



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA**

TESI DI LAUREA

**IL RUOLO DEI MASTOCITI NELLA FUNZIONE BARRIERA DELLA  
CUTE**

RELATORE: PROF.SSA ALESSANDRA SEMENZATO

LAUREANDA: ILARIA MAZZETTO

ANNO ACCADEMICO: 2022/2023



*Alla mia famiglia*





## INDICE

<b>ABBREVIAZIONI</b> .....	<b>7</b>
<b>CAPITOLO 1: I MASTOCITI E IL SISTEMA IMMUNITARIO NELLA CUTE</b> .....	<b>9</b>
1.1 INTRODUZIONE .....	9
1.2 ANATOMIA IMMUNOLOGICA DELLA PELLE .....	11
<b>CAPITOLO 2: FISIOPATOLOGIA DELLE PRINCIPALI PATOLOGIE CUTANEE</b> .....	<b>21</b>
2.1 DERMATITE ATOPICA .....	21
2.2 DERMATITE ALLERGICA DA CONTATTO.....	26
2.3 PSORIASI .....	29
2.4 ORTICARIA.....	33
2.5 SVILUPPI FARMACOLOGICI.....	36
<b>CAPITOLO 3: IL CONTRIBUTO DEI MASTOCITI NELLE PATOLOGIE INFIAMMATORIE DELLA CUTE</b> .....	<b>39</b>
3.1 FUNZIONE DEI MASTOCITI NELL'OMEOSTASI CUTANEA .....	39
3.2 RUOLO DEI MASTOCITI NELL'INTERAZIONE TRA SISTEMA IMMUNITARIO INNATO E ADATTATIVO .....	42
3.3 REAZIONI ALLERGICHE CUTANEE MEDIATE DAI MASTOCITI.....	46
3.4 RUOLO DEI MASTOCITI NELLA DERMATITE ATOPICA .....	48
3.5 RUOLO DEI MASTOCITI NELLA DERMATITE ALLERGICA DA CONTATTO .....	54
3.6 RUOLO DEI MASTOCITI NELLA PSORIASI .....	60
3.7 RUOLO DEI MASTOCITI NELL'ORTICARIA.....	63
<b>CONCLUSIONE</b> .....	<b>67</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>71</b>



## ***Abbreviazioni***

ACD dermatite allergica da contatto  
APC cellule presentanti l'antigene  
bFGF fattore di crescita dei fibroblasti di base  
Breg-II-10 cellule B regolatrici produttrici di IL-10  
cDC1/2 cellule dendritiche convenzionali di tipo 1 e 2  
CHS contact hypersensitivity  
CIndU orticaria cronica inducibile  
CSU orticaria cronica spontanea  
DA dermatite atopica  
DAMP patterns associati al danno  
DC cellule dendritiche  
dDC cellule dendritiche dermiche  
DETC cellule T epidermiche dendritiche  
EC cellule epiteliali  
Geni EDC geni del complesso di differenziazione epiteliale  
IFN- $\gamma$  interferone-gamma  
IgE immunoglobuline E  
IL interleuchina  
LC cellule di Langerhans  
MC mastociti  
NGF fattore di crescita nervoso  
NLR NOD- like receptors  
NMF natural moisturizing factor  
PAF fattore di attivazione piastrinica  
PAMP patterns associati ai patogeni  
PGD2 prostaglandina D2  
PLA2 fosfolipasi A2  
PRR pattern recognition receptors  
SCF fattore di crescita delle cellule staminali  
SP sostanza P  
TGF- $\beta$ 1 fattore di crescita trasformante beta 1  
TLR toll like receptors  
TNF- $\alpha$  fattore di necrosi tumorale alfa  
TSLP linfopoietina timica stromale  
TRM cellule T della memoria  
Treg linfociti T regolatori  
VEGF fattore di crescita endoteliale vascolare  
VIP peptide intestinale vasoattivo



