

INTERNATIONAL

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

2023 • Vol. 41 • SPECIAL EDITION

Carenze micronutrizionali e allergie
Micronutritional deficiencies and Allergies
Deficiencias de micronutrientes y alergias

Real-World Evidence nell'immunoterapia specifica
Real-World Evidence in Specific Immunotherapy
Real-World Evidence en Inmunoterapia Específica

**Nuove modalità di comunicazione
nelle malattie allergiche**
New modalities of communication in allergic diseases
*Nuevos modos de comunicación en relación
con las enfermedades alérgicas*

SPECIAL EDITION

FESTEGGIA CON NOI
CELEBRATE WITH US
CELÉBRALO CON NOSOTROS



NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

2023 • Vol. 41 • Special Edition

DIRETTORE RESPONSABILE
EDITOR IN CHIEF • DIRECTOR EDITORIAL
Gianni Mistrello

REDAZIONE
EDITORIAL STAFF • REDACCIÓN
Lorenzo Romagnoli

PROGETTO GRAFICO
GRAPHIC DESIGN • DISEÑO GRÁFICO
Maura Fattorini

STAMPA
PRINT • IMPRENTA
Àncora Arti Grafiche
via Benigno Crespi, 30 - 20159
Milano, Italia • Milan, Italy



AMMINISTRAZIONE
ADMINISTRATION • ADMINISTRACIÓN

Lofarma S.p.A.
Viale Cassala 40, 20143
Milano, Italia • Milan, Italy
tel. +39 02 581981
fax +39 02 8322512
e-mail: redazione@lofarma.it
www.lofarma.it
www.lofarma.com

Registrazione Tribunale di Milano n. 306 dell' 1.8.1980
Pubblicazione quadrimestrale

Registration with the Court of Milan n. 306 of 1.8.1980
Four-monthly publication

Registro en el Tribunal de Milán n. 306 de 1.8.1980
Publicación cuatrimestral

Il Notiziario Allergologico è on-line su
The Notiziario Allergologico is on-line at
El Notiziario Allergologico está en-línea en

www.lofarma.it

COPERTINA • COVER • PORTADA



*Festeggia con noi
Celebrate with us
Celebralo con nosotros*

La magia degli spettacoli pirotecnici che illuminano il cielo notturno in un tripudio di colori, scie luminose e fontane sfavillanti affascina sempre lasciando tutti con uno sguardo all'insù pieno di stupore e meraviglia. Essi sono generalmente associati al festeggiamento e alla celebrazione rappresentando un simbolo di festa, di gioia, di allegria, ma anche un segno di buon augurio preannunciando l'arrivo di un'occasione speciale da condividere con gli altri.

L'immagine di fuochi di artificio usata per la cover di questo numero del Notiziario Allergologico è stata scelta proprio per preannunciare l'arrivo di un'occasione speciale nella storia di questa rivista rappresentata in questo caso dalla sua internazionalizzazione con la traduzione dei testi in spagnolo e inglese. Tutto ciò nella convinzione che il suo apprezzamento possa estendersi non solo in Italia ma anche in altri Paesi. Finalità della rivista è quella di offrire alla classe medica uno strumento di approfondimento scientifico su tematiche legate al mondo dell'allergologia. Questo grazie alla pubblicazione di articoli di carattere divulgativo da parte di autori di consolidata autorevolezza e competenza che potranno appagare la curiosità, l'interesse, il desiderio di aggiornamento di un numero sempre crescente di medici (questo è il nostro auspicio), non necessariamente specialisti in materia.

The magic of fireworks displays lighting up the night sky in a riot of colours, light trails and sparkling fountains always fascinates, leaving everyone with an upturned gaze full of awe and wonder. They are generally associated with feasting and celebration, representing a symbol of festivity, joy and merriment, but also a sign of good luck heralding the arrival of a special occasion to be shared with others.

The image of fireworks used for the cover of this issue of the Notiziario Allergologico was chosen precisely to highlight a special occasion in the history of this journal, represented in this case by its internationalisation with the translation of the texts into Spanish and English. All this in the belief that its appreciation may extend not only in Italy but also in other countries. The aim of the journal is to offer the medical profession an in depth scientific tool on topics related to the world of allergology.

This is thanks to the publication of popular articles by authors of established authority and competence that will satisfy the curiosity, interest, and desire to keep up to date of a growing number of doctors (this is our hope), not necessarily specialists in the subject.

La magia de los fuegos artificiales que iluminan el cielo nocturno con un derroche de colores, estelas de luz y fuentes centelleantes siempre fascina, dejando a todo el mundo con la mirada al cielo, llena de asombro y maravilla. Generalmente se asocian con la fiesta y la celebración, representando un símbolo de festividad, alegría, jovialidad, pero también un signo de buena suerte que anuncia la llegada de una ocasión especial para compartir con los demás.

Hemos elegido la imagen de los fuegos artificiales utilizada para la portada de este número del Notiziario Allergologico precisamente para destacar una ocasión especial en la historia de esta revista, representada en este caso por su internacionalización con la traducción de los textos al español y al inglés. Lo hicimos porque estamos convencidos de que nuestra publicación puede apreciarse más allá de Italia, también en otros países. El objetivo de la revista es proporcionar a la profesión médica una herramienta de profundización científica sobre temas relacionados con el mundo de la alergología.

Contamos con lograrlo publicando artículos de carácter divulgativo escritos por autores de reconocida autoridad y competencia, que podrán satisfacer la curiosidad, el interés y el deseo de estar al día de un número creciente de médicos (este es nuestro deseo), que no necesariamente deben ser especialistas en la materia.

INDICE

Notiziario Allergologico, 2023 Vol. 41, Special Edition

EDITORIALE

2

Gianni Mistrello



AGGIORNAMENTI

Carenze micronutrizionali e allergie

4

Franziska Roth-Walter

Real-World Evidence nell'immunoterapia specifica

14

Giovanni Paoletti

Nuove modalità di comunicazione nelle malattie allergiche

23

Erisa Putro, Mario Lecce, Rosa Molfetta e Rossella Paolini



RECENSIONI

Diete vegane da un punto di vista allergologico

32

Reese I. et al.

Uno straordinario caso di dermatite da contatto da nichel

33

Malinauskiene L.

Un insolito caso di allergia respiratoria professionale

34

Sander I. et al.

Skin prick test o test molecolari nello screening delle allergie respiratorie?

36

Gureczny T. et al.



LOFARMA ACADEMY

Franco Frati

Un approccio innovativo alla divulgazione culturale sul tema AIT per i giovani specializzandi in Allergologia e Immunologia clinica d'Italia (EAACI 2023)

38

Immunoterapia specifica: certezze ed aspettative per i giovani allergologi

39

Notiziario Allergologico

VERSIONE PDF

Il **Notiziario Allergologico** nasce e vive da oltre quarant'anni. Oggi diventa internazionale con una nuova veste grafica che prevede la traduzione di tutti i contenuti in tre lingue. La finalità rimane immutata se non implementata: promuovere la cultura allergologica offrendo ai lettori la possibilità di un approfondimento e di un aggiornamento su varie tematiche allergologiche anche rivolte al futuro, grazie alla competenza e autorevolezza degli autori degli articoli pubblicati. Il carattere divulgativo degli articoli contribuisce a rendere gli stessi fruibili da un vasto numero di specialisti non solo allergologi ma anche pneumologi, pediatri, dermatologi etc.



ITALIANO



EDITORIALE

a cura di Gianni Mistrello

Con questo numero del Notiziario Allergologico, fondato circa 40 anni fa dal compianto Dottor Falagiani prematuramente scomparso nel 2011, si inizia una nuova avventura. Mentre la veste grafica della rivista è cambiata varie volte fino ad arrivare a quella odierna, al contrario non è mai mutata la finalità per cui la rivista è nata e cioè quella di promuovere la cultura allergologica distinta da una informazione di mera propaganda, offrendo ai lettori la possibilità di un approfondimento e di un aggiornamento su varie tematiche allergologiche anche rivolte al futuro, grazie alla competenza e autorevolezza degli autori degli articoli pubblicati. Il carattere divulgativo degli articoli ha consentito di rendere gli stessi fruibili da un vasto numero di specialisti non solo allergologi ma anche pneumologi, pediatri, dermatologi ecc. operanti in Italia. Una parte della rivista comprende inoltre la recensione di una selezione di articoli o case report tratti da pubblicazioni scientifiche, che per la loro originalità si ritiene meritevoli di essere portati all'attenzione dei lettori. In questo numero si aggiunge uno spazio (Rubrica Lofarma Academy) riservato ai futuri specialisti che potranno usarlo per raccontare le prime esperienze maturate sul campo, ovvero per aprire un dialogo non solo con i professionisti e l'industria del settore per migliorare le proprie conoscenze, ma anche con colleghi delle varie Scuole di Specializzazione per scambiarsi informazioni su quanto appreso durante il proprio percorso accademico ed eventualmente per proporre iniziative che possano renderlo il più formativo possibile.

La parte però più innovativa, che rappresenta per noi una sorta di sfida, è l'internalizzazione della rivista per cui i testi verranno tradotti anche in spagnolo e in inglese e la rivista distribuita gratuitamente non solo in Italia ma anche in altri Paesi, nella speranza che la stessa possa suscitare analogo interesse, e quindi diventare uno strumento di divulgazione allergologica al di fuori del contesto nazionale grazie, anche (così mi auguro) al coinvolgimento di autori stranieri.

Questo numero inizia con un interessante contributo della dottoressa Roth-Walter (Università di Vienna, Austria) su micronutrienti e allergia. "Lascia che il cibo sia la tua medicina", scriveva Ippocrate 2000 anni fa. Come noto il cibo è costituito da macronutrienti (zuccheri, grassi e proteine) e micronutrienti (vitamine, minerali oligoelementi), che sono altrettanto essenziali. Recentemente è stato osservato che una carenza prolungata di alcuni micronutrienti (ferro, zinco, vitamina A) potrebbe favorire uno stato di infiammazione cronica e agire sul sistema immunitario rendendolo particolarmente iper-reattivo. Tutto questo favorirebbe una risposta immunitaria esagerata che contribuirebbe allo sviluppo di uno stato atopico, anche perché verrebbe nel contempo inibito l'assorbimento in particolare del ferro da parte di alcune cellule immunocompetenti. L'articolo prosegue con la descrizione di un originale approccio clinico sviluppato dal gruppo austriaco per compensare la carenza di ferro per poi dimostrare come una reintegrazione dello stesso si tradurrebbe in una riduzione dei sintomi e del consumo di farmaci in pazienti affetti da pollinosi.

Gli studi clinici randomizzati (randomized clinical trials o RCTs) rappresentano il ‘gold standard’ ai fini di dimostrare la sicurezza e l’efficacia di un medicinale. Tuttavia, a causa degli stretti criteri di inclusione di questi trials, la popolazione iper-selezionata arruolata negli stessi potrebbe non rispecchiare a pieno la popolazione del mondo reale che affersce quotidianamente agli ambulatori allergologici. Questo risulta particolarmente critico nel caso di RCTs effettuati con la immunoterapia allergene-specifica (AIT) che prevedono tra l’altro tempistiche di trattamento diverse da quelle applicate nella reale pratica clinica. Da qui l’importanza degli studi in real life, oggetto del contributo del Dottor Paoletti (Humanitas IRSSR, Rozzano, Italia). Tali studi si basano su dati provenienti dal ‘mondo reale’ (Real World Evidence, RWE), raccolti nel corso della reale pratica clinica applicata su una popolazione decisamente più numerosa. I risultati di sicurezza ed efficacia acquisiti in questi studi sarebbero quindi più generalizzabili soprattutto se non riadattati retrospettivamente a tale scopo.

Per sottolineare il crescente interesse che gli studi di RWE sull’AIT stanno assumendo, l’autore osserva che anche l’EMA (Agenzia Europea del farmaco) sarebbe in procinto di riconoscere che anche dati derivati da questi studi possano rappresentare fonti di evidenza clinica complementare e potrebbero quindi essere usati a supporto sia nella fase di pre-autorizzazione che post-approvazione dei prodotti AIT.

Concludiamo con un articolo del gruppo coordinato dalla Prof.ssa Paolini (Università La Sapienza, Roma, Italia)

che descrive nella maniera più divulgativa possibile il ruolo di particolari microstrutture rilasciate dalle cellule nella matrice extracellulare. Grazie al progredire delle conoscenze, si è dimostrato che queste strutture (in particolare microvescicole ed esosomi) rappresentano dei sofisticati messaggeri intercellulari in grado di modulare mediante il rilascio di molecole bioattive di varia natura, il comportamento delle cellule riceventi, contribuendo così alla regolazione di varie funzioni biologiche. Queste microstrutture sono prodotte da una vasta gamma di cellule e contengono una serie di molecole bioattive. Il gruppo di studio si è soffermato in particolare su quelle rilasciate dai mastociti, le principali cellule effettrici responsabili della risposta allergica. In base agli stimoli forniti dal microambiente la composizione delle vescicole prodotte dai mastociti può cambiare e determinare risposte biologiche distinte che possono o meno promuovere il processo infiammatorio associato alle malattie allergiche. Il gruppo di studio conclude il suo articolo sottolineando come le potenzialità di queste microstrutture potrebbero essere sfruttate sia a fini diagnostici come possibili biomarker di varie patologie che a fini terapeutici favorendo, dopo opportuna ingegnerizzazione delle stesse, la veicolazione di principi attivi solo verso determinate cellule bersaglio. Per quanto riguarda le recensioni, segnalo il curioso case report relativo a “meteoriti e allergia”.

Auguro a tutti una buona lettura.

Gianni Mistrello



Carenze micronutrizionali e allergie

Franziska Roth-Walter

Istituto di ricerca interuniversitario Messerli
dell'Università di Medicina Veterinaria
di Vienna, Università di Medicina di Vienna
e Università di Vienna, Austria,
Istituto di Fisiopatologia e Ricerca sulle Allergie
dell'Università di Medicina di Vienna.

INTRODUZIONE

È essenziale rendersi conto che non tutte le persone diventano allergiche. Nonostante l'esposizione agli stessi alimenti e fattori ambientali, il sistema immunitario dei soli individui atopici risponderà in modo eccessivo alle molecole allergeniche e ai fattori ambientali scatenanti. Pertanto, è fondamentale comprendere le condizioni che rendono "ipersensibile" il sistema immunitario degli individui atopici.

Poiché molte carenze micronutrizionali sono collegate allo stato atopico, al priming immunitario e all'infiammazione, in questa sede vengono fornite prove sull'impatto delle carenze nutrizionali nei soggetti allergici.

Questa rassegna si concentrerà principalmente sulla biodisponibilità dei micronutrienti ferro, zinco e vitamina A come modulatori chiave delle cellule immunitarie e sulla loro prevalenza nei soggetti atopici. Verrà discusso il ruolo degli allergeni come leganti dei nutrienti e le strategie nutrizionali cliniche volte a prevenire le carenze micronutrizionali per il miglioramento dei sintomi allergici.

SOMMARIO

Parole chiave

• allergia • atopia • carenze micronutrizionali • ferro • zinco • vitamina A • Th2 • IgE • linfa

Le persone che soffrono di dermatite atopica, allergia alimentare, rinite e asma sono afflitte da carenze micronutrizionali. Queste carenze possono contribuire allo stato atopico, poiché carenze prolungate di minerali come ferro, zinco e vitamina A sono legate a infiammazione, un profilo Th2, maturazione di cellule presentanti l'antigene e generazione di anticorpi IgE. Per contro, un apporto adeguato di questi micronutrienti favorisce la formazione di cellule immunitarie con un fenotipo regolatorio e tollerante. Verranno qui brevemente discusse le diverse vie di assorbimento alimentare di questi micronutrienti fino ai vasi sanguigni o linfatici, nonché la loro biodisponibilità in condizioni di buona salute e infiammazione. In generale, l'assorbimento di ferro, zinco e vitamina A avviene attraverso entrambe le vie, con l'infiammazione che ne ostacola l'assorbimento alimentare nella circolazione sanguigna. Saranno trattate brevemente le caratteristiche principali di queste carenze di minerali e vitamine, così come il loro noto impatto preclinico e clinico sulle cellule immunitarie. Inoltre, verrà riassunta la prevalenza di queste carenze nei soggetti atopici. Sarà provato che i principali allergeni sono effettivamente in grado di legarsi ai micronutrienti, il che può spiegare la capacità di queste poche famiglie di proteine allergeniche di attivare il sistema immunitario in condizioni di scarsità di nutrienti. Per contro, il legame con questi micronutrienti, come dimostrato con la proteina lipocalina beta-lattoglobulina (holoBLG) - la principale proteina del siero del latte - favorisce la tolleranza fornendo questi preziosi micronutrienti alle cellule immunitarie. Infine, riassumeremo gli studi clinici di intervento nutrizionale nelle malattie atopiche che sfruttano la via linfatica per migliorare i sintomi allergici nei pazienti con rinite allergica all'acaro della polvere domestica, al polline di betulla e di graminacee e ai gatti, studi che evidenziano come la via linfatica rappresenti un approccio dietetico nuovo e causale per combattere l'atopia.



Figura 1

I macrofagi sono fondamentali per la risposta immunitaria

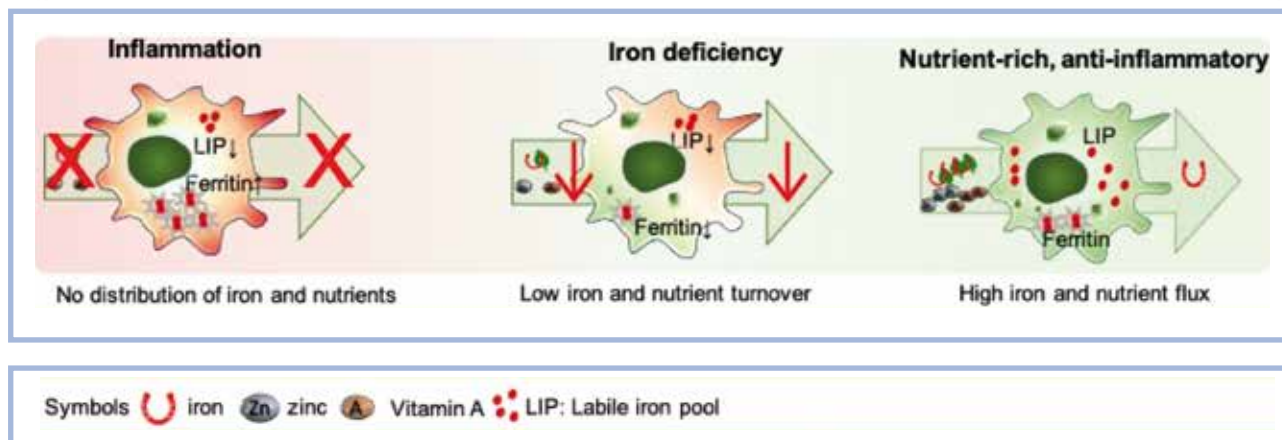


Figura 1. I macrofagi sono fondamentali per la risposta immunitaria, ma forniscono inoltre ai tessuti circostanti nutrienti come il ferro. In caso di infiammazione, tuttavia, l'assorbimento e l'apporto di ferro vengono ridotti e anche a livello intracellulare il contenuto di ferro citosolico, denominato pool di ferro labile (LIP) e che rappresenta il ferro metabolicamente attivo, diventa minore a causa dell'incorporazione nella ferritina. Le carenze nutrizionali simulano un'infiammazione, poiché anche in questo caso il LIP è minore, il che mette in allarme i macrofagi e li rende più inclini all'infiammazione. Per contro, i macrofagi ricchi di nutrienti agiscono in modo antinfiammatorio e hanno un LIP elevato per rifornire i tessuti circostanti di nutrienti.

1. Le carenze micronutrizionali "funzionali" favoriscono l'infiammazione

In generale, le carenze micronutrizionali sono legate a infiammazione e patologie, e ciò è particolarmente evidente nel caso del ferro. Il centro di distribuzione del ferro nel nostro corpo sono i macrofagi. In effetti, solo i macrofagi antinfiammatori distribuiscono il ferro e dispongono di un ampio pool di ferro metabolicamente attivo. Al contrario, i macrofagi pro-infiammatori non partecipano al sequestro o all'esportazione del ferro e riducono intracellularmente il loro ferro metabolicamente attivo incorporandolo nella fer-

ritina (1). A livello intracellulare, il ferro metabolicamente attivo è rappresentato dal pool di ferro labile (Labile Iron Pool, LIP) (Figura 1).

