un trapianto di midollo osseo compatibile per gli antigeni HLA di classe II effettuato con successo⁵¹. Lo stesso studio e la revisione della letteratura evidenziano come solo 126 bambini con SCID hanno ricevuto un midollo HLA-identico; di questi 106, pari all'84%, sono sopravvissuti. Al contrario, di 477 bambini con SCID che hanno ricevuto un trapianto di midollo aploidentico, 301, pari al 63%, sono sopravvissuti in tutto il mondo; tuttavia, in questo tipo di trapianto si è proceduto alla deplezione delle cellule T solo dopo il 1980. Questo è comunque un risultato importante, perché la SCID è mortale nel 100% dei casi se non si procede al trapianto di midollo o, nel caso delle forme associate a deficit dell'enzima adenosino-deaminasi, alla terapia sostitutiva⁵⁷. Uno studio longitudinale in 193 soggetti europei con SCID sottoposti a trapianto di midollo osseo aploidentico, depleto delle cellule T, la maggior parte dei quali aveva ricevuto una chemioterapia pre-trapianto, ha rivelato che soltanto 92 (48%) sono sopravvissuti a lungo⁵⁸. Durante le ultime due decadi, l'autore e i suoi collaboratori hanno effettuato un trapianto di midollo in 128 bambini affetti da SCID; 100 di questi (78%) sono attualmente in vita, da 1 mese a più di 20 anni dopo il trapianto. Nessuna terapia di condizionamento pre-trapianto è stata somministrata, se non a 3 bambini che sono stati sottoposti anche ad infusione di sangue cordonale. Soltanto 15 hanno avuto un donatore HLA-identico; tutti e 15 sono vivi ed hanno un trapianto funzionante. Centotredici soggetti con SCID hanno ricevuto cellule staminali da donatore semi-compatibile preparate con la tecnica di deplezione delle cellule T attraverso la formazione di rosette con eritrociti di montone e la lecitina di soia; di questi, 85 soggetti (75%) sono ancora in vita.

Questi studi hanno dimostrato che le diverse modalità di trapianto possono portare alla normalità del numero e della funzione delle cellule T in tutti i tipi molecolari di SCID conosciuti. Più rilevante è il dato che 34 dei 35 bambini (97%) che avevano effettuato il trapianto nei primi 3,5 mesi di vita sono attualmente in vita^{9,10}. Sembra pertanto non esservi un vantaggio nell'effettuare il trapianto in utero^{59,60} piuttosto che il più presto possibile dopo la nascita¹⁰. Il trapianto in utero è gravato inoltre dal rischio legato all'iniezione nel feto e all'incapacità di rilevare una GVHD durante la gestazione. L'assenza di una completa funzionalità delle cellule B, in alcuni soggetti con SCID che hanno ricevuto il trapianto di midollo osseo, ha spinto alcuni ricercatori a sostenere il ricorso, in tutti i soggetti, alla chemioterapia pre-trapianto. I vantaggi legati a questa modalità vanno valutati alla luce dei possibili effetti tossici.

Altre immunodeficienze primarie. Il secondo maggior gruppo di soggetti con immunodeficienza che è stato sottoposto a trapianto di midollo osseo dal 1968 è quello affetto dalla sindrome di Wiskott-Aldrich⁶¹. In un rapporto recente dell'*International Bone Marrow Transplant Registry*, 170 soggetti affetti dalla sindrome di Wiskott-Aldrich sono stati sottoposti a trapianto e la probabilità di sopravvivenza a cinque anni per tutti è stata pari al 70% (95, intervallo di confidenza 63% - 77%)⁶¹. La probabilità di sopravvivenza cambia a seconda del tipo di donatore: 87% (95% intervallo di confidenza 74%-93%) nel caso di fratelli HLA-identici, 52% (95% intervallo di confidenza 37%-65%) se da altri parenti e 71% (95% intervallo di confidenza 58% - 80%) per donatori compatibili non imparentati ($P = 0006$). I bambini che avevano ricevuto un trapianto da donatori compatibili non imparentati prima dei 5 anni di età hanno avuto una sopravvivenza simile a quella dei soggetti che ricevono un trapianto da fratello HLA-identico.

I soggetti con immunodeficienze combinate, caratterizzate da un difetto delle cellule T meno severo rispetto a quello presente nella SCID, costituiscono il terzo gruppo in ordine di grandezza di soggetti sottoposti a trapianto di midollo osseo dal 1968⁶². Trentatré dei 65 (51%) soggetti sottoposti a trapianto sono sopravvissuti⁵⁵. Dal 1968 hanno ricevuto il trapianto di midollo osseo 45 soggetti affetti dalla sindrome di Omenn e 23 (51%) sono ancora vivi⁵⁵. Venticinque dei 33 (76%) soggetti affetti da deficit dell'adesione leucocitaria sono vivi dopo trapianto di midollo osseo⁵⁵ così come quattordici di 26 (54%) soggetti con la sindrome del linfocita nudo^{63,64}. Diciotto di 23 (78%) soggetti con la sindrome di Chediak-Higashi sopravvivono tuttora dopo aver ricevuto un trapianto di midollo osseo⁵⁵. Ventuno su 29 soggetti (72%) con malattia granulomatosa cronica che hanno ricevuto il trapianto di midollo osseo sono in vita⁶⁵. Soggetti affetti dalla sindrome completa di DiGeorge sono stati sottoposti a trapianto di midollo e timo. Sono sopravvissuti due soggetti di tre che avevano ricevuto un trapianto di midollo non frazionato da fratello HLA-identico. Recentemente 16 bambini con la sindrome completa di DiGeorge sono stati sottoposti a trapianto di colture di tessuto timico da donatore non imparentato e dieci di questi sono sopravvissuti⁶⁷.

Gli altri disordini che sono stati trattati con successo con il trapianto di midollo osseo sono la sindrome da iper-IgM X-linked (13/21 soggetti in vita)⁶⁸, la disgenesia reticolare (9/11 soggetti in vita)⁶⁹, il deficit della purina-nucleoside fosforilasi (4/9 soggetti in vita)⁷⁰, la sindrome da ipoplasia della cartilagine e dei capelli (4/7 soggetti in vita), la sindrome linfoproliferativa X-linked (6/9 soggetti in vita)⁷¹, la sindrome da diluizione del pigmento (sindrome di Griscelli) (3/7 soggetti in vita)⁷², il deficit di IL-2 (2/2 soggetti in vita)⁶², l'immunodeficienza comune variabile (0/4 soggetti in vita), la candidiasi mucocutanea cronica (0/1 sopravvissuti), l'ataxia-telangectasia (0/4 soggetti in vita) e il deficit di Fas (CD95) (1/1 soggetti in vita)⁷³.

Efficacia del trapianto di midollo osseo nelle neoplasie

Il successo del trapianto di midollo nel trattamento delle neoplasie dipende da diversi fattori, i più importanti dei quali sono il tipo di tumore, lo stadio della malattia e l'età del ricevente⁷⁴. Per i soggetti con leucemia mieloide acuta, trapiantati durante la prima remissione completa, la prospettiva di vita libera da malattia a 4 anni è pari al 55% per il trapianto allogenico, al 48% per il trapianto autologo e al 30% dopo chemioterapia intensiva⁷⁵. Per i soggetti con leucemia mieloide cronica, la sopravvivenza a tre anni libera da malattia è del 57% per i trapianti eseguiti nella prima fase cronica, del 41% nella fase accelerata o seconda fase cronica e del 18% in fase più avanzata di malattia⁷⁴. Le migliori probabilità di sopravvivenza (50%-70%), con le minori probabilità di ricaduta (20%), si sono ottenute nei soggetti minori di 20 anni con leucemia acuta non-linfoide, sottoposti a trapianto alla prima remissione e nei soggetti con leucemia mieloide cronica che hanno subito il trapianto in fase cronica⁷⁶.

Il razionale per il trapianto allogenico di midollo osseo nella leucemia risiede nell'ipotesi che le cellule leucemiche possano essere diminuite o eliminate dalla radioterapia o dalla chemioterapia mentre le normali cellule T allogeniche (provenienti dal donatore) possano rigettare ogni restante cellula leucemica⁷⁷. A supporto della necessità della presenza delle cellule T nel trapianto è il dato che i trapianti di midollo osseo depleti di queste cellule sono stati associati con un più alto grado di ricaduta di malattia⁷⁸.

Efficacia del trapianto di midollo osseo nelle emoglobinopatie, nell'osteopetrosi e nelle malattie metaboliche da accumulo

Il trapianto del midollo osseo si è dimostrato efficace nel trattamento della β -talassemia omozigote, con tassi di sopravvivenza che raggiungono il 70%-80% per i trapianti di midollo da fratelli HLA-identici⁷⁹. Il trapianto di midollo osseo HLA-identico è stato eseguito con successo nei soggetti con anemia falciforme: su 59 soggetti trattati, 55 sono in vita, e 50 liberi da malattia⁸⁰. L'*European Bone Marrow Transplantation Group* ha segnalato 69 soggetti con osteopetrosi a trasmissione autosomica

recessiva che, fra il 1976 e il 1994, sono stati sottoposti a trapianto di midollo osseo HLA-identico o trapianto aploidentico⁸¹. I riceventi un midollo genotipicamente HLA-identico hanno attualmente una probabilità del 79% di sopravvivenza a 5 anni, con una normale funzione osteoclastica.

Trapianto di midollo osseo non mieloablativo

Per i soggetti con pre-esistente danno d'organo, si registra una significativa morbidità e mortalità legata ai tradizionali regimi di condizionamento con busulfano e ciclofosfamide o irradiazione. Per questo vi è notevole interesse per trattamenti di condizionamento meno tossici⁸² come l'irradiazione linfoide totale o la combinazione degli analoghi nucleosidici e di anticorpi anti-linfociti. Anche se questi regimi sono significativamente meno citotossici rispetto agli agenti alchilanti ad alte dosi e all'irradiazione total-body, sono comunque altamente immunosoppressivi. Le infezioni opportunistiche, come la riattivazione di citomegalovirus, sono complicanze importanti quando si effettuano i trapianti non mieloablativi di cellule staminali con questi agenti, soprattutto nei soggetti anziani e in quelli precedentemente immunosoppressi. È inoltre necessario effettuare la profilassi della GVHD con ciclosporina e methotrexate, con l'aggiunta, in alcuni casi, di micofenolato mofetile, perché la GVHD è comune dopo il trapianto non mieloablativo.

Nei regimi di condizionamento per il trapianto in caso di malattia granulomatosa cronica sono stati impiegati in un caso fludarabina, busulfano ed ATG oppure ciclofosfamide, fludarabina e ATG⁸³; sette di 11 soggetti così trattati sopravvivono con chimerismo misto e sono in buona salute. Gaspar *et al.*⁸⁴ al *Great Ormond Street Hospital* hanno trattato 21 soggetti con differenti immunodeficienze con quattro diversi regimi di condizionamento non mieloablativi⁸⁴. Al follow-up medio di 13 mesi, 19 dei 21 soggetti (90%) sono ancora vivi dopo il trapianto.

"Trapianto" di sangue cordonale

Il sangue intero del cordone ombelicale, ricco in cellule totipotenti, è una fonte alternativa di cellule staminali emopoietiche per il trapianto⁸⁵. Più di 1500 "trapianti" di sangue cordonale sono stati effettuati in diverse malattie tumorali e genetiche⁸⁶. Il razionale del ricorso al sangue del cordone ombelicale è legato in parte all'incidenza e alla severità della GVHD, che sembrano minori rispetto a quelle in corso di trapianto di midollo osseo nell'adulto da donatore compatibile non imparentato, anche quando c'è soltanto una parziale compatibilità⁸⁷. Rispetto a questi ultimi, tuttavia, l'incidenza di mancato attecchimento è più alta nel caso di infusione di sangue del cordone ombelicale.

Vi è inoltre un periodo più prolungato prima dell'attecchimento della serie mieloide e un periodo ancor più lungo di trombocitopenia (100 giorni) rispetto a ciò che avviene dopo trapianto di midollo da parente HLA-identici o da donatore compatibile non imparentato⁸⁶.

La terapia genetica

Un importante passo avanti nella terapia genica si è raggiunto grazie ai successi ottenuti da Cavazzana-Calvo *et al.*⁸⁸ e di Hacein-Bey-Abina *et al.*⁸⁹ in bambini affetti da SCID X-linked, perché, nel decennio 1990-2000, gli sforzi ripetuti di effettuare una correzione genica della SCID con deficit di adenosina deaminasi erano falliti. Il gruppo dell'Hôpital Necker di Parigi ha trattato finora con successo undici soggetti con SCID X-linked con cellule di midollo osseo autologo geneticamente corrette. Dopo il trattamento nove bambini hanno sviluppato una normale funzionalità delle cellule T e B. In due soggetti in cui ciò non si è verificato, si è proceduto al trapianto di midollo allogenico. Per i nove che hanno acquisito una normale funzione immunitaria, il risultato è stato mantenuto senza la necessità di effettuare infusioni di immunoglobuline endovena né di assumere terapia domiciliare.

Un serio evento avverso si è tuttavia presentato in due soggetti in questo gruppo. In un soggetto, poco prima della comparsa di varicella, si è documentato un elevato numero di leucociti per espansione clonale di una popolazione di cellule T circolanti $\gamma\delta$ -positive. La componente leucocitaria, espandendosi ulteriormente, ha acquisito i caratteri di un processo simil-leucemico, trattato quindi con chemioterapia. Nel clone linfocitario è stata rilevata la presenza del gene inserito⁹⁰, la cui posizione di inserzione è in un introne di un gene sul cromosoma 11 chiamato *LMO2*. Il prodotto del gene *LMO2* è cruciale per la normale emopoiesi ed ha funzione regolatoria⁹¹. Tuttavia, *LMO2* è anche un oncogene espresso in modo aberrante nella leucemia linfoblastica acuta dei bambini. Il secondo paziente ha sviluppato una proliferazione delle cellule T α/β .

Da tempo è noto come l'oncogenesi inserzionale rappresenti una potenziale complicanza nei tentativi di trasferimento genico mediante vettori retrovirali, in quanto l'integrazione avviene in maniera casuale nel genoma. Si pensava che questa complicanza fosse improbabile con questi vettori, perché essi non si possono riprodurre e non possono inserirsi ripetutamente nei cromosomi delle cellule aumentando la probabilità di trasformazione maligna. Prima di questo caso, non era mai stata osservata una trasformazione maligna in alcun soggetto al quale era stato trasferito un gene attraverso vettori retrovirali. Non si sa ancora se il processo leucemico osservato in questi bambini indichi che il rischio mutageno in seguito alle inserzioni sia superiore a quello valutato precedentemente. In ogni caso, sarà necessario ponderare questo potenziale rischio rispetto ai potenziali danni e benefici di altre terapie e determinare quale è il migliore trattamento per i soggetti affetti da SCID⁹².

Bibliografia

- Bach FH, Amos DB. Hu-1: major histocompatibility locus in man. *Science* 1967;156:1506-8.
- Forbes SA, Trowsdale J. The MHC quarterly report. *Immunogenetics* 1999;50:152-9.
- Klein J, Sato A. The HLA system: first of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:702-9.
- Bodmer JG, Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 1998. *Tissue Antigens* 1999;53:407-46.
- Klein J, Sato A. The HLA system: second of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:782-6.
- Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Petersen VP, Fjeldborg O. Hyperacute rejection of kidney allografts associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 1966;2:662-5.
- Kahan BD. Cyclosporine: a revolution in transplantation. *Transplant Proc* 1999;31:14S-5S.
- Mickelson EM, Fefer A, Storb R, Thomas ED. Correlation of the relative response index with marrow graft rejection in patients with aplastic anemia. *Transplantation* 1976;22:294-330.
- Buckley RH, Schiff SE, Schiff RI, Markert L, Williams LW, Roberts JL, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 1999;340:508-16.
- Myers LA, Patel DD, Puck JM, Buckley RH. Hematopoietic stem cell transplantation for severe combined immunodeficiency in the neonatal period leads to superior thymic output and improved survival. *Blood* 2002;99:872-8.
- Suthanthiran M, Strom TB. Renal transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:365-94.
- Demirci G, Gao W, Zheng XX, Malek TR, Strom TB, Li XC. On CD28/CD40 ligand costimulation, common gamma-chain signals, and the alloimmune response. *J Immunol* 2002;168:4382-90.
- Hong JC, Kahan BD. Immunosuppressive agents in organ transplantation: past, present, and future. *Semin Nephrol* 2000;20:108-25.
- Russell PS, Cosimi AB. Transplantation. *N Engl J Med* 1979;301:470-9.
- Cosimi AB, Colvin RB, Burton RC, Rubin RH, Goldstein G, Kung PC, et al. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. *N Engl J Med* 1981;305:308-14.
- Vincenti F, Kirkman R, Light S, Bumgardner G, Pescovitz M, Halloran P, et al. Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation. Daclizumab Triple Therapy Study Group. *N Engl J Med* 1998;338:161-5.
- Kahan BD, Rajagopalan PR, Hall M. Reduction of the occurrence of acute cellular rejection among renal allograft recipients treated with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2-receptor monoclonal antibody. United States Simulect Renal Study Group. *Transplantation* 1999;67:276-84.
- Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989;321:1725-38.
- Kino T, Hatanaka H, Miyata S. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiot (Tokyo)* 1987;40:1256-65.
- The U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:1110-5.
- Kahan BD, Chang JY, Sehgal SN. Preclinical evaluation of a new potent immunosuppressive agent, rapamycin. *Transplantation* 1991;52:185-91.
- Kahan BD, Gibbons S, Tejpal N, Stepkowski SM, Chou TC. Synergistic interactions of cyclosporine and rapamycin to inhibit immune performances of normal human peripheral blood lymphocytes in vitro. *Transplantation* 1991;51:232-9.
- Stepkowski SM, Kahan BD. Rapamycin and cyclosporine synergistically prolong heart and kidney allograft survival. *Transplant Proc* 1991;23:3262-4.

24. Cecka JM, Terasaki PI. Clinical transplants 2001. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center; 2002.
25. Benfield MR, McDonald R, Sullivan EK, Stablein DM, Tejani A. The 1997 Annual Renal Transplantation in Children Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Pediatr Transplant* 1999;3:152-67.
26. Cecka JM. The UNOS renal transplant registry. *Clin Transpl* 2001. p. 1-18.
27. Simmons RL, Najarian JS. Kidney transplantation. In: Simmons RL, Finch ME, Ascher NL, Najarian JS, editors. *Manual of vascular access, organ donation, and transplantation*. New York: Springer-Verlag; 1984. p. 292-328.
28. Ettenger RB. New immunosuppressive agents in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:1956-8.
29. Shapiro R, Scantlebury V, Jordan M, Vivas C, Jain A, Hakala T, et al. A pilot trial of tacrolimus, sirolimus, and steroids in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2002;34:1651.
30. Bell PR, Briggs JD, Calman KC, Paton AM, Wood RF, Macpherson SG, et al. Reversal of acute clinical and experimental organ rejection using large doses of intravenous prednisolone. *Lancet* 1971;1:876-88.
31. Kauffman HP, Stormstad AS, Sampson D, Stawicki AT. Randomized steroid therapy of human kidney transplant rejection. *Transplant Proc* 1979;11:36-8.
32. Ettenger RB, Rosenthal JT, Marik J. Cadaver renal transplantation in children: results with long-term cyclosporine immunosuppression. *Clin Transpl* 1990;4:329-36.
33. McEnery P, Stablein D, Arbus G, Tejani A. Renal transplantation in children. *N Engl J Med* 1992;326:1727-32.
34. Starzl TE, Esquivel C, Gordon R, Todo S. Pediatric liver transplantation. *Transplant Proc* 1987;19:3230-5.
35. Jain A, Mazariegos G, Kashyap R, Kosmach-Park B, Starzl TE, Fung J, et al. Pediatric liver transplantation. A single center experience spanning 20 years. *Transplantation* 2002;73:941-7.
36. Mowat AP. Liver disorders in children: the indications for liver replacement in parenchymal and metabolic diseases. *Transplant Proc* 1987;19:3236-41.
37. Yamaoka Y, Tanaka K, Ozawa K. Liver transplantation from living-related donors. In: Terasaki PI, Cecka JM, editors. *Clinical transplants 1993*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory; 1994. p.179-84.
38. Armitage JM, Fricker FJ, del Nido P, Starzl TE, Hardesty RL, Griffith BP. A decade (1982 to 1992) of pediatric cardiac transplantation and the impact of FK 506 immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:464-73.
39. Kaye MP. Pediatric thoracic transplantation: the world experience. *J Heart Lung Transplant* 1993;12:344-50.
40. Vricella LA, Karamichalis JM, Ahmad S, Robbins RC, Whyte RI, Reitz BA. Lung and heart-lung transplantation in patients with end-stage cystic fibrosis: the Stanford experience. *Ann Thorac Surg* 2002;74:13-7.
41. Martin PJ, Hansen JA, Storb R, Thomas ED. Human marrow transplantation: an immunological perspective. *Adv Immunol* 1987;40:379-438.
42. Good RA, Verjee T. Historical and current perspectives on bone marrow transplantation for prevention and treatment of immunodeficiencies and autoimmunities. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001;7:123-35.
43. Woods WG, Neudorf S, Gold S, Sanders J, Buckley JD, Barnard DR, et al. A comparison of allogeneic bone marrow transplantation, autologous bone marrow transplantation, and aggressive chemotherapy in children with acute myeloid leukemia in remission. *Blood* 2001;97:56-62.
44. Schroeder ML. Transfusion-associated graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2002;117:275-87.
45. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974;18:295-304.
46. Parkman R. Human graft-versus-host disease. *Immunodef Rev* 1991;2:253-64.
47. Kumar S, Wolf RC, Chen MG, Gastineau DA, Gertz MA, Inwards DJ, et al. Omission of day +11 methotrexate after allogeneic bone marrow transplantation is associated with increased risk of severe acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2002;30:161-5.
48. Wang J, Song X, Zhang W, Tong S, Hou J, Chen L, et al. [Combination of mycophenolate mofetil with cyclosporine A and methotrexate for the prophylaxes of acute graft versus host disease in allogeneic peripheral stem cell transplantation]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002;82:507-10.
49. Ogawa H, Soma T, Hosen N, Tatekawa T, Tsuboi A, Oji Y, et al. Combination of tacrolimus, methotrexate, and methylprednisolone prevents acute but not chronic graft-versus-host disease in unrelated bone marrow transplantation. *Transplantation* 2002;74:236-43.
50. Koc S, Leisenring W, Flowers ME, Anasetti C, Deeg HJ, Nash RA, et al. Therapy for chronic graft-versus-host disease: a randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone. *Blood* 2002;100:48-51.
51. Bortin MM, Rimm AA. Severe combined immunodeficiency disease. Characterization of the disease and results of transplantation. *JAMA* 1977;238:591-600.
52. Sindel LJ, Buckley RH, Schiff SE, Ward FE, Mickey GH, Huang AT, et al. Severe combined immunodeficiency with natural killer cell predominance: abrogation of graft-versus-host disease and immunologic reconstitution with HLA-identical bone marrow cells. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:829-36.
53. Buckley RH, Schiff SE, Sampson HA, Schiff RI, Markert ML, Knutsen AP, et al. Development of immunity in human severe primary T cell deficiency following haploidentical bone marrow stem cell transplantation. *J Immunol* 1986;136:2398-407.
54. Reisner Y, Itzicovitch L, Meshorer A, Sharon N. Hematopoietic stem cell transplantation using mouse bone marrow and spleen cells fractionated by lectins. *Proc Nat Acad Sci U S A* 1978;75:2933-6.
55. Buckley RH, Fischer A. Bone marrow transplantation for primary immunodeficiency diseases. In: Ochs HD, Smith CIE, Puck JM, editors. *Primary immunodeficiency diseases: a molecular and genetic approach*. 1st ed. New York: Oxford University Press; 1999. p. 59-75.
56. Patel DD, Gooding ME, Parrott RE, Curtis KM, Haynes BF, Buckley RH. Thymic function after hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2000;342:1325-32.
57. Buckley RH, Schiff RI, Schiff SE, Markert ML, Williams LW, Harville TO, et al. Human severe combined immunodeficiency (SCID): genetic, phenotypic and functional diversity in 108 infants. *J Pediatr* 1997;130:378-87.
58. Haddad E, Landais P, Friedrich W, Gerritsen B, Cavazzana-Calvo M, Morgan G, et al. Long-term immune reconstitution and outcome after HLA-nonidentical T-cell-depleted bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency: a European retrospective study of 116 patients. *Blood* 1998;91:3646-53.
59. Wengler GS, Lanfranchi A, Frusca T, Verardi R, Neva A, Brugnani D, et al. In-utero transplantation of parental CD34 haematopoietic progenitor cells in a patient with

- X-linked severe combined immunodeficiency (SCIDX1). *Lancet* 1996;348:1484-7.
60. Flake AW, Roncarolo MG, Puck JM, Almeida-Porada G, Evans MI, Johnson MP, et al. Treatment of X-linked severe combined immunodeficiency by in utero transplantation of paternal bone marrow. *N Engl J Med* 1996;335:1806-10.
61. Filipovich AH, Stone JV, Tomany SC, Ireland M, Kollman C, Pelz CJ, et al. Impact of donor type on outcome of bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the National Marrow Donor Program. *Blood* 2001;97:1598-603.
62. Berthet F, Le Deist F, Duliege AM, Griscelli C, Fischer A. Clinical consequences and treatment of primary immunodeficiency syndromes characterized by functional T and B lymphocyte anomalies (combined immune deficiency). *Pediatrics* 1994;93:265-70.
63. Klein C, Lisowska-Groszpiere B, LeDeist F, Fischer A, Griscelli C. Major histocompatibility complex class II deficiency: clinical manifestations, immunologic features, and outcome. *J Pediatr* 1993;123:921-8.
64. Klein C, Cavazzana-Calvo M, Le Deist F, Jabado N, Benkerrou M, Blanche S, et al. Bone marrow transplantation in major histocompatibility complex class II deficiency: a single center study of 19 patients. *Blood* 1995;85:580-7.
65. Leung TF, Chik KW, Li CK, Shing M, Yuen P. Bone marrow transplantation for chronic granulomatous disease: long-term follow-up and review of the literature. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:567-70.
66. Goldsobel AB, Haas A, Stiehm ER. Bone marrow transplantation in DiGeorge syndrome. *J Pediatr* 1987;111:40-4.
67. Markert ML, Boeck A, Hale LP, Kloster AL, McLaughlin TM, Batchvarova MN, et al. Transplantation of thymus tissue in complete DiGeorge syndrome. *N Engl J Med* 1999;341:1180-9.
68. Duplantier JE, Seyama K, Day NK, Hitchcock R, Nelson RP Jr, Ochs HD, et al. Immunologic reconstitution following bone marrow transplantation for X-linked hyper IgM syndrome. *Clin Immunol* 2001;98:313-8.
69. Knutsen AP, Wall DA. Kinetics of T-cell development of umbilical cord blood transplantation in severe T-cell immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:823-32.
70. Broome CB, Graham ML, Saulsbury FT, Hershfield MS, Buckley RH. Correction of purine nucleoside phosphorylase deficiency by transplantation of allogeneic bone marrow from a sibling. *J Pediatr* 1996;128:373-6.
71. Gross TG, Filipovich AH, Conley ME, Pracher E, Schmiegelow K, Verdirame JD, et al. Cure of X-linked lymphoproliferative disease (XLP) with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): report from the XLP registry. *Bone Marrow Transplant* 1996;17:741-4.
72. Schneider LC, Berman RS, Shea CR, Perez-Atayde AR, Weinstein H, Geha RS. Bone marrow transplantation (BMT) for the syndrome of pigmentary dilution and lymphohistiocytosis (Griscelli's syndrome). *J Clin Immunol* 1990;10:146-53.
73. Benkerrou M, Le Deist F, De Villartay JP, Caillat-Zucman S, Rieux-Lau-cat F, Jabado N, et al. Correction of Fas (CD95) deficiency by haploidentical bone marrow transplantation. *Eur J Immunol* 1997;27:2043-7.
74. Rowings PA, Horowitz MM, Armitage JO, Gale RP, Sobocinski KA, Zhang MJ, et al. Report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the North American Autologous Bone Marrow Transplant Registry. In: Terasaki PI, Cecka JM. *Clinical transplants* 1993. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory; 1994. p.101-8.
75. Mehta J, Powles R, Sirohi B, Treleaven J, Kulkarni S, Saso R, et al. Does donor-recipient ABO incompatibility protect against relapse after allogeneic bone marrow transplantation in first remission acute myeloid leukemia? *Bone Marrow Transplant* 2002;29:853-9.
76. Sharathkumar A, Thornley I, Saunders EF, Calderwood S, Freedman MH, Doyle J. Allogeneic bone marrow transplantation in children with chronic myelogenous leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002;24:215-9.
77. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic marrow grafts. *N Engl J Med* 1979;300:1068-73.
78. Maraninchi D, Gluckman E, Blaise D, Guyotat D, Rio B, Pico JL, et al. Impact of T cell depletion on outcome of allogeneic bone marrow transplantation for standard risk leukaemias. *Lancet* 1987;2:175-8.
79. Lucarelli G, Andreani M, Angelucci E. The cure of thalassemia by bone marrow transplantation. *Blood Rev* 2002;16:81-5.
80. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Rogers ZR, Aquino VM, Buchanan GR, et al. Stable mixed hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation for sickle cell anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001;7:665-73.
81. Gerritsen EJ, Vossen JM, Fasth A, Friedrich W, Morgan G, Padmos A, et al. Bone marrow transplantation for autosomal recessive osteopetrosis. *J Pediatr* 1994;125:896-902.
82. Mielcarek M, Sandmaier BM, Maloney DG, Maris M, McSweeney PA, Woolfrey A, et al. Nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation: status quo and future perspectives. *J Clin Immunol* 2002;22:70-4.
83. Horwitz ME, Barrett AJ, Brown MR, Carter CS, Childs R, Gallin JJ, et al. Treatment of chronic granulomatous disease with nonmyeloablative conditioning and a T-cell-depleted hematopoietic allograft. *N Engl J Med* 2001;344:881-8.
84. Gaspar HB, Amrolia P, Hassan A, Webb D, Jones A, Sturt N, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation for congenital immunodeficiencies. *Recent Results Cancer Res* 2002;159:134-42.
85. Barker JN, Wagner JE. Umbilical cord blood transplantation: current state of the art. *Curr Opin Oncol* 2002;14:160-4.
86. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;321:1174-8.
87. Barker JN, Davies SM, DeFor T, Ramsay NK, Weisdorf DJ, Wagner JE. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood* 2001;97:2957-61.
88. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, deSaint Basile G, Gross F, Yvon E, Nussbaum P, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000;288:669-72.
89. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, Hue C, De Villartay JP, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med* 2002;346:1185-93.
90. Buckley RH. Gene therapy for SCID—a complication after remarkable progress. *Lancet* 2002;360:1185-6.
91. Rabbitts TH. LMO T-cell translocation oncogenes typify genes activated by chromosomal translocations that alter transcription and developmental processes. *Genes Dev* 1998;12:2651-7.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Recenti studi indicano anche un ruolo dei *Toll-like receptors* (TLR) nella risposta immune innata nei confronti degli allotrapianti¹. Sebbene gli inibitori della calcineurina rimangano capisaldi dell'immunosoppressione nei trapiantati di rene, vi è stata negli ultimi anni una progressiva sostituzione della ciclosporina con il tacrolimus. Il micofenolato mofetile e il micofenolato sodico sono attualmente gli antimetaboliti di prima scelta. Il sirolimus, appartenente alla classe degli inibitori di mTOR (mammalian target of rapamycin) è utilizzato sempre di più nei trapiantati renali in stabili condizioni, sebbene recenti evidenze consiglino un impiego più cauto di questo farmaco (aumentata proporzione di ulcere orali e proteinuria). In definitiva, la tendenza di molti centri è verso il progressivo abbandono degli steroidi, o quanto meno verso una loro sensibile riduzione².