## Capitolo 1: I MASTOCITI E IL SISTEMA IMMUNITARIO NELLA CUTE

### 1.1 Introduzione

La pelle è l'organo più esteso dell'organismo, lo riveste nella sua interezza e ad essa sono attribuibili numerose e fondamentali funzioni per la sopravvivenza. Innanzitutto, la cute funge da barriera tra l'ambiente interno del corpo e l'ambiente esterno, protegge l'organismo nei confronti di agenti chimici, meccanici, biologici e dalle radiazioni elettromagnetiche oltre a svolgere un ruolo critico nel processo di termoregolazione. Essa è un'importante via di eliminazione non solo di sostanze prodotte dallo stesso organismo ma anche di sostanze esogene come i farmaci. Grazie alla fitta rete nervosa che innerva tutta la superficie cutanea, la pelle consente di percepire l'ambiente circostante ed è anche la sede di sintesi di sostanze come la vitamina D. Inoltre, la cute mantiene l'equilibrio idrico limitando la perdita di liquidi, in quanto il corpo umano è costituito dal 70% di acqua e senza la barriera costituita dalla pelle ci sarebbe una perdita eccessiva di acqua non compatibile con la vita. Questa funzione è attribuita allo strato corneo il quale è formato da cellule morte (corneociti) caratterizzato però da dinamicità e metabolismo. Nonostante per molto tempo la pelle è stata considerata un organo statico, ad oggi è considerata un involucro dinamico, in continuo contatto con l'ambiente esterno.

Nella stesura di questo elaborato verrà presa in esame la funzione di barriera immunitaria come chiave per comprendere i processi infiammatori che stanno alla base delle principali patologie infiammatorie della cute. La pelle è continuamente esposta ad agenti patogeni esterni e in caso di infiammazione vengono attivate le cellule del sistema immunitario residenti come le cellule di Langerhans, le quali sono in grado di riconoscere l'agente patogeno e impedirne l'ingresso nell'organismo. Grazie ai mastociti, alle cellule T e mediante la liberazione di mediatori da parte di queste cellule, vengono reclutate ulteriori cellule immunitarie come i neutrofili. In questo

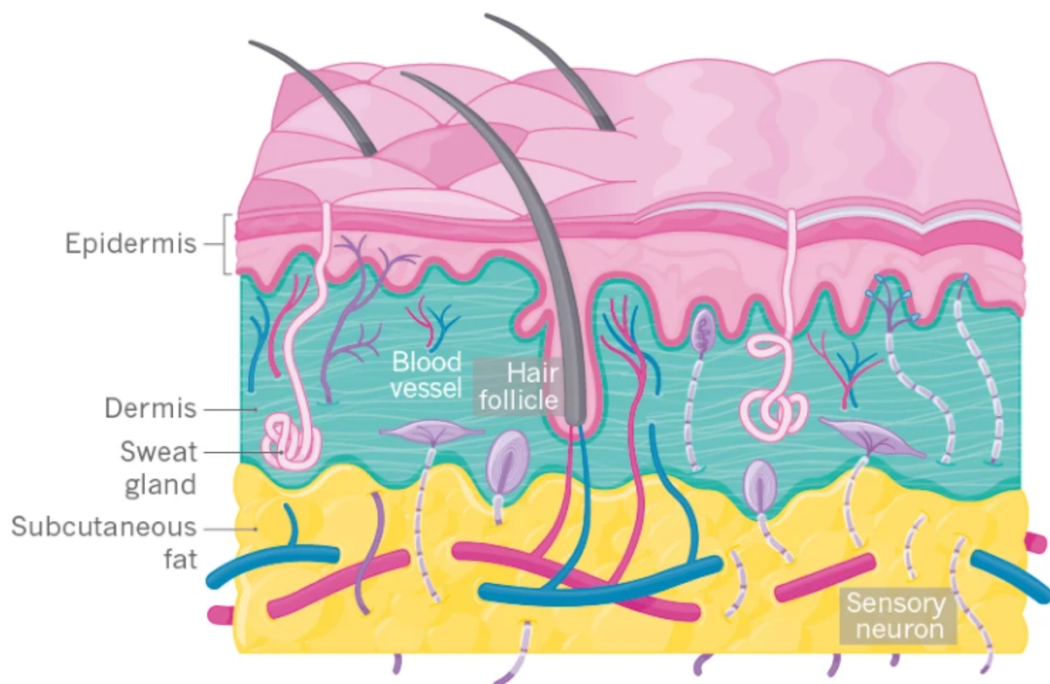
modo si instaurano delle risposte immunitarie in grado di fronteggiare l'agente esterno.