Infatti, la carenza di ferro a livello nutrizionale è associata a un'infiammazione di basso grado (2). La carenza di ferro è legata alla proteina C-reattiva (C-Reactive Protein, CRP) e a livelli elevati di IgE (3)-indipendentemente dalla causa, che è associata a un profilo più pro-infiammatorio nel compartimento delle cellule monocitiche dei bambini (4) e dei neonati (5) con carenza di ferro. Inoltre, anche i mastociti cutanei sono sensibili al chelante del ferro Desferal (desferrioxamina) che porta alla loro degranulazione e al rilascio di me-

diatori infiammatori, mentre l'apporto di ferro con transferrina saturata di ferro, lattoferrina e beta-lattoglobulina (holoBLG) impedisce la degranulazione dei mastociti (3,6,7).

Inoltre, la carenza di zinco è stata collegata a perdita di tolleranza orale e infiammazione della mucosa (7) ed è noto che una grave carenza di zinco provoca chiazze cutanee rosse ed eczematose (8), mentre lo zinco favorisce anche la produzione di cellule T regolatorie e sopprime le citochine pro-infiammatorie (7).

Analogamente, la carenza di vitamina A promuove l'infiammazione ed è associata a un aumento dei livelli di IFN- γ e di CRP (3,7,9). Gravi carenze di vitamina A



sono anche associate a profilo Th2, livelli elevati di IgE (7) e aumento della mortalità in vivo (7). Per contro, l'integrazione orale con carotenoidi inibisce la sensibilizzazione orale e l'allergia alimentare in studi preclinici (10,11), e una quantità sufficiente di vitamina A favorisce la for-

mazione di cellule T-regolatorie e cellule B immature e stabilizza i mastociti in vivo (7).

Pertanto, in condizioni di restrizione nutrizionale, le cellule immunitarie vengono innescate e promuovono l'infiammazione. Al contrario, in condizioni di stato

nutrizionale normale si instaura una tolleranza immunitaria con cellule presentanti l'antigene, come le cellule dendritiche e i linfociti B, mantenute immature, con la promozione della produzione di linfociti T regolatori e la stabilizzazione dei mastociti (Figura 2).



Figura 2

Le carenze micronutrizionali stimolano le cellule immunitarie

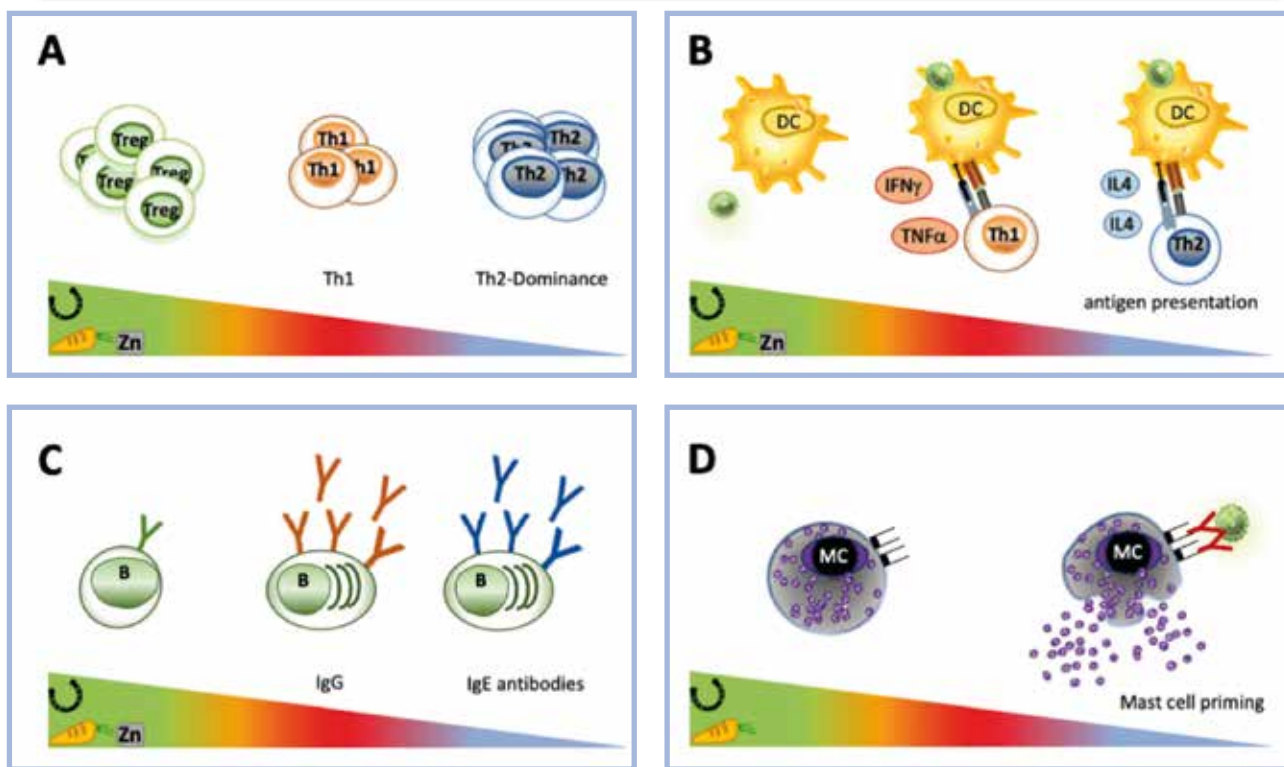


Figura 2. Le carenze micronutrizionali stimolano le cellule immunitarie. In un ambiente ricco di nutrienti **A.** viene promossa la produzione di cellule T regolatorie, mentre **B.** le cellule dendritiche (DC) e **C.** i linfociti B non si differenziano e **D.** i mastociti si stabilizzano e sono meno inclini a degranulare. Per contro, la mancanza di ferro, zinco e vitamina A può portare all'attivazione immunitaria e determinare **A.** una risposta immunitaria dominata dalle cellule Th1 con **B.** maturazione efficace delle DC e presentazione dell'antigene e **C.** generazione di anticorpi IgG. Solo quando queste carenze persistono, si genera un ambiente Th2 a causa della maggiore capacità di queste cellule di sopravvivere in condizioni di carenza di nutrienti, con una produzione di anticorpi spostata verso le IgE. **D.** Localmente, la deplezione di ferro è sufficiente per il priming dei mastociti e per evocare la degranolazione, mentre in condizioni di ricchezza del nutriente la disponibilità dei mastociti a degranulare è ostacolata.



2. Biodisponibilità di ferro, zinco e vitamina A allo stato stazionario e in caso di infiammazione

L'assorbimento dei nutrienti attraverso l'alimentazione può seguire due vie principali: l'assorbimento passa attraverso gli enterociti direttamente al sistema sanguigno e attraverso la vena porta al fegato, oppure l'assorbimento può avvenire attraverso il sistema linfatico bypassando il fegato. In questo caso, le molecole alimentari entrano in circolo attraverso la vena succlavia.

La maggior parte dei nutrienti sono biodisponibili attraverso entrambe le vie. Tuttavia, in condizioni di infiammazione, la "via del sangue" è solitamente bloccata per la vitamina A, il ferro e lo zinco (7). Inoltre, molte proteine alimentari, come le proteine del siero del latte che di solito appartengono al braccio di difesa innata, sono note per entrare nel corpo attraverso i vasi linfatici (7).

In generale, l'assorbimento del ferro ha luogo nel duodeno e nella parte superiore del digiuno ed è favorito da vitamina C, latticini e grassi. Al contrario, fitati e tannini legano il ferro e ne ostacolano l'assorbimento (12). Sebbene sia stato riportato che il calcio impedisce l'assorbimento del ferro, ciò sembra essere vero solo in caso di assunzione di quantità eccessivamente elevate di calcio (13). Studi clinici hanno dimostrato che, in presenza di infiammazione di basso grado, l'aggiunta di vitamina A migliora l'assorbimento del ferro alimentare nelle ragazze adolescenti (14).

La biodisponibilità dello zinco migliora

con le proteine e i citrati, mentre i fitati e il calcio alimentare ne inibiscono l'assorbimento. Lo zinco può anche competere per l'assorbimento con altri minerali traccia, come il ferro e il rame, ma solo quando questi sono presenti in quantità elevate. In caso di infiammazione, i livelli di zinco nel sangue (siero) diminuiscono a causa di un maggiore immagazzinamento nel fegato e un ridotto assorbimento alimentare (7).

I retinoidi e le provitamine vengono assorbiti nel lume intestinale e convertiti in esteri di retinile e impacchettati in chilomicroni per essere assorbiti attraverso i vasi linfatici. Il tasso di conversione del beta-carotene in retinil-estere è di 12:1, mentre per gli altri carotenoidi della provitamina A è di 24:1, piuttosto basso (7,9). Tuttavia, l'aggiunta di olio può aumentarne notevolmente la biodisponibilità migliorando l'assorbimento linfatico. A differenza del retinil-estere, il retinolo viene trasportato prevalentemente attraverso il flusso sanguigno ai tessuti bersaglio, come la retina. È importante notare che l'assorbimento del retinolo viene compromesso durante l'infiammazione.

3. Micronutriente ferro

La carenza di ferro è la carenza di nutrienti più comune al mondo, e si stima che colpisca 1,4 miliardi di persone in tutto il mondo. La prevalenza della carenza di ferro è maggiore nei bambini al di sotto dei 5 anni, negli adolescenti e nelle donne in età fertile; la prevalenza globale di anemia e carenza di ferro è stata riportata per il 2022 rispettivamente al 16% e al 18% (15).

Solo nei casi più gravi, la carenza di ferro porta ad anemia, bassa funzione immunitaria, deterioramento cognitivo nei bambini, parto prematuro e basso peso alla nascita nei neonati, ed è anche associata a un aumento della mortalità (7,9).

È importante notare che esistono due tipi di carenza di ferro: oltre alla forma estrema di anemia da carenza di ferro - definita da bassi livelli di emoglobina - esiste anche una "carenza funzionale di ferro". In quest'ultimo caso, il "ferro metabolicamente attivo" è ridotto e l'infiammazione è sempre presente. In questo caso, le riserve di ferro dell'organismo possono essere adeguate, ma il ferro non è accessibile, perché è immagazzinato nella ferritina delle cellule reticoloendoteliali, costituite principalmente da macrofagi e monociti (3) (Figura 2). In effetti, nei soggetti affetti da malattie infettive, infiammatorie o maligne è stata segnalata una carenza funzionale di ferro. Inoltre, possono soffrire di carenza funzionale di ferro gli atleti ad alte prestazioni - a causa dell'infiammazione indotta dall'esercizio fisico - e le persone obese - a causa della presenza di infiammazione di basso grado (3).

In caso di "carenza funzionale di ferro", i livelli di ferritina sono normali o elevati e variano da 30 a 500 µg/, mentre i valori di saturazione della transferrina (TSAT) sono inferiori al 20% e, a seconda della gravità dell'infiammazione, i marcatori infiammatori come la CRP (per l'infiammazione di basso grado, la CRP ad alta sensibilità) o la glicoproteina α1-acida (α1-acid glicoprotein, AGP) sono elevati (16).



3.1 Carenza di ferro e malattie allergiche

Esistono prove inconfutabili che i bambini e gli adulti affetti da malattie atopiche presentino una "carenza funzionale di ferro" (17) o siano anemici (3). Studi epidemiologici negli Stati Uniti (18), Corea (19) e Giappone (20) hanno attestato che i bambini affetti da respiro sibilante, rinite/congiuntivite allergica e dermatite atopica hanno una probabilità fino a 8 volte maggiore di essere anemici rispetto ai bambini senza allergie. Studi più contenuti hanno riportato un'alta prevalenza di carenze di ferro e zinco nei bambini con dermatite atopica, con un basso livello di ferro sierico associato a una diminuzione della funzionalità polmonare (3,7,9).

L'aumento del rischio di allergia si trasmette dalle donne in gravidanza ai loro figli: un buon livello di ferro durante la gravidanza è associato a un rischio minore per il bambino di soffrire di dermatite atopica o asma, mentre un livello inferiore è associato a respiro sibilante, diminuzione della funzionalità polmonare e sensibilizzazione atopica nel bambino (3,6,7). Per contro, la supplementazione di ferro durante la gravidanza in combinazione con acido folico è stata associata da Fortes C (21) a un rischio quattro volte ridotto di dermatite atopica, mentre Shaheen SO (22) ha calcolato nel follow-up di uno studio clinico randomizzato in Finlandia che l'integrazione di ferro durante la gravidanza ha ridotto significativamente il rischio di asma di quasi il 70% nei figli di madri asmatiche (22). Inoltre, abbiamo potuto dimostrare che l'apporto di ferro alimentare per sei mesi per l'assorbimento

linfatico in donne allergiche al polline di betulla e di graminacee ha portato a un miglioramento del 40% nei sintomi della rinite allergica e a un miglioramento dello stato del ferro (23).

Non solo la prevalenza dell'anemia è maggiore nei soggetti allergici, ma anche la tendenza a sviluppare anemia è più alta nei soggetti atopici. Infatti, gli asmatici senza anemia hanno un rischio 5 volte maggiore di svilupparla entro 5 anni (24) e i bambini allergici a 2 anni hanno un rischio quasi doppio di anemia entro un anno (20).

In sintesi, la carenza di ferro è comune nei soggetti atopici e il rischio di anemia è maggiore nei soggetti allergici. È importante notare che un miglioramento dello stato del ferro è stato costantemente associato a una riduzione dei sintomi e delle malattie allergiche.

4. Carenza di zinco

La mancanza di un marcatore affidabile e ampiamente accettato per lo stato dello zinco rende difficile stimare con precisione il numero di persone che ne sono carenti, con una stima del 20% della popolazione mondiale a rischio di carenza di zinco (9). I livelli di zinco nel plasma, nel siero, nei capelli e negli eritrociti non sono abbastanza sensibili per rilevare una carenza di zinco lieve o moderata.

La carenza di zinco è strettamente legata a quella di ferro, poiché entrambi i minerali si trovano in alimenti simili (carne, pollame, pesce) e sono entrambi inibiti dai fitati. Tuttavia, a differenza del ferro, lo zinco non è influenzato dalla perdita di sangue.

4.1 Carenza di zinco e malattie allergiche

Gli studi sulla carenza di zinco non hanno associato questo minerale ad atopia nei bambini (7) né è stato dimostrato che l'assunzione di zinco da parte della madre riduca il rischio di malattie allergiche (25), respiro sibilante o eczema nella prole (26). Tuttavia, l'assunzione materna di zinco durante la gravidanza è associata a una migliore funzionalità polmonare (7) nel bambino e a minori probabilità di respiro sibilante durante l'infanzia, ma non a malattie atopiche o asma. Tuttavia, bassi livelli di zinco nel siero, nei capelli e nei globuli rossi sono costantemente riportati nelle persone con dermatite atopica (7), anche se i livelli di zinco non cambiano con la gravità della malattia. Nelle persone con asma atopica, bassi livelli di zinco sono associati a livelli più elevati di IgE totali (27). Una meta-analisi di studi ha rilevato che una diminuzione dei livelli di zinco e selenio è associata a un aumento del rischio di asma (28).

Pertanto, sebbene la carenza di zinco non sia direttamente collegata allo sviluppo di allergie, la sua disponibilità diminuisce nelle persone affette da patologie atopiche, probabilmente a causa di un'infiammazione di basso grado.

Le integrazioni di zinco per le malattie atopiche sono ancora controverse, con alcuni studi che provano un miglioramento della dermatite atopica rispetto all'assenza di integrazione e altri no (7). Uno studio ha mostrato un effetto benefico sull'asma infantile con integrazione di zinco per 8 settimane, che ha portato a un miglioramento dei sintomi clinici



e della funzionalità polmonare, ma non dei livelli totali di IgE (29).

Nel complesso, le prove sulla relazione tra zinco e malattie atopiche sono contrastanti. Ulteriori ricerche sono necessarie per chiarire il ruolo dello zinco nello sviluppo e nella progressione di queste patologie.

5. Micronutriente Vitamina A

L'OMS stima che circa 250 milioni di bambini in età prescolare in tutto il mondo abbiano bassi livelli sierici di vitamina A subclinici o clinicamente rilevanti, mentre la supplementazione di vitamina A è associata a una riduzione della "mortalità per tutte le cause", in particolare nei bambini (7,9).

La vitamina A è essenziale per molte funzioni corporee, tra cui la vista, l'integrità del tessuto epiteliale e l'immunità. Forme gravi di carenza di vitamina A possono manifestarsi con segni clinici oculari come cecità notturna e xerofthalmia. Per contro, la carenza subclinica di vitamina A è legata a un peggioramento dell'esito e del decorso della malattia in una serie di condizioni ed è associata a carenza di ferro e infiammazione (3,7,9).

5.1 Carenza di vitamina A nelle malattie allergiche

La carenza di vitamina A nel periodo neonatale e nella prima infanzia è associata al successivo sviluppo di allergie (7). Studi condotti su bambini affetti da dermatite atopica hanno riportato livelli sierici di retinolo significativamente più bassi e un'alterata segnalazione retinoide-mediata

Figura 3 Approccio dietetico linfoide con holoBLG

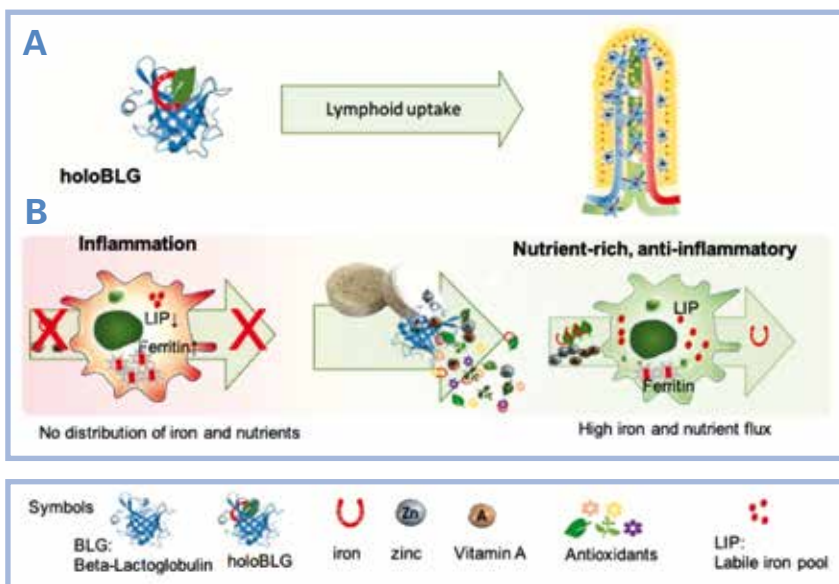


Figura 3. Approccio dietetico linfoide con holoBLG. A: la beta-lattoglobulina, proteina del siero del latte, come vettore di numerosi micronutrienti (ferro, zinco, vitamine) (holoBLG), con l'assorbimento alimentare che avviene attraverso la linfa B. Questo permette di fornire micronutrienti alle cellule immunitarie e favorirne il profilo antinfiammatorio.

nella pelle rispetto ai controlli sani, mentre bambini con asma hanno mostrato livelli circolanti di vitamina A più bassi (7).

In effetti, la carenza di retinolo può peggiorare asma, rinite allergica e dermatite atopica (7,30). Per contro, l'integrazione di retinolo durante l'infanzia non è risultata aumentare il rischio di atopìa all'età di 7 anni (7). Inoltre, l'assunzione dei carotenoidi beta-criptoxantina e alfa-carotene è inversamente associata alla sensibilizzazione allergica della pelle. Tuttavia, un'assunzione eccessiva di retinolo ($\geq 2,5$ volte la

dose raccomandata) in gravidanza è stata associata a un aumento del rischio di asma nei bambini in età scolare (7).

Per quanto riguarda la vitamina A, la quantità e la forma usate sono determinanti per la sua biodisponibilità, poiché una quantità troppo bassa o troppo alta provoca infiammazione. È importante notare che la biodisponibilità dei carotenoidi viene notevolmente migliorata dall'aggiunta di oli che ne favoriscono l'assorbimento linfoide (7,9,31). Ciò è evidenziato da uno studio prospettico di coorte alla



nascita che ha dimostrato che l'integrazione di vitamina A e D in forma idrosolubile in bambini al primo anno di vita ha aumentato di due volte il rischio di allergie alimentari e asma all'età di quattro anni, rispetto ai bambini che ricevevano la stessa formulazione in sospensione oleosa (32). Analogamente, nei bambini di 7 anni l'assunzione con l'alimentazione di un'elevata quantità di vitamina A preformata, ma non di β -carotene, è stata associata a una maggiore funzionalità polmonare e a un minor rischio di asma (7). L'assunzione di β -carotene con l'alimentazione è stata associata a un rischio ridotto di sensibilizzazione allergica e a livelli più bassi di IgE, in bambini di 5 e 8 anni e donne (33), mentre altri studi hanno associato l'assunzione di β -carotene a un aumento del rischio di febbre da fieno negli adulti (34).

Quindi, sebbene sia dimostrato che gli alimenti contenenti vitamina A possono aiutare a prevenire le malattie atopiche, la forma della vitamina A è essenziale per la sua biodisponibilità e probabilmente spiega alcuni dei risultati contraddittori di diversi studi.