Rituximab, l'anticorpo monoclonale chimerico anti-CD20 (antigene presente sui linfociti pre-B e B maturi), concepito per il trattamento dei linfomi non-Hodgkin, è stato recentemente utilizzato anche in campo trapiantologico. Nello specifico, il rituximab è stato somministrato per diminuire i livelli di anticorpi alloreattivi in pazienti ad alto rischio, per la gestione dei trapianti senza compatibilità AB0 e per il trattamento del rigetto dovuto ad anticorpi e cellule B. L'associazione con steroidi appare sinergica sull'azione linfocitolitica B³.

Attualmente, il basiliximab (anticorpo monoclonale anti-CD25 chimerico) e il daclizumab (anticorpo monoclonale anti-CD25 umanizzato) sono ampiamente utilizzati nell'induzione dell'immunosoppressione nei trapiantati renali⁴. Tuttavia, nell'induzione dell'immunosoppressione, il basiliximab è meno efficace rispetto all'ATG nel ridurre l'incidenza e la severità del rigetto acuto nei pazienti ad alto rischio ricevuti l'organo da donatore cadaverico⁵.

Recentemente, è stata proposta la mobilitazione delle cellule staminali periferiche del donatore con G-CSF come un possibile approccio per aumentare gli effetti di tipo GVL (graft versus leukemia) mantenendo inalterato il rischio per GVHD. Nello specifico, tale modalità tende a promuovere, nel donatore, differenziazione in senso Th2 e l'attività delle cellule T regolatorie (Treg), mantenendo nel contempo inalterata la funzione citotossica CD8+ mediata, fondamentale per l'effetto di tipo GVL⁶.

Un recente studio retrospettivo ha evidenziato che, in soggetti con SCID, in cui non sia possibile ottenere un trapianto HLA-identico da familiare, il trapianto di midollo osseo da donatore compatibile non imparentato rappresenta una valida opzione. Tale tipo di trapianto si associa a percentuali di sopravvivenza a lungo termine superiori all'80%, laddove, in caso di trapianti da familiari non compatibili è di poco più del 50%. Inoltre, si assiste ad una eccellente ricostituzione dell'immunità nella maggior parte dei pazienti trattati con trapianto da donatore compatibile non imparentato; in contrasto, fino ad un terzo dei pazienti sottoposti a trapianti da familiari non compatibili necessita di un secondo trapianto a causa di rigetto. Al contrario, la percentuale di GVDH è più alta nei pazienti sottoposti a trapianto di midollo osseo da donatore compatibile non imparentato che nei pazienti sottoposti a trapianti da familiari non compatibili, e può rappresentare una significativa causa di morte. Tuttavia, è auspicato dagli autori che una migliore gestione dell'immunosoppressione potrà rendere quest'ultimo aspetto trascurabile⁷.

Il numero di trapianti di sangue cordonale da donatore non imparentato è stimato superare ora i 7000-8000 casi in tutto il mondo⁸.

Al 2005, 18 bambini con SCID legata al cromosoma X sono stati trattati con terapia genica in tutto il mondo. Di questi, 17 sono vivi, con ricostituzione parziale o completa del sistema immunitario, ad eccezione di un singolo caso. Il numero di casi di leucemia acuta T cellulare, dovuto a oncogenesi inserzionale, è salito a tre; pertanto, all'ospedale Necker di Parigi la terapia genica è stata momentaneamente sospesa fino a che il rischio di tale complicanza non venga ben quantizzato e si siano trovati rimedi per ridurla o abolirla⁹.

Riferimenti bibliografici

- 1) **Toll like receptors and acute allograft rejection**
Goldstein DR
Transpl Immunol 2006;17:11-15
- 2) **Drug insight: maintenance immunosuppression in kidney transplant recipients**
Samaniego M, Becker BN, Djamali A
Nat Clin Pract Nephrol 2006;2:688-699
- 3) **Drug insight: rituximab in renal disease and transplantation**
Salama AD, Pusey CD
Nat Clin Pract Nephrol 2006;2:221-230
- 4) **New immunosuppressive therapies in renal transplantation: Monoclonal antibodies**
Buhaescu I, Segall L, Goldsmith D, Covic A
J Nephrol 2005;18:529-536

- 5) **Rabbit antithymocyte globulin versus basiliximab in renal transplantation**
Brennan DC, Daller JA, Lake KD, Cibrik D, Del Castillo D
N Engl J Med 2006;355:1967-1977
- 6) **Stem cell mobilization with G-CSF analogs: a rational approach to separate GVHD and GVL?**
Morris ES, MacDonald KP, Hill GR
Blood 2006;107:3430-3435
- 7) **Bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency**
Grunebaum E et al
JAMA 2006;295:508-518
- 8) **Why cord blood?**
Rubinstein P
Hum Immunol 2006;67:398-404
- 9) **Treatment of an infant with X-linked severe combined immunodeficiency (SCID-XI) by gene therapy in Australia**
Ginn SL et al
MJA 2005;182:458-463

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Costimulation blockade in autoimmunity and transplantation

Flavio Vincenti

February 2008 (Vol. 121, Issue 2, Pages 299-306)

28. Terapia con cellule staminali embrionali e adulte

Le cellule staminali sono caratterizzate dall'abilità di rimanere indifferenziate e di autorinnovarsi. Le cellule staminali embrionali derivate dalle blastocisti sono pluripotenti (capaci di differenziarsi in molti tipi cellulari). È stato recentemente dimostrato che le cellule staminali dell'adulto, tradizionalmente ritenute "monopotenti multipotenti", o tessuto specifiche, sono pluripotenti. Le cellule staminali del midollo osseo dell'adulto sono in grado di differenziarsi in cellule muscolari scheletriche, cellule dell'astroglia e microglia cerebrale ed epatociti. Le linee cellulari staminali derivate sia da cellule staminali embrionarie che da cellule germinali embrionarie (dalla cresta gonadica embrionaria) sono pluripotenti e capaci di autorinnovarsi per lunghi periodi. Quindi le cellule staminali e germinali embrionarie sono state ampiamente studiate per il loro potenziale curativo nella riparazione o sostituzione di tessuto o cellule danneggiate. Studi in modelli animali hanno mostrato che il trapianto di staminali embrionali o fetali o di cellule germinali embrionarie, può essere in grado di trattare alcune malattie croniche.

Nella seguente revisione si evidenziano i recenti sviluppi nell'uso di cellule staminali quali presidi terapeutici per le tre seguenti malattie: diabete, morbo di Parkinson, scompenso cardiaco congestizio. Viene discusso il potenziale uso delle cellule staminali come mezzo attraverso il quale somministrare terapia genica e le questioni scientifiche ed etiche che nascono con l'utilizzo delle cellule staminali umane.

Le cellule staminali, progenitrici di tutti i tessuti del corpo, sono in grado di esistere *in vivo* in uno stato indifferenziato e di quiescenza nonché di auto propagarsi. Sono caratterizzate inizialmente dalla capacità di essere totipotenti, pluripotenti o multipotenti. Durante la normale embriogenesi le cellule staminali pluripotenti (dal latino *pluris* che significa molti) sono derivate dai tessuti umani embrionali o fetali destinati ad essere parte delle gonadi. Queste cellule hanno il potenziale per svilupparsi in ciascuna delle cellule da cui derivano i tre foglietti germinali (endoderma, mesoderma ed ectoderma, Fig. 1). Fino a poco tempo fa si pensava che le cellule staminali multipotenti (tessuto specifiche) potessero trasformarsi solo nelle cellule appartenenti a quel tessuto.

Le cellule staminali possono essere di origine embrionale o adulta.

Abbreviazioni utilizzate:

EGC:	Cellula germinale embrionale/Embryonic germ cell
EGFP:	Enhanced green fluorescent protein
ESC:	Cellula staminale embrionale/Embryonic stem cell
HSC:	Cellula staminale ematopoietica/Hematopoietic stem cell
SCID:	Immunodeficienza combinata severa/Severe combined immunodeficiency

Le cellule staminali embrionali (ESCs) sono derivate dalla massa cellulare interna della blastocisti, che si forma nelle fasi precoci dello sviluppo embrionale (4-5 gg dopo la fecondazione), prima dell'impianto nella parete uterina. Queste cellule possono autorigenerarsi e sono pluripotenti.¹ Le cellule staminali dell'adulto possono trovarsi in molti tessuti specializzati tra cui il cervello, il midollo osseo, il fegato, il tratto gastrointestinale, la cornea e la retina ed infine nella polpa dentaria. Nell'adulto tutti questi tessuti sono in un continuo stato di autorigenerazione, e, anche in assenza di una lesione, possono costantemente dare origine a nuove cellule per sostituire quelle che hanno esaurito il ciclo vitale.² Si è pensato che le cellule staminali dell'adulto fossero tessuto specifiche, ma recenti studi hanno dimostrato che possono essere più plastiche di quanto precedentemente ritenuto. Per esempio, è stato dimostrato che le cellule staminali dell'adulto, derivate dal midollo osseo, oltre a differenziarsi nelle cellule del sangue e del sistema immunitario, sono capaci di transdifferenziazione, ovvero di differenziarsi in cellule di linee non ematopoietiche, come quelle del muscolo scheletrico, della microglia ed astroglia nel cervello e degli epatociti.¹ Queste osservazioni hanno portato alla convinzione che le cellule staminali adulte possano essere programmabili come le ESCs, suggerendo che possano essere estremamente utili nella medicina clinica. Tuttavia altri ricercatori hanno messo in dubbio questi risultati per la scoperta che le cellule staminali sono in grado di fondersi con le cellule somatiche.^{3,4} Inoltre altri laboratori non sono stati in grado di confermare la transdifferenziazione delle cellule staminali del midollo osseo in tessuti non ematopoietici.⁵ Perciò la domanda se le cellule staminali dell'adulto siano veramente pluripotenti e capaci di replicare indefinitamente in coltura deve ancora trovare una risposta definitiva.

Traduzione italiana del testo di:

Carl T. Henningson, Marisha A. Stanislaus e Alan M. Gewirtz
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S745-53

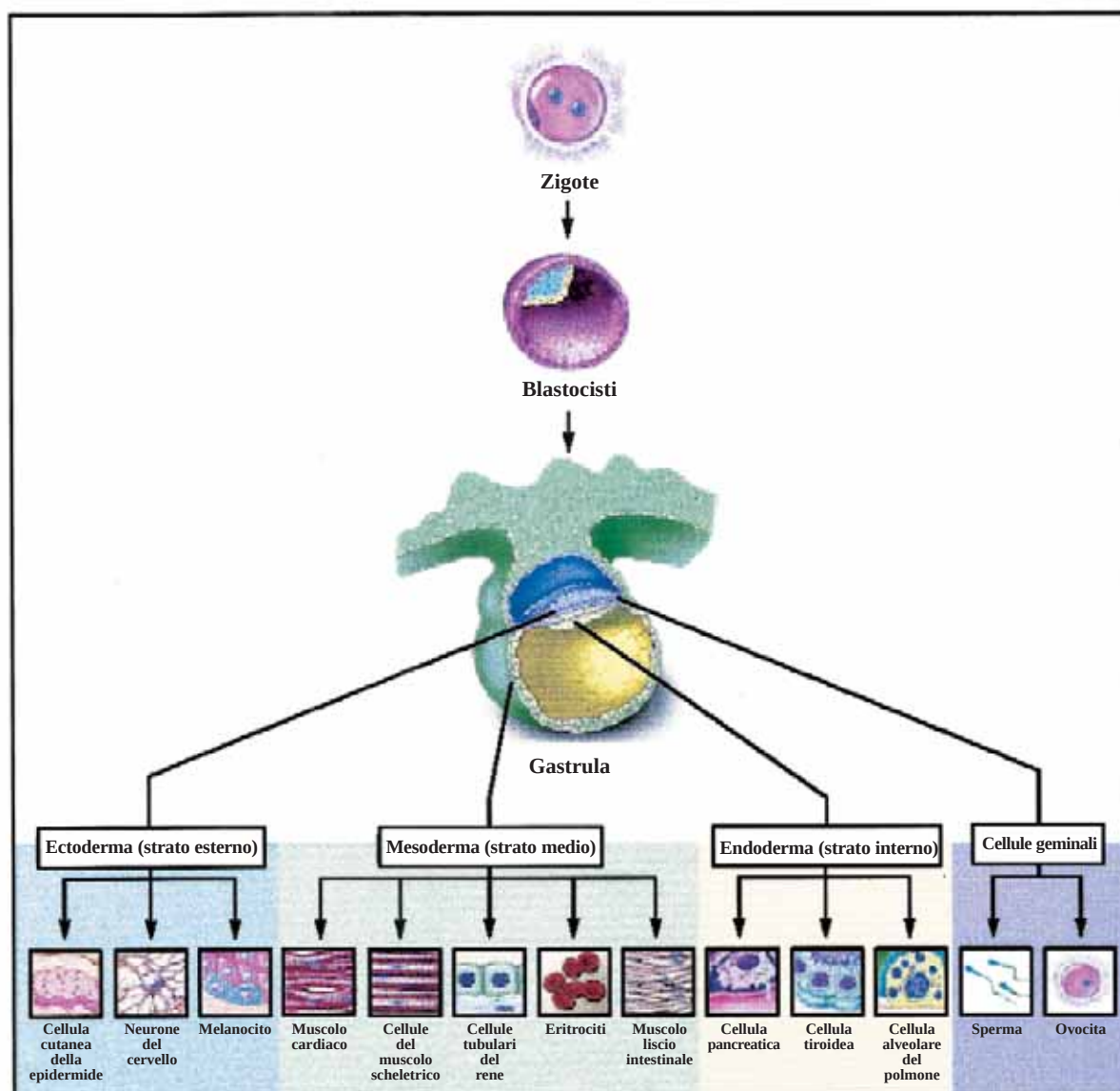


FIG 1. Origine embrionale e potenzialità di sviluppo dei tessuti specializzati del corpo umano. Si notino in particolare i tre principali foglietti germinativi della gastrula, che si sviluppano dalla blastocisti (dal cui foglietto interno derivano le ESC). Di particolare interesse il mesoderma che dà origine a tutte le linee cellulari del sangue (mieloidi ed eritroidi), così come alle cellule del sistema immunitario. Stampato con permesso da Kirschstein R, Skirboll LR. Stem cells: scientific progress and future research directions. National Institutes of Health [online publication] 2001 [cited 2002 Dec 24]. Scaricabile da: URL:<http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.htm>.¹

CELLULE STAMINALI EMBRIONALI

Dal 1998 i ricercatori hanno scoperto che le ESCs potevano essere isolate da embrioni umani in stadi precoci di differenziazione, fatte crescere in coltura per lunghi periodi mantenendo un normale cariotipo e fatte differenziare nei vari tipi di tessuti ed organi derivati da tutti e tre i foglietti germinali embrionali.⁶ Queste colture long-term di ESCs hanno la telomerasi attiva e formano lunghi telomeri che sono i markers di proliferazione cellulare.⁷ Le ESCs sono state successivamente isolate anche da cellule germinali primordiali della cresta gonadica del feto di 5-10 settimane e sono assimilabili a cellule germinali embrionali (EGCs).⁸ Con lo sviluppo, la cresta gonadica forma i testicoli o le ovaie, e le cellule

germinali primordiali diventano ovociti o spermatozoi. ESCs e EGCs si differenziano per le condizioni richieste per il loro isolamento, tecniche di coltura, sopravvivenza *in vitro* e capacità di differenziazione. Le ESCs possono proliferare fino a 300 duplicazioni e si possono mantenere per più di un anno in coltura, invece le EGCs possono proliferare solo fino a 80 duplicazioni.^{7,9} La maggior parte delle cellule somatiche diploidi non esprime alti livelli di telomerasi ed entra in uno stato di quiescenza replicativa dopo 50-80 replicazioni in coltura.⁹ Per queste ragioni, le proprietà delle cellule dell'embrione in stadio precoce, come un cariotipo normale ed elevata attività telomerasica, sono mantenute nelle ESCs umane in coltura per lunghi periodi.

Le linee di cellule staminali sono state sviluppate sia

dalle ESCs che dalle EGCs. Queste ultime sono capaci di auto-replicazione per lunghi periodi e possono dare origine a molti tipi di cellule differenziate.⁷ Questa scoperta ha fatto sì che le ESCs e le EGCs fossero ampiamente studiate per il loro potenziale terapeutico nella riparazione o sostituzione di cellule e tessuti danneggiati. Uno dei vantaggi dell'utilizzo delle ESCs piuttosto che delle cellule staminali dell'adulto, è la capacità delle ESCs di proliferare per lunghi periodi *in vitro* e di poter differenziarsi in una vasta gamma di tipi cellulari.¹⁰ Dopo la rimozione dalla matrice ed il trasferimento su colture in sospensione, le ESCs iniziano a differenziarsi in modo tridimensionale, dando origine ad aggregati multicellulari di cellule differenziate ed indifferenziate, definite corpi embrioidi. I corpi embrioidi sono composti da un insieme casuale di precursori e di cellule maggiormente differenziate, con una notevole varietà di linee, somiglianti ad un embrione nella fase precoce post-impianto.¹⁰ Frequentemente, dopo 7-14 giorni dal trasferimento, i corpi embrioidi attraversano una serie progressiva di stadi che iniziano con un semplice aggregato di cellule "simil-morula", per poi formare corpi embrioidi cavitari e cistici.⁶ Esperimenti di differenziazione *in vitro* hanno evidenziato che le piastre di coltura dei corpi embrioidi mostrano differenti tipi morfologici, includendo miocardiociti che si contraggono ritmicamente, cellule epiteliali pigmentate e non, cellule neuronali con i relativi assoni e dendriti e cellule mesenchimali.⁹ Studi recenti hanno anche dimostrato che i corpi embrioidi derivati dalla linea H9 delle ESC umane, esprimono geni specifici per ciascuno dei tre foglietti EGC, inclusi α -feto-proteina, subunità del neurofilamento 68 Kd, ζ -globina, α -actina cardiaca che marciano l'endoderma primitivo, il neuroectoderma e i derivati mesodermici.^{6,11} Il potenziale di sviluppo completo delle ESCs è evidente quando queste cellule sono studiate *in vivo*, ad esempio iniettate in una blastocisti ospite.⁷ Le ESCs umane iniettate in topi con immunodeficienza severa combinata (SCID) formano teratomi benigni, con tessuti notevolmente differenziati, che rappresentano tutti e tre i foglietti EGC.⁷ Questi tessuti includono derivati altamente specializzati dell'ectoderma, come l'epitelio neuronale; del mesoderma, quali osso, cartilagine, muscolo striato, glomeruli fetali e tubuli renali e dell'endoderma, come l'intestino. La formazione dei tessuti organizzati durante la normale embriogenesi è controllata da molti eventi induttivi e complesse interazioni epiteliali-mesenchimali. Questi eventi ed interazioni sono stati documentati nei teratomi ma sono meno chiari nel caso di differenziazione *in vitro*.⁹ Poiché non sono ancora completamente identificati i fattori che regolano le modalità di sviluppo embrionale per poterle riprodurre *in vitro*, sarebbe utile esplorare i metodi di estrazione delle cellule e dei tessuti di interesse dai teratomi eterogenei o orientare la differenziazione *in vivo* verso una particolare linea cellulare. Possibili metodi per realizzare ciò includono: l'aggiunta di determinate combinazioni specifiche di fattori di crescita o morfogeni chimici;² la co-cultura o il trapianto di ESC, con induzioni tissutali o cellulari;³ l'impianto di ESCs in specifici organi o distretti;⁴ l'overespressione di fattori di trascrizione associati con lo sviluppo di specifici

ti tessuti;⁵ la selezione di cellule che attivano un programma di espressione genica specifico per una linea cellulare e⁶ l'isolamento di cellule di interesse con la selezione cellulare fluorescenza-attivata.^{9,11-14} Alcuni di questi metodi sono stati usati per arricchire le colture di ESC per un particolare tipo di cellule di interesse *in vitro*; tuttavia, *in vivo*, rimane ancora molto da fare.⁹

POTENZIALI USI CLINICI DELLE CELLULE STAMINALI

Le cellule staminali sono state proposte per un certo numero di usi, ma l'indicazione di scelta è la riparazione o sostituzione di tessuti danneggiati da malattia o da lesioni. Gli studi nei modelli animali hanno indicato che il trapianto di cellule staminali fetali, di ESC, o di derivati di cellule staminali pluripotenti può trattare con successo molte malattie croniche, quali il morbo di Parkinson, il diabete, lesioni del midollo spinale, la degenerazione delle cellule del Purkinje, la distrofia muscolare di Duchenne, lesioni epatiche o cardiache e l'osteogenesi imperfetta.^{12, 15-20} In questa rassegna evidenziamo i recenti sviluppi per tre di queste malattie: il diabete, il morbo di Parkinson e lo scompenso cardiaco congestizio, che serviranno da esempi dell'uso clinico delle cellule staminali come agenti terapeutici.

Diabete

La capacità di coltivare cellule dell'*insula* pancreatica insulina-produttrici resta la grande promessa per la guarigione del diabete tipo 1. In teoria si potrebbe generare una linea di ESCs che produca cellule dell'*insula*. Queste cellule sono anche state geneticamente progettate per eludere un rigetto da parte del sistema immunitario.⁹ In pratica, è difficile indurre le ESCs a differenziarsi in una specifica linea cellulare. Inoltre la purificazione di un singolo tipo cellulare da una popolazione iniziale mista è difficile. Le percentuali delle cellule differenziate che esprimono un singolo fenotipo in questa miscela sono estremamente piccole, variando tipicamente dallo 0,1% allo 0,5%.²¹ Raramente si hanno specifiche condizioni culturali e fattori di crescita in grado di generare colture contenenti un singolo tipo cellulare.^{10,11} Anche in questi casi, malgrado l'aggiunta di specifici fattori di crescita, le linee cellulari umane pluripotenti mantengono un vasto assortimento di profili di espressione genica multi-tissutale.^{10,11} I metodi per favorire l'individuazione di uno specifico tipo cellulare includono lo sviluppo di cellule che co-esprimano un marker selettivo, come un gene per la resistenza agli antibiotici¹² o un gene che codifica per il verde di fluorescina.²² Per l'isolamento di cellule che secernono insulina¹², le ESC sono state transfettate con un composto chimico che accoppia la regione genica che regola la trascrizione del gene dell'insulina, con il gene che codifica per la resistenza alla neomicina. Ciò ha consentito l'isolamento di cellule neomicina resistenti. Queste cellule, quando clonate e messe in coltura con basse concentrazioni di glucosio, sono andate incontro a differenziazione e si sono mostrate in grado di risponde-

re a diverse concentrazioni di glucosio con un aumento fino a sette volte della secrezione di insulina. Quando queste cellule sono state poi impiantate nelle milze dei topi con diabete indotto da streptozotocina, sono state in grado di contrastare i sintomi del diabete e riportare alla normalità la glicemia. Questi risultati dimostrano che il diabete può essere tra le prime applicazioni della terapia con le cellule staminali.

Nel 2000, Schuldiner e coll.¹¹ hanno segnalato la possibilità di coltivare con successo ESC umane per formare corpi embrioidi che esprimevano spontaneamente PDX-1, un gene che controlla la trascrizione dell'insulina. Assady e coll.²³ hanno segnalato che questi corpi embrioidi contenevano dall'1 al 3% di cellule in grado di produrre insulina. Questi corpi embrioidi esprimevano anche i geni per il trasportatore del glucosio di tipo 2 e per la glucokinasi insula-specifica, che sono elementi determinanti per la funzione della cellula e la secrezione insulinica.

In effetti, messe in coltura con glucosio, queste cellule hanno prodotto insulina. Gli Autori concludono che il perfezionamento delle tecniche di coltura potrebbe portare alla differenziazione di *insulae* pancreatiche.

Altre linee di ricerca si sono orientate verso la coltura delle cellule delle *insulae* da tessuto pancreatico adulto. È difficile far proliferare in coltura cellule differenziate. Un gruppo di ricercatori è stato in grado di isolare cellule insulari da cadavere umano ed introdurvi DNA codificante per geni che stimolano la proliferazione cellulare in coltura. Dal momento che le cellule in coltura perdono la capacità di produrre di insulina, attraverso tecniche di ingegneria genetica, si è ristabilita tale capacità. Quando queste cellule sono state trapiantate in topi immunodeficienti, è stata evidenziata la secrezione di insulina in risposta al glucosio. Sono attualmente in corso indagini per valutare se queste cellule possano essere efficaci contro il diabete nel topo.²⁴ Le cellule che costituiscono i dotti pancreatici si sono dimostrate una potenziale fonte di progenitrici per le cellule delle *insulae* e alcuni studi hanno dimostrato che cellule duttali messe in coltura possono essere indotte a differenziarsi in agglomerati cellulari che contengono sia cellule duttali che cellule endocrine insulari, capaci di secernere insulina in risposta al glucosio.

MALATTIE DEL SISTEMA NERVOSO

Le cellule staminali hanno un enorme potenziale terapeutico per la sostituzione dei neuroni danneggiati nelle patologie del sistema nervoso come il morbo di Parkinson, la sclerosi laterale amiotrofica (morbo di Lou Gehrig), il morbo di Alzheimer ed altre patologie. Il morbo di Parkinson è una patologia neurodegenerativa che progredisce con l'età, e solitamente si manifesta dopo i cinquanta anni. Questa patologia colpisce i neuroni del cervello che secernono il neurotrasmettitore dopamina; con la morte dei neuroni, i livelli di dopamina prodotta diminuiscono e ciò determina i disordini del movimento, caratteristici della malattia. La levodopa che è trasformata in dopamina nel cervello, è il cardine del

trattamento in questa malattia, ma la maggior parte dei pazienti va incontro a tachifilassi. Contrariamente al diabete, dove il trapianto di cellule insulari è un'opzione terapeutica, l'impianto nel cervello di neuroni completamente differenziati, rilascianti dopamina, non è attualmente possibile. I neuroni dopaminergici non sopravvivono al trapianto, ed è inoltre estremamente difficile ristabilire le giuste connessioni con le reti neuronali a livello dello striato.²⁶

Era opinione comune che le cellule nervose del cervello non si dividessero. Negli ultimi anni, tuttavia, molti ricercatori hanno dimostrato che cellule staminali che si auto-rinnovano e si differenziano nelle tre maggiori popolazioni neuronali (neuroni, astrociti ed oligodendrociti), si possono trovare nel cervello dei mammiferi adulti.²⁷ Studi sull'uomo, utilizzando tessuti neuronali ottenuti da feti abortiti, hanno inizialmente segnalato la possibilità di indurre una chiara riduzione della gravità dei sintomi del morbo di Parkinson.^{28,29} Con la tomografia ad emissione di positroni, i ricercatori sono stati in grado di documentare un aumento nella funzione neuronale dopaminergica a livello dello striato.²⁹ Questi studi sono stati condotti in aperto con i relativi limiti metodologici. Nel 2001 Freed e coll.³⁰ hanno esposto i risultati del primo studio di trapianto neuronale in doppio cieco contro placebo per il morbo di Parkinson. Questi risultati non furono così incoraggianti come quelli iniziali. I pazienti che avevano ricevuto i trapianti non mostrarono significativi benefici nella valutazione della qualità di vita, che era il primo end-point dello studio.^{1,30} Comunque la tomografia ad emissione di positroni ha rivelato che i neuroni dopaminergici trapiantati erano sopravvissuti e cresciuti, autorizzando la speranza che, attraverso alcune modifiche tecniche, la procedura possa essere resa più efficace. Un altro studio in doppio cieco è in corso e sono riposte molte aspettative nei suoi risultati.¹

Anche se gli studi qui riportati hanno dimostrato effetti positivi, l'uso del trapianto di cellule presenta un certo numero di svantaggi. Questi includono la mancanza di una sufficiente quantità di materiale cellulare ben caratterizzato e standardizzato. Inoltre un'applicazione ampia di tale procedura sarà probabilmente limitata fino a quando non si potrà liberamente utilizzare tessuto embrionale. Per questo motivo, lo sviluppo di fonti alternative di cellule per scopi terapeutici è l'obiettivo di intense ricerche. Le cellule in questione dovrebbero essere una fonte rinnovabile ed illimitata, capaci di differenziarsi in neuroni che producono dopamina. Recentemente le segnalazioni di Zhang e coll.³¹ e di Reubinof e coll.³² hanno suggerito una potenziale alternativa all'uso di trapianti di tessuti fetali. Essi hanno sviluppato metodi per indurre le ESC umane a differenziarsi in cellule staminali neuronali che, a loro volta, *in vitro*, si differenziassero nelle tre popolazioni neuronali. Quando queste cellule staminali neuronali sono state trapiantate nei cervelli di topi neonati, incorporandosi nel cervello ospite, hanno dimostrato una ampia distribuzione e la differenziazione nelle tre linee tissutali neuronali. Le cellule trapiantate sono migrate lungo percorsi anatomici stabiliti e si sono differenziate in modo regione-specifico, dimostrando la loro capacità di rispondere agli stimoli locali e di partecipare

al processo di sviluppo del cervello ospite. Entrambi i gruppi inoltre hanno segnalato che non hanno osservato evidenza di teratoma o della formazione di tessuto non neuronale nei cervelli destinatari del trapianto. Per confermare la funzionalità dei neuroni rigenerati sono necessari ulteriori studi. Recenti studi effettuati da Bjorklund e coll.³³ hanno mostrato che le ESCs indifferenziate del topo, trapiantate nel nucleo striato del ratto, spontaneamente si differenziano in neuroni dopaminergici che ripristinano la funzione cerebrale nell'animale. Kawasaki e coll.³⁴ hanno identificato un'attività d'induzione stromale cellula-derivata che ha promosso la differenziazione *in vitro* delle ESCs primitive neuronali. Quando queste cellule, che producono dopamina, sono state trapiantate nel cervello di topi SCID, è stato osservato che la formazione dei neuroni dopaminergici nel tessuto destinatario avveniva entro due settimane. Anche Kim e coll.²⁰ hanno riportato risultati soddisfacenti dopo aver modificato le ESCs murine inserendo un costrutto per l'espressione di Nurr 1, che ha permesso l'aumentata sopravvivenza e la differenziazione neuronale delle ESCs trapiantate. Si deve sottolineare che c'è tuttora un intenso dibattito sul numero delle popolazioni di cellule staminali del sistema nervoso centrale, sulle loro interrelazioni e funzionalità *in vivo*. Non esistono ancora indicatori che consentano l'identificazione delle cellule staminali neuronali *in vivo* e la sola via per verificare se una determinata popolazione di cellule del sistema nervoso centrale contenga cellule staminali è quella di manipolarle *in vitro*.³⁵ Molti studi sui trapianti che hanno usato ESCs non selezionate hanno dato luogo alla formazione di aggregati sferici contenenti neuroni differenziati.³⁶ È stata stabilita una procedura che ha permesso la selezione di precursori di cellule neuronali, esprimenti nestina, che si sono dimostrati capaci di differenziarsi e integrarsi nel cervello di ratti normali. Il trapianto di precursori cellulari neuronali ha dimostrato una migliore integrazione nel tessuto dell'ospite.³⁷ Recentemente Andressen e coll.³⁷ hanno modificato geneticamente le ESC murine al fine di far loro esprimere EGFP (enhanced green fluorescent protein), sotto il controllo di un promotore timidina chinasi e di un introne secondario della nestina ed hanno rilevato specificamente EGFP nei precursori neuronali immunoreattivi alla nestina. Studi sul trapianto nei cervelli di ratto, hanno documentato che queste cellule si integravano nel tessuto dell'ospite e fungevano da serbatoio per la successiva differenziazione neuronale e gliale. La combinazione di un specifico protocollo di selezione di precursori neuronali, insieme alla specifica espressione di EGFP in queste cellule, può costituire una modalità per ottenere una popolazione di precursori neuronali puri, da mantenere ed espandere *in vitro*, preliminarmente al trapianto *in vivo*. Inoltre la selezione cellulare, impiegando la fluorescenza di precursori neuronali che esprimono EGFP, può essere utilizzata per la standardizzazione di linee cellulari da impiegare per terapie sostitutive.³⁷

Un'altra area promettente nel campo della terapia del sistema nervoso con cellule staminali, coinvolge i meccanismi di riparazione. È stato dimostrato, nel caso di lesioni cerebrali in due specifiche aree del cervello, la zona subventricolare ed il giro dentato dell'ippocampo,

che le cellule staminali proliferano e migrano verso il sito di danno.³⁸ Fallon e coll.³⁹ hanno scoperto che il TGF α , un peptide coinvolto nella riparazione tissutale e presente nei più precoci stadi embrionali, orienta l'onda migratoria delle cellule staminali, quando queste sono iniettate nelle aree del cervello danneggiate. Le cellule staminali successivamente si differenziano in neuroni dopaminergici. Inoltre è importante notare che i topi trattati non mostrano alcuna anomalia del comportamento connessa con la perdita dei neuroni. Ulteriori indagini sugli effetti favorevoli nella sintomatologia simil-Parkinsoniana sono tuttora in corso.

La terapia con cellule staminali del morbo di Parkinson è un buon modello per il trattamento delle patologie del sistema nervoso, perché la sostituzione di un singolo, specifico tipo cellulare in una singola area del cervello rappresenta un obiettivo relativamente semplice. Le terapie per altre patologie, come le lesioni del midollo spinale, in cui numerosi e differenti tipi cellulari sono distrutti, incontrano maggiori difficoltà. Ovviamente è necessario intensificare le ricerche in questa area, ma l'uso di cellule staminali per il trattamento delle patologie del sistema nervoso sta progredendo rapidamente e sembra rappresentare una grande promessa per il futuro.

RIPARAZIONE DEI DANNI CARDIACI

Lo scompenso cardiaco congestizio colpisce milioni di persone in tutto il mondo con quattrocentomila nuovi casi negli Stati Uniti ogni anno. Lo scompenso cardiaco congestizio può dipendere da molte cause tra cui l'ipertensione, le infezioni e le malattie delle coronarie. Sebbene siano disponibili numerosi trattamenti medico-chirurgici per lo scompenso, la prognosi a lungo termine di questi pazienti rimane riservata, con un'aspettativa di vita media di circa cinque anni dopo la diagnosi.¹ Il trapianto autologo di cellule staminali avrebbe chiari vantaggi rispetto al trapianto di cuore, perché eviterebbe alla necessità di un donatore e dell'immunosoppressione necessaria ad evitare il rigetto del cuore trapiantato. Mediante condizioni di coltura altamente specifiche, le cellule staminali del midollo osseo possono essere indirizzate verso la differenziazione in cardiomiociti, cellule endoteliali, che formano lo strato più interno dei nuovi vasi sanguigni e cellule muscolari lisce, che formano le pareti dei vasi.⁴⁰ Recentemente Orlic e coll.⁴¹ hanno dimostrato che l'iniezione di cellule staminali emopoietiche, derivate dal midollo adulto (HSC), nel cuore di topo, in cui si era indotto un infarto, ha portato alla formazione di nuovi cardiomiociti, dell'endotelio vascolare e delle cellule muscolari. In nove giorni, il tessuto miocardico rigenerato, comprendente coronarie e capillari, ha occupato fino al 68 % della porzione danneggiata del ventricolo. I topi che avevano ricevuto le cellule trapiantate hanno un tasso di sopravvivenza migliore dei controlli. Questi risultati indicano che le HSCs sono in grado di interagire con i mediatori, che segnalano il danno cardiaco, di migrare verso il ventricolo lesionato e di dare origine a cellule cardiache specializzate e differenziate. Jackson e coll.⁴² hanno svolto uno studio analo-

go nel modello murino, impiegando cellule staminali adulte derivanti da midollo, trasferite con trapianto di midollo. Dopo 2-4 settimane, il tasso di sopravvivenza era del 26%, con evidenza nel tessuto cardiaco danneggiato di cardiomiociti e cellule endoteliali derivanti dal donatore. Questo studio indica un'alternativa alle modalità di inoculo delle cellule staminali da impiegare ad uso terapeutico per la riparazione del tessuto cardiaco. Kocher e coll.⁴³ sono andati oltre, dimostrando che le cellule staminali adulte, derivate dal midollo osseo umano, quando iniettate nel ratto, erano capaci di generare cellule endoteliali, formando nuovi vasi sanguigni.

Anche le ESCs umane sono promettenti per la terapia cardiaca basata su cellule. Nel 2000 Itskovitz-Eldor e coll.⁶ hanno dimostrato che le ESCs umane si potevano differenziare in coltura in cellule che presentavano markers cellulari ed il fenotipo delle cellule cardiache. Kehat e coll.⁴⁰ hanno inoltre dimostrato che le ESCs umane possono anche differenziarsi in miociti, che presentano struttura e funzione dei cardiomiociti. Il prossimo passo in questo campo è verificare se queste ESCs possono riparare e sostituire le cellule cardiache danneggiate in un modello animale.

Sebbene le cellule staminali embrionali ed adulte si siano dimostrate utili nelle terapia sostitutiva del tessuto cardiaco danneggiato, molte domande rimangono senza risposta. Per esempio, quante cellule sono necessarie per riparare un cuore umano? Quanto tempo le cellule sostituite continueranno a funzionare? I risultati dei modelli animali riflettono accuratamente le condizioni del cuore umano e le risposte al trapianto? Sarebbe possibile per i pazienti a rischio donare cellule staminali in anticipo, così che non si perda tempo tra crisi cardiaca e trapianto di cellule staminali? Molti studi sono in corso per rispondere a queste domande e chiarire le indicazioni della terapia con cellule staminali nelle miocardiopatie.

APPLICAZIONI CLINICHE DELLE HSCs

È probabilmente corretto dire che la ricerca sulle cellule staminali è iniziata dai gruppi di ricerca ematologica impegnati negli studi sull'ematopoiesi.

Nel 1960 il lavoro pionieristico di Till e McCullough⁴⁴ sulle cellule ematopoietiche ha aiutato a definire le due caratteristiche tipiche delle cellule staminali, vale a dire le loro capacità di auto-rinnovarsi e di differenziarsi in tutti gli elementi che costituiscono il sangue. Sebbene molta attività di ricerca sia stata finalizzata a identificare e caratterizzare le HSCs questi obiettivi rimangono difficili da ottenere perché le cellule sono rare e morfologicamente indistinguibili da altri precursori cellulari. L'isolamento delle HSCs, richiede l'impiego di proteine della superficie cellulare come markers specifici. Come di norma, gran parte della ricerca per individuare tali markers è stata svolta sui topi, prima di essere trasferita agli esseri umani.⁴⁵

Per le HSCs umane alcuni dei markers principali sono il CD34⁺, il lineage (lin)⁻, Thy1⁺, c-Kit^{-low} e CD38^{-low}.⁴⁶ Dopo la distruzione delle cellule ematopoietiche del ricevente mediante radio o chemioterapia, le HSCs raccolte

dal sangue o dal midollo osseo del donatore sono trapiantate nel ricevente. Per il trapianto, una persona adulta di solito necessita di 7-10 milioni di cellule staminali/kg di peso corporeo, arricchite della popolazione cellulare CD34⁺.

È stato osservato che le cellule CD34⁺ ottenute da sangue periferico sono in grado di ripopolare più rapidamente ma probabilmente al costo di una più frequente insorgenza di GVHD, rispetto alle cellule derivate dal midollo.⁴⁷ Le HSCs derivate dal sangue di cordone ombelicale sono meno frequentemente coinvolte nell'insorgenza della GVHD ma sono difficili da usare nel trapianto dell'adulto perché solo di rado è possibile recuperare abbastanza HSCs da un singolo cordone.⁴⁸ Ci sono molte complicazioni nel trapianto di HSCs: oltre alla GVHD, queste includono la prolungata immunosoppressione e neoplasie maligne secondarie.

I trapianti di HSCs adulte sono al momento una procedura comune per il trattamento di varie malattie ematologiche. Patologie non maligne includono l'anemia aplastica, la talassemia, la leucodistrofia a cellule globoidi e gli errori congeniti del metabolismo come la sindrome di Hunter e la sindrome di Lesch-Nyhan.¹ I trapianti sono anche ampiamente impiegati per il trattamento di malattie ematologiche maligne come la leucemia, il linfoma ed il mieloma, e più recentemente per patologie autoimmuni come il lupus eritematoso sistemico.⁴⁹ Infine la GVHD provocata dal trapianto di cellule immunocompetenti del donatore si è rivelata utile nel trattamento di altri tumori solidi maligni.⁵⁰

CELLULE STAMINALI E TERAPIA GENICA

Un'ultima area in cui le cellule staminali possono influenzare la medicina clinica è la terapia genica.

La terapia genica usa l'ingegneria genetica per alterare, integrare o sostituire l'attività di un gene anomalo, introducendo una copia normale del gene, o fornendo un gene che aggiunge nuova funzionalità. Gli studi clinici iniziali con la terapia genica si sono concentrati sulla sostituzione di un gene difettoso con una copia normale, in pazienti con patologie legate ad alterazioni di un singolo gene come l'emofilia⁵¹ e la SCID X-linked⁵². I primi studi hanno rivelato importanti problemi, come difficoltà nel controllare i livelli di proteina in assenza di regioni endogene di regolazione genica, difficoltà nel mantenere l'espressione del gene per lunghi periodi e, più recentemente, lo sviluppo di un processo simil-leucemico a causa di mutagenesi inserzionale di vettori transgenici retrovirali⁵³. Ciononostante, agli sforzi miranti alla risoluzione di questi problemi, si affiancano tentativi che stanno orientando la terapia genica al trattamento di malattie croniche complesse, che interessano più di un gene, come le cardiopatie, l'artrite ed il morbo di Alzheimer.

Due principali strategie sono usate per fornire i transgeni terapeutici al paziente. La prima consiste nell'uso di un sistema di somministrazione diretto, dove il transgene terapeutico è veicolato da un virus disattivato ed iniettato nell'organo bersaglio del paziente. Tale metodo è limi-

tato a specifici tipi di cellule umane che il vettore virale è in grado di infettare, quali principalmente le cellule in attiva divisione. Questo limita l'utilità del metodo nel trattare malattie di organi quali cuore o cervello, costituiti, per la maggior parte, da cellule non in divisione. La seconda strategia consiste nell'uso di un sistema di somministrazione che impiega cellule; in questo caso il trasgene terapeutico è inserito in un vettore ed introdotto in una cellula, come una cellula staminale derivata dal paziente. Queste cellule modificate geneticamente sono poi moltiplicate in laboratorio e reinfuse nel paziente. Questo metodo è vantaggioso rispetto al trasferimento genico diretto, perché permette più controlli nella selezione delle cellule modificate geneticamente, quando queste sono manipolate fuori dal corpo; inoltre i ricercatori possono controllare livello e velocità di produzione dell'agente terapeutico nelle cellule⁵⁴.

Le cellule staminali sono di notevole beneficio per la terapia basata sulle cellule o terapia genica, perché si autorigenerano e quindi possono ridurre o eliminare la necessità di somministrazioni ripetute di terapia genica. Inoltre, possono essere isolate dal sangue periferico, o dal midollo osseo degli adulti, o dal sangue cordonale dei neonati e risomministrate facilmente al paziente attraverso iniezioni. Finora dei circa 450 trials clinici di terapia genica condotti negli Stati Uniti, il 40% era basato su cellule ed il 30% aveva usato HSCs come metodo per trasferire i transgeni nei pazienti.

Le HSCs si differenziano in numerose linee cellulari in cui risiede il trasgene terapeutico. Oltre che nel midollo osseo, queste cellule sono in grado di migrare in differenti aree del corpo, che includono fegato, milza, linfonodi, il che sarebbe utile nel trattamento di malattie diverse da quelle ematologiche, come le patologie metaboliche epatiche e la malattia di Gaucher¹. Finora, le HSCs sono state l'unico tipo di cellula staminale dell'adulto usata negli studi sull'uomo. Tuttavia, si stanno studiando altre cellule staminali dell'adulto come possibili veicoli per la terapia genica, come le cellule staminali formanti il muscolo o mioblasti⁵⁵, le cellule staminali formanti il midollo o osteoblasti⁵⁶ e le cellule staminali neuronali⁵⁷.

Le ESCs possiedono qualità come la pluripotenza ed una illimitata capacità proliferativa, che le rende estremamente attraenti per l'uso nella terapia genica cellulo-basata. In questa fase tuttavia, qualsiasi terapia basata sulle ESC è ancora altamente ipotetica e sperimentale, perché la ricerca è limitata solo a pochi laboratori che hanno accesso alle ESCs umane. Sebbene siano stati fatti molti progressi, sono necessari ulteriori studi per identificare gli stadi ottimali di differenziazione per il trapianto e per dimostrare che le ESCs trapiantate siano capaci di integrarsi, funzionare e sopravvivere nel ricevente. In più ci sono alcuni potenziali svantaggi e preoccupazioni inerenti l'utilizzo delle ESCs in terapia. Dato che le ESCs umane possono dar origine a teratomi maligni, quando trapiantate nel topo, e teratomi "benigni" nel topo SCID, c'è la preoccupazione che le ESCs umane possano dar origine a teratomi, se trapiantate nell'essere umano.^{58,59} Sebbene il rischio di teratomi da ESCs iniettate nel topo con un sistema immunitario normale sia minimo, la preoccupazione per questo aspetto permane.

Dagli esperimenti con i topi SCID, si è ipotizzato che le ESCs indifferenziate siano responsabili dell'induzione del teratoma. Quindi il potenziale teratogeno potrebbe essere eliminato se si scoprissero metodiche per rimuovere queste cellule prima del trapianto. Si sta attualmente prendendo in considerazione la possibilità di differenziare in coltura ESCs geneticamente modificate, per selezionare una popolazione abbondante e purificata di cellule differenziate per il trapianto. Queste potrebbero anche essere utilizzate come modelli laboratoristici per la differenziazione, consentendo la valutazione del loro ruolo di vettori genici per il paziente.¹

Le caratteristiche immunologiche delle ESCs umane non sono state studiate nel dettaglio e deve ancora essere determinato se queste cellule possano innescare reazioni immunitarie nel ricevente. È anche importante capire il meccanismo con cui le ESCs possano proliferare e allo stesso tempo rimanere indifferenziate in coltura. La scelta fra auto-replicazione e differenziazione è finemente regolata da segnali sia estrinseci che provenienti dal microambiente esterno.⁶⁰ Per realizzare pienamente il potenziale terapeutico delle ESCs e EGCs è importante per prima cosa capire le basi molecolari e genetiche che consentono a queste cellule di continuare a replicarsi per prolungati periodi. In secondo luogo, per realizzare con successo trapianti nei pazienti, è importante avere un sufficiente numero di cellule che possano essere manipolate per differenziarle nel tipo cellulare desiderato. La possibilità di ottenere successi clinici con le ESCs sembra realistica e può rappresentare la soluzione dei molti ostacoli tecnici presenti attualmente nel trasferimento terapeutico del gene.

IL PROBLEMA DELLE CELLULE STAMINALE: SCIENZA ED ETICA

Le cellule staminali racchiudono la grande promessa di curare molte malattie prima ritenute incurabili. Il loro potenziale utilizzo nella terapia clinica, tuttavia, ha suscitato molti dubbi, sia scientifici che etici. Da un punto di vista puramente scientifico, come precedentemente discusso, molte problematiche devono essere ancora risolte prima che le cellule staminali possano essere considerate sicure per le applicazioni cliniche. C'è notevole preoccupazione su identificazione ed origine di queste cellule, che dovrebbero sottostare ad un'insieme di procedure, che garantiscano una rete di sicurezza per l'applicazione clinica delle cellule staminali. I seguenti cinque punti focalizzano gli aspetti più importanti: 1) le fonti donatrici dovrebbero essere selezionate con attenzione in base alla valutazione dell'albero genealogico, al test genetico e ai test per malattie infettive; 2) poiché la maggior parte delle cellule staminali sono mantenute ed espanse in coltura, è indispensabile che siano seguite tecniche controllate e standardizzate, per mantenere integrità, uniformità ed affidabilità dei preparati di cellule staminali umane; 3) le cellule staminali, specialmente quelle di origine embrionale, sono altamente pluripotenti e hanno la capacità di differenziarsi in tutti i tipi di cellule staminali. È quindi di fondamentale importanza misura-

Tabella I. Biologia delle cellule staminali: concetti chiave

- 1 Le cellule staminali sono la fonte di tutte le cellule specializzate del corpo
- 2 Le cellule staminali sono definite da due caratteristiche essenziali; la capacità di auto-rigenerarsi e la capacità di differenziarsi in diversi tipi di tessuti
- 3 Esistono due tipi principali di cellule staminali, a seconda dell'origine: ESCs e cellule staminali adulte
 - a. Le ESCs derivano dal foglietto interno della blastocisti; queste hanno la capacità maggiore di proliferare e differenziare virtualmente in ogni tipo di tessuto
 - b. Le cellule staminali adulte derivano da tessuti differenziati di organi sviluppati; rispetto alle ESCs queste sembrano avere una minore capacità di proliferare e differenziare
- 4 La potenzialità nel trattamento delle malattie, in seguito a danno tissutale, è grande ma la loro utilità non è stata ancora provata
- 5 Problemi di ordine etico, religioso e politico relativi all'isolamento e all'uso delle ESCs non sono stati ancora pienamente risolti ed alimentano conflitti che rallentano la ricerca scientifica in questo campo

re la purezza della preparazione cellulare con una identificazione rigorosa e quantitativa dei tipi cellulari all'interno della popolazione eterogenea di cellule staminali in via di differenziazione; 4) prima del trapianto, le preparazioni di cellule staminali umane devono possedere una significativa attività biologica. Per esempio, le cellule delle isole pancreatiche devono rilasciare insulina, le cellule destinate alla rigenerazione del tessuto epatico devono essere in grado di immagazzinare glicogeno e i cardiomiociti destinati al trapianto di cuore devono essere in grado di contrarsi in maniera sincrona; 5) validità, efficacia e sicurezza della terapia che si vuole utilizzare deve essere preliminarmente e chiaramente stabilita sul modello animale¹

Di uguale importanza sono i problemi etici e logistici associati all'uso di materiale di origine fetale. L'uso di ESCs umane nella ricerca medica ha destato molta attenzione nell'opinione pubblica e sono emersi numerosi problemi etici che riguardano il loro uso a scopo medico. Molti considerano questa ricerca immorale, illegale e non necessaria.⁶¹ Non si può ignorare che gli esperimenti con le ESCs, come effettuati attualmente, determinano la distruzione di un embrione. Inoltre la ricerca sulle cellule staminali corre il rischio di generare un mercato nero di embrioni utilizzati come "pezzi di ricambio".⁶² Poiché le cellule pluripotenti proliferano indefinitivamente, la ricerca medica sulla differenziazione delle cellule staminali potrebbe essere condotta usando le relativamente poche linee cellulari staminali pluripotenti ottenute finora. Questa è la linea di principio dell'attuale politica federale che ha limitato i fondi della ricerca con ESCs umane alle 64 linee cellulari umane disponibili prima del 9 agosto 2001. Queste disposizioni stanno causando contrarietà nella comunità scientifica che ritiene non utilizzabili per la ricerca tutte le 64 linee disponibili; anziché inoltre si sottolinea che l'accesso alle linee cellulari è limitato dai brevetti, dai segreti commerciali e da accordi restrittivi, nazionali ed internazionali, sul trasferimento di materiale biologico.⁶³ Questi problemi etici non riguardano la ricerca sulle cellule staminali dell'adulto, in cui le cellule sono isolate dal soggetto adulto, come avviene per la raccolta di HSCs nel trapianto di midollo osseo. Questo approccio è ritenuto problematico perché le cellule staminali dell'adulto non sono così plastiche come le ESCs. D'altra parte, le più recenti sperimentazioni sembrano suggerire che una popolazione di cellule staminali mesenchimali multipotenti con tutto il potenziale di sviluppo delle ESCs sia

reperibile nel midollo osseo.⁶⁴ Se queste osservazioni saranno confermate e le cellule potranno essere isolate in numero sufficiente dal midollo adulto, potrebbe essere risolto un problema estremamente complesso per la terapia con le cellule staminali.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

Come discusso in dettaglio e riassunto nella tabella 1, le cellule staminali possono essere ritrovate sia nell'embrione che nei tessuti dell'adulto; il loro potenziale per il trattamento di un'ampia varietà di malattie comuni e non, è quasi illimitata come la loro capacità di essere sottoposte a divisione cellulare. Questo potenziale terapeutico sarà soddisfatto solamente se le cellule staminali potranno essere isolate e purificate in numero sufficientemente grande da sostenere veramente la funzione dell'organo. Ciò significa non solo che le cellule dovrebbero essere presenti in numero sufficiente ma anche funzionare con la stessa efficacia della popolazione cellulare che sono destinate a sostituire. Se la ricerca andrà avanti con l'attuale ritmo, presto impareremo di più circa le differenze e le somiglianze tra le ESCs e le cellule staminali adulte e circa la loro capacità di sopravvivere, proliferare e funzionare dopo il trapianto. Di conseguenza, anche se attualmente è difficile predire la completa applicazione delle terapie basate sulle cellule staminali, non è difficile concludere che questa è un'area della ricerca scientifica di estrema importanza, che ha inoltre un enorme potenziale di ritorno economico. Per questi motivi, sarà probabilmente difficile tentare di regolare la ricerca sulle cellule staminali su scala globale. In paesi come gli Stati Uniti si deve sperare in una sollecita azione legislativa su questo fronte, oppure tutta l'attività sarà condotta di nascosto e potenzialmente nelle mani dei ricercatori meno etici e controllati. Le controversie, ancora aperte, tra gli enti politici ed i vari gruppi di interesse nelle comunità scientifiche, mediche e religiose su queste problematiche devono ancora trovare un punto di equilibrio, che sia chiaramente nell'interesse dell'umanità.

BIBLIOGRAFIA

1. Kirschstein R, Skirboll LR. Stem cells: scientific progress and future research directions. National Institutes of Health [online publication] 2001 [cited 2002 Dec 24]. Available from: scireport.htm

2. Fuchs E, Segre JA. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 2000;100:143-55.
3. Ying QL, Nicols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002;416:545-8.
4. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002;416:542-5.
5. Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002;297:2256-9.
6. Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Mol Med* 2000;6:88-95.
7. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
8. Matsui Y, Zsebo K, Hogan BL. Derivation of pluripotent embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell* 1992;70:841-7.
9. Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 2001;19:193-204.
10. Shambloot MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal PD, Huggins GR, Cui Y, et al. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:113-8.
11. Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N. From the cover: effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:11307-12.
12. Soria B, Roche E, Berna G, Leon-Quinto T, Reig JA, Martin F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 2000;49:157-62.
13. Li A, Simmons PJ, Kaur P. Identification and isolation of candidate human keratinocyte stem cells based on cell surface phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:3902-7.
14. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000;100:157-68.
15. Zhang W, Lee WH, Triarhou LC. Grafted cerebellar cells in a mouse model of hereditary ataxia express IGF-I system genes and partially restore behavioral function. *Nat Med* 1996;2:65-71.
16. McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999;5:1410-2.
17. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 1999;5:309-13.
18. Kobayashi N, Miyazaki M, Fukaya K, Inoue Y, Sakaguchi M, Uemura T, et al. Transplantation of highly differentiated immortalized human hepatocytes to treat acute liver failure. *Transplantation* 2000;69:202-7.
19. Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Jia ZQ, Kim EJ, Sakai T, et al. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after a myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119:62-8.
20. Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002;418:50-6.
21. Soria B, Skoudy A, Martin F. From stem cells to beta cells: new strategies in cell therapy of diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001;44:407-15.
22. Kolossov E, Fleischmann BK, Liu Q, Bloch W, Viatchenko-Karpinski S, Manzke O, et al. Functional characteristics of ES cell-derived cardiac precursor cells identified by tissue-specific expression of the green fluorescent protein. *J Cell Biol* 1998;143:2045-56.
23. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 2001;50:1691-7.
24. de la Tour D, Halvorsen T, Demeterco C, Tyrberg B, Itkin-Ansari P, Loy M, et al. Beta-cell differentiation from a human pancreatic cell line in vitro and in vivo. *Mol Endocrinol* 2001;15:476-83.
25. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:7999-8004.
26. Quinn NP. The clinical application of cell grafting techniques in patients with Parkinson's disease. *Prog Brain Res* 1990;82:619-25.
27. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2002;297:1433-38.
28. Madrazo I, Leon V, Torres C, Aguilera MC, Varela G, Alvarez F, et al. Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to the caudate nucleus in two patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1988;318:51.
29. Lindvall O, Brundin P, Widner H, Rehnström S, Gustavii B, Frackowiak R, et al. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990;247:574-7.
30. Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001;344:710-9.
31. Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001;19:1129-33.
32. Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001;19:1134-40.
33. Bjorklund LM, Sanchez-Pernaute R, Chung S, Andersson T, Chen IY, McNaught KS, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:2344-9.
34. Kawasaki H, Suemori H, Mizuseki K, Watanabe K, Urano F, Ichinose H, et al. Generation of dopaminergic neurons and pigmented epithelia from primate ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:1580-5.
35. Morrison SJ, White PM, Zock C, Anderson DJ. Prospective identification, isolation by flow cytometry, and in vivo self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. *Cell* 1999;96:737-49.
36. Deacon T, Dinsmore J, Costantini LC, Ratliff J, Isacson O. Blastula-stage stem cells can differentiate into dopaminergic and serotonergic neurons after transplantation. *Exp Neurol* 1998;149:28-41.
37. Andressen C, Stocker E, Klinz FJ, Lenka N, Hescheler J, Fleischmann B, et al. Nestin-specific green fluorescent protein expression in embryonic stem cell-derived neural precursor cells used for transplantation. *Stem Cells* 2001;19:419-24.
38. Bjorklund A, Lindvall O. Self-repair in the brain. *Nature* 2000;405:892-3, 895.

39. Fallon J, Reid S, Kinyamu R, Opole I, Opole R, Baratta J, et al. In vivo induction of massive proliferation, directed migration, and differentiation of neural cells in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:14686-91.
40. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001;108:407-14.
41. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
42. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001;107:1395-402.
43. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
44. Till JE, McCollough EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 1961;14:213-22.
45. Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 1988;241:58-62.
46. Baum CM, Weissman IL, Tsukamoto AS, Buckle AM, Peault B. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:2804-8.
47. Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH. Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2001;19:3685-91.
48. Laughlin MJ. Umbilical cord blood for allogeneic transplantation in children and adults. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:1-6.
49. Traynor AE, Schroeder J, Rosa RM, Cheng D, Stefka J, Mujais S, et al. Treatment of severe systemic lupus erythematosus with high-dose chemotherapy and haemopoietic stem-cell transplantation: a phase I study. *Lancet* 2000;356:701-7.
50. Childs R, Chernoff A, Contentin N, Bahceci E, Schrupp D, Leitman S, et al. Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2000;343:750-8.
51. Manno CS. Gene therapy for bleeding disorders. *Curr Opin Hematol* 2002;9:511-5.
52. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nussbaum P, et al. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2000;288:669-72.
53. Buckley RH. Gene therapy for SCID—a complication after remarkable progress. *Lancet* 2002;360:1185-6.
54. Kaji EH, Leiden JM. Gene and stem cell therapies. *JAMA* 2001;285:545-50.
55. Mohajeri MH, Figlewicz DA, Bohn MC. Intramuscular grafts of myoblasts genetically modified to secrete glial cell line-derived neurotrophic factor prevent motoneuron loss and disease progression in a mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Gene Ther* 1999;10:1853-66.
56. Laurencin CT, Attawia MA, L, LQ, Borden MD, Lu HH, Gorum WJ, et al. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite delivery of BMP-2-producing cells: a regional gene therapy approach to bone regeneration. *Biomaterials* 2001;22:1271-7.
57. Aboody KS, Brown A, Rainov NG, Bower KA, Liu S, Yang W, et al. From the cover: neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:12846-51.
58. Martin GR. Teratocarcinomas and mammalian embryogenesis. *Science* 1980;209:768-76.
59. Papaioannou VE. Ontogeny, pathology, oncology. *Int J Dev Biol* 1993;37:33-7.
60. Watt FM, Hogan BL. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 2000;287:1427-30.
61. Young FE. A time for restraint. *Science* 2000;287:1424.
62. Perry D. Patients' voices: the powerful sound in the stem cell debate. *Science* 2000;287:1423.
63. McLaren A. Ethical and social considerations of stem cell research. *Nature* 2001;414:129-31.
64. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-9.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Probabilmente nessun campo della biologia e della medicina ha mostrato un così importante impulso negli ultimi cinque anni quanto quello della Medicina Riparativa (o rigenerativa). Questa si basa sulle possibili applicazioni nella patologia umana di cellule staminali che, per motivi etici e pratici, non possono essere rappresentate dalle cellule staminali embrionali. Le cellule staminali non embrionali (non-ESCs) possono derivare da molte sedi: liquido amniotico, cordone ombelicale, tessuto adiposo, SNC, midollo osseo, retina e cute. Tuttavia, le principali sorgenti delle cellule staminali non embrionali sono le cellule staminali stromali di midollo osseo, le cellule staminali adulte (ASCs) e le cellule staminali di cordone ombelicale (CBSCs).

Per comprendere come le cellule staminali prendano una particolare strada differenziativa, è andato affermandosi in questi ultimi anni il concetto di 'nicchia' ('niche') che consiste in uno speciale microambiente tridimensionale composto da molecole segnalatorie, comunicazioni intercellulari, e interazioni con la matrice circostante extracellulare che avrebbe un'importanza fondamentale per la 'staminalità' della cellula (auto-rinnovo e sviluppo verso una cellula commissionata).

1. Cellule staminali stromali del midollo osseo (BMSCs)

Il termine BMSCs è stato applicato per indicare quelle cellule stromali del midollo con la potenzialità di formare il tessuto connettivo. In realtà, tra queste cellule, vi è una sottopopolazione di cellule multipotenti indifferenziate capaci di generare il mesenchima e pertanto anche nota con il termine di cellule staminali mesenchimali (MSCs) che è presente in tutti i tessuti post-natali. Le BMSCs e le MSCs possono essere isolate dal monolayer delle cellule mononucleate del midollo osseo mediante centrifugazione su gradiente di densità, essere coltivate in vitro in particolari condizioni che favoriscono la loro proliferazione ed, infine, indotte a differenziare utilizzando particolari condizioni di coltura. La loro purificazione può avvenire anche per la espressione di particolari marcatori di superficie, essendo esse caratteristicamente negative per i più comuni markers di cellule mature quali CD45 e CD14. Da segnalare che non esprimono CD34 ma sono positive per CD105.