6. Allergeni al bivio: leganti nutrizionali come primer immunitari o tollerogeni

Solo pochissime famiglie di proteine sono inclini a diventare allergeni. In effetti, gli allergeni sono inclusi in pochissime famiglie proteiche e i principali allergeni dei sistemi dei mammiferi appartengono sempre alle stesse superfamiglie/famiglie di proteine. Gli allergeni dei mammiferi appartengono solitamente alla superfamiglia delle "lipocaline" (3) e i principali al-

lergeni vegetali alla famiglia delle proteine legate alla patogenesi PR10, alla superfamiglia delle prolamine (famiglie di proteine di stoccaggio dei semi 2S albumine e proteine di trasporto lipidico non specifiche nsLTP); alle proteine regolate dalla gibberellina GRP (35), alla superfamiglia delle proteine cupine (legumine-7S e viciline-11S) e alle famiglie Ole 1 (36). Un aspetto che accomuna la maggior parte dei principali allergeni è la capacità di legarsi a nutrienti come il ferro (come mostrato da lipocaline, proteine 7S, 11S e PR10) (37-45), lo zinco (46,47), i lipidi (come mostrato da lipocaline, PR10 e LTP) (46), la vitamina A e la vitamina D (come mostrato da lipocaline e molecole PR10) (39-41). Una minore immunogenicità al legame con il ferro è stata dimostrata anche con gli allergeni dell'arachide Arah1 (proteina 7S) e Arah3 (proteina 11S) (45), le proteine dell'uovo come l'ovotransferrina (48), la lipocalina beta-lattoglobulina (BLG) (42,44) e l'allergene della betulla Bet v 1 (37,43). Inoltre, noi e altri abbiamo dimostrato in una serie di esperimenti che le proteine PR10 come Bet v 1 e in particolare la proteina del siero del latte beta-lattoglobulina, che rappresentano le lipocaline, diventano allergeniche solo in uno stato di privazione di nutrienti, mentre in condizioni di normale nutrizione sono piuttosto tolleranti e promuovono la resilienza immunitaria in vitro, così come in studi preclinici in modo preventivo e terapeutico (37-40,42-44). Inoltre, per la maggior parte di queste famiglie di proteine, è ben noto il loro coinvolgimento nella risposta allo stress e nell'immunità nutrizionale nelle rispettive piante e organismi (3,6). Recentemente,

abbiamo ampliato l'elenco delle proteine coinvolte nell'immunità nutrizionale aggiungendo il principale allergene fungino Alt a 1 come proteina in grado di legare complessi di ferro con grande affinità (49). A questo proposito, il nostro attuale concetto è che, data la loro funzione e capacità di legarsi ai nutrienti, le proteine allergeniche possono trasformarsi in allergeni in condizioni di restrizione dei nutrienti. Esse possono impoverire localmente l'ambiente circostante di nutrienti come ferro, lipidi o vitamine, innescando così un segnale di pericolo ed evocando una risposta immunitaria nei soggetti atopici. Per contro, in condizioni di ricchezza di nutrienti, queste proteine trasportano micronutrienti e si presentano con il loro partner di legame nutrizionale come proteine holo- (loaded). In queste condizioni di ricchezza di nutrienti, esse contribuiscono all'equilibrio nutrizionale della cellula immunitaria fornendo questi nutrienti essenziali e quindi possono contribuire attivamente alla tolleranza.

7. Interventi dietetici mirati che utilizzano la via linfoide negli studi clinici

La lipocalina e la proteina del latte vaccino BLG sono strutturalmente molto simili alla lipocalina 2 umana LCN2, una proteina con una concentrazione ridotta nei soggetti allergici (50) e coinvolta nell'immunità nutrizionale umana. Infatti, la LCN2 è in grado di regolare una risposta immunitaria a seconda che importi o esporti ferro dalle cellule immunitarie (3). In effetti, nostri studi preclinici suggeriscono una funzione nutrizionale e



immunomodulatoria simile a quella di LCN2. La BLG possiede alcune caratteristiche importanti per la via alimentare, in quanto è resistente alla digestione, ma sensibile al calore (51), e dopo l'ingestione viene trasportata principalmente attraverso i vasi linfatici direttamente alle cellule immunitarie umane (Figura 3).

Sulla base dei nostri risultati preclinici e studi clinici condotti con le proteine del siero del latte in bambini con asma atopica, in cui l'assunzione per un mese di un integratore orale a base di siero del latte ha ridotto gli anticorpi IgE e migliorato la funzionalità polmonare (52), e l'RCT condotto in Brasile, in cui bevande a base di latte fortificate con micronutrienti (vitamina A, ferro, zinco), acido docosaesaenoico e prebiotici (polidestrosio, galatto-oligosaccaridi ed estratto di lievito) assunte per 6 mesi hanno ridotto il rischio di manifestazioni allergiche del 36% (53), abbiamo cercato una traduzione clinica e sviluppato una pastiglia che combinasse proteine del siero del latte contenenti prevalentemente la proteina lipocalina beta-lattoglobulina con catechine, ferro, zinco e vitamina A (pastiglia holoBLG). Il prototipo di pastiglia conteneva meno di 1 mg di ferro a pastiglia, ma in una forma adatta a essere trasportata e veicolata attraverso la linfa. In uno studio clinico in doppio cieco, controllato con placebo, condotto su donne allergiche al polline di betulla e/o di graminacee, 6 mesi di integrazione con la formulazione della pastiglia holoBLG hanno portato a un miglioramento del 42% del punteggio totale dei sintomi nasali (TNSS) rispetto a un miglioramento del 13% nel gruppo placebo dopo stimolazione nasale. Il punteggio

combinato sintomi-medicazione, considerato il gold standard dell'immunoterapia allergenica, è risultato inoltre inferiore del 45% nel gruppo holoBLG durante la stagione di picco del polline di betulla e del 40% durante la stagione del polline di graminacee (23).

In un altro studio clinico condotto su pazienti allergici agli acari della polvere domestica, 3 mesi di integrazione con holoBLG hanno portato a una riduzione del 60% del TNSS. Tale riduzione è stata osservata anche 7-8 mesi dopo l'interruzione dell'assunzione della pastiglia (54,55).

Inoltre, i risultati sono stati replicati in pazienti allergici ai gatti, con una supplementazione di 3 mesi che ha portato a una riduzione del punteggio totale dei sintomi TNSS del 50% (56). Pertanto, in tutti gli studi clinici condotti il miglioramento dello stato immunitario nutrizionale attraverso la promozione della via linfoide è in grado di migliorare i sintomi allergici in modo del tutto aspecifico rispetto all'allergene.

CONCLUSIONE

I micronutrienti sono essenziali e la loro mancanza è fortemente associata a un sistema immunitario ipersensibile. I soggetti atopici soffrono di carenze micronutrizionali ("funzionali"), in particolare di ferro e vitamina A liposolubile, in cui l'assorbimento alimentare di questi preziosi micronutrienti sembra essere ostacolato dall'infiammazione di basso grado. Ad oggi, l'immunoterapia con allergeni specifici è considerata l'unica opzione terapeutica causale per migliorare le malattie atopiche. Tuttavia, in questa sede viene dimostrato che l'apporto di micronutrienti alle cellule immunitarie mostra un'efficacia sorprendentemente simile, e questo in modo completamente indipendente dagli allergeni. Ciò indica che l'apporto di micronutrienti rappresenta un'ulteriore opzione terapeutica causale contro le allergie che dovrebbe essere inclusa nella pratica corrente.



Bibliografia

1. Corna G, Campana L, Pignatti E, et al. Polarization dictates iron handling by inflammatory and alternatively activated macrophages. *Haematologica*. 2010;95(11):1814-1822.
2. Baum P, Toyka KV, Blüher M, Kosacka J, Nowicki M. Inflammatory Mechanisms in the Pathophysiology of Diabetic Peripheral Neuropathy (DN)-New Aspects. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19).
3. Roth-Walter F. Iron-Deficiency in Atopic Diseases: Innate Immune Priming by Allergens and Siderophores. *Front Allergy*. 2022;3:859922.
4. Dhankar N, Gupta R, Jain SL, Mandal S, Sarkar B. Perturbation of monocyte subsets in iron-deficient children - a shift to a pro-inflammatory state? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2021;49(6):42-47.
5. Munoz C, Olivares M, Schlesinger L, Lopez M, Letelier A. Increased in vitro tumour necrosis



Bibliografia

- factor-alpha production in iron deficiency anemia. *Eur Cytokine Netw.* 1994;5(4):401-404.
6. Roth-Walter F, Pacios LF, Bianchini R, Jensen-Jarolim E. Linking iron-deficiency with allergy: role of molecular allergens and the microbiome. *Metallomics.* 2017.
7. Peroni DG, Hufnagl K, Comberlati P, Roth-Walter F. Lack of iron, zinc, and vitamins as a contributor to the etiology of atopic diseases. *Front Nutr.* 2022;9:1032481.
8. Saritha M, Gupta D, Chandrashekar L, Thappa DM, Rajesh NG. Acquired zinc deficiency in an adult female. *Indian J Dermatol.* 2012;57(6):492-494.
9. World Health O. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition.* 2nd ed ed. Geneva: World Health Organization; 2005.
10. Sato Y, Akiyama H, Matsuoka H, et al. Dietary carotenoids inhibit oral sensitization and the development of food allergy. *J Agric Food Chem.* 2010;58(12):7180-7186.
11. Bando N, Yamanishi R, Terao J. Inhibition of immunoglobulin E production in allergic model mice by supplementation with vitamin E and beta-carotene. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2003;67(10):2176-2182.
12. DellaValle DM, Glahn RP, Shaff JE, O'Brien KO. Iron Absorption from an Intrinsically Labeled Lentil Meal Is Low but Upregulated in Women with Poor Iron Status. *J Nutr.* 2015;145(10):2253-2257.
13. Gaitan D, Olivares M, Lonnerdal B, Brito A, Pizarro F. Non-heme iron as ferrous sulfate does not interact with heme iron absorption in humans. *Biol Trace Elem Res.* 2012;150(1-3):68-73.
14. Htet MK, Fahmida U, Dillon D, Akib A, Uto-mo B, Thurnham DI. Is Iron Supplementation Influenced by Sub-Clinical Inflammation?: A Randomized Controlled Trial Among Adolescent Schoolgirls in Myanmar. *Nutrients.* 2019;11(4).
15. Gedfie S, Getawa S, Melku M. Prevalence and Associated Factors of Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia Among Under-5 Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Glob Pediatr Health.* 2022;9:2333794X221110860.
16. Pita-Rodriguez GM, Chavez-Chong C, Lambert-Lamazares B, et al. Influence of Inflammation on Assessing Iron-Deficiency Anemia in Cuban Preschool Children. *MEDICC Rev.* 2021;23(3-4):37-45.
17. Petje LM, Jensen SA, Szikora S, et al. Functional iron-deficiency in women with allergic rhinitis is associated with symptoms after nasal provocation and lack of iron-sequestering microbes. *Allergy.* 2021;76(9):2882-2886.
18. Drury KE, Schaeffer M, Silverberg JL. Association Between Atopic Disease and Anemia in US Children. *JAMA Pediatr.* 2016;170(1):29-34.
19. Rhew K, Oh JM. Association between atopic disease and anemia in pediatrics: a cross-sectional study. *BMC Pediatr.* 2019;19(1):455.
20. Yang L, Sato M, Saito-Abe M, et al. Allergic Disorders and Risk of Anemia in Japanese Children: Findings from the Japan Environment and Children's Study. *Nutrients.* 2022;14(20).
21. Fortes C, Mastroeni S, Mannooranparampil TJ, Di Lallo D. Pre-natal folic acid and iron supplementation and atopic dermatitis in the first 6 years of life. *Arch Dermatol Res.* 2019;311(5):361-367.
22. Shaheen SO, Gissler M, Devereux G, et al. Maternal iron supplementation in pregnancy and asthma in the offspring: follow-up of a randomised trial in Finland. *Eur Respir J.* 2020;55(6).
23. Bartosik T, Jensen SA, Afify SM, et al. Ameliorating Atopy by Compensating Micro-nutritional Deficiencies in Immune Cells: A Double-Blind Placebo-Controlled Pilot Study. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2022;10(7):1889-1902 e1889.
24. Rhew K, Choi J, Kim K, Choi KH, Lee SH, Park HW. Increased Risk of Anemia in Patients with Asthma. *Clin Epidemiol.* 2023;15:31-38.
25. Yang L, Sato M, Saito-Abe M, et al. Maternal Dietary Zinc Intake during Pregnancy and Childhood Allergic Diseases up to Four Years: The Japan Environment and Children's Study. *Nutrients.* 2023;15(11).
26. Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Hirota Y. Consumption of vegetables, fruit, and antioxidants during pregnancy and wheeze and eczema in infants. *Allergy.* 2010;65(6):758-765.
27. Mohamed NA, Rushdy M, Abdel-Rehim ASM. The immunomodulatory role of zinc in asthmatic patients. *Cytokine.* 2018;110:301-305.
28. Chen M, Sun Y, Wu Y. Lower circulating zinc and selenium levels are associated with an increased risk of asthma: evidence from a meta-analysis. *Public Health Nutr.* 2020;23(9):1555-1562.
29. Ghaffari J, Khalilian A, Salehifar E, Khorasani E, Rezaii MS. Effect of zinc supplementation in children with asthma: a randomized, placebo-controlled trial in northern Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J.* 2014;20(6):391-396.
30. Yang H, Chen JS, Zou WJ, et al. Vitamin A deficiency exacerbates extrinsic atopic dermatitis development by potentiating type 2 helper T cell-type inflammation and mast cell activation. *Clin Exp Allergy.* 2020;50(8):942-953.
31. Meza-Meza MR, Ruiz-Ballesteros AI, de la Cruz-Mosso U. Functional effects of vitamin D:



Bibliografia

- From nutrient to immunomodulator. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(11):3042-3062.
32. Kull I, Bergstrom A, Melen E, et al. Early-life supplementation of vitamins A and D, in water-soluble form or in peanut oil, and allergic diseases during childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(6):1299-1304.
33. Miyake Y, Sasaki S, Ohya Y, et al. Dietary intake of seaweed and minerals and prevalence of allergic rhinitis in Japanese pregnant females: baseline data from the Osaka Maternal and Child Health Study. *Ann Epidemiol.* 2006;16(8):614-621.
34. Nagel G, Nieters A, Becker N, Linseisen J. The influence of the dietary intake of fatty acids and antioxidants on hay fever in adults. *Allergy.* 2003;58(12):1277-1284.
35. Iizuka T, Barre A, Rouge P, et al. Gibberellin-regulated proteins: Emergent allergens. *Front Allergy.* 2022;3:877553.
36. Radauer C, Breiteneder H. Evolutionary biology of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(3):518-525.
37. Regner A, Szepannek N, Wiederstein M, et al. Binding to Iron Quercetin Complexes Increases the Antioxidant Capacity of the Major Birch Pollen Allergen Bet v 1 and Reduces Its Allergenicity. *Antioxidants (Basel).* 2022;12(1).
38. Afify SM, Pali-Scholl I, Hufnagl K, et al. Bovine Holo-Beta-Lactoglobulin Cross-Protects Against Pollen Allergies in an Innate Manner in BALB/c Mice: Potential Model for the Farm Effect. *Frontiers in Immunology.* 2021;12:176.
39. Hufnagl K, Afify SM, Braun N, et al. Retinoic acid-loading of the major birch pollen allergen Bet v 1 may improve specific allergen immunotherapy: In silico, in vitro and in vivo data in BALB/c mice. *Allergy.* 2020;75(8):2073-2077.
40. Hufnagl K, Ghosh D, Wagner S, et al. Retinoic acid prevents immunogenicity of milk lipocalin Bos d 5 through binding to its immunodominant T-cell epitope. *Sci Rep.* 2018;8(1):1598.
41. Hufnagl K, Kromp L, Bianchini R, et al. Bet v 1 from birch pollen is a hypoallergen with vitamin D3 in the pocket. *Allergy.* 2021;76(12):3801-3804.
42. Roth-Walter F, Afify SM, Pacios LF, et al. Cow's milk protein beta-lactoglobulin confers resilience against allergy by targeting complexed iron into immune cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(1):321-334 e324.
43. Roth-Walter F, Gomez-Casado C, Pacios LF, et al. Bet v 1 from Birch Pollen is a Lipocalin-like Protein acting as Allergen only when devoid of Iron by promoting Th2 lymphocytes. *The Journal of biological chemistry.* 2014.
44. Roth-Walter F, Pacios LF, Gomez-Casado C, et al. The major cow milk allergen Bos d 5 manipulates T-helper cells depending on its load with siderophore-bound iron. *PLoS one.* 2014;9(8):e104803.
45. Ghatak SK, Majumdar D, Singha A, et al. Peanut protein sensitivity towards trace iron: a novel mode to ebb allergic response. *Food Chem.* 2015;176:308-313.
46. Chruszcz M, Chew FT, Hoffmann-Sommergruber K, et al. Allergens and their associated small molecule ligands-their dual role in sensitization. *Allergy.* 2021;76(8):2367-2382.
47. Pali-Scholl I, Bianchini R, Afify SM, et al. Secretory protein beta-lactoglobulin in cattle stable dust may contribute to the allergy-protective farm effect. *Clin Transl Allergy.* 2022;12(2):e12125.
48. Tong P, Gao L, Gao J, et al. Iron-induced chelation alleviates the potential allergenicity of ovotransferrin in a BALB/c mouse model. *Nutr Res.* 2017;47:81-89.
49. Fakhimhadi A, Hasanaj I, Hofstetter G, et al. Nutritional Provision of Iron Complexes by the Major Allergen Alt a 1 to Human Immune Cells Decreases Its Presentation. *Int J Mol Sci.* 2023;24(15).
50. Roth-Walter F, Schmutz R, Mothes-Luksch N, et al. Clinical efficacy of sublingual immunotherapy is associated with restoration of steady-state serum lipocalin 2 after SLIT: a pilot study. *World Allergy Organ J.* 2018;11(1):21.
51. Roth-Walter F, Berin MC, Arnaboldi P, et al. Pasteurization of milk proteins promotes allergic sensitization by enhancing uptake through Peyer's patches. *Allergy.* 2008;63(7):882-890.
52. Lothian JB, Grey V, Lands LC. Effect of whey protein to modulate immune response in children with atopic asthma. *Int J Food Sci Nutr.* 2006;57(3-4):204-211.
53. Pontes MV, Ribeiro TC, Ribeiro H, et al. Cow's milk-based beverage consumption in 1- to 4-year-olds and allergic manifestations: an RCT. *Nutr J.* 2016;15:19.
54. Bergmann K-C, Raab J, Krause L, et al. Long-term benefits of targeted micronutrition with the holoBLG lozenge in house dust mite allergic patients. *Allergo J Int.* 2022;accepted.
55. Bergmann KC, Graessel A, Raab J, et al. Targeted micronutrition via holo-BLG based on the farm effect in house dust mite allergic rhinoconjunctivitis patients - first evaluation in a standardized allergen exposure chamber. *Allergo Journal International.* 2021.
56. Bergmann KC, Raab J, Graessel A, et al. The holo beta-lactoglobulin lozenge reduces symptoms in cat allergy-Evaluation in an allergen exposure chamber and by titrated nasal allergen challenge. *Clin Transl Allergy.* 2023;13(7):e12274.



Real-World Evidence nell'immunoterapia specifica

Giovanni Paoletti

Dipartimento di Scienze Biomediche
Humanitas University, Pieve Emanuele, Italia.
Istituto di Medicina Personalizzata,
Asma e Allergia, Centro Clinico
e di Ricerca Humanitas IRCCS, Rozzano, Italia

INTRODUZIONE

L'immunoterapia specifica verso gli allergeni inalanti (AIT) è l'unico trattamento ad oggi disponibile per modificare il decorso delle patologie allergiche mediate da Immunoglobuline di tipo E (IgE) (1,2).

Tale classe di Immunoglobuline è definita dalla presenza della catena pesante epsilon e risulta altamente specializzata nell'attivazione dei mastociti presenti nei tessuti epiteliali, ai quali si legano strettamente stimolando potenti reazioni infiammatorie in presenza di specifici antigeni come gli allergeni.

L'AIT può offrire benefici clinici a lungo termine che possono persistere per anni anche dopo la sospensione del trattamento. Già nel 1911, Noon dimostrò l'efficacia delle iniezioni sottocutanee di un estratto di polline di graminacee nei pazienti affetti da rinite allergica, utilizzando un approccio empirico. Sebbene la base teorica su cui si fondava l'intuizione di Noon sul fatto che la "vaccinazione" contro "tossine aerogene" potesse indurre una "tolleranza" fosse errata, questa servì a dimostrare che la somministrazione

sottocutanea di estratti di polline era efficace nel ridurre i sintomi della rinite allergica. Questa scoperta aprì la strada allo sviluppo dei moderni protocolli di desensibilizzazione (3).

Nel 1964, Frankland e i suoi colleghi

fecero un passo importante in questo senso, con il primo studio randomizzato in doppio cieco controllato con placebo sull'immunoterapia sottocutanea (SCIT), e nel 1968, Johnstone e Dutton fornirono prove che la SCIT poteva

SOMMARIO

Parole chiave

• Real-World Evidence • immunoterapia specifica • metodologia della ricerca

L'immunoterapia specifica (AIT) per le allergie respiratorie, si può avvalere di evidenze provenienti da studi di Real-World Evidence (RWE) per valutare l'efficacia e la sicurezza di questo trattamento. L'AIT è il principale approccio per modificare il decorso delle allergie mediate dalle Immunoglobuline di tipo E (IgE). Nell'articolo si spiega l'evoluzione degli studi clinici nel tempo, passando dagli studi non randomizzati agli studi randomizzati controllati (RCT), evidenziando le sfide e le limitazioni di entrambi gli approcci. La diversità nelle formulazioni e nei metodi di studio rende difficile la comparazione tra gli studi sull'AIT con la necessità di standardizzare gli endpoint clinici per consentire un confronto accurato tra i risultati. L'uso delle RWE nell'ambito dell'AIT permette di fornire dati a lungo termine sulla sicurezza e l'efficacia del trattamento. Tuttavia, è importante garantire una metodologia di alta qualità per evitare bias.

Uno strumento fondamentale sono i registri sull'AIT, possibile fonte di dati per futuri studi basati su RWE, che potrebbe garantire l'approvazione dei trattamenti AIT per allergeni meno comuni dagli enti regolatori. In conclusione, gli studi basati su RWE sono complementari agli RCT tradizionali e forniscono importanti informazioni sull'AIT, ma è necessario affrontare le sfide metodologiche per ottenere risultati affidabili.



modificare la storia naturale delle allergie respiratorie (4,5).

Per oltre 70 anni, la SCIT è rimasta l'unica forma di AIT disponibile ed è stata utilizzata in modo empirico fino alla scoperta delle IgE da parte di Ishizaka nel 1965 (6). La SCIT può essere associata a degli svantaggi, tra cui la necessità di iniezioni ripetute nel tempo e il maggior rischio di reazioni avverse sistemiche. Preoccupazioni sulla sicurezza e la necessità di un regime di somministrazione più semplice hanno spinto la ricerca di vie di somministrazione alternative, con l'obiettivo di sviluppare trattamenti efficaci per la rinite allergica che potessero offrire un miglior comfort, sicurezza e una ridotta possibilità di errori umani, rispetto alla SCIT convenzionale. All'inizio degli anni '80, erano state esplorate diverse nuove vie di somministrazione, tra cui le vie per inalazione bronchiale, topiche nasali e orali; tuttavia, queste furono abbandonate a causa di una mancanza di efficacia nel ridurre i sintomi o per un aumento del rischio di effetti collaterali (7).

Nei medesimi anni diversi invece furono gli studi fondamentali che dimostrarono la sicurezza e l'efficacia dell'immunoterapia sublinguale (SLIT). Nel 1986, Scadding condusse il primo studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo su una preparazione di AIT sublinguale, dimostrandone l'efficacia nell'alleviare i sintomi in quasi i tre quarti dei pazienti affetti da rinite allergica perenne verso gli acari della polvere domestica (8). Nel 1998, il primo studio meccanicistico della SLIT pubblicato su Lancet (9) rivelò che un allergoide del



Tabella 1

Schema riassuntivo dei più comuni tipi di studio clinico con la loro descrizione

TIPO DI STUDIO CLINICO	DESCRIZIONE
APERTO	Studio clinico senza gruppo controllo, in contrapposizione a uno studio clinico controllato.
CONTROLLATO	Studio clinico in cui è presente un gruppo in trattamento e un gruppo di controllo.
A SINGOLO CIECO	Il paziente arruolato nello studio, ma non l'operatore, ignora quale dei possibili trattamenti riceve.
A DOPPIO CIECO	Sia il paziente arruolato che l'osservatore ignorano il trattamento somministrato.
A TRIPLO CIECO	Il paziente arruolato, l'investigatore che conduce lo studio e l'investigatore che analizza i dati ignorano il trattamento somministrato.
INCROCIATO	Ogni paziente arruolato riceve in modo consecutivo ognuno dei trattamenti sottoposti a studio.
DI UN PAZIENTE	La popolazione si limita a un solo paziente e l'ordine di amministrazione dei trattamenti comparati si determina in modo aleatorio.
ESPLICATIVO	Studio in cui l'obiettivo è fondamentalmente acquisire conoscenze scientifiche e spiegazioni biologiche sull'efficacia.
UNICENTRICO	Realizzato da un solo ricercatore o gruppo di ricerca.
MULTICENTRICO	Realizzato in 2 o più centri con un protocollo di ricerca identico.
PARALLELO	Ogni gruppo di pazienti riceve simultaneamente un solo trattamento.
SEQUENZIALE	Le osservazioni si valutano step by step quando si verificano e il numero totale di partecipanti non è predeterminato, ma dipende dai risultati ottenuti.
COMUNITARIO	Gli elementi assegnati in modo imprevedibile sono comunità o popolazioni, al posto di individui.
PILOTA	Studio iniziale su piccola scala, di un protocollo di studio, al fine di verificare se il progetto è adeguato e fattibile.
OSSERVAZIONALE	In questo studio il ricercatore non determina l'assegnazione dei pazienti a ciascun gruppo, ma si limita a osservare quello che avviene.



Tabella 1

Schema riassuntivo dei più comuni tipi di studio clinico con la loro descrizione

TRASVERSALI	Ogni paziente rappresenta un momento nel tempo. Tale studio serve a esaminare la relazione tra differenti variabili in una popolazione definita in un lasso di tempo determinato.
LONGITUDINALI	In questo tipo di studi esiste un lasso di tempo tra le distinte variabili, in modo che si possano stabilire tra le stesse variabili una relazione temporale.
ANALITICO	Progettato per esaminare associazioni, il cui obiettivo è identificare o misurare gli effetti dei fattori di rischio o di interventi specifici sulla salute.
PROSPETTICO	I pazienti sono inclusi a partire dal momento in cui si decide il suo inizio
RETROSPETTIVO	I dati raccolti si riferiscono a eventi che si sono già verificati.
CASI E CONTROLLI	Identifica persone con una malattia e le paragona a un gruppo di controllo che non presenti quella patologia.
COORTE	Studio in cui vi è un gruppo di soggetti con una caratteristica o un insieme di caratteristiche in comune che sono monitorate nel tempo.
PRAGMATICO	Studio disegnato per conoscere gli effetti di un dato trattamento sulla popolazione nella vita reale.
RANDOMIZZATO	L'assegnazione del trattamento ai soggetti arruolati deve avvenire con un metodo casuale (random). Questo aumenta la probabilità che altre variabili, non considerate nel disegno dello studio, si distribuiscano in maniera uniforme nel gruppo sperimentale e in quello di controllo.
NON RANDOMIZZATO	In questo studio l'esposizione all'agente oggetto di ricerca non è attribuita in maniera casuale.

tutto innovativo (allergoide monomero) rispetto agli allergoidi tradizionali noti come polimerici e quindi non somministrabili per via sublinguale (10), era in grado di indurre una minore espressione dei marcatori dell'infiammazione allergica, associata a una significativa riduzione dei sintomi. Nello stesso anno,

l'Organizzazione Mondiale della Sanità riconobbe per la prima volta la SLIT come un'alternativa valida alla via sottocutanea. Successivamente, sono state pubblicate le linee guida dell'Accademia Europea di Allergia e Immunologia Clinica (EAACI) sull'AIT per il trattamento della rinite allergica e due “position

paper” dell'Organizzazione Mondiale dell'Allergologia (WAO) dedicati alla SLIT (11,12,13).

Sia la SCIT che la SLIT hanno dimostrato una buona efficacia clinica per il trattamento della rinite allergica e dell'asma allergica, e la disponibilità di entrambe le formulazioni offre ai medici e ai pazienti una vasta scelta di trattamenti. Tuttavia, a causa della ampia varietà di allergeni e composizioni degli estratti, è e sarà difficile da un punto di vista organizzativo ed economico condurre studi randomizzati controllati (RCT) per ogni singolo prodotto.

Eseguito una ricerca sistematica sull'AIT ci si accorge di un problema importante, ovvero che molti studi non sono confrontabili tra di loro sotto numerosi aspetti. Ad esempio, sono stati utilizzati diversi tipi di estratti di allergeni nella preparazione delle terapie (AIT), adottando anche schemi posologici differenti. Inoltre, anche i disegni di studio, i criteri di inclusione e le valutazioni degli esiti sono molto diversi tra di loro. La diversità nella composizione dei prodotti in uso per AIT richiede che l'efficacia debba essere dimostrata per ogni singolo prodotto, anziché l'efficacia di classe, come avviene per altri farmaci. Inoltre, nei diversi studi l'efficacia clinica dell'AIT è stata misurata utilizzando tool e punteggi differenti, e anche gli endpoint primari e secondari degli studi molto spesso non sono comparabili l'uno con l'altro. Al fine di consentire il confronto dei risultati sarà necessaria in futuro una standardizzazione maggiore anche degli endpoint clinici da analizzare (14,15).

Tutto questo implica un rischio intrin-



seco: essendo il processo di registrazione dei farmaci costoso potrebbe non esserci un sufficiente ritorno economico per le aziende farmaceutiche relativo agli investimenti da affrontare per allergie meno diffuse nella popolazione. La crescente necessità da parte delle autorità regolatorie di seguire e standardizzare gli studi di approvazione dell'AIT potrebbe spingere le aziende farmaceutiche a non investire nella ricerca di tali prodotti. In ultimo questa situazione porterebbe all'impossibilità di prescrivere la terapia di desensibilizzazione agli individui affetti da allergie poco comuni.

Attualmente gli studi di fase III randomizzati, in doppio cieco, controllati con placebo hanno fornito le evidenze necessarie per l'approvazione di alcuni prodotti di AIT come farmaci (17,18,19,20,21). Sono stati effettuati diverse metanalisi (tecnica clinico-statistica quantitativa che permette di combinare i dati di più studi condotti su di uno stesso argomento, generando un unico dato conclusivo per rispondere a uno specifico quesito clinico) per valutare l'efficacia e la sicurezza della SCIT o SLIT per il trattamento dell'asma allergica e della rinite allergica sia nella popolazione adulta che pediatrica. I risultati degli studi di ricerca inclusi nelle metanalisi sono generalmente a favore dell'AIT; ma come accennato prima, a causa delle differenze nei prodotti, nelle dosi, nei protocolli e nei regimi terapeutici scelti, nonché nella scelta degli strumenti per valutarne gli esiti, tali difficoltà metodologiche possono impedire alle metanalisi di giungere a conclusioni solide e definitive (22,23,24,25,26,27,28). Un'analisi e valutazione prodotto per

prodotto quindi risulta obbligatoria quando si sceglie un trattamento con AIT per uso clinico, come chiaramente indicato dalla WAO (15) e dall'EAACI (29,30).

Esiste un'ampia e articolata tipologia di studi clinici che verranno riassunti nei concetti più importanti nella tabella 1.

1. Come sono evoluti gli studi clinici

Fino agli anni '40, lo sviluppo di nuovi trattamenti farmacologici si basava sugli studi non randomizzati. In seguito, si è riconosciuto sempre più che i rapporti aneddotici basati su osservazioni della pratica clinica erano spesso fuorvianti. Ciò ha portato a una sostituzione quasi totale del precedente approccio non randomizzato con l'uso di studi clinici randomizzati e controllati. I limiti dell'approccio aneddotico si sono dimostrati reali nella storia della medicina che è infatti ricca di esempi in cui i dati osservazionali sono stati fuorvianti, anche riguardo pratiche cliniche consolidate (31). Ciò ha rafforzato l'idea comune e diffusa sugli studi non randomizzati che, indipendentemente dalla loro ampiezza o rigore nell'analisi, il rischio di bias (ovvero fattori confondenti, come ad esempio nella selezione dei pazienti o nella valutazione dei nessi di causalità) limitasse la certezza dei dati ottenuti. Al contrario, i sostenitori degli studi non randomizzati RWE ritengono che gli studi RCT randomizzati spesso potrebbero non rappresentare pienamente le situazioni della vita reale, perché impiegano criteri di inclusione rigorosi definiti dal proto-

collo per identificare pazienti idonei. Ciò potrebbe significare che alcuni pazienti siano esclusi da tali studi in base a caratteristiche come la gravità della malattia, l'età, le comorbidità o l'uso di farmaci concomitanti.

2. Evidenza proveniente dal Mondo Reale e real-world data

Il termine "Evidenza proveniente dal Mondo Reale" (RWE) è spesso utilizzato come una definizione generica e ha portato a un uso improprio del termine. La Food and Drug Administration degli Stati Uniti (FDA) ha fornito alcune linee guida, definendo RWE come "evidenza clinica riguardante l'uso e i potenziali benefici o rischi di un prodotto medico derivata dall'analisi di dati del mondo reale (real-world data - RWD). L'RWE può essere generata da diversi tipi di disegni di studio o analisi, inclusi, studi randomizzati, compresi ampi studi semplici, studi pragmatici e studi osservazionali (prospettici e/o retrospettivi)". Allo stesso modo, la FDA definisce RWD come "dati relativi allo stato di salute dei pazienti e/o alla fornitura di cure sanitarie raccolti in modo routinario da una varietà di fonti, ad esempio: cartelle cliniche elettroniche, attività di fatturazione elettronica, registri di prodotti e malattie, dati generati dai pazienti, compresi quelli raccolti in ambienti domestici, e dati raccolti da altre fonti che possono fornire informazioni sullo stato di salute, come dispositivi mobili" (32).

Un'importante critica e limite di questa tipologia di studi è che i RWD spesso ven-



gono raccolti senza l'intenzione iniziale di essere utilizzati per la ricerca sulla sicurezza o l'efficacia di un prodotto, ma vengono invece riadattati retrospettivamente a tale scopo. Tuttavia, attraverso il rigore scientifico e una visione prospettica corretta, con l'utilizzo di strumenti come i registri di patologia si possono ottenere dati dal mondo reale per valutare non solo trattamenti farmacologici non ancora approvati ma includere farmaci già in commercio e popolazioni di pazienti ampie e diverse.

2.1 In cosa si distinguono gli studi RCT tradizionali dagli studi non randomizzati? Quali sono i punti di forza e i limiti di queste due tipologie?

Gli RCT tradizionali possono rispondere in modo più robusto a una domanda specifica e hanno un rischio di bias inferiore, ma talvolta possono essere limitati nell'applicabilità. Inoltre, criteri restrittivi di arruolamento e una concentrazione di siti di sperimentazione in determinati sistemi sanitari rendono difficile per alcuni pazienti partecipare agli RCT, soprattutto se hanno comorbidità o se la loro mobilità o le loro capacità cognitive sono compromesse.

Al contrario, gli studi non randomizzati possono valutare popolazioni più ampie e numerose e quindi i risultati sono più generalizzabili, ma possono essere fuorvianti a causa di un rischio di bias più elevato. Pertanto, entrambi gli approcci hanno le loro limitazioni intrinseche, ed è chiaramente necessario un compromesso nella scelta di un approccio rispetto all'altro.

Tuttavia, è un errore contrapporli l'uno all'altro, invece di considerarli come fonti di evidenza complementari per aiutare il processo di presa decisionale finalizzata a ottenere indicazioni cliniche affidabili.

2.2 Il grado di evidenza degli studi RWE nell'AIT

I dati utilizzati ottenibili come RWD e riportati in un lavoro scientifico possono avere un peso differente nell'importanza dell'evidenza che ne scaturisce. Nel "position paper" dell'EAACI pubblicato nel 2021 abbiamo cercato di ipotizzare e ideare una gerarchia dell'Evidenza proveniente dagli studi del mondo reale inerenti all'immunoterapia per le allergie attraverso la rappresentazione di una piramide dove nella sua punta abbiamo posto gli strumenti più rigorosi e impattanti e alla sua base gli strumenti che possono dare evidenze di minore qualità. Tale piramide è stata strutturata sulle più recenti conoscenze del RWE e sulle raccomandazioni di autorità e società scientifiche (figura 1) (33).

All'apice di tale piramide ritroviamo lo "Studio controllato randomizzato pragmatico". Questa tipologia di lavori è progettata in maniera simile agli RCT classici, dove però non vengono posti dei criteri di inclusione ed esclusione. Così facendo si definiscono a priori gli "outcomes" da analizzare, come analizzarli, ma si riescono a ottenere dati su una più ampia e variegata popolazione. Ad esempio, si includono pazienti fumatori o comorbidi che normalmente non vengono inclusi negli studi RCT tradizionali. A seguire un altro strumen-

to in grado di produrre dati molto validi è sicuramente il "Registro di patologia o di trattamento". Questo è un sistema organizzato per raccogliere dati uniformi su risultati specifici in una popolazione definita da una particolare malattia, condizione o trattamento. Normalmente i registri permettono di ottenere quelli che vengono chiamati "Big Data" quindi set di dati più grandi e complessi, tanto voluminosi che i normali software di elaborazione dati non sono in grado di gestirli. Naturalmente questi enormi volumi di dati possono essere utilizzati per rispondere a domande che diversamente non potrebbero essere affrontate. Scendendo di un ulteriore gradino nella piramide si ritrovano gli studi derivati da dati di "Evidenza prospettica dal mondo reale". Un tipo di studio di coorte, in cui i partecipanti vengono arruolati nello studio prima che sviluppino quella specifica malattia. Gli altri studi meno impattanti in ambito di evidenza sono quelli derivati da database multicentrici con dati retrospettivi limitati dall'uso di un database esistente per rispondere a specifiche domande cliniche, con l'insito rischio di bias legato all'"adattamento" del dato in possesso. Fino ad arrivare alla base della piramide, dove si è identificato il gradino relativo all'"Esperienza di un esperto del settore".

Date queste premesse si può affermare che gli studi RWE siano un importante fonte di dati per quanto riguarda AIT. Basti pensare che grazie a questi si possono prevedere follow-up di anni dopo la cessazione del trattamento medico e capire cosa avviene nei nostri pazienti che hanno fatto una data terapia di de-



sensibilizzazione.

Anche se la maggior parte degli studi non randomizzati sull'efficacia in RWE dell'AIT sono di tipo retrospettivo, e includono un numero limitato di pazienti, sempre più spesso si utilizzano ampi database di prescrizioni e dati di fatturazione per consentire l'analisi di un maggior numero di pazienti rispetto al passato (con i limiti e le cautele che sono state descritte in precedenza).

Alcuni risultati importanti sono derivati da questo genere di approccio. Ad esempio, un lavoro di Wahn ha mostrato in maniera retrospettiva su un database di prescrizioni che includeva pazienti con rinite allergica e/o asma associati al polline di betulla i benefici dell'AIT fino a 6 anni dopo la cessazione del trattamento, con una significativa riduzione dell'assunzione di farmaci per queste patologie e un calo del rischio di utilizzare farmaci per gestire l'asma durante il trattamento (34). Un'analisi simile condotta da Jutel ha indagato efficacia in RWE dell'AIT con allergoidi nel trattamento della rinite allergica e/o dell'asma allergica indotta dagli acari della polvere. Il lavoro ha mostrato la drastica riduzione di farmaci per gestire le due patologie nei pazienti sottoposti all'AIT rispetto ai pazienti controllo (59,7% vs 10,8%) e sempre nel gruppo di trattamento una riduzione nel rischio di sviluppare l'asma con un'estensione del follow-up fino a 6 anni (35). Infine un altro esempio deriva da uno studio retrospettivo che ha incluso più di cento pazienti adulti con asma allergica che avevano utilizzato corticosteroidi inalatori (ICS) per più di 1 anno in un singolo ospedale in Corea. Tale ha con-

Figura 1 La piramide delle evidenze di RWE in AIT

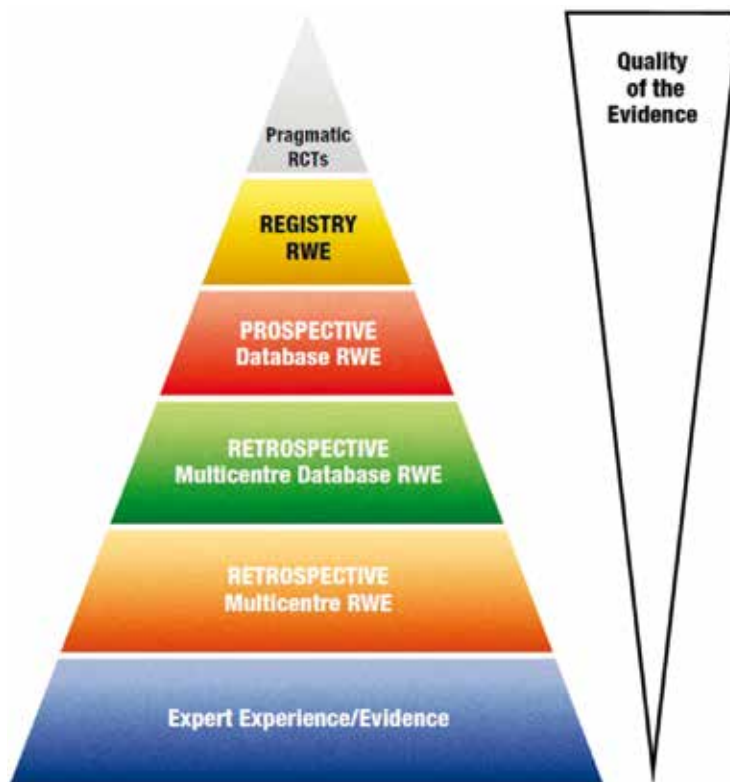


Figura 1. La proposta di gerarchia dell'evidenza proveniente dal mondo reale sull'immunoterapia specifica verso allergeni inalanti dalla più alta alla più bassa qualità - RCT, studio controllato randomizzato; RWE, prove del mondo reale. Tratta dall'articolo (33).

frontato i parametri clinici e gli esiti tra il gruppo sottoposto a AIT e il gruppo non sottoposto a AIT e ha concluso che, indipendentemente dal tipo di allergene, l'AIT, nel lungo periodo aiuta a ridurre l'assunzione giornaliera di ICS e a ottenere un migliore controllo nei pazienti affetti da asma allergica.