2. Cellule staminali di cordone ombelicale (CBSCs)

Fin dalla fine degli aa '80 il sangue di cordone ombelicale è stato considerato come una buona alternativa al midollo osseo, alle cellule staminali di midollo osseo o al sangue periferico dopo procedura di mobilizzazione per il trapianto in corso di malattie emopoietiche, dimostrando una migliore tolleranza, anche in caso di non perfetto 'HLA-match' tra donatore e ricevente, e una ridotta percentuale di sviluppo di malattia da rigetto del trapianto (Graft-versus-host disease, GvHD). In effetti, il cordone ombelicale contiene una miscela di tipi differenti di cellule staminali di tutte e tre le linee germinali (mesoderma, endoderma ed ectoderma) e ne contiene in numero tale da non essere paragonabile a nessuna altra localizzazione (cellule embrionali, staminali emopoietiche, endoteliali, epiteliali, mesenchimali). In realtà, le cellule staminali di cordone (CBSCs) sono in grado di rigenerare numerosi tipi cellulari in vitro e, quando inoculate in vivo in animali da esperimento o nell'uomo, hanno prodotto miglioramenti funzionali apprezzabili. Cellule staminali di cordone ombelicale pluripotenti possono differenziarsi in vitro in osteoblasti, condroblasti, adipociti e cellule nervose (quindi da considerare come cellule staminali mesenchimali – MSCs - a tutti gli effetti) ma alcuni Autori hanno anche identificato nel cordone ombelicale l'esistenza di cellule staminali embrionali molto primitive. Diverse sono le possibili applicazioni delle CBSCs:

- a. Alcuni Autori hanno dimostrato la multipotenzialità delle cellule staminali di cordone, utilizzandole in vivo per derivare tessuto endoteliale ed epiteliale. Nei ratti, infatti, l'inoculazione di CBSCs per via venosa o direttamente nel miocardio era in grado di migliorare la vascolarizzazione cardiaca e la funzione cardiaca nei modelli sperimentali di infarto, aumentando l'angiogenesi, aumentando la densità vascolare e migliorando il rimodellamento ventricolare provocato dall'ischemia-riperfusion. In questo senso, non deve essere dimenticata la possibilità di ricostituire anche le superfici oculari, in particolare corneali, con le CBSCs che acquisiscono la capacità di esprimere le citocheratine tipiche della cornea fisiologica. Altri Autori, purificando cellule staminali cordonali CD133+, sono riusciti a farle differenziare in vitro in cellule neuronali (astrociti e oligodendrociti) e gliali capaci di esprimere le proteine caratteristiche delle cellule perfettamente differenziate, mentre altri hanno ottenuto uguali risultati mettendo in coltura cellule multipotenti CD45+ (MPSCs). Queste ultime osservazioni aprono la speranza a possibili applicazioni in molte malattie neurologiche umane. Buoni risultati sono stati ottenuti per il trattamento dei modelli di ischemia cerebrale nel ratto (in analogia con lo stroke umano) nonostante solo una piccolissima parte delle cellule inoculate effettivamente raggiunga il cervello. Sia l'inoculazione endovenosa che intraperitoneale hanno dimostrato come in realtà l'effetto benefico sia più da attribuire ad un generico effetto anti-infiammatorio, anti-apoptotico, trofico e di riorganizzazione nervosa più che ad una vera e propria sostituzione delle cellule andate incontro a morte. In secondo luogo, le CBSCs potrebbero trovare applicazione nelle malattie nervose da degenerazione (come ad es. nella malattia di Parkinson, SLA, amiloidosi) o in quelle conseguenti a trauma (es. traumi midollari, paralisi neonatale). Nei modelli sperimentali

tali, l'inoculazione di CBSCs si è mostrata capace di migliorare la rigenerazione assonale e la funzione motoria. Al momento, esistono alcuni studi sull'uso di cellule staminali autologhe di cordone ombelicale in piccoli pazienti con malattie neurologiche di varia origine ed i risultati sembrano incoraggianti.

3. Cellule staminali tessuto-specifiche (TSSCs)

Circa sei anni fa alcuni Autori dimostrarono che il tessuto adiposo umano doveva essere considerato come un buon tessuto alternativo per ottenere cellule staminali multipotenti (ASDSCs), le quali hanno la capacità in vitro (ed, in alcuni casi, anche in vivo) di poter essere differenziate in osteoblasti, condroblasti, epatociti, mioblasti e cardiomiociti, cellule neuronali, cellule emopoietiche. In effetti le loro caratteristiche genotipiche e fenotipiche non sono diverse da quelle delle BMSCs con le quali condividono anche capacità immunosoppressive.

Dopo tale dimostrazione, cellule staminali multipotenti sono state dimostrate in molti altri tessuti compresa la cute ed il rene.

4. Cellule staminali del liquido amniotico

Nella ricerca di una fonte 'facile' ed eticamente 'pura' di cellule staminali, alcuni Autori hanno isolato SCs dal liquido amniotico (AFSCs) trovando che queste cellule presentano caratteristiche a metà tra le classiche SCs embrionali e quelle tessuto-specifiche adulte, rappresentando quasi uno stadio intermedio tra le due. Le AFSCs si espandono facilmente, mantengono lunghi telomeri per almeno 250 replicazioni, mostrano un tempo di duplicazione di appena 36 ore e possono differenziarsi in uno qualsiasi dei tipi cellulari dei classici tre foglietti embrionali.

Applicazioni cliniche e sperimentali delle cellule staminali

Per definizione, tutte le malattie per le quali la rigenerazione o la riparazione di un tessuto danneggiato dalle cause più varie (trauma, ischemia, ablazione chirurgica, tumori) rappresentano un possibile campo di applicazione delle cellule staminali. Tra queste dobbiamo ricordare:

- patologie ossee (fratture scomposte gravi, perdita dell'osso per trauma o per intervento chirurgico, osteogenesi imperfetta)
- patologie della cartilagine
- patologie dei tendini e dei legamenti
- patologie del midollo spinale (es. per i traumi spinali,) e del sistema nervoso centrale (malattia di Parkinson)
- patologie cardiache (infarto miocardico)
- patologie della vescica (asportazione dell'organo per tumori)

Molti trials sono in corso per stabilire l'efficacia dei trattamenti, la via di somministrazione delle cellule più adeguata ed il tipo cellulare staminale con la migliore capacità di differenziazione.

Riferimenti bibliografici

Cord blood stem cells: a review of potential neurological applications

Harris DT

Stem Cell Rev agosto 2008;4:269-74

Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine

Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N

J Tissue Eng Regen Med 2008; 2: 169-83

Stem cells: a revaluation in therapeutics. Recent advances in stem cell biology and their therapeutic applications in regenerative medicine and cancer therapies

Mimeault M, Hauke R e Batra SK

Clin Pharmacol Ther 2007; 82 :252-64

Recent progress on tissue-resident adult stem cell biology and their therapeutic implications

Mimeault M and Batra SK

Stem Cell Rev. 2008; 4: 27-49

29. Immunizzazione

Il dizionario medico definisce l'immunizzazione come "la protezione di individui suscettibili a malattie trasmissibili, attraverso la somministrazione di agenti modificati vivi, o di una sospensione di organismi uccisi o infine di tossine inattivate". Questa elegante descrizione può essere allargata a includere gli approcci più moderni all'immunizzazione messi a punto nel ventesimo secolo, fra cui le tecnologie del DNA ricombinante, le tecniche di riassortimento virale, i vettori vivi, i vaccini a DNA; inoltre il campo è stato ampliato fino a includere la protezione da condizioni non trasmissibili quali ad esempio la malattia di Alzheimer, le malattie autoimmuni e l'immunogenetica dei tumori.

Al successo dell'immunizzazione ha contribuito il miglioramento delle nostre conoscenze sulla memoria immunologica che si sviluppa nel corso della risposta anticorpale agli antigeni, anche se i meccanismi fondamentali non sono stati ancora totalmente chiariti. Dal momento che le malattie trasmissibili restano globalmente la causa principale di morbidità e mortalità, il lavoro pionieristico di Jenner, iniziato nel 1796, ha ancora uno stimolante ed eccitante futuro.

James Phipps e Joseph Meister, i rispettivi destinatari dei vaccini originali per vaiolo e rabbia, hanno giocato un ruolo chiave nello sviluppo della scienza dei vaccini. Nel 1776, il Dr. Edward Jenner utilizzò materiale proveniente da lesioni di vaiolo bovino per vaccinare un bambino di otto anni ed in seguito, nel 1885, il Dott. Louis Pasteur vaccinò un bambino di nove anni che era stato morso da un cane affetto da rabbia. L'enorme impatto dell'immunizzazione sulla salute globale è emerso chiaramente con Salk e Sabin^{1,2}, creatori rispettivamente dei vaccini della poliomielite inattivato e vivo attenuato. Il drammatico declino dei casi di poliomielite paralitica ha reso il vaccino antipolio, giustamente, una delle più grandi conquiste della scienza medica. La vaccinazione universale per la poliomielite ha consentito, successivamente, l'eradicazione della malattia, dal 1979 negli Stati Uniti e dal 1994 nell'intero emisfero occidentale, come conseguenza della scomparsa del ricircolo del poliovirus. La certificazione della condizione *polio-free* è stata rilasciata per gli Stati Uniti nel 1994 da una commissione indipendente. L'eradicazione totale della poliomielite dal mondo è divenuta una impresa realizzabile da un punto di vista scientifico e, al di là delle difformità delle politiche e delle organizzazioni sanitarie locali, presto si porrà il problema strategico di quando interrompere la vaccina-

Abbreviazioni utilizzate:

ACIP:	Commissione sulle pratiche di immunizzazione/Advisory Committee on Immunization Practices
CDC:	Centers for Disease Control and Prevention
DTaP:	Diphtheria, tetanus and acellular pertussis
FDA:	Food and Drug Administration
HIV:	Virus dell'immunodeficienza umana/ Human immunodeficiency virus
IG:	Immunoglobulina
IPV:	Vaccino inattivato per la poliomielite/ Inactivated polio vaccine
IVIG:	Intravenous immunoglobulin
MMR:	measels, mumps and rubella
OPV:	Oral polio vaccine
RSV:	Respiratory syncytial virus
VAERS:	Vaccine Adverse Events Reporting System
VAPP:	Vaccine-associated paralytic poliomyelitis
OMS/WHO:	Organizzazione Mondiale della Sanità/World Health Organization

zione sistematica dei bambini non solo negli Stati Uniti, ma in tutto il mondo.

Lo sviluppo di alcuni vaccini di particolare rilievo nell'infanzia ha subito un impedimento allo sviluppo a causa della comparsa di reazioni avverse; ne sono esempi il vaccino per il virus respiratorio sinciziale (RSV) e, più recentemente, il vaccino per i rotavirus. Il vaccino per l'RSV contiene virus inattivato in formalina e precipitato con allume; sviluppato negli anni 60, ha mostrato di indurre titoli adeguati di anticorpi specifici nel siero, ma non è risultato protettivo: i soggetti vaccinati hanno contratto la malattia a seguito di una successiva infezione naturale³. L'infezione da RSV rimane perciò una delle principali cause di morbidità nella popolazione infantile in età prescolare. Il vaccino quadrivalente per i Rotavirus è stato autorizzato il 31 Agosto 1998 per la vaccinazione dei neonati. Ma nell'anno successivo -giugno 1999-, il centro americano per il controllo e prevenzione delle malattie infettive (CDC: Center Diseases Control) ha raccomandato sia ai responsabili della salute pubblica sia ai privati (genitori) di ritardare la somministrazione del vaccino tetravalente per i rotavirus, dal momento che era stato segnalato un apparente aumento dell'incidenza di invaginazione intestinale tra i vaccinati⁴. I Rotavirus perciò continuano ad essere, in tutto il mondo, la causa più frequente di gastroenterite grave nel bambino.

Nel maggio 1980, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha certificato che il mondo era libero dall'infezione naturale da vaiolo⁵. Molto si è discusso sull'opportunità e sui pericoli connessi alla distruzione o alla conser-

Traduzione italiana del testo di:

Di Edina H. Moylett e I. Celine Hanson

J Allergy Clin Immunol 2003;111:S 754-65

Tab. I Requisiti dei vaccini efficaci

Sicurezza	I vaccini non devono causare infezioni nel ricevente
Protezione	I vaccini devono proteggere i riceventi da malattie causate da patogeni vivi
Protezione prolungata	La protezione dovrebbe durare a lungo, se non tutta la vita
Induzione di Ab neutralizzanti	I vaccini dovrebbero indurre nel ricevente la produzione di Ab neutralizzanti, cruciali per la difesa nei confronti dei patogeni invasivi (soprattutto virus)
Induzione della risposta cellulare protettiva	Il vaccino dovrebbe indurre nel ricevente una risposta cellulare, cruciale per la difesa da patogeni intracellulari come i micobatteri
Considerazioni pratiche	I vaccini dovrebbero avere i seguenti requisiti: - profilo accettabile di effetti collaterali - basso costo di produzione - facilità di conservazione - facilità di produzione in grandi quantità - facilità di somministrazione

vazione in laboratorio delle colture del virus del vaiolo; comunque i recenti eventi politici, in particolar modo gli attentati dell'11 Settembre 2001, hanno reso concreta la possibilità che la vaccinazione sistematica contro questa orribile malattia debba essere reintrodotta sia per coloro che erano stati precedentemente vaccinati sia per i non vaccinati. I protocolli vaccinali dell'infanzia attualmente adottati negli Stati Uniti prevedono che i bambini, dalla nascita all'adolescenza, ricevano vaccinazioni nei confronti di 13 agenti infettivi. Il programma vaccinale per gli adulti, da proseguire nel corso della vita, raccomanda solo di praticare i richiami delle vaccinazioni effettuate nell'infanzia e di eseguire, solo per i soggetti a rischio, la vaccinazione e i richiami per l'*Haemophilus influenzae* e lo pneumococco⁶. Il numero di vaccini che potranno ulteriormente essere introdotti dipenderà dall'avanzamento delle conoscenze scientifiche e dalla disponibilità di risorse per la loro distribuzione.

IMMUNIZZAZIONE

La protezione nei confronti delle infezioni batteriche può essere indotta attivamente o passivamente. L'immunizzazione passiva si ottiene mediante somministrazione di immunoglobuline dirette contro il patogeno scelto, ottenute da plasma umano di molteplici individui. I preparati di immunoglobuline umane disponibili sono formulati per la somministrazione intramuscolare (IG), endovenosa (IVIG); esistono inoltre formulazioni particolari, con alti titoli di anticorpi contro uno specifico patogeno (gammaglobuline iperimmuni).

In passato per la profilassi passiva dopo esposizione, ad esempio al virus dell'epatite A o del morbillo, venivano impiegate le immunoglobuline per via intramuscolare. Attualmente, sono disponibili formulazioni EV o IM ad alti titoli anticorpali, verso alcuni patogeni come il RSV (RSV- IVIG), il virus della varicella-zoster (VZIG), il virus dell'epatite B (HBIG) e il citomegalovirus (IVIG-CMV). Per il RSV e il CMV, i preparati possono essere somministrati al fine di una profilassi pre-esposizione mentre, HBIG, VZIG, IG contro il tetano e IG contro la rabbia sono efficaci anche nella profilassi post-esposizione. L'immunoprofilassi passiva ha il vantaggio di conferire immediatamente una protezione specifica al ricevente, ma ha anche lo svantaggio della rapida perdita di protezione perché gli anticorpi specifici sono eliminati senza che si sia sviluppata alcuna memoria immunologica. Un ulteriore problema dell'immunizzazione passiva è connesso alla "sicurezza" dei preparati: dal momento che si tratta di emoderivati umani, è presente il rischio della trasmissione di infezioni sostenute da agenti trasmissibili con il sangue. In effetti il contagio attraverso il sangue o gli emoderivati si è verificato spesso in passato, nonostante tecniche di sterilizzazione e di eliminazione dei virus dal plasma, che garantivano una relativa sicurezza dei preparati. Il rischio è divenuto minimo da quando sono stati previsti routinariamente per tutti i donatori, test sierologici per l'identificazione di agenti infettivi trasmissibili col sangue⁷.

Per la profilassi passiva dell'infezione da RSV, oltre alle tradizionali RSV- IVIG, è presente sul mercato un preparato di anticorpi monoclonali umanizzati, il Palivizumab (Synagis; Medimmune Inc) il cui uso è autorizzato per popolazione pediatrica "a rischio". Il prodotto contiene anticorpi monoclonali umanizzati diretti contro la proteina F dell'RSV, molecola responsabile dell'attività neutralizzante del virus. La somministrazione mensile del preparato per via intramuscolare ha mostrato di ridurre del 55% l'ospedalizzazione per infezioni da RSV⁸. La protezione è passiva, e quindi di breve durata, per cui è necessaria la regolare somministrazione del preparato per tutta la stagione epidemica del RSV.

Oltre alla profilassi/terapia di specifiche malattie infettive, le IG -o più frequentemente le IVIG- sono impiegate per la terapia sostitutiva nei pazienti con difetto della immunità umorale; le più frequenti immunodeficienze congenite suscettibili di terapia con IVIG sono, la immunodeficienza comune variabile (CVID: Common Variable Immunodeficiency Disease), la immunodeficienza combinata grave (SCID: Severe Combined Immunodeficiency Disease) o deficit di specifiche classi di anticorpi. La terapia con IVIG può essere indicata anche per il trattamento di difetti minori o transitori della produzione anticorpale, a patto che si manifesti con una aumentata suscettibilità alle infezioni. Un'ulteriore indicazione all'impiego delle IVIG è rappresentata da alcune malattie autoimmuni o infiammatorie, in cui dosi elevate di IVIG (2gr/Kg) hanno mostrato di svolgere azione antinfiammatoria e immunomodulante.

Per l'immunizzazione passiva possono venire impiegate anche antitossine di origine sia equina che umana. Le antitossine hanno il vantaggio di neutralizzare immedia-

Tab. II. Età raccomandata, età minima ed intervallo tra le dosi vaccinali

Vaccino e N. dose	Età raccomandata per questa dose	Età minima per questa dose (a)	Intervallo raccomandato per la dose successiva(a)	Intervallo minimo per la dose successiva(a)
Epatite B1 (b)	0-2 mesi	0	1-4 mesi	4 sett.
Epatite B 2	1-4 mesi	4 sett.	2-17 mesi	8 sett.
Epatite B 3 (c)	6-18 mesi	6 mesi (d)		
DTaP (Tossoide difterico, tetanico e pertosse acellulare) 1	2 mesi	6 sett.	2 mesi	4 sett.
DTaP 2	4 mesi	10 sett.	2 mesi	4 sett.
DTaP 3	6 mesi	14 sett.	6-12 mesi	6 mesi (d, e)
DTaP 4	15-18 mesi	12 mesi	3 aa	6 mesi (d)
DTaP 5	4-6 aa	4 aa		
Hib (Hemophilus influenzae tipo b) 1 (f)	2 mesi	6 sett.	2 mesi	4 sett.
Hib 2	4 mesi	10 sett.	2 mesi	4 sett.
Hib 3 (g)	6 mesi	14 sett.	6-9 mesi	8 sett.
Hib 4	12-15 mesi	12 mesi		
IPV (Vaccino Poliovirus inattivato) 1	2 mesi	6 sett.	2 mesi	4 sett.
IPV 2	4 mesi	10 sett.	2-14 mesi	4 sett.
IPV 3	6-18 mesi	14 sett.	3,5 aa	4 sett.
IPV 4	4-6 aa	18 sett.		
PCV (Vaccino pneumococcico coniugato) 1 (f)	2 mesi	6 sett.	2 mesi	4 sett.
PCV 2	4 mesi	10 sett.	2 mesi	4 sett.
PCV 3	6 mesi	14 sett.	6 mesi	8 sett.
PCV 4	12-15 mesi	12 mesi		
MMR (vaccino del morbillo)	12-15 mesi	12 mesi	3-5 aa	4 sett.
MMR 2	4-6 aa	13 mesi		
Varicella (i)	12-15 mesi	13 mesi	4 sett. (i)	4 sett. (i)
Epatite A1	≥2 aa	2 aa	6-18 mesi	6 mesi (d)
Epatite A2 ≥	≥30 mesi	30 mesi		
Influenza (l)		6 mesi	1 mese	4 sett.
PPV (vaccino pneumococcico polisaccaridico)1		2 aa	5 aa (m)	5 aa
PPV 2		7 aa (m)		

a) Sono disponibili vaccini combinati. L'uso di vaccini combinati autorizzati è preferito all'iniezione separata dei singoli componenti equivalenti. (Vedi: CDC. Combination vaccines for childhood immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), the American Academy of Paediatrics (AAP), and the American Academy of Family Physicians (AAFP). MMWR 1999;48:5).

Quando si utilizzano vaccini combinati, l'età minima per la somministrazione corrisponde all'età massima per ogni componente; l'intervallo minimo tra le dosi corrisponde all'intervallo più lungo per ogni antigene.

b) è disponibile il vaccino combinato Epatite B-Hib (Comvax, Merck Vaccine division). Questo vaccino non dovrebbe essere somministrato a bambini al di sotto di sei settimane, per la presenza della componente Hib.

c) La terza dose del vaccino per l'Epatite B dovrebbe essere somministrata a 8 settimane dalla seconda dose e a 16 settimane dalla prima; comunque mai prima dei sei mesi di età.

d) mesi del calendario

e) l'intervallo minimo raccomandabile tra DTaP3 e DTaP4 deve superare i sei mesi; DTaP4 deve essere ripetuta se eseguita dopo meno di 4 mesi dalla DTaP3; è invece accettabile un intervallo superiore o uguale a 4 mesi (in questo caso DTaP4 non va ripetuta).

f) Per Hib e PCV, i bambini che ricevono la prima dose di vaccino dopo i sette mesi di età, richiedono minori dosi per completare la serie (Vedi CDC: Haemophilus b conjugate vaccines for prevention of Haemophilus influenzae, type b disease among infants and children two months of age and older: recommendations of the ACIP. MMWR 1991;40:1-7, and CDC. Preventing pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices [ACIP]. MMWR 2000;49:1-35).

g) Per il vaccino con solo fosfatopoliribosilribitololo- proteina della membrana esterna del meningococco (PRP-OMP, PedvaxHib, prodotto dalla Merck), non è richiesta la dose da somministrare a sei mesi di vita

h) Durante un'epidemia di morbillo in cui vengano segnalati casi tra i bambini di età inferiore a dodici mesi, è indicato effettuare la vaccinazione per il morbillo nei bambini con più di sei mesi di vita come misura di controllo dell'epidemia. In ogni caso le dosi somministrate a bambini di età inferiore all'anno non dovrebbero essere considerate come parte del ciclo vaccinale (Fonte: CDC. Measles, mumps, and rubella — vaccine use and strategies for elimination of measles, rubella, and congenital rubella syndrome and control of mumps: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices [ACIP]. MMWR 1998;47:1-57).

i) I bambini di età compresa tra dodici mesi e tredici anni richiedono una sola dose di vaccino per la varicella. Le persone di età ≥ 13 anni dovrebbero ricevere due dosi ad intervalli ≥ 4 settimane.

l) per i bambini dai sei mesi a nove anni che ricevono per la prima volta il vaccino per l'influenza, sono raccomandate due dosi di vaccino inattivato, a distanza di 4 settimane. I bambini dai sei mesi ai nove anni di età, che hanno precedentemente ricevuto il vaccino per l'influenza, e tutti i soggetti di età superiore ai nove anni richiedono solo una dose di vaccino all'inizio della stagione influenzale.

m) La seconda dose di PPV viene raccomandata a tutti i soggetti ad alto rischio di infezioni pneumococciche e a coloro che dimostrano una precoce riduzione del titolo anticorpale nei confronti dello pneumococco. La rivaccinazione tre anni dopo l'ultima dose, può essere presa in considerazione nei bambini ad alto rischio di gravi infezioni pneumococciche. I bambini al momento della rivaccinazione dovrebbero avere un'età inferiore a dieci anni (Vedi CDC. Prevention of pneumococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices [ACIP]. MMWR 1997;46:1-24).

Adattato da MMWR 2002;51(RR-2):1-35.

Tab. III. Vaccini autorizzati negli Stati Uniti

Microrganismo	Malattia	Tipi di vaccino	Controindicazioni specifiche (a)	Eventi avversi specifici
Batteri				
<i>Bacillo dell'antrace</i>	Antrace	Inattivato		
<i>Bordetella pertussis</i>	Pertosse	Inattivato, subunità	Encefalopatia entro sette giorni dalla somministrazione	attacco febbrile Stato ipotonico-iporesponsivo Febbre > 40.4°C Pianto prolungato. Queste manifestazioni sono significativamente meno frequenti con il vaccino acellulare
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Malattia di Lyme	Inattivato		
<i>Clostridium tetani</i>	Tetano	Tossoide		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Difterite	Tossoide		
<i>Haemophilus influenzae B</i>	Meningite, epiglottite, polmonite	Inattivato, coniugato con proteine		
<i>M tuberculosis</i>	Tubercolosi	Vivo attenuato	Gravidanza, condizioni di immunodepressione (b)	Disseminazione del M.Bovis (Immunodeficienza)
<i>Neisseria meningitidis</i>	Meningite	Inattivato (c)		
Sierogruppi A, C, Y e W	Sepsi			
<i>Salmonella typhi</i>	Febbre tifoide	Inattivato, vivo	Gravidanza (vaccino vivo)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Meningite, sepsi, otite media, polmonite	Inattivato, polisaccaridico, coniugato con proteine		
<i>Vibrio cholerae</i>	Colera	Inattivato		
<i>Yersinia pestis</i>	Placca	Inattivato		
Virus				
Adenovirus	Malattia respiratoria	Vivo attenuato	Gravidanza, immunodeficienza	
Epatite A	Epatite	Inattivato		
Epatite B	Epatite, epatocarcinoma	Inattivato (a DNA ricombinante)	Anafilassi a lievito di <i>Baker</i>	Anafilassi (un evento su 600000 dosi vaccinali somministrate)
Virus dell'influenza	Malattia respiratoria	Inattivato, a virus intero o subunità		

a) Una reazione anafilattica al vaccino, o ai componenti del vaccino, controindica l'uso futuro di quel preparato o dei suoi costituenti

b) Tumori solidi e tumori ematologici, immunodeficienze congenite e secondarie a terapia immunosoppressiva a lungo termine

c) Vaccino coniugato proteico (sierogruppo C) autorizzato in UK

d) Panencefalite sclerosante subacuta (SSPE)

e) Sindrome da rosolia congenita (CRS)

f) I bambini con infezione da HIV, senza evidenza di immunosoppressione (CDC, classe 1), possono ricevere il vaccino per il virus della varicella Zoster. In generale né IPV né OPV, dovrebbero essere somministrati a donne in gravidanza a meno che non sia necessaria una protezione immediata, in questo caso l'OPV è il vaccino di scelta.

tamente le tossine circolanti, in attesa che l'immunità acquisita inizi una sufficiente produzione di anticorpi neutralizzanti specifici. Si preferiscono i preparati di derivazione umana e negli Stati Uniti, solo per l'antitossina botulinica, i preparati di origine equina possono essere considerati un'alternativa ai preparati di origine umana, quando clinicamente necessario. Al di fuori degli Stati Uniti, sono disponibili invece altri preparati di derivazione equina che vengono utilizzati nella terapia delle infezioni da tetano, rabbia e difterite; la loro somministrazione è rigidamente regolamentata da precise linee-guida, in quanto la somministrazione di sieri eterologhi (come gli antisieri da cavallo) comporta un rischio significativo di causare la malattia da siero.

L'immunizzazione attiva è la risultante di due componenti fondamentali: l'immunogenicità degli antigeni contenuti nel vaccino e il buon funzionamento del sistema immune. I requisiti ideali necessari per l'efficacia dei

vaccini sono elencati in tabella I.

La differente composizione antigenica dei vaccini sarà discussa nella successiva sezione.

TIPI DI VACCINI

La tabella II descrive i vaccini che negli Stati Uniti sono consigliati dall'Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP) e dall'American Academy of Family Physicians per la gestione routinaria dei bambini e degli adulti. Gli altri vaccini autorizzati trovano indicazione in specifiche condizioni cliniche e sono elencati in tabella III, ove si dettagliano i microrganismi in causa, il tipo di vaccino, i potenziali effetti collaterali e le controindicazioni. I vaccini possono essere costituiti da agenti virali o batterici vivi attenuati, agenti uccisi (subunità, tossoidi o coniugati) e infine i vaccini possono essere ricombi-

Tab. III. Continuazione

Microrganismo	Malattia	Tipi di vaccino	Controindicazioni specifiche (a)	Eventi avversi specifici
Virus dell'encefalite Giapponese	Encefalite	Inattivato		Continua nella prossima pagina
Virus del morbillo	Patologie del tratto respiratorio, SSPE (d)	Vivo attenuato	Gravidanza, immunodeficienza (f), anafilassi alla neomicina o gelatina	Febbre (>39.4°C) da 6 a 12 gg dopo la vaccinazione, dal 5 al 15% Semplice stato febbrile Trombocitopenia Encefalopatia (< 1/milione di dosi)
Virus della parotite	Parotite Orchite Meningite	Vivo attenuato	Gravidanza, immunodeficienza f	Orchite Parotite
Poliovirus	Poliomielite	Inattivato (Salk) Vivo attenuato (Sabin)	Gravidanza (vivo), Immunodeficienza (vivo), Contatti stretti con immunodeficienti (vivo), Anafilassi per streptomina e neomicina (inattivato)	La paralisi poliomiolitica associata al vaccino è stata riportata dopo somministrazione di vaccino con virus vivo
Virus della rabbia	Rabbia	Inattivato		
Virus della rosolia	CRS (e)	Vivo attenuato	Gravidanza, Immunodeficienza (f)	Artralgia (25%) ed artrite transitoria (10%)
Virus del vaiolo	Vaiolo	Vivo attenuato	Gravidanza, Immunodeficienza(f)	
Virus della varicella Zoster	Varicella	Vivo attenuato	Gravidanza, Immunodeficienza (f) Anafilassi per neomicina o gelatina	
Virus della febbre gialla	Febbre Gialla	Vivo attenuato	Gravidanza, Immunodeficienza(f) Allergia all'uovo	

nanti, a DNA, o vettori. Ogni tipologia di vaccino induce la risposta immune attraverso meccanismi diversi che saranno discussi in seguito.

Uccisi o Inattivati

Un vaccino inattivato o ad agenti uccisi, come è implicito nel nome, consiste di una preparazione contenente il patogeno (batterico o virale) ucciso; con ciò si elimina il rischio della ricomparsa della forma selvaggia (*wild type*), cioè del patogeno originario, ad alta contagiosità. Per l'inattivazione vengono tradizionalmente utilizzati prodotti specifici, quali la formalina, che non altera i determinanti antigenici del patogeno, che rimanendo intatti, possono evocare una efficace risposta immune. Fanno parte di questo gruppo di vaccini, i preparati costituiti da organismi interi inattivati (come ad esempio il *Vibrio cholerae* e la *Bordetella pertussis*), da esotossine detossificate (come ad esempio i tossoidi difterico e tetanico), da materiale capsulare solubile (ad esempio i polisaccaridi di membrana dello pneumococco) isolato o legato in modo covalente a proteine *carrier* (es. vaccini coniugati per l'*Hemophilus influenzae* di tipoB) e infine da estratti purificati di alcuni componenti o sub-componenti del microrganismo (ad esempio i vaccini a subunità del virus dell'influenza e della *Bordetella pertussis*). Nella figura 1 è illustrato uno schema dell'interazione tra una proteina polisaccaridica coniugata ed il sistema immune dell'ospite, in particolare le cellule che presentano l'antigene, i linfociti Th2, le citochine e i linfociti B

che cooperano nella produzione di anticorpi specifici⁹. La somministrazione di vaccini inattivati induce una risposta immune tipicamente umorale, che può essere misurata attraverso il titolo degli anticorpi neutralizzanti prodotti dopo l'immunizzazione. Gli anticorpi neutralizzanti (IgG) vengono prodotti in seguito alla riesposizione all'antigene immunizzante, per rapida espansione dei linfociti B di memoria, con conseguente controllo delle successive infezioni.

Questi vaccini, per il fatto di essere inattivati/uccisi, non sono in grado di evocare risposte cellulari citotossiche. I vaccini inattivati, al contrario dei vaccini vivi, risultano carenti nella capacità di indurre una protezione supplementare mediata dalla produzione di IgA secrete a livello delle barriere mucose. La peculiarità di tutti i vaccini ad agente ucciso/inattivato è l'elevata sicurezza, ma la protezione conferita è relativamente breve e non dura tutta la vita, per cui è necessario ripetere dosi "di richiamo".