2.3 I registri sull'AIT

L'approccio RWE legato all'AIT si sta valutando sempre più nella comunità scientifica Europea, dove stanno iniziando a nascere i primi registri di trattamento sull'AIT. Attualmente sono esistenti il registro promosso dalla "The



British Society for Allergy & Clinical Immunology (BSACI) denominato “British Registry for Immunotherapy (BRIT) e quello promosso dalla “Società di Allergologia, Asma e Immunologia Clinica (SIAAIC)” denominato Italian Registry of Allergen Immunotherapy (RIAIT) (36,37).

Il BRIT è un registro che colleziona dati sull'immunoterapia dei pazienti assistiti dai consulenti della BSACI che praticano nel Regno Unito, ma sta rapidamente venendo adottato da tutti i centri dove si pratica l'immunoterapia in tale Stato.

Questo registro si concentra sull'immunoterapia rivolta verso i pollini e agli acari, il trattamento delle reazioni al veleno di vespe e api, e l'uso di Omalizumab per l'orticaria cronica.

Il più giovane registro Italiano RIAIT si prefigge di stabilire un pool di pazienti trattati con immunoterapia specifica, con la possibilità di disporre di dati nazionali, valutati da centri con specifica esperienza in materia, pertanto in grado di prescrivere AIT secondo linee guida, e di monitorare l'evoluzione nel tempo della malattia in relazione all'intervento terapeutico.

Da questi registri ci si prospetta di ottenere fra pochi anni importanti evidenze estraibili dai Big Data simili a quelle ottenute grazie ai registri sull'Asma grave al livello mondiale, europeo e nazionale.

2.4 Qualità degli studi RWE sull'AIT

Come già affrontato nella ricerca osservazionale, così come negli RCT, garantire una metodologia di alta qualità è cruciale

per evitare i bias che comprometterebbero l'affidabilità e la validità dei risultati.

Sebbene ci siano diversi strumenti per guidare la progettazione della ricerca osservazionale al fine di garantire processi sistematici e rigorosi, alcuni dei più noti e utilizzati, anche pensati per le patologie e per gli approcci clinici nell'ambito respiratorio, sono il “Risk Of Bias In Non-randomized Studies of Interventions (ROBINS-I)” (38) e più recentemente il “REal Life EVIDence Assessment Tool (RELEVANT)” (39).

Il ROBINS-I ideato dalla Cochrane Collaboration si basa su un approccio simile agli strumenti che valutano il rischio di bias presenti negli RCT.

Il ROBINS-I copre sette domini principali utilizzando delle domande per aiutare a valutare il rischio di bias all'interno di ciascun singolo dominio. Tali valutazioni danno uno score complessivo sul rischio in tutti i domini per l'outcome che è stato esaminato.

Il RELEVANT è stato creato nel 2019 dai membri del Respiratory Effectiveness Group (REG) e dall' EAACI e fu inizialmente progettato per essere applicato nell'asma. La versione finale di questo strumento consiste in 21 sottovoci (11 di queste sono considerati critiche e denominati "sottovoci primarie") distribuiti in sette domini differenti: Background, Design, Measures, Analysis, Results, Discussion/Interpretation e Conflict of Interest. Di Bona e colleghi nel 2021 hanno applicato il RELEVANT con l'obiettivo di valutare sistematicamente la qualità degli studi osservazionali comparativi pubblicati sull'AIT. È stata svolta un'approfondita ricerca della letteratura sugli

studi osservazionali che hanno analizzato e confrontato l'AIT con la farmacoterapia per le allergie respiratorie, valutando come “outcome” la riduzione dei sintomi e/o la riduzione dell'uso di farmaci. I 14 studi identificati hanno supportato il beneficio dell'AIT nella vita reale, il quale persiste anche dopo l'interruzione del trattamento. Tuttavia, nessuno di essi ha soddisfatto tutti e 7 i criteri principali di RELEVANT. Le principali carenze sono state riscontrate nella progettazione dello studio (28,6% degli studi), nei metodi di misura utilizzati e nell'analisi eseguite (64,3% degli studi) e infine nei risultati (78,6% degli studi), a causa di un bias di selezione e della mancanza di metodi per l'adeguamento dei controlli. Inoltre, un'altra importante mancanza di tali studi è che nella metà di questi non veniva riportato il conflitto di interesse degli autori. Quindi si capisce come ci sia bisogno di ricerche osservazionali più solide sull'AIT (40).

CONCLUSIONI

Gli studi di RWE sull'AIT sono uno strumento utile e necessario che deve essere usato insieme agli studi RCT tradizionali per aumentare le evidenze esistenti su tale approccio terapeutico. Anche l'Agenzia europea dei medicinali (EMA) in un recente rapporto del 2023 sull'uso delle evidenze real-world per le decisioni regolatorie, ha dichiarato che tali dati supportano un loro utilizzo sia nella fase di pre-autorizzazione che nelle valutazioni post-approvazione dei farmaci. Il documento sottolinea anche come sia ancora necessario lavorare per anticipare la necessità di que-



sto tipo di studi e velocizzare il loro inizio, così da garantire ai vari enti regolatori un accesso puntuale alle evidenze real-world (41). Tale passaggio risulta fondamentale per permettere in particolare agli allergeni

meno comuni nella popolazione di avere in futuro un'approvazione come farmaci in maniera sostenibile ma con il dovuto rigore scientifico. Concludendo si può affermare che attual-

mente esistono dei limiti metodologici in molti lavori di RWE, che però possono essere un utile spunto per approcciarsi in maniera futura a risultati di maggiore e più elevata evidenza nelle conclusioni ottenibili.



Bibliografia

1. Arasi S, Corsello G, Villani A, Pajno GB. The future outlook on allergen immunotherapy in children: 2018 and beyond. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):80. <https://doi.org/10.1186/s13052-018-0519-4>
2. Passalacqua G, Bagnasco D, Canonica GW. 30 years of sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2020;75(5):1107-1120. <https://doi.org/10.1111/all.14113>
3. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet.* 1911;177:1572-1573.
4. Frankland AW. Preseasonal injection treatment in hay fever using aqueous extracts. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1965;28(1):1-11. <https://doi.org/10.1159/000229629>
5. Johnstone DE, Dutton A. The value of hyposensitization therapy for bronchial asthma in children—a 14-year study. *Pediatrics.* 1968;42(5):793-802
6. Ogawa M, Kochwa S, Smith C, Ishizaka K, McIntyre OR. Clinical aspects of IgE myeloma. *N Engl J Med.* 1969;281(22):1217-1220. <https://doi.org/10.1056/NEJM196911272812204>
7. Canonica GW, Passalacqua G. Noninjection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(3):437-448. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.129>
8. Scadding GK, Brostoff J. Low dose sublingual therapy in patients with allergic rhinitis due to house dust mite. *Clin Allergy.* 1986;16(5):483-491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.1986.tb01983.x>
9. Passalacqua G, Albano M, Fregonese L, et al. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite-induced rhinoconjunctivitis. *Lancet.* 1998;351(9103):629-632. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)07055-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)07055-4)
10. G. Mistrello. Evolution of immunotherapy against pollen allergy. *Current Protein and Peptide Science,* 2023, 24, 488-502.
11. Roberts G, Pfaar O, Akdis CA, et al. EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy.* 2018;73(4):765-798. <https://doi.org/10.1111/all.13317>
12. Canonica GW, Bousquet J, Casale T, et al. Sub-lingual immunotherapy: world allergy organization position paper 2009. *World Allergy Organ J.* 2009;2(11):233-281. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3181c6c379>
13. Canonica GW, Cox L, Pawankar R, et al. Sublingual immunotherapy: World Allergy Organization position paper 2013 update. *World Allergy Organ J.* 2014;7(1):6. <https://doi.org/10.1186/1939-4551-7-6>
14. Larenas-Linnemann D, Cox LS, Immunotherapy, Allergy Diagnostics Committee of the American Academy of Allergy A, Immunology. European allergen extract units and potency: review of available information. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008;100(2):137-145. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60422-X](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60422-X)
15. Bachert C, Larche M, Bonini S, et al. Allergen immunotherapy on the way to product-based evaluation—a WAO statement. *World Allergy Organ J.* 2015;8(1):29. <https://doi.org/10.1186/s40413-015-0078-8>
16. Muraro A, Roberts G. EAACI Guidelines - Allergen Immunotherapy Guidelines Part 2: Recommendations. https://www.eaaci.org/documents/Part_II_-_AIT_Guidelines_-_web_edition.pdf. Accessed December 15, 2020
17. European Medicines Agency; Committee for medicinal products for human use (CHMP), eds. Guideline on the clinical development of products for specific immunotherapy for the treatment of allergic diseases. CHMP/EWP/18504/2006. London, 20. November 2008. Available from website: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-development-products-specific-immunotherapy-treatment-allergic-diseases_en.pdf
18. Jacobsen L, Niggemann B, Dreborg S, et al. Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. *Allergy.* 2007;62(8):943-948. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01451.x>
19. Larenas-Linnemann D. How does the efficacy and safety of Oralair® compare to other products on the market? *Ther Clin Risk Manag.* 2016;12:831-850. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S70363>
20. Marogna M, Spadolini I, Massolo A, Canonica GW, Passalacqua G. Long-lasting effects



Bibliografia

- of sublingual immunotherapy according to its duration: a 15-year prospective study. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(5):969-975. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.08.030>
21. Dhami S, Nurmatov U, Arasi S, et al. Allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2017;72(11):1597-1631. <https://doi.org/10.1111/all.13201>
22. Calderón MA, Boyle RJ, Penagos M, Sheikh A. Immunotherapy: the meta-analyses. What have we learned? *Immunol Allergy Clin North Am.* 2011;31(2):159-173. <https://doi.org/10.1016/j.iaac.2011.02.002>
23. Dhami S, Kakourou A, Asamoah F, et al. Allergen immunotherapy for allergic asthma: a systematic review and meta-analysis. *Allergy.* 2017;72(12):1825-1848. <https://doi.org/10.1111/all.13208>
24. Di Bona D, Plaia A, Leto-Barone MS, La Piana S, Di Lorenzo G. Efficacy of grass pollen allergen sublingual immunotherapy tablets for seasonal allergic rhinoconjunctivitis: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Intern Med.* 2015;175(8):1301-1309. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.2840>
25. Durham SR, Penagos M. Sublingual or subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis? *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(2):339. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.12.1298>
26. Passalacqua G, Canonica GW, Bagnasco D. Benefit of SLIT and SCIT for allergic rhinitis and asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(12):88. <https://doi.org/10.1007/s11882-016-0666-x>
27. Penagos M, Passalacqua G, Compalati E, et al. Metaanalysis of the efficacy of sublingual immunotherapy in the treatment of allergic asthma in pediatric patients, 3 to 18 years of age. *Chest.* 2008;133(3):599-609. <https://doi.org/10.1378/chest.06-1425>
28. Alvaro-Lozano M, Akdis CA, Akdis M, et al. EAACI allergen immunotherapy user's guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;31 Suppl 25(Suppl 25):1-101. <https://doi.org/10.1111/pai.13189>
29. Muraro A, Roberts G. EAACI Guidelines - Allergen Immunotherapy Guidelines Part 1: Systematic Reviews. https://www.eaaci.org/documents/AIT_Guidelines-web_version.pdf. Accessed December 15, 2020
30. Muraro A, Roberts G, Halken S, et al. EAACI guidelines on allergen immunotherapy: executive statement. *Allergy.* 2018;73(4):739-743. <https://doi.org/10.1111/all.13420>
31. Fanaroff AC, Califf RM, Harrington RA, et al. Randomized trials versus common sense and clinical observation: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(5):580-589. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.05.069>
32. US Food and Drug Administration. Real-World Evidence. <https://www.fda.gov/science-research/science-and-research-special-topics/real-world-evidence>. Accessed December 15, 2020
33. Paoletti G, Di Bona D, Chu DK, et al. Allergen immunotherapy: The growing role of observational and randomized trial "Real-World Evidence". *Allergy.* 2021;76:2663-2672. <https://doi.org/10.1111/all.14773>
34. Wahn U, Bachert C, Heinrich J, Richter H, Zielen S. Real-world benefits of allergen immunotherapy for birch pollen-associated allergic rhinitis and asthma. *Allergy.* 2019;74(3):594-604. <https://doi.org/10.1111/all.13598>
35. Jutel M, Brüggjenjürgen B, Richter H, Vogelberg C. Real-world evidence of subcutaneous allergoid immunotherapy in house dust mite-induced allergic rhinitis and asthma. *Allergy.* 2020;75(8):2050-2058. <https://doi.org/10.1111/all.14240>
36. Khan S, Krishna MT, Michaelis LJ, et al. BSACI Registry for Immunotherapy (BRIT): Providing safe and effective immunotherapy for allergies and urticaria. *Clin Exp Allergy.* 2021 Aug;51(8):985-988. doi: 10.1111/cea.13887. PMID: 34337808
37. (s.d.). rriait. <https://rriait.siaaic.org/>
38. Sterne JA, Hernan MA, Reeves BC, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ.* 2016;355:i4919. <https://doi.org/10.1136/bmj.i4919>
39. Campbell JD, Perry R, Papadopoulos NG, et al. The REal Life Evidence Assessment Tool (RELEVANT): development of a novel quality assurance asset to rate observational comparative effectiveness research studies. *Clin Transl Allergy.* 2019;9:21. <https://doi.org/10.1186/s13601-019-0256-9>
40. Di Bona D, Paoletti G, Chu DK, Pepys J, Macchia L, Heffler E, Canonica GW. Allergen immunotherapy for respiratory allergy: Quality appraisal of observational comparative effectiveness studies using the REal Life Evidence Assessment Tool. An EAACI methodology committee analysis. *Clin Transl Allergy.* 2021 Jun 14;11(4):e12033. doi: 10.1002/ctlt.12033. PMID: 34141180; PMCID: PMC8203181
41. Use of real-world evidence in regulatory decision making - EMA publishes review its studies - European Medicines Agency. (s.d.). European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/news/use-real-world-evidence-regulatory-decision-making-ema-publishes-review-its-studies>



Nuove modalità di comunicazione nelle malattie allergiche

Erisa Putro, Mario Lecce, Rosa Molfetta e Rossella Paolini

Dipartimento di Medicina Molecolare,
Laboratorio affiliato all'Istituto Pasteur
Italia Fondazione Cenci Bolognetti,
Sapienza Università di Roma

INTRODUZIONE

I mastociti (MC) derivano da cellule progenitrici ematopoietiche che colonizzano i tessuti vascolarizzati dove completano la loro maturazione sotto l'influenza di fattori di crescita e stimoli locali (1). I MC svolgono un ruolo chiave nella risposta immunitaria innata e adattativa e sono le principali cellule effettrici della risposta allergica (2-5).

I MC sono, infatti, caratterizzati dall'espressione costitutiva del recettore ad alta affinità per le immunoglobuline IgE (FcεRI) e dalla presenza di numerosi granuli citoplasmatici che contengono un'ampia gamma di molecole bioattive. L'aggregazione recettoriale, che avviene in seguito all'interazione con le immunoglobuline di classe E e l'antigene multivalente, fornisce un segnale attivatorio che porta al rilascio delle molecole bioattive contenute nei granuli citoplasmatici - processo noto come degranolazione mastocitaria - e alla sintesi ex novo di mediatori pro-infiammatori (4).

Oltre a rilasciare mediatori in forma solubile, i MC secernono vescicole extracellulari (EVs) in maniera costitutiva o in

risposta a stimoli diversi inclusa l'attivazione IgE e antigene dipendente (6,7).

Le EVs comprendono un gruppo eterogeneo di vescicole circondate da membrana che in base alla loro biogenesi e dimensione possono essere suddivise in

tre sottogruppi: microvescicole, esosomi e corpi apoptotici (8-10). Le microvescicole hanno dimensioni comprese tra i 100 e i 1.000 nm e si formano per gemmazione verso l'esterno della membrana plasmatica. Gli esosomi sono vescicole di dimen-

SOMMARIO

Parole chiave

- Il recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) • IgE • mastociti
- vescicole extracellulari • microvescicole • esosomi

Abbreviazioni

- Cellule dendritiche (DC) • Corpi multivescicolari (CMV)
- Lavaggio broncoalveolare (BAL) • Linfociti innati il tipo 2 (ILC2)
- Linfopoietina stromale timica (TSLP) • Mastociti (MC)
- Mastociti derivati dal midollo osseo (BMDC) • Vescicole extracellulari (EVs)

I mastociti risiedono nei tessuti in prossimità delle putative porte di ingresso dei patogeni e agiscono "pattugliando" l'ambiente circostante grazie alla loro capacità di rispondere ad una pletera di stimoli diversi. Una volta attivati da questi stimoli, i mastociti orchestrano diverse risposte immunitarie sia in condizioni fisiologiche che patologiche e sono le principali cellule effettrici responsabili della risposta allergica.

Il meccanismo più noto di attivazione dei mastociti prevede l'aggregazione del recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) ad opera di allergeni e anticorpi di classe IgE ma anche alcune tossine, lipopolisaccaridi e complessi antigene-anticorpi di classe IgG rappresentano stimoli attivatori molto comuni. A seconda della via di attivazione, i mastociti rispondono rilas-



SOMMARIO

ciando un'ampia gamma di mediatori pro-infiammatori preformati e neo-sintetizzati. Più di recente, i mastociti hanno attirato notevole attenzione per la loro capacità di rilasciare vescicole extracellulari (EV), inclusi esosomi e microvescicole, che rappresentano una nuova modalità di comunicazione intercellulare. Infatti, queste vescicole trasportano lipidi, proteine e acidi nucleici derivati dalle cellule donatrici, modificando così la composizione e la capacità funzionale delle cellule riceventi. Evidenze recenti dimostrano come la composizione delle vescicole di origine mastocitaria cambi in base agli stimoli attivatori forniti dal microambiente rendendo le vescicole rilasciate capaci di veicolare messaggi diversi e di controllare risposte biologiche distinte. Questo articolo fornisce una panoramica sulla capacità delle nano- e micro-vescicole rilasciate dai mastociti di comunicare con altre cellule situate nelle vicinanze o in siti distanti e di modulare in particolare il processo infiammatorio associato a malattie allergiche. Verrà inoltre discusso il loro potenziale utilizzo come agenti terapeutici o come biomarcatori per la diagnosi e la prognosi delle malattie allergiche e di altri disturbi correlati a una deregolata attivazione mastocitaria.

sioni più omogenee (30-150 nm) e di origine endocitica: all'interno dei Corpi MultiVescicolari (CMV) gemmano vescicole intraluminali che vengono rilasciate nello spazio extracellulare sotto forma di esosomi in seguito alla fusione dei CMV con la membrana plasmatica. I corpi apoptotici sono vescicole estremamente eterogenee (variano mediamente da 1.000 a 5.000 nm di diametro) che vengono rilasciate da cellule in fase di morte cellulare programmata (Figura 1).

Microvescicole e esosomi, una volta rilasciati nello spazio extracellulare, circolano nei fluidi corporei (11) e modulano il comportamento delle cellule riceventi, vicine e distanti, attraverso il trasferimento orizzontale di molecole bioattive, tra cui proteine, lipidi, DNA, RNA e microRNA (12,13). Pertanto, sono stati implicati sia in fenomeni fisiologici che in processi

patologici che includono processi infiammatori, disturbi metabolici, malattie neurologiche e cancro (14,15).

EVs rilasciate dai MC possono veicolare e trasferire informazioni biologiche, orchestrando sia processi infiammatori associati alla risposta allergica che la progressione tumorale (6,7). Nel corso della risposta immunitaria, gli stessi MC vengono plasmati fenotipicamente e funzionalmente da EVs derivate da altre cellule del sistema immunitario e rilasciate nel sito di danno (16).

I prossimi paragrafi illustreranno brevemente il contributo di microvescicole e esosomi come messaggeri intercellulari per poi focalizzarsi sul ruolo degli esosomi rilasciati dai MC nel modulare la risposta infiammatoria associata a reazioni allergiche. Verrà anche discusso il potenziale utilizzo di esosomi come agenti terapeutici o come biomarcatori per la

diagnosi e la prognosi delle malattie allergiche e di altri disturbi correlati a una deregolata attivazione mastocitaria.

2. Microvescicole ed esosomi nella comunicazione cellula-cellula

Un nuovo meccanismo di comunicazione cellulare descritto nell'ultimo decennio si basa sul rilascio di vescicole rivestite di membrana che veicolano messaggeri molecolari (8-10). In particolare, le microvescicole e gli esosomi hanno recentemente destato molto interesse. Gli esosomi sono nanovesicole di origine endocitica, omogenee in dimensione e morfologia, mentre le microvescicole si generano per gemmazione della membrana plasmatica e mostrano dimensioni variabili comprese tra i 100 e i 1.000 nm (Figura 1). È importante però sottolineare che le microvescicole e gli esosomi possono anche avere dimensioni sovrapponibili e veicolare marcatori identificativi simili e ciò rende spesso ambigua sia la loro biogenesi che la loro classificazione. A tale proposito, secondo le nuove linee guida pubblicate dalla International Society for Extracellular Vesicles, è consigliato l'utilizzo del termine "EV" quando vi è incertezza sull'origine subcellulare delle vescicole (17).

Un numero crescente di evidenze sperimentali ha attribuito a queste vescicole diversi ruoli sia fisiologici che patologici ed è oggi generalmente accettato il loro contributo nel regolare la trasformazione neoplastica, malattie neurogenerative e malattie infiammatorie (14,15).



2.1 Gli esosomi come veicoli di potenziali biomarcatori e di agenti terapeutici

Gli esosomi sono secreti da una vasta gamma di cellule che includono sia cellule del sistema immunitario che cellule tumorali, e si ritiene che essi funzionino da messaggeri intercellulari non solo lo-

calmente ma anche a distanza in quanto sono stati ritrovati nella maggior parte dei fluidi biologici tra cui sangue, urine, saliva e nei lavaggi broncoalveolari (BAL) (8-11).

Gli esosomi sono costituiti da un doppio strato lipidico, contengono proteine sia esposte sulla loro superficie che veicolate internamente insieme a numerosi acidi

nucleici che includono DNA, mRNA e microRNA, come illustrato schematicamente in Figura 1.

Proteine e acidi nucleici sono protetti da un doppio strato lipidico che conferisce loro un elevato grado di stabilità e tra i componenti molecolari che veicolano vi sono numerosi micro-RNA risultati utili come biomarcatori sia a fini diagnostici che per il monitoraggio di trattamenti terapeutici (12-15).

Notevole interesse hanno suscitato i risultati ottenuti dall'analisi dei profili proteomici e trascrittomici di queste vescicole che hanno evidenziato sia la presenza ubiquitaria di proteine tra cui le tetraspannine che di molecole tessuto-specifiche (18). Questa caratteristica può essere sfruttata per indirizzare esosomi ingegnerizzati e carichi con specifici farmaci solo verso determinate cellule bersaglio (Figura 2).

L'utilizzo di esosomi come veicolo di farmaci ("drug delivery") offre diversi vantaggi rispetto ad altri sistemi di trasporto, tra cui una limitata immunogenicità e una maggiore stabilità.

3. Approcci terapeutici basati sull'utilizzo di esosomi nelle malattie allergiche

3.1 Esosomi e patologie allergiche

Nel corso di reazioni allergiche gli esosomi rilasciati da diversi tipi cellulari contribuiscono potenziando o inibendo fasi diverse della reazione e potrebbero essere potenzialmente manipolati allo scopo di concepire nuovi approcci terapeutici nella cura delle malattie allergiche (19,20).

Figura 1 Biogenesi e composizione delle vescicole extracellulari

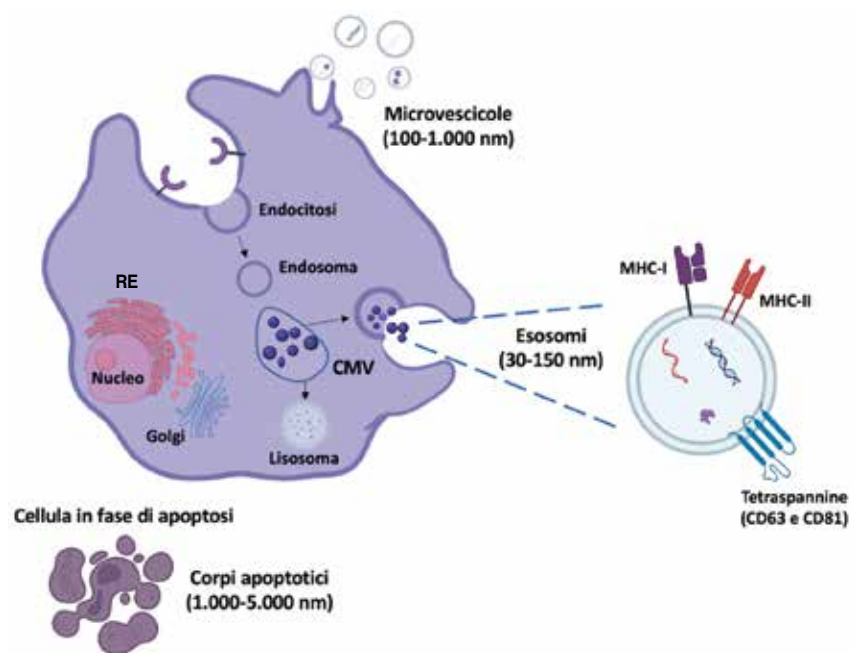


Figura 1. Le vescicole extracellulari comprendono microvesicole, esosomi e corpi apoptotici. Le microvesicole vengono rilasciate dalla membrana plasmatica attraverso protrusione o gemmazione della membrana plasmatica; gli esosomi sono nanovesicole rilasciate da specifici compartimenti endosomali, detti Corpi MultiVescicolari (CMV), in seguito alla loro fusione con la membrana plasmatica; i corpi apoptotici sono generati dall'invaginazioni della membrana plasmatica di cellule in fase di apoptosi. Nell'ingrandimento a destra sono illustrati i principali componenti molecolari degli esosomi. La maggior parte di essi sono condivisi con le microvesicole. Modificato da Lecce et al. (2020) utilizzando Biorender.com.



Durante l'instaurarsi di una reazione allergica la fase di sensibilizzazione avviene in seguito alla compromissione della barriera cutanea o polmonare a livello della quale segnali infiammatori provenienti dalle cellule epiteliali, inclusi quelli forniti dalla linfopoietina stromale timica (TSLP) e delle citochine IL-25 e IL-33, sono in grado di promuovere l'attivazione dei linfociti innati il tipo 2 (ILC2) segnando l'inizio di una preferenziale risposta di tipo T helper 2 (Th2) (21). In questo contesto è interessante notare

come le cellule dendritiche (DC) attivate da TSLP siano in grado di rilasciare esosomi che guidano la proliferazione dei linfociti T CD4+ e il differenziamento della sottopopolazione Th2. Inoltre, sia gli esosomi rilasciati dalle DC che dai linfociti B possono veicolare al loro interno allergeni e sono in grado di promuovere la produzione di citochine di tipo Th2 (22,23).

Analizzando poi il contenuto di esosomi rilasciati nei BAL di pazienti affetti da asma è stata riscontrata la presenza di

numerosi microRNA che promuovono la produzione di citochine di tipo Th2 (24,25).

Durante la fase di scatenamento sia i MC, come descritto in dettaglio nel prossimo sottoparagrafo, che gli eosinofili sono in grado di rilasciare esosomi che regolano positivamente la reazione allergica.

In particolare, gli esosomi derivati dagli eosinofili agiscono in maniera autocrina promuovendo sia la migrazione degli eosinofili dal sangue al tessuto sede della reazione che la loro funzione effettrice



Figura 2

Gli esosomi come veicoli di biomolecole e di agenti terapeutici

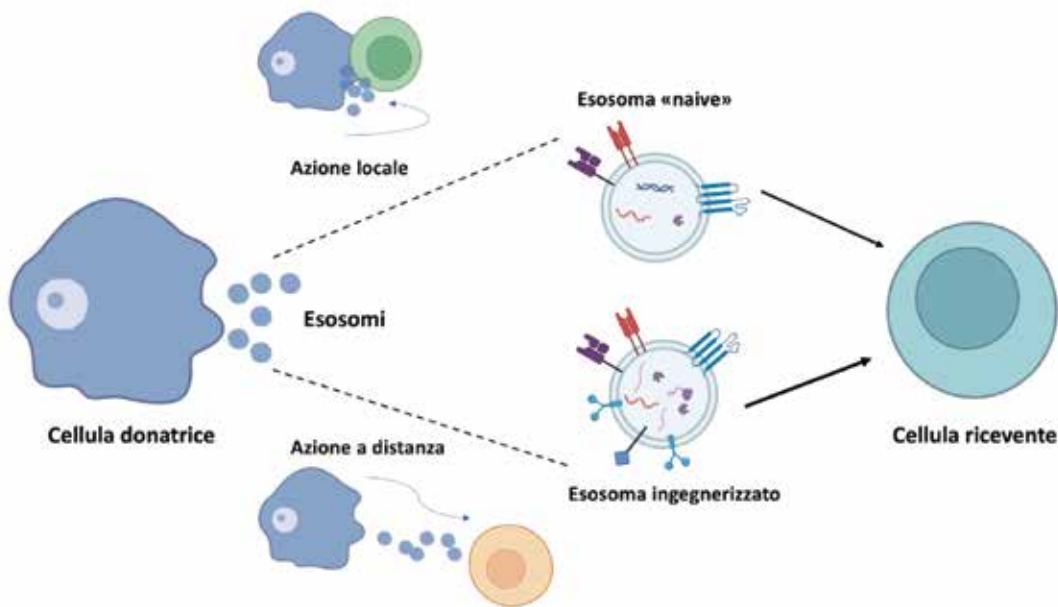


Figura 2. Gli esosomi sono secreti da una vasta gamma di cellule che includono sia cellule del sistema immunitario che cellule tumorali e funzionano da messengeri intercellulari non solo localmente ma anche a distanza. L'esosoma «naive» può essere ingegnerizzato per potenziare la sua capacità di veicolare biomolecole e/o farmaci. L'esosoma ingegnerizzato potrà inoltre essere captato dalla cellula ricevente in maniera più efficiente rispetto all'esosoma «naive». Creato da Biorender.com.



inducendo produzione di specie reattive dell'ossigeno e di ossido nitrico (26). In pazienti asmatici, ciò contribuisce alla morte delle cellule epiteliali alveolari, ritarda il processo di riparo e aumenta la proliferazione delle cellule muscolari lisce causando ostruzione delle vie aeree e rimodellamento dei tessuti (27). Anche i neutrofili possono partecipare alla fase tardiva della reazione ed agire con un meccanismo simile a quello appena descritto che prevede quindi il rilascio di esosomi in grado di agire in maniera autocrina amplificando il processo infiammatorio e causando ulteriore rimodellamento delle vie aeree (28).

In questo contesto, l'uso di farmaci per inibire la produzione di esosomi potrebbe interferire con questa loro deleteria azione ed alleviare la sintomatologia associata alla fase tardiva dell'asma allergico.

3.2 Ruolo di esosomi derivati dai mastociti e potenziale terapeutico

Numerosi studi hanno dimostrato che nel corso di una reazione allergica il dialogo tra MC e gli altri effettori cellulari è mediato primariamente da EVs prodotte dagli stessi MC dopo attivazione indotta dall'aggregazione del recettore FcεRI (29). In uno di questi primi studi, Kormelink e coautori hanno dimostrato che i MC in realtà rilasciano microvescicole e esosomi anche in assenza di attivazione ma che dopo stimolazione antigene dipendente la quantità di vescicole rilasciate nel mezzo di coltura aumenta (30). Inoltre, EVs derivati dai MC attivati sono arricchiti del marcatore CD63, differiscono

per dimensione e composizione lipidica e contengono una maggiore quantità di mediatori biologicamente attivi rispetto a quelli derivati da MC a riposo (30).

Analizzando la composizione molecolare delle EVs isolate da colture primarie di MC generate a partire da precursori del midollo osseo (BMMC), è stata evidenziata la presenza di quantità più elevate di proteasi (triptasi e carbossipeptidasi A) e IL-4 negli EVs rilasciati dopo stimolazione antigene dipendente rispetto a vescicole rilasciate costitutivamente (31), suggerendo una loro funzione regolatoria. In relazione all'attività biologica degli EVs rilasciati dai MC attivati, Valadi e coautori hanno inoltre riportato la presenza di miRNA che possono essere trasferiti a cellule riceventi diverse dai MC alterando la loro funzione (12, 32).

Nel caso di MC umani attivati dall'aggregazione del recettore FcεRI, le EVs rilasciate dai MC vengono riconosciute e internalizzate da ILC2 e sono in grado, veicolando un miRNA selettivo (miR-103a-3p), di aumentare la produzione di IL-5 potenziando il processo infiammatorio (33).

Mediante la produzione di esosomi, i MC possono indirettamente regolare la risposta adattativa inducendo in vivo la maturazione delle DC e la presentazione dell'antigene ai linfociti T (34). Inoltre, gli esosomi promuovono in vitro l'espansione e il differenziamento dei linfociti T CD4+ "naive" in linfociti Th2 mediante il legame diretto tra il ligando di OX40, esposto sulla loro superficie, e il recettore OX40 presente sulla superficie dei linfociti T (35). EVs derivate da MC di pazienti affetti da psoriasi, possono anche

veicolare selettivamente la fosfolipasi A2 contribuendo in questi pazienti a potenziare la risposta T specifica (36).

Diversi studi hanno riportato un ruolo critico dei MC, riconducibile alla loro produzione di esosomi, anche nella regolazione della neuroinfiammazione. In risposta a infezioni e tossine i MC interagiscono con le cellule della microglia che si attivano rilasciando citochine pro-infiammatorie. È stato recentemente dimostrato come l'interazione tra MC e microglia avvenga grazie al rilascio di EVs da parte dei MC attivati da lipopolisaccaride ed il trasferimento selettivo di miR-409-3p veicolato dall'interno delle vescicole alla microglia. Ciò causa l'attivazione di NF-κB in seguito alla ridotta espressione di specifici recettori nucleari, promuovendo l'attivazione della microglia con conseguente insorgenza di neuroinfiammazione (37).

Nonostante queste evidenze sperimentali, il ruolo di EVs derivate dai MC nella regolazione delle reazioni allergiche è ancora controverso. Uno studio recente ha dimostrato che EVs rilasciati da MC murini coltivati in vitro espongono il recettore FcεRI e che l'iniezione endovenosa di queste vescicole in un modello murino di asma allergico indotto dall'esposizione all'ovalbumina diminuisce le IgE sieriche specifiche per l'ovalbumina (38). Questi dati suggeriscono che l'utilizzo di esosomi che veicolano il recettore FcεRI libero (ossia non legato all'IgE) potrebbe rappresentare un nuovo approccio terapeutico capace di limitare la fase di sensibilizzazione dei MC.

Più di recente il mio gruppo di ricerca ha dimostrato che esosomi isolati da MC



murini attivati dopo stimolazione antigenica veicolano sulla loro superficie sia il recettore FcεRI che immunocomplessi IgE/antigene multivalente e che questi esosomi sono in grado di essere captati

da MC sensibilizzati e di promuovere la loro degranulazione in maniera dose dipendente e a livelli comparabili rispetto a quelli indotti dall'antigene multivalente (39). Da sieri di individui atopici abbia-

mo anche isolato esosomi che trasportano IgE in quantità proporzionali ai livelli anticorpali presenti nel siero (39). Queste nanovesicole potrebbero dunque agire favorendo la fase di sensibilizzazione.

È inoltre verosimile che gli esosomi rilasciati dai MC attivati che espongono il complesso IgE/antigene siano anche riconosciuti e internalizzati da monociti e DC di soggetti atopici che esprimono il recettore FcεRI (40). La loro captazione ad opera delle DC potrebbe favorire la processazione e la presentazione dell'antigene ai linfociti T contribuendo ad amplificare ulteriormente la risposta allergica.

Come illustrato in Figura 3 è possibile ipotizzare che i MC in assenza di uno stimolo antigenico siano in grado di rilasciare esosomi che trasportano il recettore FcεRI vuoto e che sono in grado di legare l'IgE presente in circolo regolando negativamente la risposta infiammatoria (Figura 3, pannello A). I MC sensibilizzati (ossia con l'IgE legata al recettore FcεRI) attivati dal riconoscimento dell'antigene multivalente, rilasciano esosomi che veicolano l'intero complesso FcεRI/IgE/antigene e sono pertanto in grado di agire in concerto con l'antigene multivalente amplificando la reazione allergica (Figura 3, pannello B).

Nel complesso, i risultati illustrati e discussi in questo paragrafo dimostrano come esosomi e microvesicole rilasciate dai MC siano in grado di veicolare messaggi molecolari in cellule ricipienti capaci di modulare la risposta infiammatoria in senso negativo o in senso positivo e che ulteriori studi sono necessari per chiarire il loro effettivo ruolo in vivo.

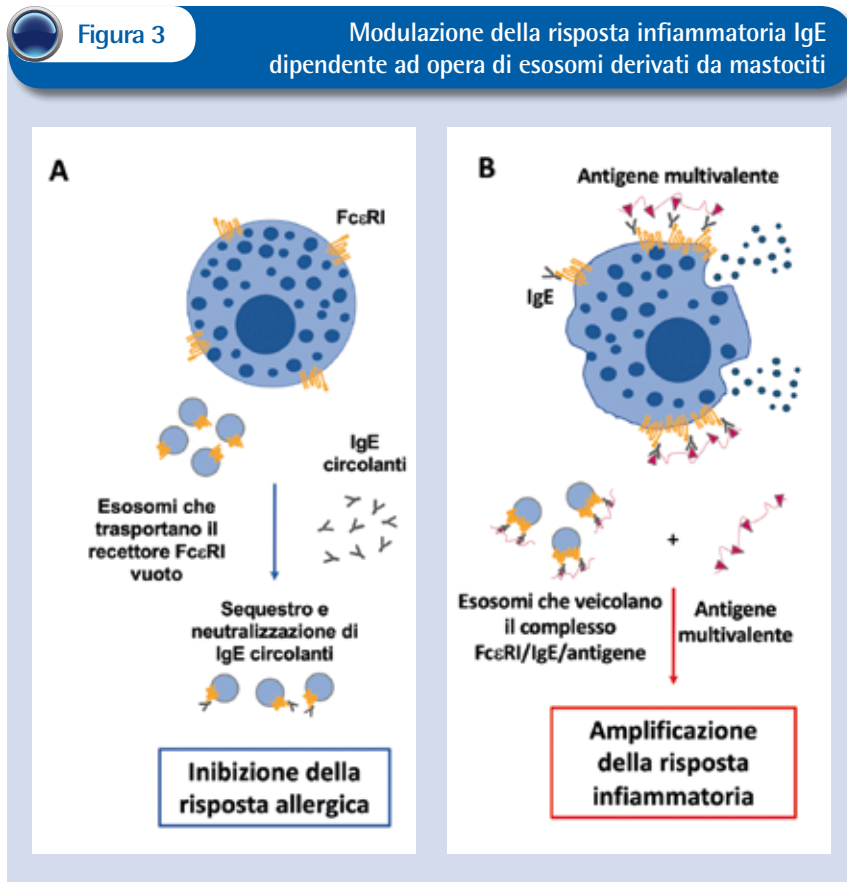


Figura 3. (A) In assenza di uno stimolo i mastociti rilasciano esosomi recanti recettori FcεRI vuoti che sono in grado di legare e neutralizzare IgE circolanti reprimendo la risposta allergica. (B) Dopo aggregazione recettoriale indotta dal legame di un antigene multivalente con le IgE legate ai recettori FcεRI, i mastociti rilasciano esosomi che veicolano sulla loro superficie l'intero complesso FcεRI/IgE/antigene che agisce cooperando con l'antigene multivalente solubile nell'amplificare la risposta allergica. Parzialmente creato da Biorender.com.