Vaccini Coniugati

Molti batteri, compresi l'*Haemophilus spp* e lo *Streptococcus pneumoniae*, possiedono una capsula esterna polisaccaridica e svolgono un ruolo patogenetico di particolare importanza e gravità nei bambini al di sotto dei due anni. La difesa più efficace contro questi microrganismi è rappresentata dall'opsonizzazione del rivestimento polisaccaridico ad opera degli anticorpi e pertanto l'obiettivo della vaccinazione è quello di produrre anticorpi specifici, diretti contro la capsula polisaccaridica

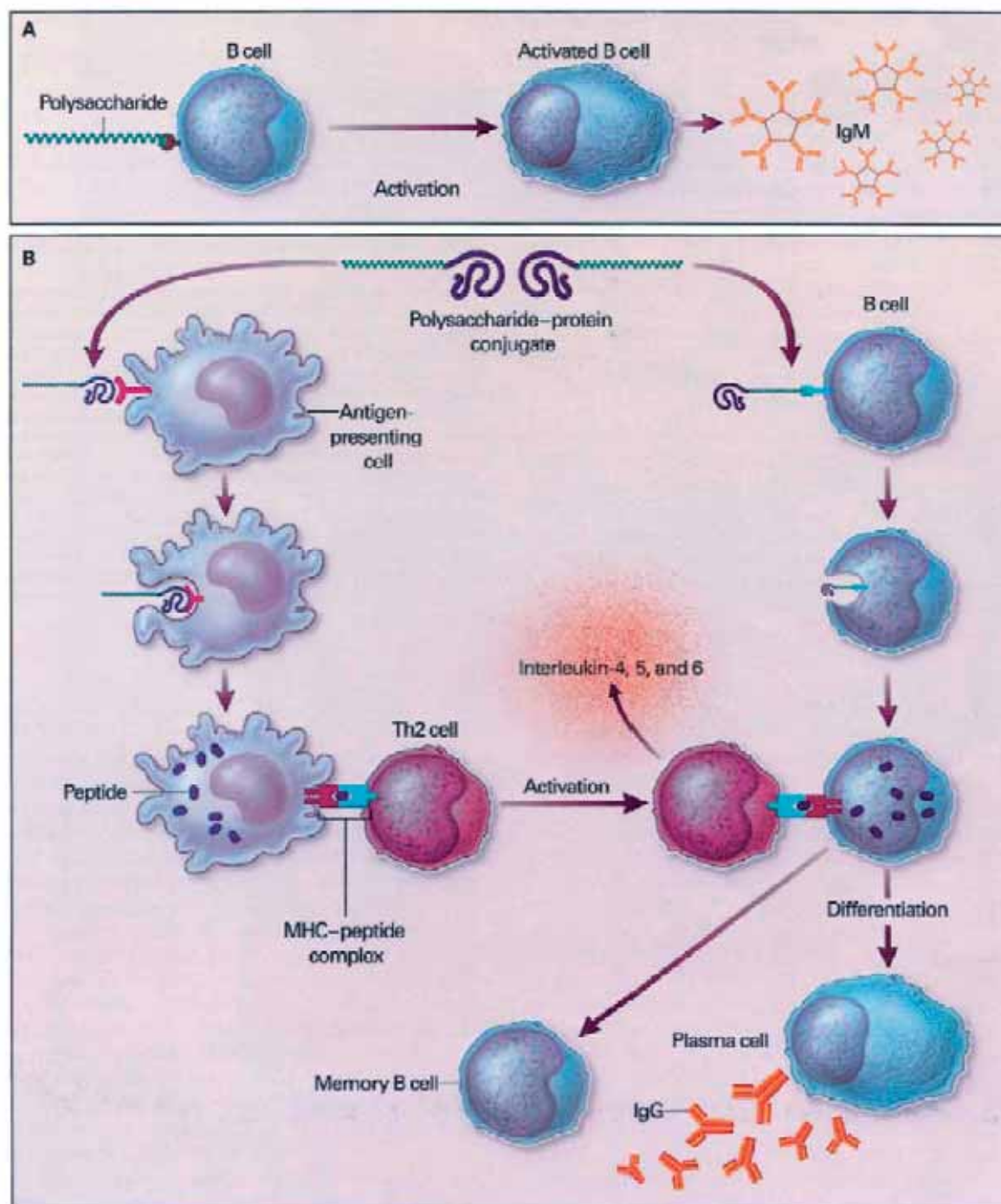


FIG 1. Risposta anticorpale ad antigeni polisaccaridici e coniugati polisaccaride-proteina.

A: l'antigene polisaccaridico si lega al recettore IgM sulla superficie di una cellula B nel tessuto linfoide. Una volta attivate, le cellule B producono e secernono anticorpi di classe IgM. I frammenti Fab delle IgM hanno solo una modesta attività, ma poiché le IgM sono pentameriche, vi sono dieci frammenti attivi che conferiscono alle IgM un'alta avidità.

B: La modesta attività delle IgM è contrastata dalla fagocitosi di alcuni coniugati polisaccaride-proteina da parte delle cellule dendritiche (cellule presentanti l'antigene); dopo digestione le cellule dendritiche presentano i peptidi derivati dalla porzione proteica del coniugato alle cellule T-helper (Th2). Nel contempo, la porzione carbossilica delle molecole coniugate si lega alle cellule B attraverso i recettori rappresentati dalle IgM specifiche di membrana, per andare incontro a endocitosi e a processazione all'interno delle cellule B; analogamente i peptidi risultanti vengono poi espressi nel contesto delle molecole MHC di classe 2 sulla superficie delle cellule B. Questo complesso viene riconosciuto dalla cellula Th2 specificamente attivata, che inizia a secernere IL-4, IL-5 e IL-6. Queste citochine favoriscono la ulteriore differenziazione della cellula B e l'espressione di IgG di superficie, specifiche per i polisaccaridi. Le cellule B maturano all'interno dei follicoli linfoidi e solo quelle che esprimono molecole IgG ad altissima affinità si differenziano in plasmacellule secernenti IgG ad alta affinità che sono in grado di legarsi saldamente alla capsula batterica favorendo l'opsonizzazione e l'attività battericida mediata dal complemento. In questo processo si formano anche cellule B di memoria che costituiscono una componente cruciale dell'immunità protettiva contro alcuni patogeni capsulati.

Adattata con permesso dal New England Journal of Medicine (8).

dei batteri. Diversamente dalla risposta timo-dipendente indotta dagli antigeni proteici (il secondo segnale per la proliferazione delle cellule B viene infatti fornito dalle cellule Th), gli antigeni polisaccaridici di per sé inducono una risposta immune timo-indipendente, caratterizzata dalla produzione di sole IgM a bassa affinità ed alta avidità. Questa risposta nei bambini al di sotto dei 2 anni è subottimale per l'immaturità del sistema immune. Proprio per ovviare a questa difficoltà, l'*Haemophilus* e lo *Streptococcus pneumoniae*, sono stati coniugati con successo a proteine carrier cui il sistema immune era stato precedentemente esposto (per esempio, tossoidi difterico e tetanico). Con questo artificio, la risposta immune verso questi coniugati diventa T dipendente e si riesce a indurre anche memoria immunologica (Fig 1)⁹. A seguito della introduzione del vaccino coniugato per l'*H. Influenzae B*, autorizzato dal 1987, si è assistito ad una drammatica riduzione delle infezioni sostenute da *Haemophilus I* in età pediatrica¹⁰; analogamente anche l'introduzione del vaccino coniugato anti pneumococco, autorizzato nel 2000, ha avuto un impatto significativo sulla prevalenza delle infezioni sostenute dai sierotipi contenuti nel vaccino¹¹.

Subunità Vaccinali

I vaccini a subunità sono prodotti con la tecnologia del DNA ricombinante. Ne è un esempio il vaccino per l'Epatite B attualmente disponibile, che è stato ottenuto dal clonaggio del gene che codifica per l'antigene di superficie dell'Epatite B (HBs Ag) e dal suo inserimento nei lieviti, con conseguente sintesi di enormi quantità di HBsAg al loro interno¹². Una tecnologia simile a quella del DNA ricombinante è stata applicata al vaccino, recentemente autorizzato, contro la *Borrelia burgdorferi* responsabile della Malattia di Lyme¹³. Per aumentare l'immunogenicità dei vaccini peptidici o a subunità sono stati variamente tentati coniugati con immunostimolanti, particelle simili al virus, biglie ricoperte dall'antigene o lipidi incapsulanti l'antigene.

Vivi Attenuati

La componente chiave dell'efficacia di un vaccino consiste nel simulare l'infezione naturale per indurre una risposta immunitaria completa; gli agenti vivi attenuati, contenuti nei vaccini, hanno una capacità di replicazione virale estremamente limitata, ma sufficiente a indurre una risposta immune protettiva, senza causare una infezione clinicamente evidente. La maggior parte dei vaccini antiretrovirali, attualmente in sperimentazione negli Stati Uniti, contengono agenti vivi attenuati. Tradizionalmente i virus vengono attenuati attraverso passaggi in linee cellulari di origine non umana. Le varietà virali attenuate, che vengono poi impiegate nei vaccini, sono selezionate per la loro instabilità o difficoltà a crescere nelle cellule umane. Altri meccanismi attraverso cui si ottiene la attenuazione includono la manipolazione e crescita dei virus in condizioni particolari (temperatura, pH, etc) non favorevoli alla replicazione nell'ospite umano. Il vaccino virale intranasale per l'in-

fluenza ne è un esempio¹⁴; sebbene non ancora autorizzato, si è dimostrato sicuro ed efficace in tutti i trials clinici¹⁵. Poiché i vaccini vivi attenuati simulano l'infezione naturale, la risposta immune che si realizza è solitamente duratura e si prolunga per tutta la vita, anche senza richiami. Inoltre con questi vaccini si possono indurre tanto risposte immuni mucosali che risposte cellulari, rafforzando le difese immuni nei confronti dell'infezione naturale. La durata della protezione conferita dai vaccini ad agenti vivi rimane ancora controversa e, per il vaccino MRP ad esempio, è ancora raccomandata una dose di richiamo.

Proprio in virtù di queste loro caratteristiche, nei pazienti immunocompromessi i vaccini vivi attenuati possono agire come agenti patogeni opportunisti e comportare un certo rischio. Ne è esempio emblematico il vaccino antipolio vivo attenuato (OPV), che può causare la poliomielite post vaccino (VAPP) quando viene somministrato ad un paziente immunocompromesso, o a persone in stretto contatto con pazienti immunocompromessi, in quanto i soggetti vaccinati eliminano il virus attivamente per qualche giorno¹⁶. Nei pazienti con immunodeficienza, il virus vaccinale si replica nell'intestino in maniera incontrollata e può tornare alla forma selvaggia, riacquistando virulenza, con conseguenze disastrose. Questo è stato descritto anche in neonati sani —e nei contatti suscettibili— che possono occasionalmente andare incontro a paralisi. Oggi esistono due tipi di vaccino per il poliovirus: l'inattivato (IPV) o Salk e l'OPV o Sabin. Attualmente viene raccomandato l'impiego dell'IPV in età pediatrica, in quanto l'unico caso recente di poliomielite nelle Americhe è stato associato all'uso dell'OPV e quindi il rischio di complicanze gravi (VAPP) supera il beneficio della somministrazione dell'OPV¹⁷. L'OPV rimane il vaccino di scelta per la vaccinazione di massa nel controllo di eventuali epidemie di poliomielite¹⁷, come è stato ribadito dall'Advisory Committee of Immunization Practices (ACIP). Tutti i vaccini ad agente vivo attenuato sono associati al rischio che il patogeno possa ritornare alla forma selvaggia e diffondersi.

FUTURI TIPI DI VACCINI

Vaccini a DNA

La vaccinazione con vaccini a DNA rappresenta una nuova strategia per stimolare efficacemente risposte immuni umorali e cellulari nei confronti degli antigeni proteici. Il DNA che codifica per antigeni del patogeno può essere incorporato in plasmidi o vettori¹⁸. In modelli animali sono state utilizzate biglie rivestite con plasmidi, il vettore è stato captato dalle cellule dendritiche con l'induzione di una risposta di tipo T-helper e la successiva produzione di anticorpi. Virus o batteri attenuati possono essere utilizzati anche come vettori di DNA, che codifica per antigeni appartenenti ad un altro agente infettivo. Il DNA contenuto nel vettore codifica per importanti epitopi -virali o batterici- specificamente riconosciuti dalle cellule B e T, con conseguente risposta immune protettiva cellulare e umorale. I Poxvirus (Es.virus vaccino,

Tab. IV. Adjuvanti dei vaccini

Tipi di adiuvanti	Attività	Esempio
Sale inorganico ²¹	Effetto rilascio, ritardano il rilascio dell'antigene, favoriscono la fagocitosi	Idrossido di alluminio, fosfato di calcio, idrossido di berillio
Sistemi di rilascio	Effetto rilascio, ritardano il rilascio dell'antigene, favoriscono la fagocitosi	Adjuvante incompleto di Freund (emulsione olio in acqua)
Prodotti batterici	Ritardano il rilascio dell'antigene, favoriscono la fagocitosi, inducono molecole costimolatorie nei macrofagi	Adjuvante completo di Freund (emulsione olio in acqua con micobatteri uccisi), BCG, Plasmide
DNA ²²	Potenzia l'espansione di cellule T che rispondono ad uno specifico peptide non codificato dal DNA	Sequenze CpG non metilate
Complessi immuno-stimulatori (ISCOMs) ²³	Rilascio di antigeni nel citosol, inducono cellule T citotossiche	Matrice di Quil A contenente proteine virali
Citochine ²⁴	Stimolano le cellule T citotossiche o dendritiche	GM-CSF, IL-12, IL-1, IL-2

fowlpox e canarypox) sono i vettori virali più usati, in quanto hanno la capacità di replicarsi ma non di infettare le cellule umane; Adenovirus e Salmonella spp possono essere manipolati per indurre una risposta immune protettiva anche mucosale. Con tecnologie di manipolazione del DNA, si è anche tentato di sostituire i geni virulenti, contenuti nella sequenza virale o batterica del genoma, senza modificare i geni degli antigeni immunogeni, in grado di stimolare una risposta immune efficace; i geni mutanti hanno dimensioni tali da minimizzare il rischio che il patogeno possa tornare alla forma selvaggia¹⁹. I vettori a DNA sono costituiti da anelli di DNA contenenti un promoter, il DNA estraneo, una sequenza terminale ed un gene marker. Il principale possibile effetto collaterale a seguito di vaccinazione con vaccino a DNA è la comparsa di anticorpi anti-DNA; altre conseguenze imprevedibili sono dovute al persistere dell'espressione dell'antigene estraneo, o alla possibilità di trasformazioni cellulari.

Vaccini Peptidici

Il peptidi che fanno parte di un antigene possono essere usati come costituenti del vaccino. I vantaggi del loro impiego derivano dal fatto che sono ben definiti chimicamente, sono stabili, sicuri e contengono solo epitopi immunologicamente importanti, specifici per le cellule B e T. I limiti derivano dalla difficoltà di replicare con esattezza gli epitopi immunogeni, dalla modesta immunogenicità dei peptidi sia per le risposte umorali, che cellulari, ed infine dal fatto che i peptidi sono soggetti a proteolisi. Per ovviare a questi limiti, sono state utilizzate metodiche di coniugazione con antigeni naturali: i peptidi vengono coniugati con proteine carrier o con vettori virali. Inoltre vengono utilizzati adjuvanti, come i lipidi carrier, che trasportano i peptidi nel citoplasma della cellula ospite, ove si innesci una risposta T-cellulare MHC I-ristretta. I vaccini peptidici hanno rivoluzionato il campo dell'immunogenicità tumorale²⁰.

ADIUVANTI

Un vaccino è tanto più efficace quanto migliore è la qualità della risposta immune evocata. Alcuni antigeni, come

i peptidi e i polisaccaridi, sono scarsamente immunogeni; a questo vanno aggiunte altre variabili che possono interferire, riducendone l'immunogenicità, come l'età del soggetto (troppo giovane o anziano) o lo stato nutrizionale scadente. Per adjuvante si intende qualunque sostanza in grado di aumentare l'immunogenicità di antigeni. L'uso di adjuvanti per migliorare l'efficacia dei vaccini risale agli anni 20²¹, ma ad oggi, nonostante l'intensa ricerca in questo campo, sono stati approvati per l'uso umano, solo composti contenenti alluminio, come l'allume, l'idrossido ed il fosfato d'alluminio. Gli adjuvanti agiscono sulla risposta immune all'antigene con diverse modalità, elencate in Tab. IV²²⁻²⁵. Tra le numerose attività svolte dagli adjuvanti, quelle immunomodulanti di maggior rilievo sono la conversione di proteine solubili in particolati e l'uso di costituenti microbici. I particolati infatti sono fagocitati con maggior facilità dalle cellule presentanti l'antigene e i costituenti microbici aumentano l'efficienza di macrofagi e cellule dendritiche nella presentazione dell'antigene.

È stato dimostrato che sequenze di DNA contenente CpG non metilato (diverse quindi dal CpG di mammifero per frequenza e entità della metilazione della citosina) sono in grado di indurre forti risposte immuni di tipo Th1²³, e questa tecnologia è stata quindi utilizzata per la costruzione dei vaccini. In primo luogo questi adjuvanti sono stati impiegati nei vaccini utilizzati per l'immunoterapia nei confronti di aeroallergeni, in quanto le sequenze di CpG o di DNA immunostimolante svolgono azione immunomodulante e deviano la risposta immune da Th2 a Th1.¹³ È in corso di sperimentazione l'utilizzo delle sequenze CpG come adjuvanti, per svariati vaccini al fine di aumentarne l'immunogenicità²⁶.

SCHEDULE

Bambini

Il programma di vaccinazione nell'infanzia è pubblicato annualmente e le raccomandazioni sono frutto di un lavoro coordinato tra (a) l'ACIP, (b) l'Accademia Americana dei Medici di Famiglia e (c) l'Accademia

Americana dei Pediatri. Il programma prevede la somministrazione delle prime dosi di Epatite B, come iniezione di singolo antigene, entro due mesi dalla nascita, di 6 vaccini (difterite, tetano, pertosse, *H. influenzae* tipo B, Polio e *Streptococcus pneumoniae* eptavalente -7 sierotipi-) a due mesi, e di 4 vaccini (morbillo, parotite, rosolia e varicella) a 12-15 mesi di età. La vaccinazione iniziale per ciascuno di questi antigeni richiede successive dosi di richiamo (Tab. 2) per garantire una produzione ottimale di anticorpi neutralizzanti. Il vaccino per l'Epatite A è raccomandato per i bambini oltre i due anni di età che vivono in aree endemiche degli Stati Uniti; il vaccino per l'influenza è raccomandato attualmente per bambini a partire dai 6 mesi di vita, che presentano patologie croniche, ad esempio malattie polmonari croniche. Probabilmente, la raccomandazione per la somministrazione del vaccino antinfluenzale, sarà estesa ai bambini tra i 6 e 35 mesi, età in cui, come emerge dai dati della letteratura, è presente la più alta percentuale di morbilità per sindrome influenzale^{27,28}. L'attuazione di questa complessa schedula vaccinale per l'infanzia ha incontrato molte difficoltà, sia da parte delle famiglie che degli operatori sanitari, per cui si sono dovute immaginare strategie nuove per assicurare la somministrazione di tutte le dosi raccomandate. Innanzitutto si raccomanda di approfittare di tutte le occasioni in cui si vedono i bambini, offrendo una schedula vaccinale accelerata per i neonati e i bambini che non potrebbero effettuare il programma vaccinale nei tempi stabiliti. La Tab.II elenca gli intervalli minimi accettabili tra le dosi per ogni vaccino. Per accelerare il calendario e ravvicinare le dosi, è necessario seguire alcune raccomandazioni. Il vaccino per l'*H. influenzae* di tipo B non dovrebbe essere somministrato routinariamente ai bambini di 5 anni o di età superiore, perché la maggior parte a questa età, ha già contratto l'infezione naturale ed è già sieroconvertito. Dopo la terza e la quarta dose di DTaP gli intervalli minimi si allungano fino a 6 mesi, e la quarta dose di DTaP non deve essere ripetuta, se non sono trascorsi almeno quattro mesi dalla precedente.

Più di una casa produttrice fornisce formulazioni diverse (quantità dell'antigene e metodologia di processazione/preparazione) dei vaccini disponibili in commercio e utilizzabili per le vaccinazioni previste per l'infanzia negli Stati Uniti. Va tenuto presente che l'intercambiabilità delle diverse preparazioni è stata documentata per alcuni, ma non per tutti i vaccini. Per esempio, Anderson et al²⁹ hanno documentato che le diverse formulazioni del vaccino per l'*H. influenzae* tipo B inducono una sieroconversione comparabile. Analogamente vi sono dati a conferma dell'equivalenza immunologica dei vaccini disponibili in commercio per l'Epatite A e B. Al contrario, i diversi vaccini contenenti l'antigene acellulare della pertosse hanno dimostrato di indurre livelli di protezione assai diversi.

L'esecuzione pratica dell'attuale schedula vaccinale per l'infanzia prevede da 4 a 5 iniezioni per ogni bambino nel corso delle prime visite (a 2, 4 o 6 mesi). Per ovviare a queste numerose iniezioni si potrebbe ricorrere ai vaccini combinati, che sono autorizzati negli Stati Uniti, ma rappresentano solo una piccola quota dei vaccini

disponibili in commercio. Per aumentare la copertura vaccinale e ridurre il numero delle iniezioni, le case produttrici stanno licenziando vaccini che contengono 5 o più antigeni, in modo da procedere con un'unica iniezione all'esecuzione di più vaccinazioni. Peralto lo sviluppo dei vaccini combinati è ancora limitato da alcuni fattori come la disponibilità di agenti stabilizzanti appropriati e compatibili con i diversi antigeni.

Adulti

Il calendario vaccinale andrebbe mantenuto aggiornato anche nella popolazione adulta. Le persone con più di 65 anni di età e tutti gli adulti con patologie che li espongono ad un rischio aumentato di infezione pneumococcica, dovrebbero ricevere una o più dosi di vaccino pneumococcico. Analogamente, tutte le persone di età superiore a 50 anni, e tutti gli adulti con patologie croniche che li espongano ad un aumentato rischio di gravi complicanze da influenza, dovrebbero ricevere ogni anno la vaccinazione contro l'influenza³⁰. Per la protezione da tetano e difterite, le dosi di richiamo con tossoide tetanico e difterico (Td) dovrebbero essere ripetute ogni 10 anni, a completamento del ciclo iniziale. Tutti gli adulti nati dopo il 1956 dovrebbero aver ricevuto almeno una dose di MMR o essere già immuni, ma se se sono esposti ad un rischio aumentato di contrarre il morbillo (per es. addetti alla sanità, studenti in comunità e viaggiatori in aree endemiche) dovrebbero documentare di aver ricevuto due dosi di MMR entro o dopo il primo anno di vita o di essere già immuni. L'immunizzazione contro l'Epatite A e B è raccomandata solo agli adulti ad alto rischio di trasmissione/acquisizione di malattia.

IMMUNOCOMPROMESSI

I vaccini vivi attenuati, virali e batterici, non sono generalmente somministrati ai pazienti immunocompromessi. In ogni caso, come per ogni regola in medicina, ci sono eccezioni.

Le immunodeficienze congenite o primitive comprendono forme sindromiche caratterizzate da diverse combinazioni di difetti dell'immunità umorale e/o cellulare (ad esempio la Sindrome da immunodeficienza combinata grave, la Atassia-Telangectasia, la Sindrome di Wiskott-Aldrich) e forme caratterizzate da difetti esclusivi della immunità umorale, come la Agammaglobulinemia X-recessiva o Agammaglobulinemia di Bruton. Le immunodeficienze secondarie sono conseguenza di molteplici condizioni come la malnutrizione grave, le neoplasie e le malattie ematologiche, la chemioterapia, le terapie prolungate con alte dosi di steroidi o l'infezione da HIV. Tutti i pazienti immunocompromessi hanno un elevato rischio di sviluppare una malattia disseminata in seguito alla somministrazione di vaccini vivi attenuati^{31,32}. Pertanto tutte le vaccinazioni ad agente vivo attenuato sono controindicate nei pazienti con importanti difetti dell'immunità cellulare. Per i soggetti affetti da ipogammaglobulinemia o disgammaglobulinemia si può prevedere l'esecuzione della vaccinazione per la varicella³³ e

per il morbillo, mentre l'OPV non deve essere mai somministrato a soggetti con difetti gravi della immunità umorale¹⁶. Inoltre l'OPV non dovrebbe essere somministrato ai soggetti che vivono in stretto contatto con pazienti immunodeficienti a causa della eliminazione fecale prolungata e del conseguente rischio di contagio. Al contrario, i vaccini inattivati possono essere somministrati anche ai soggetti con immunodeficienza, in quanto non causano effetti collaterali di rilievo, anche se la risposta può essere subottimale.

Per i soggetti con infezione da HIV sono state formulate particolari raccomandazioni per la somministrazione di vaccini vivi attenuati. Dal momento che i pazienti HIV positivi possono sviluppare gravissime forme di morbillo o di varicella a seguito dell'infezione naturale, sia la vaccinazione per il morbillo che quella per la varicella sono fortemente raccomandate nei soggetti HIV positivi senza evidenza di immunocompromissione (N1 o A1 secondo la classificazione CDC, con CD4+ >25%)^{34,35}, mentre il vaccino antipolio OPV non dovrebbe essere somministrato mai.

Nonostante le recenti acquisizioni sulla ricostituzione immunologica dei pazienti con immunodeficienze combinate gravi dopo trapianto di midollo, non vi sono ancora dati sufficienti per formulare raccomandazioni per la somministrazione di vaccini vivi attenuati in questi soggetti. Non vi sono controindicazioni alla vaccinazione nei pazienti con deficit del complemento, mentre i soggetti con deficit della fagocitosi non dovrebbero ricevere vaccini ad agente batterico vivo attenuato³⁶.

Gli effetti immunosoppressivi del trattamento steroideo sono controversi. Per la maggior parte dei medici hanno un effetto decisamente immunosoppressivo dosi di prednisone (o steroidi equivalenti) > 2 mg/kg o dosi complessive di 20 mg/die in bambini di peso > di 10 Kg, se somministrato per più di due settimane. In questi casi vi sono dubbi sulla sicurezza delle vaccinazioni con virus vivi³⁷. In generale, i vaccini ad agente virale vivo attenuato possono essere somministrati nelle seguenti circostanze: in soggetti che hanno ricevuto una terapia per tempi brevi (< 2 settimane); terapie steroidee a dosi basse o modeste; terapie steroidee a giorni alterni, anche per un lungo periodo, ma con formulazioni a breve durata d'azione; terapie steroidee a dosi fisiologiche di mantenimento o per via topica. In caso di terapia steroidea ad alte dosi, la vaccinazione con vaccini virali vivi dovrebbe essere rimandata ad almeno 2-4 settimane dopo la sospensione della terapia con steroide.

GRAVIDANZA

Sebbene alcuni vaccini non debbano essere somministrati durante la gravidanza, altri rappresentano un beneficio sia per il feto che per la madre. In generale, i vaccini vivi attenuati non dovrebbero essere somministrati alla madre durante la gravidanza perché rappresentano un rischio teorico di infezione per il feto. Tuttavia va segnalato un recente rapporto che non ha osservato alcun caso di varicella

congenita in 56 nati vivi da madri⁵⁸ che erano state inavvertitamente vaccinate per varicella durante il primo o secondo trimestre di gravidanza³⁸. Sebbene limitato ad una piccola casistica, questo rapporto può servire ad alleviare l'apprensione ingenerata dalla immunizzazione accidentale delle donne gravide: in ogni caso, la somministrazione accidentale dei vaccini virali per MMR o varicella durante la gravidanza, non costituisce un'indicazione all'interruzione di gravidanza. Le donne gravide che viaggiano in aree endemiche, dovrebbero essere vaccinate con il vaccino per la febbre gialla, anche se vivo attenuato, perché il rischio di contrarre l'infezione naturale per il feto è superiore ai possibili effetti collaterali della vaccinazione.

Non vi sono evidenze che supportino un reale rischio per il feto o la madre in caso di immunizzazione con vaccini virali inattivati, batterici o con tossoidi; la vaccinazione anti difterico-tetanica con tossoide Td (a contenuto ridotto di difterite) è indicato routinariamente alle donne in stato di gravidanza e tutte le pazienti immunizzate, o non, dovrebbero completare il primo ciclo. Le donne gravide nel secondo e nel terzo trimestre di gravidanza sono ad alto rischio contrarre forme particolarmente gravi di infezione influenzale e pertanto dovrebbero ricevere la vaccinazione all'inizio della stagione influenzale, a partire dalla 14° settimana di gestazione.

L'immunizzazione materna durante la stagione influenzale può inoltre rafforzare le difese del neonato, per il passaggio transplacentare di anticorpi materni. Questo metodo di immunizzazione indiretta del neonato è stato preso in considerazione anche per altre infezioni sostenute da diversi patogeni, come lo streptococco di gruppo B e il RSV³⁹.

VIAGGI

Il viaggiatore internazionale ha oggi a disposizione moltissime forme di assistenza, come ad esempio le vaccinazioni, che vengono raccomandate specificamente per i viaggi in alcune parti del globo (Centers for Disease Control and Prevention Traveler's Health Hotline: 1-404-332-4559)⁴⁰. Per il viaggiatore ci sono tre tipologie di raccomandazioni sui vaccini da eseguire: vaccini di routine per i bambini, vaccini richiesti per entrare in alcuni paesi membri della World Health Organization (WHO) e vaccini che possono dare ulteriore beneficio al viaggiatore, a seconda della destinazione del viaggio.

Alcuni paesi richiedono la documentazione di avvenuta vaccinazione per la febbre gialla per concedere il permesso di ingresso e si possono consultare in un sito approvato dal WHO. Il vaccino per la febbre gialla è ad agente vivo attenuato, cresciuto su colture di embrioni di pollo e conferisce un'immunità che dura dieci anni. Il vaccino non dovrebbe essere somministrato ai pazienti allergici alle uova, ai soggetti immunocompromessi, ai bambini di età inferiore a quattro mesi, alle donne in gravidanza o che allattano. La controindicazione diviene relativa per bambini di età inferiore a nove mesi, in quanto a questa età il rischio di acquisire la malattia è maggiore del rischio, oltretutto remoto, di effetti collaterali del vaccino. Nonostante vi siano alcune segnalazioni recenti che il vaccino possa causare la malattia⁴¹, la vac-

cinazione resta obbligatoria per i viaggi in aree endemiche⁴².

Per viaggi in alcune particolari zone, sono attualmente raccomandate alcune vaccinazioni supplementari: per l'epatite A, per la febbre tifoide, per il colera, per il meningococco, per il virus della rabbia, per il virus dell'encefalite giapponese e per la malattia di Lyme, che è stato recentemente autorizzato⁴³. La vaccinazione per il colera invece non è raccomandata, perché il vaccino induce una immunità breve ed incompleta. La produzione e la vendita dell'unico vaccino autorizzato negli Stati Uniti (Wyeth Ayerst) sono attualmente interrotte e nessun paese al mondo la richiede, né in entrata, né in uscita. Al di fuori dagli Stati Uniti, sono disponibili in commercio due vaccini per il colera: un vaccino orale ricombinante ucciso composto dalla subunità B dell'intera tossina colerica (WWC-rBS) e un vaccino orale attenuato del *Vibrio cholerae* (CVD 103- HgR). Entrambi sono sicuri ed efficaci e anche negli Stati Uniti sono attualmente in corso di approvazione da parte della FDA⁴⁴.

OPERATORI DELLA SANITÀ

Tutti gli operatori della sanità sono soggetti particolarmente a rischio di acquisire e di trasmettere agenti infettivi, ma alcuni settori della sanità pubblica lo sono in misura maggiore: ad esempio gli anestesisti, i chirurghi e gli odontoiatri, che possono acquisire l'infezione per via ematica. Le infezioni che possono essere prevenute dal vaccino e per le quali la vaccinazione è raccomandata a tutti gli operatori sanitari, e in particolare ai pediatri, includono quella per il morbillo, la parotite, la rosolia, l'Epatite B e la varicella. L'immunizzazione nei confronti di queste infezioni dovrebbe essere documentata prima dell'assunzione in ambiente sanitario. Inoltre la vaccinazione annuale per l'influenza dovrebbe essere offerta a tutti gli addetti, per ridurre il rischio di epidemie influenzali. Gli operatori sanitari possono essere una fonte di *Mycobacterium Tuberculosis* e dovrebbero eseguire ogni anno il test intradermico per monitorare una eventuale esposizione e per minimizzare il rischio di diffusione della malattia.