CONCLUSIONE E PROSPETTIVE FUTURE

Gli esosomi, grazie al loro ruolo sia in condizioni fisiologiche che patologiche e ai recenti sviluppi tecnologici che consentono la loro rapida purificazione e caratterizzazione, hanno cambiato in modo significativo molte aree della scienza clinica. La fase di sperimentazione è incoraggiante e gli esosomi potrebbero rappresentare un valido supporto terapeutico anche nelle malattie allergiche, che stanno diventando una delle principali minacce per la salute a livello mondiale rappresentando anche un onere economico significativo.

Le reazioni allergiche possono essere viste come una reazione eccessiva del sistema immunitario caratterizzata da una mas-

siccia e deregolata produzione di anticorpi IgE in risposta ad un antigene estraneo ma innocuo. L'utilizzo di esosomi ingegnerizzati per trasportare il recettore FcεRI vuoto in grado di legare l'IgE libera presente nel siero potrebbe avere effetti immunomodulatori benefici, suggerendo un loro potenziale promettente impiego per approcci terapeutici mirati ad inibire la risposta infiammatoria IgE mediata in soggetti atopici. Inoltre, la messa a punto di vescicole modificate per avere una maggiore propensione a fondersi con le membrane di specifiche cellule riceventi potrebbe potenziare le capacità terapeutiche.

Da un altro punto di vista, le allergie possono essere viste come una risposta caratterizzata da una sottoproduzione di anticorpi IgG antigene-specifici ad alta

affinità in grado di proteggere il corpo dalle funzioni effettrici IgE-mediate. In tal caso, esosomi ingegnerizzati al fine di veicolare molecole in grado di correggere la risposta privilegiando il differenziamento di linfociti Th1 a discapito dei Th2 potrebbero essere somministrati ad individui allergici come alternativa all'attuale terapia iposensibilizzante.

Infine, un altro approccio in fase di sviluppo come possibile strategia terapeutica in particolare per i soggetti asmatici prevede l'uso di inibitori della produzione di EVs per impedire alle vescicole di amplificare la risposta infiammatoria.

La piena applicazione di quanto descritto non è di facile e immediata attuazione e sono necessari ulteriori studi che, sulla base dei loro risultati, potrebbero garantire future innovazioni terapeutiche.



Bibliografia

1. Gurish MF, Austen KF. Developmental origin and functional specialization of mast cell subsets. *Immunity*. 2012;37(1):25-33. doi: 10.1016/j.immuni.2012.07.003
2. Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2004 Oct;4(10):787-99. doi: 10.1038/nri1460.
3. Kraft S, Kinet JP. New developments in FcεRI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol*. 2007 May;7(5):365-78. doi: 10.1038/nri2072.
4. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med*. 2012 May 4;18(5):693-704. doi: 10.1038/nm.2755.
5. Frossi B, Mion F, Tripodo C, et al. Rheostatic Functions of Mast Cells in the Control of Innate and Adaptive Immune Responses. *Trends Immunol*. 2017 Sep;38(9):648-656. doi: 10.1016/j.it.2017.04.001.
6. Carroll-Portillo A, Surviladze Z, Cambi A, et al. Mast cell synapses and exosomes: membrane contacts for information exchange. *Front Immunol*. 2012 Mar 15;3:46. doi: 10.3389/fimmu.2012.00046.
7. Groot Kormelink T, Arkesteijn GJ, van de Lest CH, et al. Mast Cell Degranulation Is Accompanied by the Release of a Selective Subset of Extracellular Vesicles That Contain Mast Cell-Specific Proteases. *J Immunol*. 2016 Oct 15;197(8):3382-3392. doi: 10.4049/jimmu-nol.1600614.
8. Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2009 Aug;9(8):581-93. doi: 10.1038/nri2567.
9. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol*. 2013 Feb 18;200(4):373-83. doi: 10.1083/jcb.201211138
10. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:255-89. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326.
11. Caby MP, Lankar D, Vincendeau-Scherrer



Bibliografia

- C, et al. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol.* 2005 Jul;17(7):879-87. doi: 10.1093/intimm/dxh267
12. Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007 Jun;9(6):654-9. doi: 10.1038/ncb1596.
13. Zaborowski MP, Balaj L, Breakefield XO, et al. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study. *Bioscience.* 2015 Aug 1;65(8):783-797. doi: 10.1093/biosci/biv084.
14. Dini L, Tacconi S, Carata E, et al. Microvesicles and exosomes in metabolic diseases and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020 Feb;51:27-39. doi: 10.1016/j.cytogfr.2019.12.008.
15. Ciardiello C, Cavallini L, Spinelli C, et al. Focus on Extracellular Vesicles: New Frontiers of Cell-to-Cell Communication in Cancer. *Int J Mol Sci.* 2016 Feb 6;17(2):175. doi: 10.3390/ijms17020175.
16. Shefler I, Salamon P, Mekori YA. Extracellular Vesicles as Emerging Players in Intercellular Communication: Relevance in Mast Cell-Mediated Pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 25;22(17):9176. doi: 10.3390/ijms2217917616.
17. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles.* 2018 Nov 23;7(1):1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.
18. Simpson RJ, Lim JW, Moritz RL, et al. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics.* 2009 Jun;6(3):267-83. doi: 10.1586/epr.09.17.
19. Admyre C, Telemo E, Almqvist N, et al. Exosomes - nanovesicles with possible roles in allergic inflammation. *Allergy.* 2008 Apr;63(4):404-8. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01600.x.
20. Alashkar Alhamwe B, Potaczek DP, Miethel S, et al. Extracellular Vesicles and Asthma-More Than Just a Co-Existence. *Int J Mol Sci.* 2021 May 7;22(9):4984. doi: 10.3390/ijms22094984.
21. Huang L, Zhang X, Wang M, et al. Exosomes from Thymic Stromal Lymphopoietin-Activated Dendritic Cells Promote Th2 Differentiation through the OX40 Ligand. *Pathobiology.* 2019;86(2-3):111-117. doi: 10.1159/000493013.
22. Vallhov H, Gutzeit C, Hulthenby K, et al. Dendritic cell-derived exosomes carry the major cat allergen Fel d 1 and induce an allergic immune response. *Allergy.* 2015 Dec;70(12):1651-5. doi: 10.1111/all.12701.
23. Admyre C, Bohle B, Johansson SM, et al. B cell-derived exosomes can present allergen peptides and activate allergen-specific T cells to proliferate and produce TH2-like cytokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2007 Dec;120(6):1418-24. doi: 10.1016/j.jaci.2007.06.040.
24. Levänen B, Bhakta NR, Torregrosa Paredes P, et al. Altered microRNA profiles in bronchoalveolar lavage fluid exosomes in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Mar;131(3):894-903. doi: 10.1016/j.jaci.2012.11.039
25. Simpson LJ, Patel S, Bhakta NR, et al. A microRNA upregulated in asthma airway T cells promotes TH2 cytokine production. *Nat Immunol.* 2014 Dec;15(12):1162-70. doi: 10.1038/ni.3026.
26. Cañas JA, Sastre B, Mazzeo C, et al. Exosomes from eosinophils autoregulate and promote eosinophil functions. *J Leukoc Biol.* 2017 May;101(5):1191-1199. doi: 10.1189/jlb.3AB0516-233RR.
27. Cañas JA, Sastre B, Rodrigo-Muñoz JM, et al. Eosinophil-derived exosomes contribute to asthma remodelling by activating structural lung cells. *Clin Exp Allergy.* 2018 Sep;48(9):1173-1185. doi: 10.1111/cea.13122
28. Sadik CD, Luster AD. Lipid-cytokine-chemokine cascades orchestrate leukocyte recruitment in inflammation. *J Leukoc Biol.* 2012 Feb;91(2):207-15. doi: 10.1189/jlb.0811402.
29. Lecce M, Molfetta R, Milito ND, et al. FcεRI Signaling in the Modulation of Allergic Response: Role of Mast Cell-Derived Exosomes. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 30;21(15):5464. doi: 10.3390/ijms21155464.
30. Groot Kormelink T, Arkesteijn GJ, van de Lest CH, et al. Mast Cell Degranulation Is Accompanied by the Release of a Selective Subset of Extracellular Vesicles That Contain Mast Cell-Specific Proteases. *J Immunol.* 2016 Oct 15;197(8):3382-3392. doi: 10.4049/jimmunol.1600614.
31. Liang Y, Huang S, Qiao L, et al. Characterization of protein, long noncoding RNA and microRNA signatures in extracellular vesicles derived from resting and degranulated mast cells. *J Extracell Vesicles.* 2019 Dec 6;9(1):1697583. doi: 10.1080/20013078.2019.1697583.
32. Ekström K, Valadi H, Sjöstrand M, et al. Characterization of mRNA and microRNA in human mast cell-derived exosomes and their transfer to other mast cells and blood CD34



Bibliografia

- progenitor cells. *J Extracell Vesicles*. 2012 Apr 16;1. doi: 10.3402/jev.v1i0.18389.
33. Toyoshima S, Sakamoto-Sasaki T, Kurosawa Y, et al. miR103a-3p in extracellular vesicles from FcεRI-aggregated human mast cells enhances IL-5 production by group 2 innate lymphoid cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 May;147(5):1878-1891. doi: 10.1016/j.jaci.2021.01.002.
34. Skokos D, Botros HG, Demeure C, et al. Mast cell-derived exosomes induce phenotypic and functional maturation of dendritic cells and elicit specific immune responses in vivo. *J Immunol*. 2003 Mar 15;170(6):3037-45. doi: 10.4049/jimmunol.170.6.3037.
35. Li F, Wang Y, Lin L, et al. Mast Cell-Derived Exosomes Promote Th2 Cell Differentiation via OX40L-OX40 Ligation. *J Immunol Res*. 2016;2016:3623898. doi: 10.1155/2016/3623898.
36. Cheung KL, Jarrett R, Subramaniam S, et al. Psoriatic T cells recognize neolipid antigens generated by mast cell phospholipase delivered by exosomes and presented by CD1a. *J Exp Med*. 2016 Oct 17;213(11):2399-2412. doi: 10.1084/jem.20160258.
37. Hu L, Si L, Dai X, et al. Exosomal miR-409-3p secreted from activated mast cells promotes microglial migration, activation and neuroinflammation by targeting Nr4a2 to activate the NF-κB pathway. *J Neuroinflammation*. 2021 Mar 9;18(1):68. doi: 10.1186/s12974-021-02110-5.
38. Xie G, Yang H, Peng X, et al. Mast cell exosomes can suppress allergic reactions by binding to IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Feb;141(2):788-791. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.040.
39. Molfetta R, Lecce M, Quatrini L, et al. Immune complexes exposed on mast cell-derived nanovesicles amplify allergic inflammation. *Allergy*. 2020 May;75(5):1260-1263. doi: 10.1111/all.14103.
40. Groot Kormelink T, Mol S, de Jong EC, et al. The role of extracellular vesicles when innate meets adaptive. *Semin Immunopathol*. 2018 Sep;40(5):439-452. doi: 10.1007/s00281-018-0681-1.



Since 1945, a constant commitment to improving the health of allergic patients





RECENSIONI

Diete vegane da un punto di vista allergologico

Vegan diets from an allergy point of view
Position paper of the DGAKI working group on food allergy

Reese I. et al. *Allergologie select* vol. 7, 57-83, 2023

La dieta vegana è un regime alimentare che esclude completamente il consumo di prodotti di origine animale e che sembra essere sempre più popolare. Ad esempio, si stima che in Germania il numero di vegani sia passato da meno di 80.000 nel 2008 fino a quasi 1,6 milioni nel 2022, e che la produzione dei prodotti sostitutivi della carne sia aumentata del 37% in un solo anno, tra il 2019 e il 2020. Secondo un'indagine di mercato del 2016 la scelta di seguire una dieta vegana è principalmente legata al benessere degli animali (nel 60% dei casi) e solo in una percentuale minore (8%) a ragioni di salute, ma anche altri fattori possono essere determinanti, come motivi religiosi o il desiderio di adottare uno stile di vita più sostenibile. Le diete a base di prodotti vegetali sono generalmente considerate più salutari, soprattutto in relazione a malattie cardiovascolari, diabete di tipo 2 e cancro, ma spesso rischiano di essere carenti di alcuni macro- e micronutrienti. Inoltre, l'uso di prodotti sostitutivi vegani, spesso ultra-processati, può anche comportare rischi legati alle allergie, dato che non sempre sono disponibili informazioni accurate sugli ingredienti presenti.

Questi temi sono trattati in maniera approfondita in un *position paper* della Società Tedesca di Allergologia e Immunologia Clinica (*Deutsche Gesellschaft für Allergologie und Klinische Immunologie*, DGAKI). In questo documento gli autori presentano benefici, limitazioni e rischi delle diete vegane, soprattutto in relazione alle allergie. Riguardo agli aspetti nutrizionali, sottolineano che per garantire l'assunzione delle dosi giornaliere raccomandate dei vari nutrienti sia indispensabile consumare ogni giorno legumi, soprattutto soia, frutta secca, semi, patate e altre verdure, e cereali integrali, e presentano un esempio di piano dietetico vegano bilanciato (per adulti; Tabella 1 del lavoro originale). La dieta vegana di

solito è povera di calcio, ferro, vitamina B12, zinco, iodio, selenio, e acidi grassi omega-3 a catena lunga. Oltre a integrare questi importanti elementi, è indispensabile assicurare un apporto adeguato di proteine, soprattutto in termini di qualità. Questa è legata alla proporzione di amminoacidi essenziali nella fonte proteica, e generalmente è significativamente più alta nelle fonti animali rispetto a quelle vegetali. Strategie utili a soddisfare il fabbisogno proteico consistono nel consumare quantitativi maggiori della fonte proteica, combinare diverse fonti proteiche vegetali, utilizzare integratori di amminoacidi o isolati e concentrati proteici nella produzione dei prodotti vegani.

Il rischio di non soddisfare le esigenze nutrizionali usando prodotti sostitutivi viene ben esemplificato dai sostituti del latte vaccino. Infatti, in commercio si trova un'ampia varietà di bevande alternative al latte, ottenute da diverse fonti vegetali (ad es. "latte di" soia, riso, mandorla, anacardi, avena, orzo...), ma il profilo nutrizionale di questi prodotti è piuttosto diverso da quello del latte, soprattutto in termini di proteine, calcio e vitamine. Gli autori discutono questi aspetti e, in Tabella 4 del lavoro originale, presentano un confronto tra i valori nutrizionali (valore energetico, proteine, carboidrati, grassi e calcio) di latte vaccino e yogurt e quelli di alcuni prodotti alternativi a base vegetale. La raccomandazione per chi decide di passare a una dieta vegana, è di sostituire il latte con bevande a base di





soia arricchite di calcio. Oltre agli aspetti nutrizionali, occorre considerare anche il potenziale allergenico dei drink vegetali, che non è solo legato all'ingrediente principale, ma anche alla presenza di altre componenti, come isolati proteici vegetali (utilizzati per aumentare il contenuto proteico delle bevande) che potrebbero non essere indicati in etichetta.

Reese e colleghi discutono anche altri prodotti vegetali sostitutivi dal punto di vista delle allergie. Uno dei rischi è che i pazienti allergici a proteine animali scelgano prodotti vegani considerandoli sicuri. Tuttavia, l'etichetta "vegano" si riferisce solo all'assenza, tra gli ingredienti, di componenti di origine animale, ma non esclude eventuali contaminazioni legate alla produzione, come mostrato da uno studio su 30 alimenti vegani, che ha rilevato la presenza accidentale di latte in alcuni prodotti dolciari. Inoltre, le principali fonti proteiche vegetali, come legumi e frutta secca, sono tra le più importanti cause di reazioni anafilattiche. Gli autori valutano in dettaglio i vari gruppi, come legumi (arachidi, soia, lupino, piselli), frutta a guscio e semi (anacardi, nocciole, sesamo, semi di canapa) e grano, fornendo informazioni sul loro utilizzo, diffusione, allergeni, possibili reattività crociate, etichettatura.

Un altro aspetto interessante che gli autori sottolineano è che molti prodotti vegani pronti al consumo sono altamente trasformati e lavorati (alimenti ultra-processati), al fine di renderli più appetibili e più simili ai prodotti animali per sapore, aspetto, e consistenza. Questo porta ad avere alimenti troppo ricchi di sale, zucchero e amido, ma poveri di proteine, fibre e micronutrienti, compromettendo così la qualità nutrizionale e riducendo o annullando i benefici associati a una dieta vegana. Inoltre, a causa della lavorazione intensiva, il potenziale allergenico di questi prodotti non può essere pienamente valutato e sono necessari ulteriori studi in merito. Va anche considerato che il ridotto contenuto di fibre alimentari negli alimenti ultra-processati potrebbe alterare il microbioma intestinale e avere effetti negativi sulle risposte immunitarie.

Gli autori concludono sottolineando che le persone che scelgono di optare per una dieta vegana dovrebbero essere consapevoli dei limiti e delle implicazioni per la salute, e raccomandano loro di rivolgersi a un esperto per una consulenza nutrizionale.

Uno straordinario caso di dermatite da contatto da nichel

Contact allergy to a meteorite: An interesting consequence of nickel allergy

Malinauskiene L. *Contact Dermatitis*, vol. 79, issue 1, 36-37 Jul 2018.
doi: 10.1111/cod.12974.

Questo *case report* piuttosto curioso è apparso sulla rivista *Contact Dermatitis* nel 2018. Un giovane uomo (28 anni) soffriva da sei mesi di una dermatite alla mano destra, precisamente sul lato interno del mignolo, con lesioni eritematose e pruriginose nella zona a contatto con la fede nuziale. L'uomo aveva anche una dermatite sull'addome, in corrispondenza della fibbia della cintura. A rendere particolarmente interessante quello che poteva sembrava un caso piuttosto comune di dermatite da contatto, era la particolarità dell'anello. Il gioiello, in oro bianco, era infatti decorato con inserti provenienti da un meteorite.* L'anello è mostrato in Figura 1 del lavoro originale, e l'articolo riporta solo che era stato acquistato in una boutique specializzata.

Il paziente si è rivolto al Centro di Pneumologia e Allergologia dell'Università di Vilnius (Lituania), dove è stato sottoposto a *patch test* con serie standard europea e serie metalli (Chemotchenique Diagnostic). Le letture al secondo giorno (D2) hanno evidenziato una reazione molto intensa al nichel (+++; nichel solfato 5% pet) e reazioni chiaramente positive a cobalto e palladio (++; cobalto cloruro 1% pet.; palladio cloruro 2% pet.).

L'anello è stato accuratamente esaminato presso Dipartimento di Geologia e Mineralogia dell'Università di Vilnius, mediante microscopio binoculare e spettrometro a dispersione di energia accoppiato a un microscopio elettronico a scansione. Il materiale meteoritico è stato identificato come di tipo ferroso (classe IVA), costituito al 90% di ferro e 7% di nichel, e contenente fosforo



(0,3%) e cobalto (0,7%). Secondo quanto riportato nel lavoro, si trattava di frammenti dei meteoriti Gibeon (scoperto in Namibia nel 1836) e Muonionalusta (scoperto nella Scandinavia settentrionale nel 1906).

Per valutare il rilascio di nichel e cobalto dall'anello, sono stati utilizzati test commerciali, rispettivamente, il Chemo Nickel Test™ (test alla dimetilglicosima) e il Chemo cobalt test™ (contenente sale nitroso), entrambi prodotti da Chemotchenique Diagnostic. Il test per il cobalto è risultato negativo, mentre quello del nichel era positivo ma solo nella parte con i frammenti di meteorite, confermando che il nichel era la causa della dermatite da contatto alla mano e, verosimilmente, anche della reazione a livello dell'addome. Il paziente ha quindi smesso di indossare l'anello e la dermatite si è risolta.

Questo è in realtà il secondo caso riportato in letteratura di allergia da contatto dovuto a un gioiello realizzato con parti di meteorite. Il primo è stato pubblicato nel 2014 da un gruppo di dermatologi svizzeri e riportava un caso,

incredibilmente simile, di un uomo di 31 anni che da 8 settimane aveva una dermatite sul dito anulare dove indossava la fede, e sulla pancia, vicino alla fibbia della cintura. I *patch test* hanno mostrato positività al nichel solfato (+++) e il test alla dimetilglicosima sull'anello ha rilevato la presenza di nichel. Anche in questo caso, l'anello, acquistato a Parigi, era stato realizzato con un materiale meteoritico (meteorite di Gibeon).

Entrambi i lavori rappresentano casi "straordinari" di dermatite da contatto, legati però alla sensibilizzazione a un allergene, per così dire piuttosto "ordinario", come il nichel.