EFFETTI DEL BIOTERRORISMO SULL'IMMUNIZZAZIONE

Gli eventi dell'11 Settembre 2001 hanno condizionato molti aspetti della vita del ventunesimo secolo e la stessa eradicazione globale del vaiolo è stata seriamente minacciata. Se prima dell'11 Settembre di fronte ad un rash vescicolare di un bambino mai si sarebbe considerato in diagnosi differenziale il vaiolo, è allarmante che ora questa ipotesi diagnostica non sia più così remota. Altri agenti infettivi con potenziale di distruzione di massa sono il bacillo dell'Antrace, la *Yersinia pestis*, la *Francisella tularensis*, la tossina botulinica, il virus della febbre emorragica ed il *Mycobacterium Tuberculosis* multiresistente. Negli Stati Uniti sono oggi disponibili

vaccini contro il virus *Variola* (vaiolo), il *B. Antracis* (Antrace), la *Y. Pestis* (Peste bubbonica) ma l'immunizzazione è raccomandata solo in situazioni specifiche. Le linee-guida del CDC sollecitano particolare attenzione nel reinserimento del vaccino per il vaiolo in caso di evento bioterroristico⁴⁵; le raccomandazioni aggiornate sono disponibili sul sito della Infectious Disease Society of America (IDSA) (www.idsociety.org). Secondo le raccomandazioni correnti dell'CDC/IDSA, in assenza della ricomparsa naturale del vaiolo, la popolazione generale non dovrebbe essere vaccinata prima di un eventuale attacco. L'immunizzazione pre-esposizione con il vaccino dell'antrace è autorizzata solo per individui dai 18 ai 65 anni di età che abbiano un'alta probabilità di entrare in contatto con il *B. Anthracis* (per es. personale di laboratorio e macellai); le linee-guida complete per queste vaccinazioni sono rese disponibili da parte del CDC⁴⁶ e sono costantemente aggiornate.

EVENTI AVVERSI

La somministrazione di qualsiasi vaccino è associata al rischio potenziale, seppur raro, di un evento avverso. La Tab. III elenca gli effetti avversi noti e specifici per ogni preparato, che siano stati causalmente collegati alle singole vaccinazioni. Non sono inclusi in questa tabella gli effetti collaterali segnalati, ma in cui l'attribuzione causale al vaccino non è stata confermata.

Nel 1998 Wakefield et al⁴⁷ hanno segnalato una possibile associazione causale della vaccinazione per il morbillo con malattie infiammatorie intestinali e disordini dello sviluppo. A questa segnalazione hanno fatto seguito rapporti isolati su familiari di bambini vaccinati per il morbillo, che hanno spinto alla realizzazione di molti studi epidemiologici di sorveglianza, oggetto di una importante revisione da parte dell'Istituto di Medicina. Sulla base di questi dati epidemiologici, confermati peraltro da risultati scientifici, è stata definitivamente esclusa qualunque relazione tra vaccinazione con MMR, malattia infiammatoria intestinale e autismo^{48,49}. Infatti l'aumento della prevalenza di autismo registrata in tutto il mondo non correla con la diffusione della vaccinazione per MMR. Purtroppo le preoccupazioni suscitate intorno al vaccino MMR, hanno causato una netta riduzione del numero di bambini che hanno eseguito la vaccinazione nel Regno Unito e in Irlanda, con immediato aumento dei tassi annuali di morbillo⁵⁰. Una simile pubblicità negativa ha interessato anche la vaccinazione per Epatite B in Francia, dove sono stati segnalati in letteratura casi isolati di sclerosi multipla, insorta in soggetti vaccinati per epatite. Anche in questo caso le segnalazioni non sono state ignorate e sono stati disegnati e completati studi epidemiologici precisi che hanno escluso ogni relazione tra la vaccinazione anti-epatite e l'esordio di sclerosi multipla⁵¹.

Nell'agosto 1998, la FDA ha autorizzato negli Stati Uniti il primo vaccino derivato da rotavirus di *M. rhesus* contro l'infezione da rotavirus, la più frequente causa di grave diarrea nell'infanzia. A seguito della

segnalazione di invaginazione intestinale nei bambini vaccinati, dopo soli quattordici mesi il vaccino è stato ritirato dal commercio⁵². La tecnologia di produzione di questo vaccino si è sviluppata da ceppi monovalenti di rotavirus attenuato di origine animale per arrivare allo sviluppo di vaccini multivalenti di virus di origine mista, animale e umana. Studi retrospettivi non hanno confermato l'associazione fra l'infezione naturale da rotavirus e il rischio di invaginazione intestinale⁵³, per cui è possibile che la causa delle complicanze risieda nell'origine animale del virus. Pertanto questo vaccino, pur altamente efficace, non sarà utilizzato fino a quando la sua sicurezza non verrà pienamente confermata.

Il Thimerosal è un conservante contenente mercurio, ampiamente impiegato come additivo in agenti e vaccini biologici sin dagli anni 30, perché molto efficace nel contrastare le contaminazioni batteriche e fungine, soprattutto nei contenitori multidose. Il Thimerosal è stato usato come conservante nei vaccini Hib, DTaP, e Epatite B. La semplice preoccupazione di famiglie e operatori sanitari che il mercurio potesse rappresentare un rischio nella somministrazione di vaccini multipli, ha fatto promuovere lo sviluppo di vaccini privi di Thimerosal, pur senza alcuna evidenza di danni post-vaccinazione.⁵⁴ Va sottolineato che i rischi della mancata vaccinazione dei bambini nei primi sei mesi di vita superano di gran lunga i rischi teorici dell'esposizione a vaccini contenenti Thimerosal.

EVENTI AVVERSI SEGNALATI

Gli effetti collaterali associati ai vaccini, possono essere vere reazioni avverse o semplici coincidenze. I vaccini sono oggetto di studi estremamente rigorosi, finalizzati alla acquisizione di prove certe della loro massima sicurezza e tollerabilità, prima della loro autorizzazione e dell'immissione sul mercato. Quando si osservino reazioni anche rare, ritardate o rilevate in piccoli gruppi di soggetti prima dell'autorizzazione, queste divengono oggetto di studi post-autorizzazione, ovvero di studi di sorveglianza passiva, con registrazione di tutti gli eventi avversi. Ne è un esempio il "Vaccine Adverse Event Reporting System" (VAERS), un sistema di registrazione spontanea, che assicura il proseguimento della sorveglianza sulla sicurezza dei vaccini già autorizzati e presenti sul mercato. Il VAERS è attivo dal 1990 per fornire uno strumento nazionale unificato di registrazione di tutti gli eventi avversi clinicamente significativi e viene co-gestito dalla FDA e dal CDC. Il "National Childhood Vaccine Injury Act" del 1996 ha imposto agli operatori sanitari che somministrano vaccini e alle singole case produttrici di segnalare tutte le reazioni avverse, comunque correlate o correlabili alla somministrazione del vaccino (1-800-822-7967, numero verde per gli USA). La sicurezza dei vaccini è inoltre controllata in studi di popolazione (West-Coast HMOs) con calcolo dei tassi di reazioni avverse rispetto ai soggetti che non eseguono le vaccinazioni (controlli).

FUTURE DIREZIONI DEI VACCINI

La promessa di nuovi approcci vaccinali (vaccini a DNA e vaccini peptidici) fa prevedere un importante effetto sulla morbilità delle malattie infettive e delle loro sequenze, influenzando, ad esempio, le risposte autoimmuni e/o la carcinogenesi, che possono essere innescate dalle infezioni. Le linee di ricerca attuali dei vaccini sono: migliorare l'immunogenicità dei vaccini per ridurre la necessità di effettuare i richiami e potenziarne al massimo la sicurezza. Questo secolo offre concrete opportunità di collaborazione tra ricercatori, operatori sanitari pubblici e privati e politici per sviluppare nuovi vaccini (RSV, Virus del Papilloma umano e HIV) e permetterne poi la diffusione alle popolazioni a rischio.

Bibliografia

1. Salk J, Salk D. Control of influenza and poliomyelitis with killed virus vaccines. *Science* 1977;195:834-47.
2. Sabin AB. Oral poliovirus vaccine. History of its development and prospects for eradication of poliomyelitis. *JAMA* 1965;194:872-6.
3. Kim HW, Canchola JG, Brandt CD, Pyles G, Chanock RM, Jensen K, et al. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *Am J Epidemiol* 1969;89:422-34.
4. From the Centers for Disease Control and Prevention. Intussusception among recipients of rotavirus vaccine: United States, 1998-1999. *JAMA* 1999;282:520-1.
5. World Health Organization. Declaration of global eradication of smallpox. *Wkly Epidemiol Rec* 1980;55:145-52.
6. Atkinson WL, Pickering LK, Schwartz B, Weniger BG, Iskander JK, Watson JC. Centers for Disease Control and Prevention. General recommendations on immunization. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the American Academy of Family Physicians (AAFP). *MMWR CDC Surveill Summ* 2002; 51:1-35.
7. Christie JM, Healey CJ, Watson J, Wong VS, Duddridge M, Snowden N, et al. Clinical outcome of hypogammaglobulinemia patients following outbreak of acute hepatitis C: 2 yr follow-up. *Clin Exp Immunol* 1997;110:4-8.
8. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants: the IMPact-RSV Study Group. *Pediatrics* 1998;102:531-7.
9. Ada G. Vaccines and vaccination. *N Engl J Med* 2001;345:1042-53.
10. Adams WG, Deaver KA, Cochi SL, Plikaytis BD, Zell ER, Broome CV, et al. Decline of childhood Haemophilus influenzae type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. *JAMA* 1993;269:221-6.
11. Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, et al. Finnish Otitis Media Study Group: efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med* 2001;344:403-9.
12. Wampler DE, Lehman ED, Boger J, et al. Multiple chemical forms of hepatitis B surface antigen produced in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:6830-4.
13. Sikand VK, Halsey N, Krause PJ, Sood SK, Geller R, Van Hoecke C, et al. Pediatric Lyme Vaccine Study Group: safety and immunogenicity of a recombinant Borrelia burgdorferi outer surface protein A vaccine against Lyme disease in healthy children and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatrics* 2001;108:123-8.
14. Herlocher ML, Maassab HF, Webster RG. Molecular and biological changes in the cold-adapted "master strain" A/AA/60 (H2N2) influenza virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:6032-6.

15. Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J, King J, Gruber WC, Piedra P. The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine in children. *N Engl J Med* 1998;338:1405-12.
16. Centers for Disease Control and Prevention. Prolonged poliovirus excretion in an immunodeficient person with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:641-3.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices: revised recommendations for routine poliomyelitis vaccination. *MMWR* 1999;48:590.
18. Gregersen JP. DNA vaccines. *Naturwissenschaften* 2001;88:504-13.
19. Watanabe T, Watanabe S, Neumann G, Kida H, Kawaoka Y. Immunogenicity and protective efficacy of replication-incompetent influenza virus-like particles. *J Virol* 2002;76:767-73.
20. Weber J. Peptide vaccines for cancer. *Naturwissenschaften* 2001;88:504-13.
21. Glenn AT, Pope CG, Waddington H, et al. Immunological notes. *J Pathol Bacteriol* 1926;29:31.
22. Hem SL, White JL. Structure and properties of aluminum-containing adjuvants. *Pharm Biotechnol* 1995;6:249-79.
23. Sun S, Kishimoto H, Sprent J. DNA as an adjuvant: capacity of insect DNA and synthetic oligodeoxynucleotides to augment T cell responses to specific antigen. *J Exp Med* 1998;187:1145-50.
24. Bengtsson KL, Sjolander A. Adjuvant activity of ISCOMs: effect of ratio and co-incorporation of antigen and adjuvant. *Vaccine* 1996;14:753-60.
25. Disis ML, Bernhard H, Shiota FM, Hand SL, Gralow JR, Huseby ES, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: an effective adjuvant for protein and peptide-based vaccines. *Blood* 1996;88:202-10.
26. Krieg AM, Kline JN. Immune effects and therapeutic applications of CpG motifs in bacterial DNA. *Immunopharmacology* 2000;48:303-5.
27. Izurieta HS, Thompson WW, Dramarz P, Shay DK, Davis RL, DeStefano F, et al. Influenza and the rates of hospitalization for respiratory disease among infants and young children. *N Engl J Med* 2000;342:232-9.
28. Neuzil KM, Zhu Y, Griffin MR, Edwards KM, Thompson JM, Tollefson SJ, et al. Burden of inter pandemic influenza in children younger than 4 years: a 25-year prospective study. *J Infect Dis* 2002;185:147-52.
29. Anderson EL, Decker MD, Englund JA, Edwards KM, Anderson P, McInnes P, et al. Interchangeability of conjugated haemophilus influenzae type B vaccines in infants. *JAMA* 1995;273:849-53.
30. Bridges CB, Fukuda K, Uyeki TM, et al. Centers for Disease Control and Prevention, Advisory Committee on Immunization Practices. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2002;51:1-31.
31. Pohl KR, Farley JD, Jan JE, et al. Ataxia-telangiectasia in a child with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *J Pediatr* 1992;121:405-7.
32. Inaba H, Hori H, Ito M, Kuze M, Ishiko H, Asmar BI, et al. Polio vaccine virus-associated meningoencephalitis in an infant with transient hypogammaglobulinemia. *Scand J Infect Dis* 2001;33:630-1.
33. Prevention of Varicella. Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) *MMWR* 1999;48:1-5.
34. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Varicella vaccine update. *Pediatrics* 2000;105:136-41.
35. Levin MJ, Gershon AA, Weinberg A, Blanchard S, Nowak B, Palumbo P, et al. AIDS Clinical Trials Group 265 Team. Immunization of HIV-infected children with varicella vaccine. *J Pediatr* 2001;139:305-10.
36. Gonzalez B, Moreno S, Burdach R, Valenzuela MT, Henriquez A, Ramos MI, et al. Clinical presentation of Bacillus Calmette-Guerin infections in patients with immunodeficiency syndromes. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:201-6.
37. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): use of vaccines and immune globulins in persons with altered immunocompetence. *MMWR* 1993;42:1-18.
38. Shields KE, Galil K, Seward J, Sharrar RG, Cordero JF, Slater E. Varicella vaccine exposure during pregnancy: data from the first 5 years of the pregnancy registry. *Obstet Gynecol* 2001;98:14-9.
39. Glezen WP. Maternal vaccines. *Prim Care* 2001;28:791-806.
40. Wilson ME. Travel-related vaccines. *Infect Dis Clin North Am* 2001;15:231-51.
41. Vasconcelos PFC, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, et al. Serious adverse events associated with yellow fever 17D vaccine in Brazil: a report of two cases. *Lancet* 2001;358:91-7.
42. Mortimer PP. Yellow fever vaccine. *BMJ* 2002;324:439.
43. Recommendations for the use of Lyme disease vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 1999;48:1-17, 21-5.
44. Ryan ET, Calderwood SB. Cholera vaccines. *Clin Infect Dis* 2000;31:561-5.
45. Vaccinia (Smallpox) Vaccine Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2001. *MMWR* 2001;50:1-25.
46. Use of anthrax vaccine in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 2000;40:1-20.
47. Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM, Malik M, et al. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 1998;351:637-41.
48. Farrington CP, Miller E, Taylor B. MMR and autism: further evidence against a causal association. *Vaccine* 2001;19:3632-5.
49. Marwick C. US report finds no link between MMR and autism. *BMJ* 2001;322:1083.
50. Coughlan S, Connell J, Cohen B, Jin L, Hall WW. Suboptimal measlesmumps-rubella vaccination coverage facilitates an imported measles outbreak in Ireland. *Clin Infect Dis* 2002;35:84-6.
51. Ascherio A, Zhang SM, Hernan MA, Olek MJ, Coplan PM, Brodovicz K, et al. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2001;344:327-32.
52. Withdrawal of Rotavirus Vaccine Recommendation. *MMWR* 1999;48:1007.
53. Chang EJ, Zangwill KM, Lee H, Ward JI. Lack of association between rotavirus infection and intussusception: implications for use of attenuated rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:97-102.
54. Recommendations Regarding the Use of Vaccines That Contain Thimerosal as a Preservative. *MMWR* 1999;48:996-8.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

Tra gli obiettivi prioritari delle vaccinazioni (mantenere elevate le coperture vaccinali per le malattie verso le quali sono stati già raggiunti gli obiettivi prefissati, promuovere adeguati interventi di recupero per quelle malattie verso le quali i livelli di copertura non sono stati raggiunti, incrementare la sicurezza delle pratiche vaccinali e la conoscenza degli eventi avversi) particolare importanza ha la implementazione degli interventi di ordine organizzativo, formativo e comunicativo, necessari a migliorare la consapevolezza del valore delle vaccinazioni negli operatori sanitari e nelle famiglie tutte. Documenti specifici destinati ai medici sono quindi fondamentali per il miglioramento delle conoscenze e quindi per il miglioramento delle pratiche vaccinali. Il capitolo sull'immunizzazione del Primer è quindi in questo senso molto utile. Esso è aggiornato al 2002, ed è riferito alla realtà USA. Gli aggiornamenti degli ultimi anni sono reperibili sul sito <http://www.cdc.gov>. Le strategie e le politiche vaccinali vanno inserite in un contesto internazionale, ma anche nazionale, in base a priorità individuate e obiettivi raggiungibili. I calendari vaccinali delle singole nazioni si possono differenziare quindi per alcuni aspetti legati alle priorità individuate. Per quello che riguarda l'Italia, tutte le informazioni sulle vaccinazioni e sul calendario vaccinale sono reperibili sul sito www.ministerosalute.it, nella tabella 1 sono riportate le vaccinazioni obbligatorie.

Aggiornamenti rilevanti

- 1) La AAP (American Academy of Pediatrics) ha recentemente raccomandato:
 - a) la somministrazione del vaccino per **epatite A** a tutti i bambini di 12-23 mesi¹. In Italia il vaccino è dispensato dal SSN solo nei soggetti a rischio e nei viaggiatori in zone endemiche;
 - b) di effettuare a tutti i bambini (anche a quelli < 12 anni) 2 dosi del vaccino della **varicella** invece di 1, dato che la efficacia con 2 dosi si è dimostrata del 98%, contro il 94% con 1 dose². In Italia questa pratica è già raccomandata ed è previsto nel 2008, in alcune regioni come la Toscana, di abbinare la vaccinazione della varicella a quella di morbillo-rosolia-parotite in un vaccino tetravalente.

La AAP ha anche riformulato le raccomandazioni per la vaccinazione contro l'**influenza** per il 2006-2007³. Devono effettuare il vaccino:

- 1) i bambini a rischio di età > 6 mesi;
- 2) i bambini sani di 6-59 mesi di età
- 3) i componenti del nucleo familiare e tutti coloro che hanno stretti contatti, anche fuori casa, con i bambini a rischio
- 4) gli operatori sanitari.

In Italia il vaccino per l'influenza è dispensato dal SSN solo nei gruppi a rischio. Le indicazioni specifiche vengono emesse annualmente dal Ministero della Salute.

La vaccinazione per **rotavirus** è in via di riconsiderazione, dopo l'associazione del precedente vaccino a casi di invaginazione intestinale. Studi in larga scala con nuovi vaccini orali attenuati hanno dimostrato eccellente efficacia e sicurezza⁴. La vaccinazione con rotavirus è attualmente prevista nel calendario vaccinale 2007 USA, ma non in quello italiano.

Riferimenti bibliografici

- 1) **Hepatitis A vaccine recommendations**
American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases.
Pediatrics 2007;120:189-199
- 2) **Prevention of varicella: recommendations for use of varicella vaccines in children, including a recommendation for a routine 2-dose varicella immunization schedule**
American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases
Pediatrics 2007;120:221-231
- 3) **Prevention of influenza: recommendations for influenza immunization in children, 2006-2007**
American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases
Pediatrics 2007;119:846-51
- 4) **WHO position paper on rotavirus vaccines**
published by the Weekly Epidemiological Records No 32, 2007, 82,285-296

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Mechanistic actions of the risks and adverse events associated with vaccine administration

Edina H. Moylett, I. Celine Hanson
November 2004 (Vol. 114, Issue 5, Pages 1010-1020)

Asthma, influenza, and vaccination

W. Paul Glezen, MD
December 2006 (Vol. 118, Issue 6, Pages 1199-1206)

Critical issues in mucosal immunity for HIV-1 vaccine development

Barton F. Haynes, Robin J. Shattock
July 2008 (Vol. 122, Issue 1, Pages 3-9)

30. Definire lo spettro dell'Immunologia Clinica

La sottospecialità Immunologia Clinica, si è sviluppata dalla confluenza di nicchie specialistiche provenienti da aree diverse: chirurgia dei trapianti, endocrinologia, gastroenterologia e molte altre, assolutamente scollegate fra loro, ciascuna delle quali praticava una particolare forma di immunologia, pertinente alla propria area di interesse. La diversità degli interessi, la separazione degli sforzi e l'assenza di iniziative educative comuni hanno contribuito ad impedire alla maggior parte dei professionisti medici o ricercatori operanti nell'ambito dell'immunologia clinica di ricevere una formazione adeguata ed il riconoscimento di questa sottospecialità della medicina. Ciò che viene qui proposto è un tentativo di riunire l'ampio spettro delle pratiche specifiche dell'immunologia clinica in una concezione unificante incentrata intorno a quattro temi: (1) immunoregolazione, (2) immunoterapia, (3) immunogenetica e (4) immunodiagnostica, che definiscono il campo dell'Immunologia Clinica meglio delle tradizionali specialità basate sull'organo o sulla malattia. Questa definizione dei temi portanti dell'Immunologia Clinica fornisce un approccio interdisciplinare per comprendere l'attuale spettro degli interessi degli immunologi clinici, e risulta più agile nell'incorporare nuovi interessi, come ad esempio le reazioni di difesa dell'ospite, man mano che la pratica dell'Immunologia Clinica evolve. In futuro, l'uso di un approccio focalizzato sui punti qualificanti, permetterà lo sviluppo di un nuovo e più qualificato percorso formativo per gli specialisti.

Il motivo per cui abbiamo accettato la sfida di definire lo spettro dell'Immunologia Clinica è stato quello di suggerire un nuovo modo di pensare alla teoria e alla pratica di questa sottospecialità, un modo che fornisse una concezione unificante delle parti, al momento scollegate, dell'Immunologia Clinica. Partendo da decenni di pratiche mediche organo o malattia specifiche, l'Immunologia Clinica si è frammentata in molte aree della medicina, della chirurgia dei trapianti alla pratica dell'immunizzazione. Oggi, molti immunologi clinici appartengono a Dipartimenti di Microbiologia, quale retaggio dell'epoca dei vaccini batterici, o delle complicazioni immunologiche indotte da malattie infettive, come la febbre reumatica. Piccoli gruppi di specialisti in Immunologia Clinica sono assegnati a molte aree specialistiche della medicina d'organo o malattia-specifiche. Ad esempio, frequentemente, si trovano Allergologi nelle sezioni di Pneumologia dei Dipartimenti di Medicina Interna o

Abbreviazioni utilizzate:

ABP:	American Board of Pediatrics
ABIM:	American Board of Internal Medicine
ABAI:	American Board of Allergy and Immunology
ABMS:	American Board of Medical Specialties
ACGME:	Accreditation Council for Graduate Medical Education
CIS:	Clinical Immunology Society
CLI:	Clinical and laboratory immunology
FOCIS:	Federation of Clinical Immunology Societies
RRC:	Residency Review Committee

Pediatria. Altri esempi di Immunologi Clinici che esercitano in diverse aree della medicina sono forniti dagli autori dei capitoli della sezione 3, "Disordini immunologici", e sezione 4, "Valutazione e modulazione della risposta immunitaria" di questa quinta edizione del "Primer delle Malattie Allergiche ed Immunologiche". Di fatto, la creazione del Primer è un tentativo di definire l'ambito dell'Immunologia Clinica come è oggi. Il nostro proposito in questo capitolo, tuttavia, è di descrivere la sottospecialità dell'Immunologia Clinica come una sottospecialità viva, in continuo cambiamento, che si adatta alle nuove fondamentali scoperte e le traduce in trattamenti terapeutici per pazienti con malattie immunologiche. Crediamo che questa prospettiva contribuirà a determinare gratificazione e profonda soddisfazione nei giovani medici, che hanno scelto l'immunologia clinica come professione per la vita e nei ricercatori clinici, che hanno già orientato la carriera verso l'immunologia clinica. Negli ultimi 40 anni gli straordinari progressi della biologia cellulare e della genetica si sono riversati nel campo dell'immunologia clinica e il bagaglio di conoscenze su cellule del sistema immunitario, recettori, ligandi, strutture subcellulari e DNA è divenuta una scienza a sé, tanto che una nuova disciplina si è andata affermando: la moderna immunologia. La preferenza di modelli animali, per la semplicità di esecuzione di esperimenti su malattie a carattere immunitario, ha portato ben presto a un'infelice divisione tra immunologi clinici umani e immunologi murini e le organizzazioni e le riviste professionali d'immunologia hanno messo a disposizione, durante i congressi, spazi sempre più piccoli ai temi relativi all'immunologia clinica, così che l'immunologia di base e gli studi delle malattie sui modelli animali sono divenuti la scienza principale. Sebbene molto attivi nelle differenti carriere, gli immunologi clinici, mancavano di un comune tirocinio pre- o post-dottorato, di un meccanismo di certificazione del

Traduzione italiana del testo di:

William T. Shearer e C. Garrison Fathman

J Allergy Clin Immunol 2003; 111:S766-73

titolo appropriato alla frammentazione della sottospecialità, e di un'organizzazione professionale che curasse gli interessi di tanti immunologi clinici, dispersi in un'area così vasta. È da questa rapida panoramica della sottospecialità che inizia la nostra discussione sul campo di azione dell'Immunologia Clinica. Tre, sono le domande su cui verte la discussione: (1) Da dove viene l'Immunologia Clinica? (2) Dov'è oggi l'Immunologia Clinica? (3) Dove andrà l'Immunologia Clinica?

DA DOVE VIENE L'IMMUNOLOGIA CLINICA?

L'Immunologia Clinica prese a svilupparsi nel momento in cui ai ricercatori medici cominciarono ad essere chiare le notevoli capacità di adattamento e memoria del sistema immunitario, un sistema composto di cellule e molecole solubili senza una distinta struttura d'organo. Il rigetto dei trapianti e la protezione conferita a soggetti sottoposti a iniezioni di patogeni, o dei loro estratti grezzi, sono esempi di questa adattabilità del sistema immunitario che ha affascinato i ricercatori clinici, ancora prima che la conoscenza cellulare o molecolare del sistema immunitario fosse effettivamente stabilita. In pratica, ogni branca della medicina ha visto qualche studioso applicare le prime scoperte immunologiche per capire, modulare e trattare varie malattie.

La grande diversificazione nelle competenze cliniche ha spinto i diversi "specialisti" della fine del 19° ed inizio del 20° a creare associazioni/comitati di specialità, di cui il primo è stato quello di oftalmologia, fondato nel 1917, seguito da quello di otorinolaringoiatria nel 1924¹. Negli anni '30 sono nati diversi nuovi comitati: tra cui l'American Board of Pediatrics (ABP) nel 1933 e l'American Board of Internal Medicine (ABIM) nel 1936. Uno dei primi gruppi di immunologi ad organizzarsi in una "comitato d'immunologia clinica" professionale con iscritti certificati da un consiglio sono stati gli allergologi dell'ABIM nel 1941 e poi dell'ABP nel 1945. Attualmente il comitato che certifica l'avvenuta specializzazione per gli allergologi è costituito da un'associazione congiunta dell'ABIM e dell'ABP: l'American Board of Allergy and Immunology (ABAI), fondato nel 1971². Contrariamente alle prime aspettative dei direttori dell'ABAI secondo i quali un'ampia gamma di immunologi clinici avrebbero fatto domanda di ammissione alla specializzazione, lo schiacciante numero degli iscritti (4859 in totale nel 2001), a parte i ricercatori clinici che si occupavano di immunodeficienze, praticava quella parte dell'immunologia clinica che tratta le reazioni di ipersensibilità immediata. Nel 1975, dunque, per cercare di correggere questo squilibrio, i dottori K. Frank Austen, Rebecca Buckley e Kurt Bloch, membri del direttivo dell'ABAI, hanno chiesto l'aiuto all'American Association of Immunologists un programma per la formazione professionale ed un esame di certificazione in Immunologia Clinica e di Laboratorio (a quel tempo designato come "Immunologia Diagnostica di Laboratorio"). A distanza di più di un quarto di secolo il motivo che ha spinto il Dr. Bloch a promuovere questa proposta è ancora valido³:

- 1 Nei Dipartimenti di Pediatria e Medicina delle scuole mediche più grandi esistono attualmente sezioni di Immunologia Clinica composte da numerosi individui ognuno dei quali interessato ad un differente aspetto dell'immunologia clinica. La gran parte del lavoro di queste persone è focalizzato sulla cura del paziente, con particolare enfasi nei confronti dei recenti sviluppi applicativi dell'immunologia.
- 2 Negli ospedali e nelle scuole mediche più piccole, al contrario, c'è la necessità di una specifica persona responsabile per la disciplina dell'Immunologia Clinica. Sarebbe di fatto impossibile per la maggioranza delle istituzioni medio-piccole permettersi un ematologo-immunologo, un oncologo-immunologo, un allergologo-immunologo, eccetera. Un professionista con un tale profilo di competenze è, però, fondamentale per risolvere problemi diagnostici e gestionali dei pazienti che si rivolgono a queste strutture.
- 3 La continua evoluzione dell'immunologia clinica rende necessario lo sviluppo della ricerca clinica in questo campo, in maniera da facilitare la comprensione dei problemi e la loro soluzione.³

Nonostante il considerevole sforzo per rendere un tale percorso formativo disponibile a coloro che si occupano di immunologia clinica, solo 190 fra gli iscritti all'ABAI hanno ottenuto il diploma in Immunologia Clinica e di Laboratorio (CLI), e solo 4 candidati si sono iscritti all'esame di diploma del 2001.

Le sottospecializzazioni di Reumatologia dell'ABIM e dell'ABP hanno attratto molti immunologi clinici non allergologi, con un numero totale di diplomati che è stato, rispettivamente, di 179 nel 2001 e di 4158 nel gennaio 2002.

DOV'È L'IMMUNOLOGIA CLINICA ORA?

A detta degli esperti, l'immunologia clinica viene attivamente praticata da numerosi ricercatori clinici altamente qualificati, riuniti in piccoli gruppi o società, che si occupano di patologie d'organo o specifiche malattie con un indirizzo super specialistico. Per questi immunologi clinici non esiste una specializzazione riconosciuta che li unisca, allo stato presente, vi è organismo professionale che li raccolga insieme, parli in loro favore, o provveda ad una comune formazione. La tabella I elenca una lista delle diverse commissioni che rilasciano diplomi appartenenti a differenti aree dell'immunologia clinica. La tabella II elenca i programmi di formazione professionale in Immunologia Clinica approvati dall'Accreditation Council for Graduate Medical Education (ACGME). L'ABAI ha diplomato un gruppo considerevole di specialisti, ma la maggioranza di questi esercita l'Allergologia (American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology, The Allergy and Immunology Physician Work-Force 2000). Come osservato precedentemente, l'ABAI ha diplomato un numero molto più piccolo di sottospecialisti in Immunologia Clinica e di Laboratorio, mentre qualche migliaio di specialisti si è diplomato con l'ABIM in Reumatologia (in gran parte

Tabella I. Commissioni che rilasciano la certificazione in Immunologia Clinica*

Nome della Commissione	Subspecialità di interesse	Numero diplomati
American Board of Allergy and Immunology#	Allergologia ed Immunologia, Immunologia Clinica e di Laboratorio	4859, 190
American Board of Internal Medicine	Reumatologia	4158
American Board of Pediatrics	Reumatologia Pediatrica	179
American Board of Dermatology	Immunologia Dermatologica Clinica e di Laboratorio	<10
American Board of Pathology	Immunopatologia	<10
American Board of Medical Laboratory Immunology§	Immuno-patologia Clinica di Laboratorio	147

*Fonte: American Board of medical Specialties, www.abms.org

#American Board of Allergy and Immunology è una commissione congiunta della American Board of Internal Medicine e della American Board of Pediatrics.