**Negli ultimi anni si è sviluppato un mercato molto fecondo e migliaia di frammenti di meteoriti vengono messi in vendita online. Oltre ai siti specializzati, le offerte finiscono su diversi canali di vendita e anche Christie's ha bandito recentemente un'asta con diversi lotti di meteoriti che sono andati presto sold out.*



Figura 1. Immagine di meteorite ferroso Widmanstätten

Un insolito caso di allergia respiratoria professionale

Unusual allergen in a butcher with respiratory symptoms

Sander I. et al. *Allergologie select* vol. 4, 105-109, 2 Dec. 2020

In questo lavoro si descrive un insolito caso di allergia occupazionale. Si tratta di un uomo di 37 anni, fumatore per 20 anni e con una storia di allergia ai pollini e asma bronchiale, che da otto anni soffriva anche di problemi respiratori, non stagionali, legati al suo lavoro in una grande azienda di lavorazione carni a Francoforte (Germania). Il paziente presentava attacchi di tosse secca e starnuti durante la preparazione di salsicce e l'impiego di miscele di spezie. Nel pomeriggio, quando passava alla produzione di crocchette di pollo (Figura 1), i sintomi peggioravano, arrivando a manifestare dispnea ed eruzioni cutanee tanto da dover raddoppiare



il dosaggio dello spray per l'asma (beclometasone dipropionato e formeterolo fumarato 200 µg/6 µg per erogazione).

Tra i possibili fattori scatenanti furono presi in considerazione alcune spezie (ad es. paprica e pepe) e alcuni additivi in polvere contenenti transglutaminasi di origine batterica. La transglutaminasi (o "colla per carne") è un enzima in grado di indurre la reticolazione delle proteine e viene sempre più utilizzata nella produzione di prodotti a base di carne, pesce e lattiero-caseari, poiché migliora la consistenza e l'aspetto dei prodotti lavorati. Gli additivi usati nell'Azienda oltre alla transglutaminasi possono contenere anche altre componenti in grado di facilitare la stabilizzazione, come le proteine del grano o del latte.

Il paziente è stato sottoposto ad esami strumentali e di laboratorio. Il test di funzionalità polmonare (pletisografia corporea) ha evidenziato una lieve ostruzione e iperreattività bronchiale. Mediante tecniche elettroforetiche sono state analizzate le proteine di due campioni della miscela enzimatica utilizzata nello stabilimento. Dato che la composizione della miscela era sconosciuta e, quindi, non era possibile escludere la presenza di altri componenti in grado di indurre sensibilizzazione, è stato incluso nell'analisi anche un preparato commerciale contenente specificamente la transglutaminasi del batterio *Streptomyces mobaraensis* (Activa). Nei preparati usati nella produzione si è evidenziata la presenza di più bande a 67, 40, 33, 16, 15, 13, e 12 kDa, mentre nel campione Activa erano visibili solo tre bande a 67, 40 e 12 kDa. I risultati dell'immunoblotting hanno mostrato che solo la banda a 40 kDa veniva riconosciuta dal siero del paziente, sia nella miscela usata al lavoro, sia nel campione Activa. Gli esperimenti di inibizione del siero con transglutaminasi allo 0,7% o il 2,8% (p/v), hanno mostrato l'inibizione del legame già alla più bassa concentrazione. L'analisi serologica confermava la positività nei confronti di entrambe le preparazioni di transglutaminasi. (7.12 e 7.48 kU/l). La stessa analisi effettuata su campioni di varie specie (coriandolo, macis, noce moscata, cardamomo e paprica) ha messo in



Figura 1. Crocchette di pollo

evidenza una positività, seppur debole, solo nei confronti del coriandolo 0,74 kU/l.

I prick test con il campione di transglutaminasi utilizzato in Produzione hanno dato esito positivo, così come i test di provocazione nasale e bronchiale con la paprica. Per motivi di sicurezza, non sono stati condotti test di provocazione con la transglutaminasi. I sintomi sono migliorati dopo il trasferimento in un'azienda dove non venivano usati enzimi.

In letteratura sono riportati casi di allergia professionale a proteine della carne, spezie o enzimi (papaina) nei lavoratori esposti alle suddette sostanze, ma questo è il primo caso di un addetto alla lavorazione della carne che ha sviluppato una sensibilizzazione allergica alla transglutaminasi.



Skin prick test o test molecolari nello screening delle allergie respiratorie?

Allergy screening with extract based skin prick tests demonstrates higher sensitivity over in vitro molecular allergy testing

Gureczny T. et al. *Clinical and translational allergy*
vol. 13,2 (2023): e12220

Il test di reazione cutanea skin prick test (SPT) rappresenta un metodo di prima linea per la diagnosi allergologica e una percentuale significativa degli allergologi europei ritiene che sia lo strumento diagnostico più efficace nel caso di allergie respiratorie (1). Lo SPT ha il vantaggio di fornire un risultato immediato che può essere discusso subito con il paziente e richiede competenze specialistiche per una corretta interpretazione. In alcuni casi infatti la lettura dei risultati può essere

resa difficile da alcuni fattori, come sensibilità a panallergeni non clinicamente rilevante o condizioni di eccessiva reattività della cute, come il dermografismo, mentre l'uso di certi farmaci può dare falsi negativi (ad es. antistaminici).

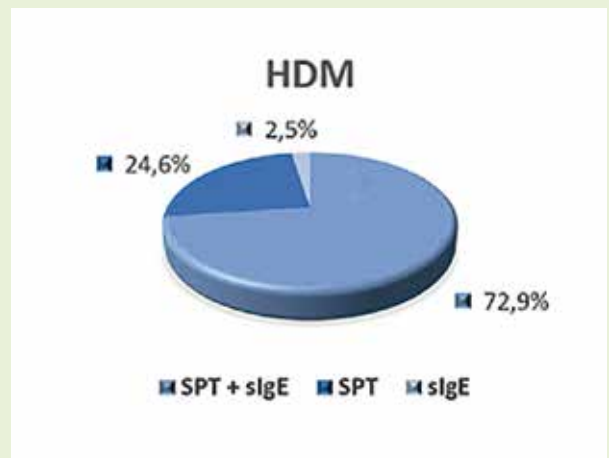
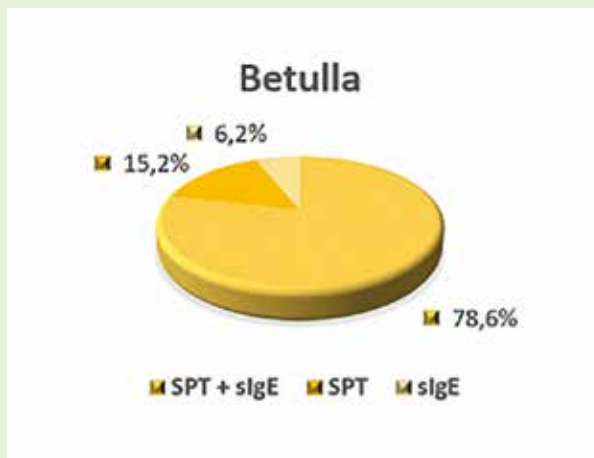
Anche i test in vitro per il dosaggio delle IgE allergene-specifiche (sIgE) nel siero dei pazienti sono ampliamenti utilizzati a scopi diagnostici. Il test può però dare falsi negativi se il paziente è sensibilizzato ad allergeni minori e l'analisi include solo le componenti molecolari allergeniche maggiori. Solitamente, sia lo SPT con l'estratto sia il dosaggio delle sIgE per i principali allergeni molecolari sono eseguiti di routine. Tuttavia, nel caso in cui solo uno dei due metodi fosse utilizzabile, quanti pazienti sarebbero falsamente identificati come non allergici? Questa è la domanda alla base dello studio di Gureczny e colleghi.

Questi autori hanno condotto un'analisi retrospettiva su un'ampia coorte di pazienti che si sono presentati nel 2018 presso il Floridsdorfer Allergie Zentrum, un grande centro di allergologia a Vienna. Nello studio sono stati inclusi solo i pazienti con una chiara storia di allergia respiratoria e con coppie complete di test SPT con estratto e sIgE agli allergeni



Figura 1

Risultati di confronti tra SPT, sIgE e SPT+sIgE





ni maggiori di betulla (Bet v 1), gatto (Fel d 1), graminacee (Phl p 1; Phl p 5) e HDM (Der p 1; Der p 2; Der p 23), per un totale di 2646 pazienti (età media 32,7 anni; 53,7% femmine), compresi individui sensibilizzati a più allergeni (1281 allergie a betulla, 1362 a HDM, 1577 a graminacee e 709 a gatto). I sintomi principali erano rinocongiuntivite allergica (35%), asma bronchiale/tosse allergica (11%) e dermatite atopica (7%). Al fine di confrontare la sensibilità dei due test, sono stati presi in considerazione solo i casi con un risultato positivo in almeno uno dei due test (\emptyset pomfo ≥ 3 mm e/o sIgE ≥ 0.35 kU/L). L'analisi ha evidenziato che per tutte le fonti di allergeni respiratori, il solo test cutaneo avesse una sensibilità maggiore (da 15,2% per betulla a 27,8% per gatto) della sola analisi in vitro (da 2,5% per HDM a 8,1% per le graminacee) (Figura 1). Per tutti e quattro gli allergeni si è osservata una correlazione positiva tra la dimensione del pomfo e i livelli di sIgE. Gli autori hanno anche mostrato che includere il dosaggio delle sIgE per Der p 23 per la diagnosi di allergia a HDM, non aumentasse in modo significativo la sensibilità dei test (sIgE da solo o in combinazione con SPT).

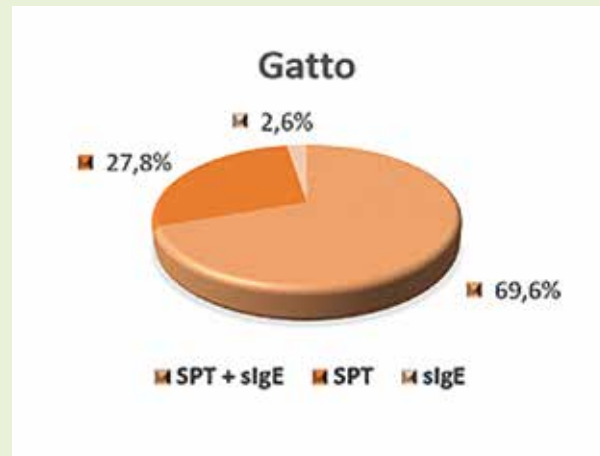
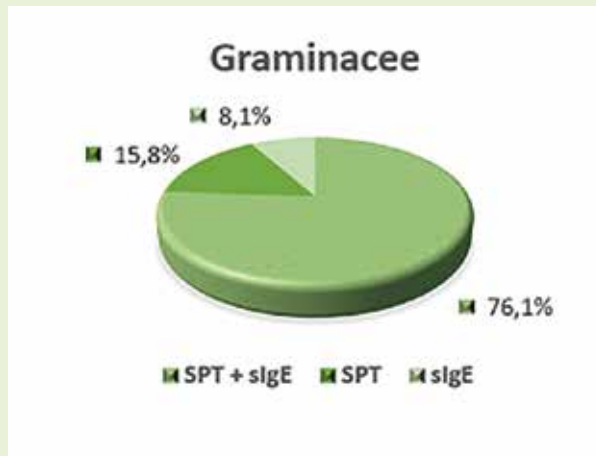
Nella discussione gli autori sottolineano vantaggi e svantaggi dell'utilizzo degli estratti naturali nei test diagnostici, confrontano criticamente i risultati ottenuti con quelli di altri studi, e discutono alcune limitazioni del loro studio (ad es. la mancanza di test di provocazione a causa dell'alto numero di pazienti coinvolti).

In conclusione, lo studio conferma l'importanza diagnostica dello SPT in allergologia clinica, sottolineando che non può essere sostituito dall'analisi in vitro delle sIgE per via della minore sensibilità di quest'ultimo, il cui uso è comunque raccomandato per integrare i risultati dei test cutanei e garantire una sensibilità ottimale.



Bibliografia

1. Cardona V, Demoly P, Dreborg S, Kalpaklioglu AF, Klimek L, Muraro A, Pfaar O, Popov TA, Hoffmann HJ. Current practice of allergy diagnosis and the potential impact of regulation in Europe. *Allergy*. 2018; 73(2):323-327. doi: 10.1111/all.13306.





Fare informazione, fare professione



Un approccio innovativo alla divulgazione culturale sul tema AIT per i giovani specializzandi in Allergologia e Immunologia clinica d'Italia (EAACI 2023)

A cura di Franco Frati

*Specialista in Pediatria, Allergologia e Immunologia Clinica
Direttore Lofarma Academy*

**F. Frati, N. De Beni, C. Ferrero,
L. Ladina, L. Gentile, E. Compalati**
Lofarma S.p.A, Milano

Lofarma Academy è un progetto d'informazione scientifica rivolto agli specializzandi in Allergologia e Immunologia clinica. Il Notiziario Allergologico dedica questa Rubrica a Lofarma Academy, offrendo ai giovani allergologi uno spazio culturale di confronto e condivisione delle proprie esperienze.

In questo numero:

- La presentazione del progetto Lofarma Academy al Congresso EAACI 2023
- La moderna immunoterapia specifica vista dai giovani specializzandi

Durante i corsi universitari, l'immunoterapia allergene-specifica (AIT) viene talvolta approcciata in modo teorico, lontano dalla pratica clinica. In assenza di un percorso didattico specificatamente dedicato all'AIT per gli specializzandi in Allergologia e Immunologia clinica, emerge la necessità di implementare percorsi educativi alternativi che permettano di integrare conoscenze teoriche con competenze di pratica clinica. L'indagine presentata all'EAACI esplorava l'impatto di un progetto di formazione dedicato a futuri allergologi, focalizzato su argomenti correlati all'AIT, dal percorso diagnostico al trattamento del paziente allergico, nonché la gestione di possibili effetti collaterali.

Nello specifico, l'indagine riguardava Lofarma Academy, corso di formazione dedicato a futuri allergologi, fondato nel 2021 e costituito da webinar da remoto ed incontri in presenza tenuti da esperti di settore, su temi clinici e casi reali di pratica clinica nel contesto delle allergie ed immunoterapia, libero da influenze commerciali. Questo progetto pilota ha incluso 18 delle 21 Scuole di Specializzazione italiane di Allergologia e Immunologia clinica, per un totale di 191 specializzandi iscritti. A conclusione del percorso formativo, i partecipanti sono stati invitati a rispondere a un breve questionario web, al fine di raccogliere il loro feedback sulla loro esperienza di apprendimento.



La maggioranza dei rispondenti ha espresso grande soddisfazione per l'esperienza formativa in Lofarma Academy, considerandolo un ottimo strumento educativo in grado di supportare il tradizionale percorso accademico, al fine di acquisire conoscenze più in profondità e pratiche dell'AIT. Tra le attività proposte, discussione clinica casi e citologia nasale sono state quelle più apprezzate. Tutti i partecipanti hanno valutato molto positivamente la possibilità di confronto, sia con gli specializzandi di altre Scuole d'Italia, sia con i Relatori esperti di settore, e consiglierebbero questo percorso educativo ad altri colleghi.

Questi primi risultati evidenziano l'importanza di un approccio di insegnamento innovativo per i futuri allergologi, utile per aumentare le competenze dei professionisti nel campo dell'AIT, in sinergia con quanto appreso nel tradizionale percorso accademico, con il fine di ottimizzare la gestione del paziente allergico nella pratica clinica.

La condivisione del know how delle aziende farmaceutiche in ambito divulgativo in partnership con istituzioni, quali società scientifiche ed università, può rappresentare una prospettiva futura per ottimizzare i percorsi formativi esistenti a supporto dell'AIT, tenendo conto delle esigenze degli specializzandi.

Immunoterapia specifica: certezze ed aspettative per i giovani allergologi

F. Villani

Medico specializzando in Allergologia e Immunologia Clinica,
Policlinico Umberto I, Roma

Negli ultimi anni, si è verificato un consistente incremento del numero di pazienti che giungono all'osservazione dello specialista Allergologo per sintomatologia di natura allergica, tra i quadri clinici i sintomi maggiormente riferiti sono oculorinite, asma allergico, allergia alimentare e allergia per il veleno di imenotteri.

Le malattie allergiche rappresentano al giorno d'oggi un rilevante problema di salute pubblica, non soltanto per l'incidenza registrata ma soprattutto per la compromissione delle capacità lavorative del soggetto colpito. È essenziale dunque intervenire quanto più precocemente possibile per limitare sequele e complicanze.

L'immunoterapia specifica (ITS) risulta essere a oggi l'unica valida alleata nel lavoro quotidiano di un allergologo. Il fine ultimo dell'utilizzo dell'ITS non è limitato solamente alla riduzione della sintomatologia specifica del paziente, ma soprattutto alla modulazione della storia clinica della malattia (effetto disease modifying).

L'utilizzo in real life ha dimostrato l'efficacia globale della terapia. L'ITS resta una potente arma a nostra disposizione, soprattutto in un universo sanitario che si prefigge l'obiettivo di una medicina di precisione "tagliata e cucita" sulle esigenze e sulle necessità del singolo.

I nostri sforzi dovrebbero in futuro puntare ad un'ulteriore specificità terapeutica, al fine di ottenere una riduzione di quel bacino di pazienti che rispondono solo parzialmente alla terapia.

Sarebbe opportuno, inoltre, puntare l'attenzione sui pazienti allergici polisensibili, che sempre più giungono all'osservazione del clinico durante l'attività.

Potrebbe essere d'aiuto, per dirimere eventuali dubbi sull'approccio desensibilizzante, formulare algoritmi terapeutici adeguati al fine di ottimizzare la terapia.

Si potrebbe, in futuro, modulare la formazione di una rete territoriale per la gestione di quei pazienti allergici che trarrebbero grande beneficio clinico dall'assunzione dell'ITS, ma che ne sono impossibilitati nell'esecuzione per cause socio-economiche.

Infine, ottenere una standardizzazione della rimborsabilità sul territorio italiano potrebbe ampliare il bacino d'utenza, offrendo a chiunque la possibilità di accedere alla terapia.

È essenziale sensibilizzare l'opinione pubblica sulle problematiche allergiche per ottimizzare le risorse disponibili sul territorio e ridurre, nel lungo periodo, la spesa sanitaria correlata alle complicanze della patologia allergica.



ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Il **Notiziario Allergologico** è una pubblicazione quadrimestrale di aggiornamento nel campo della Allergologia e delle discipline a essa correlate, rivolta ai Medici e ai Ricercatori. Il Notiziario Allergologico non pubblica articoli sperimentali, ma aggiornamenti e rassegne concordati con il Direttore responsabile e gli Autori, sia per quanto riguarda i contenuti che la lunghezza. Le affermazioni e le opinioni espresse negli articoli sono quelle degli Autori e non esprimono necessariamente il parere del Direttore responsabile o della Redazione.

- I **manoscritti** per la pubblicazione devono essere inviati tramite posta elettronica a:

redazione@lofarma.it

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

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

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

Notiziario Allergologico is a quarterly publication for updates in the field of Allergology and related disciplines, aimed at Physicians and Researchers. Notiziario Allergologico does

not publish experimental articles, but updates and reviews agreed upon with the Editor in Chief and Authors, both in content and length. The statements and opinions expressed in the articles are those of the Authors and do not necessarily express the views of the Editor in Chief or the Editorial Staff.

- **Manuscripts** for publication should be sent by e-mail to:

redazione@lofarma.it

In manuscripts, in addition to the Authors' full name, the Authors' affiliation and the mailing address of the Author to whom the drafts will be sent must be indicated.

- The **text** should be in Word or similar format, without using specific layout programs.

- **Illustrations**, photographs and tables should be saved and sent in separate files (JPG, TIFF, PDF formats).

El **Notiziario Allergologico**

es una publicación cuatrimestral de actualización en el sector de la Alergología y disciplinas afines, dirigida a Médicos e Investigadores. El Notiziario Allergologico no publica artículos experimentales, sino actualizaciones y revisiones concertadas con el Director editorial y los Autores, tanto en contenido como en extensión. Las afirmaciones y opiniones expresadas en los artículos son las de los Autores y no reflejan necesariamente la opinión del Director editorial o de la Redacción.

- Los **manuscritos** para la publicación deben enviarse por correo electrónico a:

redazione@lofarma.it

En los manuscritos, además del nombre completo del Autor o Autores, deberá figurar su afiliación y la dirección postal del Autor a la que se enviarán los borradores.

- El **texto** debe estar en formato Word o similar, sin utilizar programas específicos de maquetación.

- Las **ilustraciones**, las fotografías y las tablas deben guardarse y enviarse en archivos separados (formatos JPG, TIFF, PDF).

Scarica, tramite QR code,
le istruzioni per gli autori
in formato PDF.



ITALIANO

Download, via QR code,
instructions for authors
in PDF format.



ENGLISH

Descarga, mediante código QR,
instrucciones para autores
en formato PDF.



ESPAÑOL

**BREATHE WELL,
LIVE WELL**



Lofarma 1945

viale Cassala 40 • 20143 Milan, Italy
www.lofarma.it