§ L'American Board of Medical Laboratory Immunology (ABMLI) è sponsorizzata dall'American College of Microbiology. Molti medici-chirurghi hanno preso la certificazione con l'ABMLI, ma questa commissione rilascia certificazioni principalmente a dottori di ricerca in immunologia clinica che lavorano o dirigono laboratori di ricerca, www.asmsa.org

TABELLA II. programmi di formazione in Immunologia Clinica approvati*

Nome	Programmi (numero)	Numero di iscritti alla specializzazione
Allergologia ed Immunologia	72 [§]	237
Immunologia Clinica e di Laboratorio	11	10
Immunopatologia	0	0
Reumatologia Pediatrica	21	31
Reumatologia	108	298

*Fonte: Accreditation Council for Graduate Medical Education (www.acgme.org) 1/5/2002

[§] di cui 69 sono attivi

specialisti del paziente adulto). In ogni caso, vi sono diverse centinaia di immunologi clinici, che esercitano la professione e che non hanno diploma a causa o di un difficile accesso alla certificazione, o della mancanza di impellente necessità a richiedere un diploma per una materia così vasta. Questi immunologi sono quelli specializzati in Medicina Interna o Pediatria dalle commissioni dell'ABIM, dell'ABP o da altre commissioni primarie ed interessati agli aspetti immunologici della sottospecialità diverse dall'Allergologia e dalla Reumatologia. È ancora possibile per questi specialisti certificati dall'ABIM e dall'ABP prendere un diploma in CLI dall'ABAI (vedi www.abai.org); tuttavia, in passato, quest'opzione non è stata di grande attrattiva. Anche i diplomi rilasciati dall'American Board of Pathology e dall'American Board of Dermatology, rispettivamente in Immunopatologia ed Immunodermatologia, non hanno riscosso successo di iscritti. I programmi di formazione professionale in Immunodermatologia sono stati revocati ed il numero degli attuali aspiranti in altri programmi di formazione che non siano l'Allergologia e la Reumatologia, è molto basso. La principale ragione del fallimento nell'attrarre specialisti verso una sottospecializzazione aggiuntiva in Immunologia Clinica e di Laboratorio è da ricercar nel fatto che dai primi anni '90 il sistema sanitario non ha più rimborsato la componente laboratoristica di questi programmi, preferendo i costi più bassi dei grandi laboratori commerciali nazionali. Date le differenze fra le attuali commissioni di certificazio-

ne e i rispettivi programmi di formazione, data la mancanza per molti immunologi clinici di tirocini o di altre opportunità di diploma, è improbabile che gli immunologi clinici si riuniranno in un comune percorso di riconoscimento ed avanzamento professionale.

Il tentativo più forte di unificare i comuni interessi degli immunologi clinici fu fatto nel 1986, quando il Dr. John Fahey fondò la Società d'Immunologia Clinica (CIS), un gruppo di immunologi clinici, soprattutto accademici, interessati principalmente a quattro aree generali dell'immunologia clinica: le immunodeficienze primarie, le infezioni da HIV e l'AIDS, l'immunodiagnostica e l'autoimmunità. Il numero complessivo di membri associati paganti raggiunse circa gli 800 agli inizi degli anni '90. Verso la metà degli stessi anni, tre Presidenti del CIS (Dr. Raif Geha, Dr. Andrew Saxon e Dr. Mary Ellen Conley) decisero di rivalutare le necessità della società in merito alla possibilità di estendere la partecipazione a professionisti operanti nel campo dell'immunologia clinica, ma con interessi differenti. Il numero dei membri cominciò di nuovo a crescere di un 15% all'anno. Nel 1995, il Presidente del CIS Dr. Robert R. Rich preannunciò che la pratica dell'Immunologia Clinica si sarebbe consolidata al pari dell'Allergologia e della Reumatologia⁴. Questa predizione si fondava su due premesse: in primo luogo, una sottospecialità come l'immunologia clinica, che affonda le radici nella patogenesi delle malattie, avrebbe tratto vantaggio dal possesso di precise competenze nel richiedere ed interpretare i risultati di complessi test diagnostici^{5,6}. In secondo luogo, il consolidamento di sottospecialità intorno ad una comune base di conoscenza risulta essere più economico. Come esempio di consolidamento di differenti tipi di pratica dell'immunologia clinica, il Dr. Rich indicò l'Allergologia e la Reumatologia: sottospecialità che, se combinate in un comune percorso formativo e di pratica clinica, porterebbero ad una riduzione dei costi per i pazienti e darebbero più soddisfazione al medico per l'ampliamento della sua conoscenza sulla patogenesi delle malattie. La gestione dell'AIDS nell'ambito di servizi, tradizionalmente di competenza degli immunologi clinici, esperimento positivamente riuscito in numerose grandi strutture, è un altro esempio di consolidamento della specialità. L'immunologo clinico con una più ampia formazione

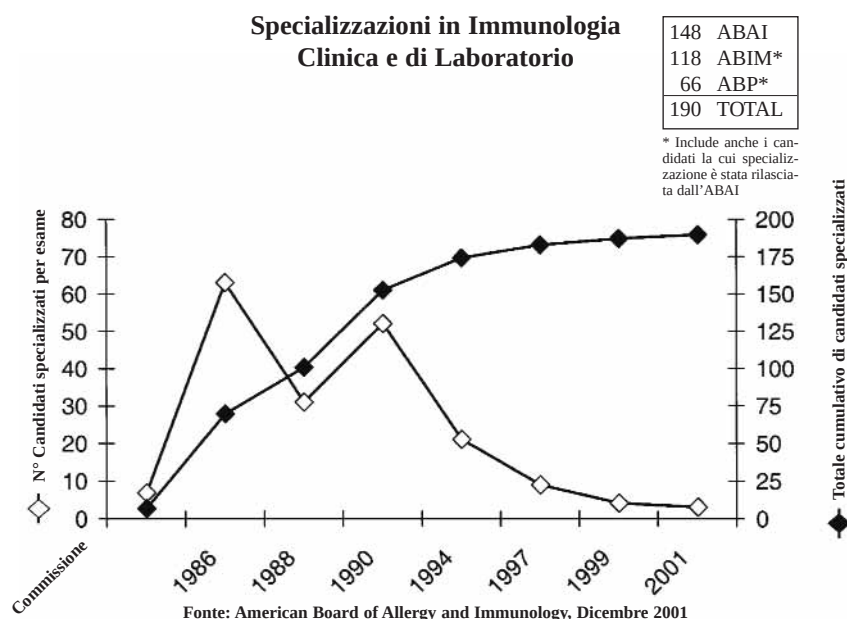


FIG 1. Sottospecializzazione in CLI. L'asse orizzontale rappresenta il tempo in anni, l'asse verticale a sinistra il numero di candidati specializzati per sessione e l'asse verticale a destra il numero totale cumulativo di candidati specializzati. Nel 1986, sette membri della Commissione d'Esame per la Certificazione della specializzazione in CLI furono abilitati dall'ABAI, ABP, ed ABIM. Questa commissione preparò l'esame che fu proposto nel 1986 e poi successivamente ogni 2-4 anni, di lì in avanti. Fonte delle informazioni: American Board of Allergy and Immunology, Gennaio 2002.

non nasce come sostituto di specialisti d'organo, per esempio endocrinologi che si interessano del diabete mellito, ma dovrebbe essere considerato come un loro consulente altamente qualificato.⁴

I direttori del programma di formazione in Allergologia ed Immunologia approvati dall'ACGME hanno ripetutamente sollevato il problema della necessità di espandere il raggio d'azione delle pratiche tradizionali per includere quanto più possibile dell'intero panorama dell'immunologia clinica nella preparazione dei tirocinanti di questa specialità.⁸⁻¹⁰ L'ABAI è stata sollecitata a cambiare il programma di formazione di immunodiagnostica di laboratorio del corso di CLI, includere, cioè, nel programma più categorie nosologiche ed enfatizzare l'interpretazione clinica dei test di laboratorio, piuttosto che la capacità di eseguire test immunologici di laboratorio.^{8,9} È stato, inoltre, fortemente raccomandato un nuovo modo di combinare i molteplici interessi dei diversi tipi di immunologi in maniera tale da preparare il campo della futura immunologia clinica.¹⁰⁻¹² Durante gli anni '90, il numero degli specialisti certificati dall'ACGME nella sottospecialità dell'Immunologia Clinica sembra essere andato nella direzione opposta a questi auspici. Il numero di candidati diplomati in CLI è crollato drammaticamente negli ultimi 10 anni (Fig. 1). Allo stesso modo, ma non così drasticamente, negli ultimi 5 anni è crollato il numero di candidati diplomati in Reumatologia dall'ABIM o dall'ABP (Fig. 2). Anche il numero di diplomati in Allergologia e Immunologia è diminuito rispetto agli grandi numeri raggiunti negli anni '70 (Fig. 3). Alcune cause di que-

sto declino sono di natura non medica; principalmente, l'impatto della riforma della gestione sanitaria e la riduzione delle entrate degli ospedali e delle facoltà di medicina^{13,14}. Ad ogni modo, è necessario notare che l'Immunologia Clinica non si è estinta in questo periodo di tagli in medicina. Piuttosto, si sono sviluppati nuovi moduli per la formazione congiunta (ad esempio, Reumatologia Pediatrica, Allergologia e Immunologia da parte dell'ABP e dell'ABAI nel 1999), i quali potrebbero rappresentare un mezzo di sopravvivenza per il futuro della specialità.

DOVE ANDRÀ L'IMMUNOLOGIA CLINICA?

L'Immunologia Clinica dovrebbe essere una sottospecialità della medicina riconosciuta ed accessibile da diverse vie. L'esame da parte di una commissione approvata dall'American Board of Medical Specialties (ABMS) dovrebbe permettere ai medici/ricercatori specialisti in Medicina, Pediatria o Chirurgia dei Trapianti di ottenere il diploma di sottospecialità in Immunologia Clinica. La specialità in Immunologia Clinica, per coloro la cui carriera di immunologo clinico è già consolidata, e la formazione in quest'area documentata, dovrebbe essere concessa con un semplice esame che riconosca i titoli già acquisiti. Per gli specialisti in formazione, il diploma sarà ottenuto al completamento dello specifico programma di formazione approvato e al superamento dell'esame di diploma. Nelle sottospecialità non allergologiche, l'esame ed il tirocinio dovrebbero essere concepiti secondo nuovi meccanismi, che includano immunologi

Specializzazioni in Reumatologia al 2000 (Totale = 4,158 Medici, 179 Pediatri)

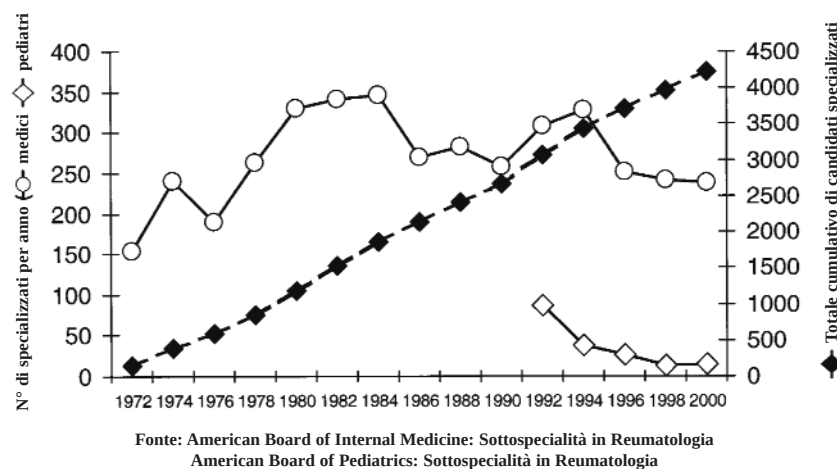


FIG 2. Sottospecializzazione in Reumatologia: sia della Medicina Interna e che della Pediatria. L'asse orizzontale rappresenta il tempo in anni, l'asse verticale a sinistra il numero di candidati specializzati per sessione e l'asse verticale a destra il numero totale cumulativo di candidati specializzati. Dal 1996, l'esame si è svolto a scadenza annuale; ad ogni modo, è stato riportato il totale a 2 anni per la coerenza onformità diella presentazione. Fonte delle informazioni: L' American Board of Internal Medicine e l' American Board of Paediatrics, Gennaio 2002.

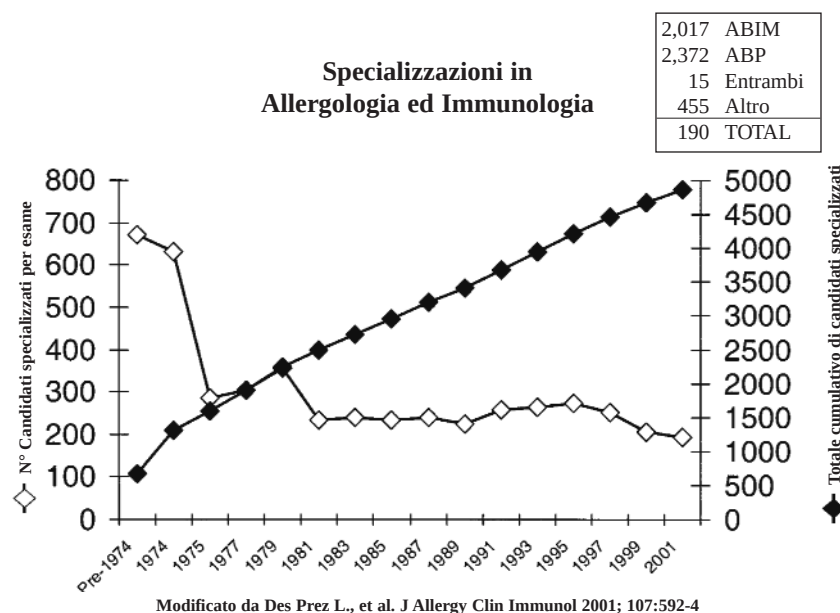


FIG 3. Sottospecializzazione in Allergologia ed Immunologia. L'asse orizzontale rappresenta il tempo in anni, l'asse verticale a sinistra il numero di candidati specializzati per sessione, e l'asse verticale a destra il numero totale cumulativo di candidati specializzati. Fonte delle informazioni: Ref 3 (con consenso) e l' American Board of Internal Medicine e l' American Board of Paediatrics, Gennaio 2002.

clinici non allergologi ed un programma di formazione non allergologico. I programmi di formazione in CLI (attualmente meno di 10 attivi) potrebbero essere adattati per venire incontro alle nuove esigenze del tirocinante in Immunologia Clinica, ma nuovi programmi dovrebbero essere sponsorizzati principalmente dai dipartimenti di Medicina Interna ed accreditati dalla Residency Review Committee (RRC) dell'ABIM. Anche altri dipar-

timenti ed altre RRC, come Pediatria, Chirurgia, potrebbero sponsorizzare o co-sponsorizzare ed accreditare programmi di formazione professionale in CI. In passato, l'ACGME aveva fissato a 25 il numero minimo di programmi di formazione in Immunologia Clinica (a quel tempo CLI). Dato il numero e la diversità di dipartimenti di una facoltà di medicina che prevedono immunologi clinici, quel numero dovrebbe essere facilmente

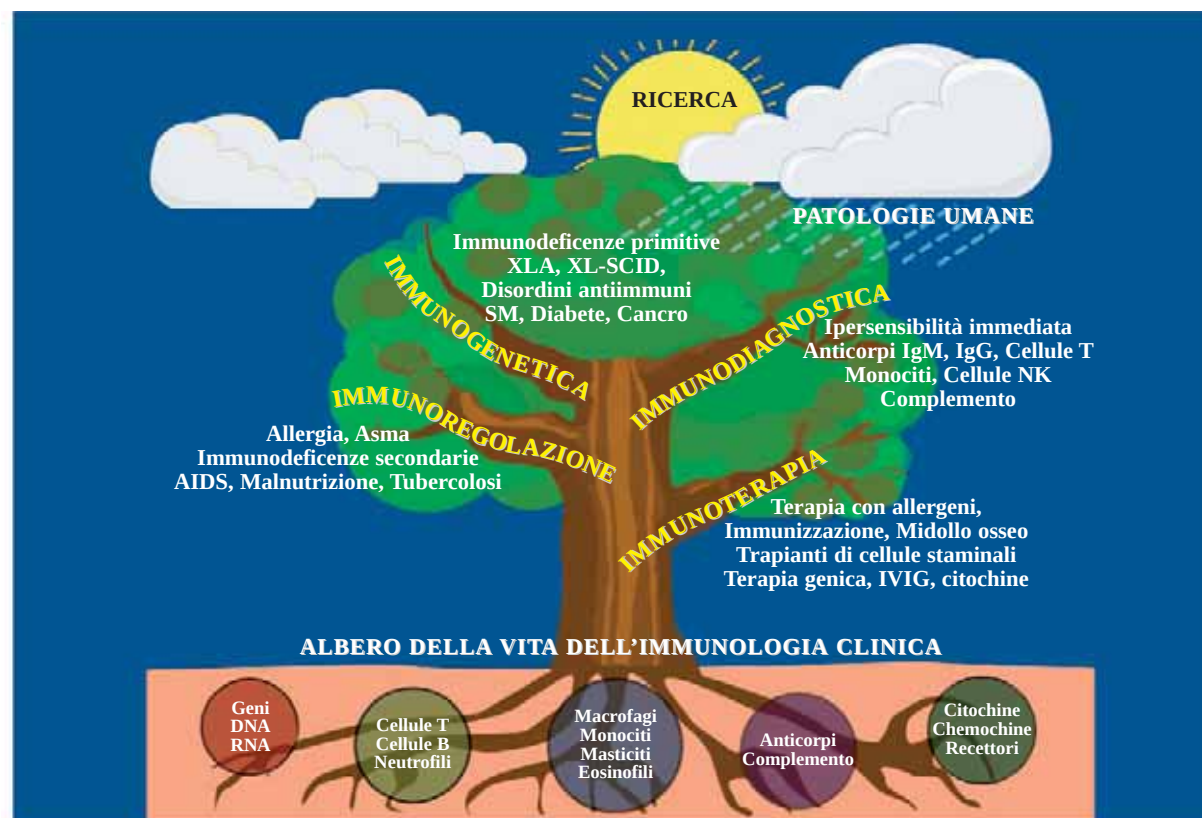


FIG 4. Immunologia Clinica: albero della vita. Traendo il suo nutrimento dal suolo e dalle radici (le componenti cellulari e subcellulari e gli elementi strutturali essenziali subcellulari, cellulari e strutturali dell'immunologia di base) l'albero della vita dell'Immunologia Clinica si accresce in proporzione all'apporto alla manifestazione della malattia umana (la pioggia) e al contributo della ricerca (il sole). I quattro temi principali (i rami) dell'Immunologia Clinica sono l'immunoregolazione, l'immunogenetica, l'immunodiagnostica e l'immunoterapia. Le nascenti aree (le foglie) della sottospecialità (le foglie) in Immunologia Clinica sono in continuo cambiamento, con nuove sottospecialità che appaiono e alcune vecchie che scompaiono.

superato. Il raggiungimento del numero potenziale di programmi di formazione e dei relativi tirocinanti, sarà un importante primo passo verso l'istituzione dell'Immunologia Clinica come una distinta sottospecialità.

In ragione delle esigenze dei medici tirocinanti, che provengono da differenti specialità, e che hanno interessi ampiamente diversificati, l'anno aggiuntivo di formazione professionale dovrebbe essere centrato attorno ai quattro temi dell'immunologia clinica: 1) immunoregolazione, 2) immunoterapia, 3) immunogenetica e 4) immunodiagnostica. Il certificato di qualificazione aggiuntiva ottenuto con l'esame potrebbe specificare le competenze rispetto ai moduli di questi quattro temi. I candidati che vogliono ottenere il diploma dovrebbero superare un esame generale di Immunologia Clinica con speciale competenza in uno o tutti questi quattro temi, a seconda degli interessi del singolo. Al momento, è previsto che il tirocinio in Immunologia Clinica impegni un anno supplementare, in aggiunta ad un altro tirocinio di sottospecialità, come l'Endocrinologia in Medicina Interna. La maggior parte degli Immunologi Clinici sono specializzati in Medicina Interna o Pediatria, ma non ci sono ragioni aprioristiche perché altri specialisti, come i

Chirurghi dei Trapianti, non possano partecipare a questo nuovo percorso di certificazione. Esiste un precedente in cui due commissioni ABMS hanno cooperato in un programma di formazione unificato e la certificazione è stata rilasciata dalla commissione d'appartenenza del candidato. Un esempio di un accordo del genere è il comune programma di formazione in Chirurgia della Testa e del Collo co-sponsorizzato da Otorinolaringoiatri e Chirurghi Plastici. Al completamento del programma formativo e al conseguimento di un punteggio tale da superare l'esame di diploma, il certificato è rilasciato dall'American Board of Otolaryngology o dall'American Board of Plastic Surgery. Implicita in queste considerazioni sui nuovi programmi di formazione in immunologia clinica è la necessità che un filone della ricerca esistente metta in evidenza i principi scientifici di tutta l'immunologia clinica in modo da fornire al tirocinante un approccio rigoroso alla pratica clinica, inclusa la capacità di associare la ricerca alla pratica clinica. All'inizio del 2000, il Dr C. Garrison Fathman, Presidente della CIS, ed il Dr David A. Haffler, Consigliere della CIS, proposero un sistema federativo delle società d'Immunologia Clinica per riunire immunologi clinici con interessi pratici divergenti, ma comuni

Tabella III. Società sostenitrici dei meeting FOCIS 2001 (Boston, 4-7 Maggio 2001)* e FOCIS 2002 (San Francisco, 28 giugno-1 luglio 2002)°

American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*°	American College of Rheumatology *°
American Gastroenterological Association*	American Society of Blood and Marrow Transplantation °
American Society for Histocompatibility and Immunogenetics*°	American Society of Transplantation °
American Uveitis Society*°	
Association of Medical Laboratory Immunologists *°	
Clinical Immunology Society *#	
Immunology and Diabetes Society *°	
International Cytokine Society *°	
International Society for Neuroimmunology	
Israel Association of Allergy and Clinical Immunology*°	
Section of Clinical Immunology and Allergy of the Royal Society of Medicine°	
Society for Investigative Dermatology *°	
Society of Toxicology°	

Principali Società

*Fonte: American Board of medical Specialities, www.abms.org

#American Board of Allergy and Immunology è una commissione congiunta della American Board of Internal Medicine e della American Board of Pediatrics.

§ L'American Board of Medical Laboratory Immunology (ABMLI) è sponsorizzata dall'American College of Microbiology. Molti medici-chirurghi hanno preso la certificazione con l'ABMLI, ma questa commissione rilascia certificazioni principalmente a dottori di ricerca in immunologia clinica che lavorano o dirigono laboratori di ricerca, www.asmsusa.org

questioni di fondo. La Federazione delle Società di Immunologia Clinica (FOCIS) ha tenuto il suo primo incontro a Boston nel Maggio 2001, con il sostegno di 21 società ed un secondo incontro a San Francisco nel Giugno 2002 con il sostegno di 25 società (Tabella III). Solo dalla lista dei nomi di queste società, appare chiaro come si possano ritrovare immunologi clinici in molteplici aree della medicina e della chirurgia. Quasi 1000 di questi soggetti nel 2001 e 1300 nel 2002 hanno affollato le sale dei congressi, le letture, le sessioni poster e gli eventi sociali serali. Il successo dei congressi della FOCIS, ha evidenziato la volontà dei membri delle numerose piccole società di immunologia, di riunirsi in "un'organizzazione ombrello". I partecipanti chiedevano la fondazione di un gruppo che potesse organizzare congressi nazionali ed internazionali col fine di favorire lo scambio di informazioni e che intervenisse con voce forte ed autorevole su questioni di politiche pubbliche, sui problemi normativi, di formazione e certificazione, e che sostenesse a livello governativo l'Immunologia Clinica.¹⁵ È attesa un'ancor più vasta gamma di società sostenitrici, per il terzo congresso della FOCIS (Maggio 2003, Parigi) e per i congressi successivi (Montreal, 2004; Boston, 2005).

Dato l'enorme entusiasmo emerso tra i vari immunologi clinici durante i meetings della FOCIS, appare chiaro cosa debba essere fatto in futuro per promuovere gli interessi dell'Immunologia Clinica. Al primo posto, probabilmente, va costituito un canale di comunicazione per immunologi clinici tale da rendere possibile la discussione delle problematiche relative a tirocinio, certificazione, formazione, fondi per la ricerca e pratica clinica e da intraprendere adeguati piani di azione. Il riconoscimento dell'unione e della forza numerica da parte dei differenti gruppi di immunologi clinici, quali coloro che hanno partecipato ai congressi del 2001 e 2002 della FOCIS, è il segno che un tentativo nuovo di riconoscere e ridefinire l'Immunologia Clinica, come una sottospecialità

distinta, sarà un successo¹⁶. I timori, che riguardano precedenti tentativi falliti di unificare la sottospecialità, di ottenere la ratifica dello status di sottospecialità da parte dell'ABMS, di creare programmi di formazione approvati dall'ACGME e di certificare con esame gli immunologi clinici, cederanno all'entusiasmo e alla lungimiranza di un'organizzazione, la cui missione include la costituzione di comuni alleanze per la formazione, la certificazione ed i percorsi professionali di tutti gli immunologi clinici. Di queste sfide che ci aspettano, forse la più ardua è quella di istituire programmi formativi in immunologia clinica sorretti dal principio che in realtà la forza degli immunologi clinici risiede proprio nella loro diversificazione, sempre che si comprenda che i temi comuni dell'immunologia clinica legano assieme tutte le sue espressioni.

RIASSUNTO

Concludiamo la nostra discussione sullo sviluppo della sottospecialità in Immunologia Clinica con una riflessione sull'allegorico Albero della Vita dell'Immunologia Clinica. In questo modello di sottospecialità sono indicate le sue quattro diramazioni principali: immunoregolazione, immunogenetica, immunodiagnostica ed immunoterapia. Traendo la sua forza dalle radici della scienza, l'albero cresce in proporzione alla pioggia, simbolo dell'espressione clinica della malattia, e alla luce del sole rappresentata dalla ricerca, che illumina la sottospecialità. Nuovi settori dell'Immunologia Clinica spuntano continuamente come le foglie che rappresentano gli interessi, le competenze e le applicazioni pratiche della sottospecialità. Questa concezione unificatrice della sottospecialità darà nuova forza ai membri, spesso isolati, che lavorano nel campo dell'immunologia clinica e darà loro la possibilità di raccogliere maggiori risorse necessarie alle importanti ricerche future.

In questo modo, con i propositi della FOCIS ben in mente, gli immunologi clinici saranno in grado di ottenere il riconoscimento e i compensi di una sottospecialità, guidata dalla patogenesi, che presenta ampie applicazioni in molte aree della medicina. Da questa prospettiva, l'Immunologia Clinica emergerà come una florida e coesa sottospecialità della medicina. Il raggio di azione dell'Immunologia Clinica risulta definito dai suoi temi comuni, che riuniscono la diversità delle sue applicazioni.

Vogliamo ringraziare le seguenti persone per il loro contributo alla stesura di questo capitolo: Lynn Des Prez e John W. Yunginger, MD, American Board of Allergy and Immunology; Geraldine Smith, American Board of Internal Medicine; Doris A. Stoll, PhD, American Council on Graduate Medical Education; Lynda Patterson and Thomas Pilarzyk, PhD, American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology; Dean D. Metcalfe, MD, National Institutes of Health; Andrei Saxon, MD, University of California at Los Angeles; and Theresa L. Willis, Baylor College of Medicine.

BIBLIOGRAFIA:

1. Reed CE, Seebohm PM, Des Prez L. The American Board of Allergy: the first twenty-five years. Monograph produced by the American Board of Allergy and Immunology, Philadelphia, 1996.
2. Cohen SG. The American Academy of Allergy: an historical review. *J Allergy* 1979;64:375-90.
3. Des Prez L, Reed CE, Schwartz LB, Yunginger JW. The 30th anniversary of the American Board of Allergy and Immunology: then and now. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Apr;107(4):592-4.
4. Rich RR. Whither clinical immunology? *J Immunol*. 1995 Nov 15;155(10):4992-5.
5. Adkinson NF Jr, Rich RR, Lichtenstein LM. Justifying a mechanism-based specialty. *J Allergy Clin Immunol*. 1996 Mar;97(3):868-71.
6. Austen KF and Wasserman SI. Visions in Allergy: Impact on health care reform. Proceedings of a roundtable held on January 28, 1995. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:861-888.
7. Rich RR. The future of allergy practice: an academician's perspective. *Allergy Asthma Proc*. 1998 Sep-Oct;19(5):295-9. Review.
8. Eggleston PA, Huston DP, Shearer WT, Bloch KJ, Busse WW, Rich RR. Workshop C: the growing importance in clinical immunology: impact on the allergy training program and practice of allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:999-1001.
9. Selected training program directors 1993 retreat reports. AAAI Training Program Directors Committee. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:440-444.
10. Shearer WT, Adelman DC, Huston DP, Engler RJ, Gupta S, Ledford DK, Lopez M, Du Buske LM. Core content outline for clinical and laboratory immunology. AAAI Training Program Directors' Committee. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 Dec;94(6 Pt 1):933-41.
11. Allergy and Immunology Training Program Directors National Subcommittee. Position statement: the future of the subspecialty of allergy and immunology. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:441-443.
12. Rich RR, Fleisher TA, Schwarz BD, Shearer WT, Strober W, editors. *Clinical immunology: principles and practice*. 1st ed. St. Louis: Mosby-Year Book;1996. p.739-750.
13. Rich RR. Healthcare reform: implications for biomedical research. *FASEB J*.1994;799.
14. Training Program Directors National Subcommittee. Training Program Directors National Committee position statement on healthcare reform. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98:719-20.
15. Shearer WT. Message of the president: the gavel passes. *Clinical Immunology Society*. E-mail, May15, 2001.
16. Shearer WT. Recognition of clinical immunology as a distinct medical subspecialty: importance for the practice of allergy. *J Allergy Clin Immunol*;2002 Oct;110:567-70. Review.

NOTE EDITORIALI E DI AGGIORNAMENTO

La specializzazione in Allergologia ed Immunologia Clinica rappresenta in Italia un percorso formativo culturale diverso e meno regolamentato da quello statunitense. Questa differenza è presente anche fra gli stesi paesi europei in cui la formazione professionale e l'organizzazione dei servizi di competenza dell'allergologia e dell'immunologia clinica differiscono notevolmente¹.

In Italia da svariati decenni l'Allergologia e l'Immunologia clinica sono parte del percorso formativo di base degli studenti del corso di laurea in Medicina e Chirurgia e la specializzazione è una specializzazione autonoma. Purtroppo, come evidenziato anche a livello europeo¹, nonostante l'esistenza di percorsi formativi specialistici codificati dai ministeri esistono, a livello territoriale, una notevole confusione e disparità sul ruolo professionale di questo specialista motivate principalmente dalla difficoltà ad individuare un campo di competenza pertinente e specifico. L'Allergologia e Immunologia clinica, infatti, non rappresenta una specificità di organo come la Pneumologia o la Dermatologia, ma si occupa di un ventaglio di patologie ad interessamento del sistema immunitario che valutano l'individuo nella sua pienezza. L'aspetto negativo di questa materia è rappresentato dal continuo sovrapporsi di competenze con altre specializzazioni, con la conseguenza che in Italia, come in Europa, si assiste ad una perdita di interesse da parte di giovani medici ad intraprendere una carriera specialistica il cui sbocco lavorativo è spesso difficile e poco definito.

È competenza del Ministero dell'Istruzione e dell'Università e della Ricerca garantire i requisiti standard minimi organizzativi e professionali e gli ordinamenti didattici di tutte le scuole di specializzazione compresa la scuola in Allergologia ed Immunologia Clinica². Attualmente esistono 17 scuole di specializzazione nell'ambito universitario italiano, (Tabella 1) gli anni di formazione sono 5 e il titolo, una volta ottenuto, non è soggetto a revisione a differenza degli Stati Uniti.

Riferimenti bibliografici

1. **Allergy and Clinical Immunology Services in Europe**
Bonini S, Ansotegui IJ, Durham S, Frew AJ, et al.
Allergy 2006;61:1191-1196
2. **Definizione degli standard e dei requisiti minimi delle scuole di specializzazione, in data 29 marzo 2006**
GU n.105 del 8/05/06, Serie Generale n.115

31. Valutazione delle competenze cliniche dell'allergologo-immunologo

La valutazione della qualità delle prestazioni e delle competenze specifiche di ogni disciplina è divenuto un aspetto centrale nella pratica medica. Sottoporsi a tale valutazione è un segno di impegno, da parte del singolo medico, ad assicurare elevati standard di qualità professionale. L'obiettivo di questa valutazione è la garanzia per i pazienti, per i loro familiari, per il pubblico, per i giovani colleghi e per noi stessi di una professionalità praticata costantemente secondo i più elevati standard di qualità possibili.

Tradizionalmente i medici in formazione sono valutati dai loro direttori di corso con metodi messi a punto e validati sulla base dei risultati ottenuti. La valutazione dei professionisti già in attività, invece, è un concetto abbastanza nuovo, nato dall'esigenza dei medici di dimostrare la propria affidabilità e dalla necessità di andare incontro alle richieste sia dell'utenza che degli organismi regolatori. Gli organismi rappresentativi della professione medica e i vari enti certificatori sono impegnati nella messa a punto di un sistema di valutazione efficace e adeguato e nella sua diffusione del sistema di valutazione fra i medici. A tal scopo sono in via di sviluppo molteplici nuovi strumenti di analisi decisamente innovativi ed eccitanti. Tratteremo in questa rassegna proprio la storia, il background e lo stato dell'arte di quest'area dell'educazione medica.

Nei precedenti capitoli gli autori hanno elencato i diversi settori clinici e laboratoristici la cui padronanza è un pre-requisito per il professionista specialista in allergologia-immunologia. Negli anni, il metodo con cui tali competenze sono valutate e documentate si è evoluto e questa area della formazione medica è diventata di centrale importanza in seguito ai recenti rapporti dell'Istituto di Medicina sugli errori nella pratica clinica^{1,2}, alle segnalazioni dei movimenti dei consumatori, portavoce delle aspettative dei pazienti, e al maggior interesse da parte degli organismi di controllo sulla competenza dei medici e il funzionamento del sistema sanitario. In questo capitolo si discuterà dei requisiti formativi per l'ottenimento del diploma di specializzazione (certificazione) in Allergologia ed Immunologia per la riconvalida negli anni del titolo di specialista ("ri-certificazione") e, infine, dei meccanismi di valutazione per cui è possibile che le competenze richieste siano soddisfatte. La preparazione richiesta agli specialisti allergologi-

Abbreviazioni utilizzate:

ABAI:	The American Board of Allergy and Immunology
ABFP:	The American Board of Family Practice
ABIM:	The American Board of Internal Medicine
ABMS:	The American Board of Medical Specialties
ABP:	The American Board of Pediatrics
ACGME:	The Accreditation Council for Graduate Medical Education
RRC A/I:	The Residency Review Committee for Allergy and Immunology
TPD:	Training program director

immunologi è così vasta che permette di intraprendere diversi tipi di carriera professionale dalla pratica clinica, alla ricerca, sia in ambito universitario che industriale o amministrativo. Tuttavia i criteri di valutazione delle competenze cliniche degli specialisti devono essere necessariamente gli stessi, se la professione medica, in generale, e la specializzazione, in particolare, ha il compito di assicurare ai pazienti e al pubblico il nostro impegno nel raggiungere e mantenere i più alti standard di qualità delle cure mediche.

SPECIALIZZAZIONE: FORMAZIONE PROFESSIONALE

La formazione professionale in Allergologia ed Immunologia è supervisionata da due organizzazioni complementari fra loro e, indirettamente, da una terza. La prima è la Accreditation Council for Graduate Medical Education (ACGME) che ha il compito di controllare che i programmi di formazione, e gli enti che se ne fanno carico, siano conformi ai requisiti istituzionali e relativi al programma in ogni specifica disciplina; in definitiva, l'ACGME si fa carico di promulgare gli standard ai quali gli ospedali o altre strutture, che offrono programmi di formazione, devono attenersi. Fra gli standard richiesti ci sono: risorse cliniche ed infrastrutture sufficienti, insieme a sostegno istituzionale adeguato, impegno educativo e idonei curricula dei docenti, il tutto in un ambiente conforme agli standard di sicurezza. La ACGME identifica, ancora, per ogni singola disciplina dei requisiti aggiuntivi specifici. Questi requisiti "speciali" comprendono: la ripartizione del lavoro degli specializzandi fra l'attività clinica e quella di ricerca; un

Traduzione italiana del testo di:
Stephen I. Wasserman
J Allergy Clin Immunol 2003;111:S774-8

corpo docente e risorse sufficienti per sostenere l'insegnamento e la ricerca; un volume di pazienti tale che il tirocinante possa fare esperienza di tutte le patologie specifiche, le procedure cliniche e diagnostiche di cui la specializzazione richiede padronanza. È compito della struttura mettere in luce opportunità particolari; di cui lo studente può usufruire; queste opportunità extra dovrebbero essere sempre disponibili. La conformità a questi standard è garantita dal monitoraggio regolare attraverso ispezioni sul campo sia alle Istituzioni che ai Dipartimenti/Divisioni che propongono il corso; il monitoraggio è effettuato da personale altamente specializzato. La Commissione di Revisione dell'Allergologia ed Immunologia, Residency Review Committee for Allergy and Immunology (RRC A/I), è costituita in egual misura da membri selezionati dall'ACGME e dall'American Board of Allergy and Immunology (ABAI). Le valutazioni di conformità rispetto agli standard di riferimento vengono inviate all'ACGME RRC A/I il quale, esaminato il rapporto dei revisori può: convalidare il programma di formazione per altri 5 anni, oppure suggerire come risolvere le specifiche mancanze, se il programma non soddisfa gli standard di riferimento, o costringere la scuola a cessare il programma.

La seconda organizzazione coinvolta nella formazione professionale è l'American Board of Allergy and Immunology (ABAI) che si occupa della certificazione dei singoli individui, a differenza dell'ACGME e dei suoi componenti della RRC A/I che accreditano programmi. La nascita della commissione risale alla prima decade del ventesimo secolo e la prima commissione di Allergologia è stata istituita nel 1941 come sottospecialità dell'American Board of Internal Medicine (ABIM). Nel 1944 l'American Board of Pediatrics (ABP) ha fatto altrettanto. Nel 1971 è nata una nuova Commissione Americana di Allergologia ed Immunologia³ (ABAI) che ha riunito i programmi degli allergologi-internisti e degli allergologi-pediatri in un comitato congiunto sostenuto sia da ABIM che da ABP. Dalla fondazione, l'ABAI ha diplomato più di 4000 medici. Inizialmente i diplomi rilasciati dall'ABAI non avevano scadenza ma dal 1989 la loro durata è stata limitata a 10 anni, dopo i quali è richiesta una nuova convalida. Nel 1986 ABAI, insieme a ABIM e ABP, ha dato vita ad un nuovo programma di specializzazione in immunologia diagnostica di laboratorio che, nel 1990, è stato rinominato immunologia clinica e di laboratorio. Anche la durata della certificazione in questa specialità è limitata nel tempo.

La terza organizzazione coinvolta, sia nell'acquisizione iniziale delle certificazioni di specialità che nella convalida delle stesse nel tempo, è l'American Board of Medical Specialties (ABMS), una affiliazione di tutte le commissioni certificanti approvate; essa funge da organismo centrale nella coordinazione delle linee di condotta e dell'attività delle singole commissioni che ne fanno parte. Recentemente l'ABMS e le relative commissioni costituenti, d'accordo con l'ACGME, si sono impegnate nell'identificare un insieme di competenze generali su cui basarsi per la valutazione dei medici. Queste competenze riguardano: la cura del

paziente, la conoscenza medica, la capacità di relazione interpersonale e la comunicazione, la professionalità, l'apprendimento ed il perfezionamento acquisito nella pratica quotidiana e la capacità di collaborare all'interno di un sistema sanitario. Ogni commissione e ogni programma di formazione deve attenersi a queste competenze per valutare la qualità delle prestazioni mediche in modo adeguato ad ogni specifica disciplina.

CERTIFICAZIONE INIZIALE

Prima del 1970 esistevano molte commissioni di specializzazione preposte alla valutazione clinica finale dello specializzando. L'esame per il diploma di specializzazione era diviso in due parti, la valutazione delle conoscenze riguardanti la specifica disciplina, monitorata da un supervisore, e la valutazione delle competenze cliniche durante le visite con i pazienti. Da quel momento in poi, l'ABIM e l'ABP non hanno più richiesto, come requisito per il diploma, la valutazione clinica diretta del paziente e anche l'ABAI ha adottato questa nuova modalità. Per l'ottenimento del titolo l'ABAI ha proposto, fin dalla sua fondazione, di basarsi su test di valutazione delle conoscenze, adeguati e statisticamente validi. Inoltre, per assicurare la qualità delle competenze cliniche dei futuri specialisti è stata istituita la figura del direttore di formazione (Training Program Director - TPD). Il rapporto fra specializzando e direttore di formazione è stato istituzionalizzato e, prima di concedere l'ammissione all'esame finale di specialità, l'ABAI deve avere la certezza che il candidato abbia soddisfatto gli standard previsti per uno specialista in Allergologia ed Immunologia. Formalmente, questa garanzia viene fornita da rapporti biennali che il direttore di formazione redige per l'ABAI. I rapporti valutano, mediante una scala a punti da uno a nove, le competenze cliniche del tirocinante nei settori della conoscenza medica, giudizio clinico, abilità nel raccogliere un'anamnesi e nel condurre un esame obiettivo, qualità umane, attitudini professionali, capacità di fornire cure adeguate utilizzando procedure idonee e test diagnostici, impegno nello studio e abitudini lavorative. Questi rapporti vengono integrati da un altro rapporto riguardante l'acquisizione di conoscenze specifiche, richieste per la pratica dell'Allergologia ed Immunologia, conoscenze la cui verifica è avvenuta, nel corso dei mesi, attraverso il monitoraggio da parte TPD. L'introduzione, nel prossimo futuro, della valutazione delle capacità del medico in base ai sei settori già elencati apporterà alcune variazioni nella compilazione dei rapporti, ma non modificherà la responsabilità fondamentale della valutazione da parte del TPD.

L'analisi dei risultati ottenuti, molto più che l'analisi del processo in sé, è l'indice migliore per valutare l'intero processo di formazione dello specializzando. Piuttosto che valutare il numero di ore dedicate ad una particolare attività, oppure calcolare il numero di procedure svolte o dei pazienti a cui è stata fatta una diagnosi corretta, ai TPD si richiede sempre di più la valutazione dell'acquisizione e della padronanza di abilità pratiche necessarie

nella disciplina. Questo nuovo approccio, basato sui risultati più che sul metodo, ha richiesto lo sviluppo di nuovi strumenti di valutazione, che per alcuni settori sono già disponibili o in via di validazione, mentre per altri non esistono ancora.

Cura del paziente

In alcune discipline, per una valutazione della capacità del medico è sufficiente un'attenta osservazione e un rapporto interpersonale con i membri del corpo docente. L'osservazione consente di valutare la capacità dello specializzando di offrire cure, attente, rispettose e appropriate sia nella gestione che nella prevenzione della malattia. L'osservazione può essere integrata da esercizi scritti in cui si revisionano la capacità decisionale, la capacità di programmare e di scegliere test diagnostici e procedure appropriate, la capacità di gestire un piano di lavoro. La presentazione e discussione di casi clinici in apposite sessioni di revisione può rappresentare un ulteriore strumento di valutazione. Per dimostrare che lo studente ha effettivamente affrontato numerose situazioni cliniche è possibile utilizzare delle liste apposite in cui si evidenziano le patologie esaminate. L'applicazione appropriata di misure di prevenzione, quali l'immunoterapia, può essere valutata tramite la cartella clinica o la lettera delle dimissioni del paziente, mentre l'abilità nell'esecuzione di procedure tecniche può essere valutata tramite l'osservazione diretta, da parte di personale esperto, insieme all'analisi di una tabella che raccoglie le indicazioni e le eventuali complicanze insorte. Per molte procedure potrebbero, presto, essere disponibili pazienti che simulano, o tecnologie virtuali di simulazione della realtà, potenzialmente molto utili per valutare sia le tappe dell'apprendimento che l'abilità acquisita.

L'osservazione del corpo docente può essere integrata dalla richiesta di informazioni sullo studente dal paziente o dalla sua famiglia. Nel caso di programmi educazionali di una certa durata è possibile richiedere il commento dei colleghi di specializzazione. Questa ultima modalità è stata validata nella valutazione delle capacità del medico specializzando in medicina interna.^{4,5}

Conoscenza medica

Il rendimento degli studenti, valutato da un esame i cui test sono statisticamente validati, ha permesso di definire l'apprendimento e l'appropriato utilizzo delle conoscenze mediche riguardanti discipline come la genetica, la farmacologia e l'epidemiologia. Prima di sottoporre gli studenti candidati a questi esami è fondamentale focalizzare l'attenzione sui livelli di conoscenza, identificando, attraverso verifiche durante lo stesso percorso di apprendimento, eventuali aree deboli. In ultimo, la capacità di giudizio analitico e critico può essere valutata attraverso la revisione delle cartelle cliniche dei pazienti e anche dal rendimento dello studente durante il corso degli studi.

Abilità di relazione interpersonale

La capacità di comunicazione e di relazione dell'allievo con i pazienti, inclusa la capacità di ascoltare anche i familiari, di fornire sostegno e consiglio, vengono valutate tramite osservazione diretta, in stanza, eventualmente integrata dall'analisi di registrazioni che permettono un giudizio sul rapporto medico/paziente. La soddisfazione di una serie di criteri predefiniti può essere valutata con una lista di verifica. Infine anche in questo caso si può ricorrere al riscontro del paziente stesso, sia direttamente che attraverso questionari.

Professionalità

La professionalità, uno dei sei settori prima elencati, merita sempre più attenzione nella nostra società spesso sottoposta a dilemmi di natura etica.⁶ Alcuni aspetti della professionalità sono già compresi in altri settori; per esempio l'impegno a essere competenti e colti è alla base sia della conoscenza medica che della cura del paziente, mentre l'impegno a migliorare la qualità dell'assistenza clinica rappresenta uno dei punti chiave dell'apprendimento e del miglioramento basati sulla pratica. Altri aspetti, quali l'onestà del medico, la riservatezza, la capacità di mantenere relazioni con pazienti e familiari, l'adeguato uso di risorse limitate, la capacità di gestione dei conflitti di interesse e la responsabilità professionale vanno considerati a parte e devono essere valutati indipendentemente. Le capacità, in questo senso possono essere valutate attraverso relazioni redatte dall'azienda ospedaliera, dai colleghi, dalle società professionali, dall'utenza stessa e, infine, anche dalle implicazioni medico legali. Il giudizio più utile per lo studente, anche ai fini pratici, è la valutazione del corpo docente, valutazione che, verosimilmente, può essere supportata da pareri dei colleghi, dei pazienti, degli infermieri, degli studenti ed di altro personale che interagisce con lo stesso.

L'apprendimento e il perfezionamento basato sulla pratica

L'apprendimento e il perfezionamento basato sulla pratica, sono una nuova area in cui vengono valutate le capacità acquisite dallo studente e per le quali, purtroppo, non sono ancora stati identificati validi strumenti idonei alla valutazione. Questo aspetto riflette la crescente attenzione, focalizzata a identificare e correggere eventuali errori metodologici e a fornire allo studente e tirocinante un metodo di apprendimento che duri tutta la vita. Per l'applicazione corretta di tale metodo è richiesta la rianalisi del proprio lavoro clinico/pratico ed il confronto con linee guida basate sull'evidenza, con guida pareri di esperti del settore o con dati ottenuti dai colleghi. Dopo le prime analisi e confronti, indipendentemente dal livello raggiunto, allo studente viene richiesto di sviluppare un piano per attuare un miglioramento la cui efficacia sia misurabile. Dopo una valutazione obiettiva del grado di miglioramento (ammesso che ci sia stato) un'analisi ulteriore e apposite modifiche del piano di perfezionamento sono utili per stabilire e raggiungere nuovi obiettivi, sempre in termini di apprendimento basato sulla pratica. Le tecniche disponibili per la valutazione includono

revisioni delle cartelle cliniche, osservazione dei comportamenti tenuti dagli studenti e impiego di prove specifiche e documentate, su tematiche precise (per esempio la scrittura di piani di cura per pazienti asmatici, appropriate prescrizione di glucocorticoidi inalatori). Fino ad oggi queste tecniche sono state utilizzate in vari processi ma la loro applicazione per la valutazione delle prestazioni degli studenti non è ancora diffusa ovunque.

Capacità di collaborare all'interno di un sistema sanitario (medicina sistemica)

Il sempre più complesso sistema di assistenza sanitaria, improntato al lavoro in team per la migliore cura possibile di ogni singolo paziente, ha portato all'identificazione di una nuova area di attività del medico: la capacità di collaborare all'interno di un sistema. In questo senso ci si aspetta che gli studenti specializzandi imparino a lavorare all'interno di un sistema sanitario complesso, venendo in contatto con tutti i settori dell'assistenza e della cura, e comprendano l'implicazione che ciascun settore ha nell'economia del sistema in toto e nel singolo paziente. I tirocinanti devono imparare ad accedere ai diversi servizi di supporto, gestiti da personale paramedico e da altri professionisti operanti nel campo medico, e ad accedere alle risorse assistenziali adeguate per ogni loro specifico paziente. Esempi in questo campo riguardano la pratica dell'allergologia ed immunologia includono: l'aiuto fornito a pazienti affetti da asma per ricevere farmaci non presenti nel prontuario, la capacità di interagire con i centri di infusione e il loro staff infermieristico, per la somministrazione di immunoglobuline endovena a pazienti con immunodeficienza umorale, lo sviluppo di programmi educativi per infermieri di medicina generale, che permetta loro di somministrare immunoterapia specifica negli ambulatori dei medici di medicina generale. Non esistono strumenti atti a valutare i tirocinanti in questo specifico settore. È possibile indagare le diverse capacità acquisite in quest'area attraverso l'interrogazione di coloro che interagiscono direttamente con il tirocinante, attraverso la revisione delle cartelle cliniche e attraverso esami che, effettuati nel corso degli studi, valutino la comprensione dei vari aspetti del sistema di assistenza sanitaria. Una efficace e appropriata assistenza, fornita a specifici pazienti, può essere documentata da appositi registri.

La valutazione complessiva delle competenze acquisite dagli allievi specializzandi in allergologia ed immunologia è competenza di una collaborazione fra la commissione e il TDP. La valutazione diretta della competenza clinica è delegata a chi mette in atto il programma di formazione professionale, mentre alla commissione spetta da un lato la responsabilità generale di giudicare i titoli del candidato e dall'altro di elaborare, gestire e validare esami sicuri per indagare le specifiche conoscenze. Questo sistema congiunto di controllo ha funzionato bene e i pazienti ricevono trattamenti adeguati dai nostri tirocinanti. La riorganizzazione del processo di valutazione nei sei diversi settori dell'attività clinica permetterà, nel prossimo futuro, una valutazione molto più sofisticata. Lo sviluppo di nuovi strumenti di valutazione che

tengano conto di tutte queste nuove aree (perfezionamento derivato dalla pratica quotidiana, capacità di collaborare all'interno di un sistema sanitario complesso) renderà la valutazione finale dello studente ancora più precisa, mettendo in risalto l'impegno a raggiungere i più alti livelli di professionalità che permetteranno solo ai clinici più qualificati di concludere il periodo di formazione.

RINNOVO DEL TITOLO DI SPECIALIZZAZIONE

Inizialmente non era necessario rinnovare il diploma di specializzazione che era valido durante l'intera vita professionale del medico; attualmente, però, questo sistema è considerato inammissibile. Fin dalla sua costituzione infatti l'American Board of Family Practice (ABFP) ha emesso solo diplomi limitati nel tempo, richiedendo agli specialisti una valutazione di conferma ogni sette anni.⁷ Questo perché, nell'ottica dei fondatori dell'ABFP, la rapida e continua espansione delle conoscenze mediche ha reso l'esame conclusivo del corso di formazione insufficiente a dimostrare la competenza e l'impegno per l'intera vita professionale del medico specialista. L'ABFP ha, infatti, riconosciuto che un esame unico non fosse sufficiente e ha introdotto una verifica del diploma attraverso l'uso di tabelle di revisione. Negli anni 80 altre commissioni di specializzazione hanno optato per sistemi simili, per esempio ABIM⁸ e ABP hanno cominciato, nel 1990, a rilasciare diplomi di specializzazione che necessitavano un rinnovo della verifica e un provvedimento analogo è stato preso dall'ABAI nel 1989. Tutte e tre le commissioni hanno adottato questa procedura per assicurare ai pazienti l'aggiornamento continuo dei medici in tema di competenza ed impegno. Per ragioni etiche e legali questo nuovo approccio è stato applicato solo agli specialisti diplomatisi a partire da una determinata data. Il dibattito, sviluppatosi durante il governo Clinton, sul sistema sanitario e le preoccupazioni del pubblico riguardo i cambiamenti nella gestione della cura, più improntata al raggiungimento di un risultato che all'esito della cura stessa, ha determinato una maggiore richiesta di responsabilità da parte della classe medica. Inoltre le organizzazioni adibite a valutare l'adeguatezza degli ospedali e dei piani sanitari, avendo constatato un'eccessiva diversità nell'utilizzo delle risorse⁹, hanno iniziato a cercare strumenti idonei per valutare la qualità della professione medica, implementando i piani di formazione. Al principio questi programmi erano più incentrati su aspetti di marketing e gestione del rischio, che non sulla ricerca di idonei e coordinati strumenti di valutazione che permettessero di analizzare le prestazioni mediche. Questi primi tentativi, però, sono serviti da esempio e hanno aperto la strada a sistemi di valutazione più estesi e sofisticati. A metà degli anni 90 l'Associazione Medica Americana aveva stilato un programma di accreditamento per i medici ma la preoccupazione che tale sistema non fosse idoneo alla valutazione indipendentemente, che già esercitavano, e l'elevato costo del progetto hanno ostacolato la sua attuazione. Questo tentativo, tuttavia, in linea con il nascente movimento di verifica del diploma

ha indotto a proporre un sistema più generale e indipendente che, guidato dagli stessi medici, perseguisse l'obiettivo di valutare le prestazioni dei medici nel contesto di una certificazione periodica.¹⁰ Era chiaro che questo sistema avrebbe fornito una garanzia, per i pazienti e per i medici stessi, assicurando un costante impegno all'aggiornamento continuo e al raggiungimento dei più elevati standard di professionalità nella pratica clinica. L'indipendenza delle commissioni, il fatto stesso che fossero guidati da medici e la loro attenzione nella valutazione, ha reso questo approccio ancora più logico e attraente. Dal momento che la valutazione continua in medicina è stata accettata, l'ABMS ha cominciato a sviluppare un programma di rinnovo del diploma, obbligatorio per tutte le scuole di specializzazione, che valuta la posizione professionale, l'aggiornamento continuo, l'autovalutazione, l'esperienza e le abilità pratiche di tutti i diplomati che intendono confermare il titolo di specialista. Questo programma incoraggia l'ABMS ed i suoi membri a lavorare a stretto contatto con le società professionali per sviluppare programmi educativi complementari e strumenti di valutazione pratica appropriati per ogni specifica disciplina. Tutti i programmi di rinnovo delle specializzazioni mirano ad aggiungere valore al medico che lo richiede attraverso "la semplificazione del lavoro necessario per la cura dei malati, il miglioramento della pratica, e della soddisfazione di pazienti, staff e singolo medico e lo snellimento degli stessi processi di valutazione, attraverso standard di riferimento, in grado di sostituirsi ai multipli processi di valutazione esistenti". La professionalità è valutata sulla base dell'assenza di restrizioni nell'abilitazione alla pratica della medicina e chirurgia; numerose commissioni richiedono, inoltre, rapporti di buona condotta da parte dell'ospedale e/o degli enti accreditanti in medicina.

L'apprendimento continuo e la capacità di autovalutazione possono essere gestiti in diversi modi: alcune commissioni di specialità concedono crediti per la partecipazione a programmi di educazione continua in medicina, altri hanno sviluppato metodi che permettono ai medici di interrogare le cartelle cliniche dei loro pazienti e valutare le loro stesse prestazioni, paragonandole a quanto previsto dalle normative nazionali, dalle linee guida basate sull'evidenza, o al parere di esperti del settore. L'ABIM ha lanciato un programma in cui la cartella clinica del paziente può servire a valutare la capacità di applicare strategie di prevenzione ed eventualmente, programmare una strategia di miglioramento. L'abilità nella pratica clinica può, inoltre, essere valutata tramite nuovi metodi collegati agli stessi programmi educazionali. Sempre l'ABIM, per esempio, ha creato un CD ROM il cui utilizzo permette ai medici di osservare segni clinici ed effettuare un esame obiettivo rispondendo a domande relative all'interpretazione di tali sintomi e segni. Infine società e commissioni possono sviluppare materiale educativo ed esami focalizzati sulle più recenti scoperte in termini di procedure, farmaci e approfondimenti clinici al fine di dimostrare che il candidato è al corrente delle ultime novità nella sua specialità. Al momento attuale, però, nessuna commissione esaminatrice per il rinnovo del titolo usa questi nuovi metodi nell'ambito della deci-

sione di promuovere o bocciare il candidato.

Il bagaglio di conoscenze è stato, per molto tempo, il criterio di valutazione delle commissioni esaminatrici. L'impiego di test adeguati e statisticamente validati, incentrati su aspetti clinici, obiettivi e rilevanti, è essenziale per fornire validità formale all'esame di conferma del titolo. Per assicurare una tale rilevanza alcuni commissioni, come ABAI e ABIM, hanno revisionato i test con medici esperti ed hanno classificato tutte le possibili domande in base al grado della loro attinenza e rilevanza clinica, scegliendo infine solo quelle risultate più idonee. È interessante notare che, in questa prospettiva, l'esame non si esaurisce con il test nozionistico, ma riguarda una valutazione globale dell'impegno del medico ad agire con elevati standard di qualità.

L'aspetto più difficile e stimolante, del programma di riconvalida del titolo di specialista è rappresentato dalla valutazione della pratica medica. Come per gli specializzandi, anche in questo caso, vengono presi in esame i sei settori di competenza generale della pratica medica (la cura del paziente, la conoscenza medica, la capacità di relazione interpersonale, la professionalità, il perfezionamento acquisito con la pratica e la capacità di collaborare all'interno di un sistema sanitario). L'ABMS ed i suoi membri hanno, come obiettivo principale, la valutazione del candidato già diplomato in relazione alla cura del paziente. Tali valutazioni si basano su linee guida di riferimento, sul consenso di esperti del settore e sulle indicazioni di colleghi: hanno lo scopo di paragonare la pratica del singolo con quella dei colleghi per permettere ai singoli medici di migliorarsi. I mezzi di valutazione dovrebbero essere statisticamente validati e in grado di analizzare ognuno dei sei ambiti di competenza, almeno una volta durante il ciclo di riconvalida del titolo. Questo ambizioso progetto è appena iniziato e, come per l'aggiornamento continuo, nessuna commissione utilizza questo strumento per promuovere o bocciare il candidato che richiede il rinnovo del titolo.

Numerose commissioni hanno sviluppato programmi innovativi per la valutazione dei settori di competenza; ad esempio, per l'aspetto della professionalità l'ABIM utilizza un metodo basato sulla valutazione da parte di pazienti e colleghi: il singolo medico può, infatti, chiedere ai propri pazienti e colleghi medici, con i quali ha rapporti di lavoro, di valutare le proprie capacità nell'ambito di una serie di comportamenti e funzioni cliniche. Queste valutazioni, poi, restituite al medico e messe a confronto con le norme specifiche per ogni disciplina, servono per impostare un piano di approfondimento e sviluppo in una qualsiasi area di interesse dello specialista.

Alcune commissioni stanno collaborando con coloro che sviluppano sistemi di modelli procedurali, come ad esempio la broncoscopia virtuale o la sigmoidoscopia con dispositivi flessibili, così da consentire ai medici di dimostrare la padronanza degli aspetti sia nozionistici che pratici della tecnica in esame.

Le abilità acquisite con la pratica ed il loro perfezionamento, fino ad oggi, venivano valutate tramite la revisione delle cartelle cliniche dei pazienti, mentre attualmente sono in sviluppo, per questo settore, programmi che

focalizzano l'attenzione sulle procedure di gestione di specifiche patologie (asma, diabete, scompenso cardiaco) e sull'attività di prevenzione.

CONCLUSIONI

La valutazione delle prestazioni mediche è la dimostrazione di un continuo impegno da parte dei medici ad attenersi ai più alti principi etici di professionalità. Gli obiettivi di tale valutazione consistono nell'assicurare ai pazienti competenza, aggiornamento e miglioramento delle prestazioni mediche. Durante la formazione specialistica iniziale questo processo è gestito dal corpo docente del programma di formazione, guidato dal TDP e coadiuvato dalla supervisione della commissione di diploma. Fino a poco fa, una volta che il medico cominciava la propria attività pratica di specialista, non esisteva una struttura analoga di controllo continuo della qualità delle prestazioni. Riconoscendone l'esigenza è stato sviluppato un programma con questa funzione basato sulla partecipazione del medico che autogestisce le fasi di apprendimento, valutazione e perfezionamento. L'impegno a seguire tali programmi di valutazione è la prova della fine dell'era del merito autoproclamato (se mai è esistita); siamo ormai entrati nell'era della responsabilità medica, la più alta manifestazione di professionalità.

BIBLIOGRAFIA

1. Institute of Medicine. In: Kohn L, Corrigan J, Donaldson J, editors. *To err in human: building a safer health system*. Washington (DC): National Academy Press; 2000.
2. Institute of Medicine Committee on Quality of Health Care in America. *Crossing the quality chasm: a new health system for the 21st century*. Washington (DC): National Academy Press; 2001.
3. Wasserman SI. The allergist in the new millenium. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:3-8.
4. Ramsey PG, Wenrich MD, Carline JD, Inui TS, Larson EB, LoGefro JP. Use of peer rating to evaluate physician performance. *JAMA* 1993; 269:1655-60.
5. Webster G. Final report of the patient satisfaction questionnaire project. Philadelphia (PA): American Board of Internal Medicine; 1989.
6. The ABIM Foundation, ACP-ASIM Foundation and European Federation of Internal Medicine. *Medical professionalism in the new millenium: a physician charter*. *Ann Intern Med* 2002;136:243-6.
7. The American Board of Medical Specialties Research and Education Foundation 2001 Annual Report and Referente Handbook. Evanston (IL): ABMS Evanston IL; 2001.
8. Glassok RJ, Benson JA, Copeland RB, Godwin HA Jr, Johanson WG Jr, Point W, et al. Time-limited certification and recertification: the program of the American Board of Internal Medicine. The task force on recertification. *Ann Intern Med* 1991;114:59-62.
9. Wennberg JD, Cooper MM. *The Dartmouth Atlas of Health Care in the USA*. Chicago (IL): AHA Press; 1999.
10. Wasserman SI, Kimball HR, Duffy FD. Recertification in internal medicine: a program of continuous professional development. *Ann Intern Med* 2000;133:202-8.
11. Editorial: Maintenance of Certification (MOC) Update. *The ABMS record* 2002;11:3-8.

Principali articoli di aggiornamento pubblicati dal Journal of Allergy and Clinical Immunology (2003-2008)

Consultation and referral guidelines citing the evidence:

How the allergist-immunologist can help

Michael Schatz, Donald Y.M. Leung, Stanley Goldstein

The Journal of Allergy and Clinical Immunology February

2006 (Vol. 117, Issue 2, Pages S495-S523)