I mastociti (MC) sono le cellule immunitarie più rappresentate nel derma. Sono stati identificati per la prima volta da Paul Ehrlich. Sono cellule caratterizzate da numerosi granuli costituiti da una struttura di proteoglicani che racchiude una serie di mediatori come proteasi, citochine, chemochine e fattori di crescita. I mastociti una volta stimolati rilasciano nell'ambiente circostante questi mediatori pro-infiammatori dando il via ad una risposta immunitaria rapida ed al reclutamento di altre cellule immunitarie. I mastociti hanno un ruolo fondamentale nelle reazioni allergiche di tipo immediato e di difesa contro gli agenti patogeni. Tuttavia, lo stesso meccanismo con il quale i mastociti difendono l'ospite da agenti patogeni può essere alla base di processi dannosi che portano all'aggravarsi delle patologie infiammatorie della pelle. I mastociti presentano sulla loro superficie il recettore  $Fc\epsilon RI$ , il quale ha un'alta affinità con IgE. Una volta che le IgE specifiche per l'antigene si legano al recettore presente sulla superficie del mastocita, a seguito di un'ulteriore esposizione all'allergene, avviene la liberazione dei granuli che contengono l'istamina. E' di fondamentale importanza osservare come la produzione di IgE sia stimolata dalla degranolazione dei mastociti. All'aumentare delle IgE, cresce l'espressione del recettore  $Fc\epsilon RI$  sui mastociti. In questo modo si instaura un circolo vizioso. I mastociti da un lato difendono l'organismo da agenti patogeni ed allergeni, dall'altro possono essere anche causa di un peggioramento delle patologie cutanee<sup>1</sup>.

Questo elaborato prenderà in esame i dati di letteratura che recentemente hanno analizzato il ruolo dei mastociti nelle patologie infiammatorie della cute.

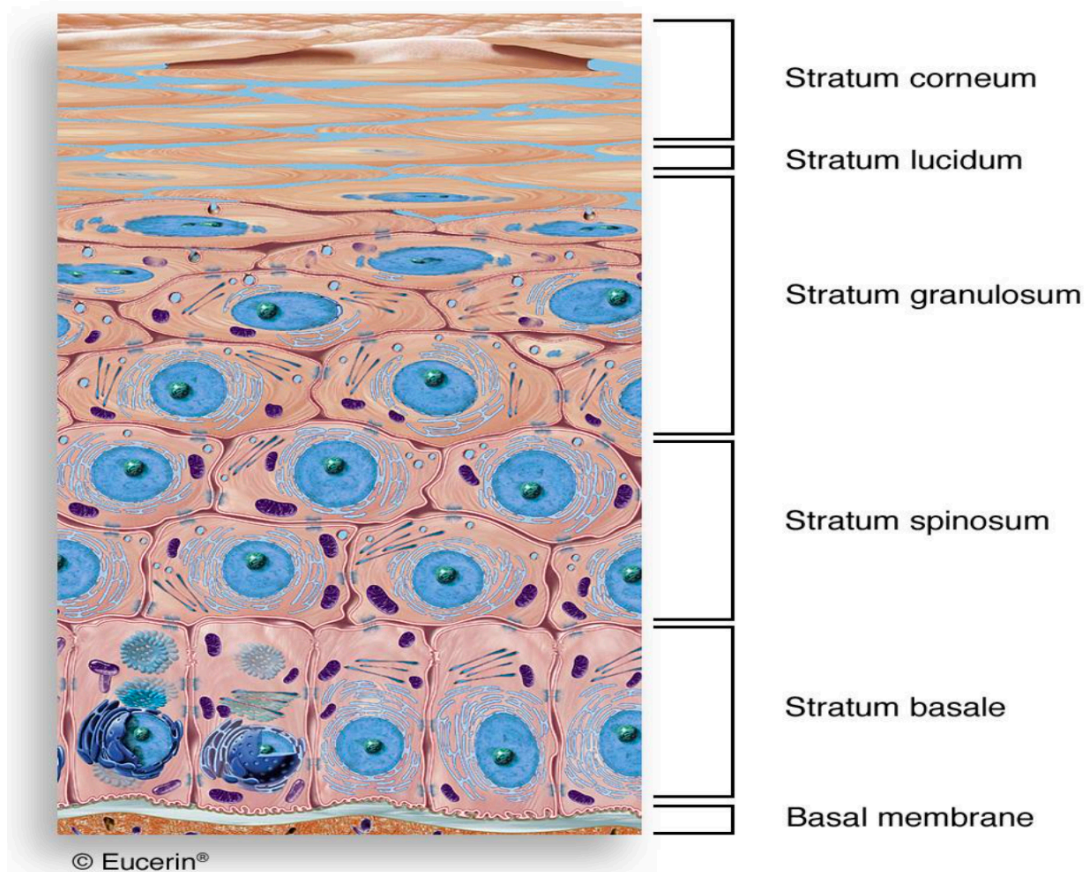
## 1.2 Anatomia immunologica della pelle

La pelle è costituita da tre strati funzionali: epidermide, derma e ipoderma. L'epidermide è separata dal derma dalla giunzione dermo-epidermica su cui poggia la membrana basale. Tale giunzione è costituita da uno strato proteico con andamento non lineare (successione di creste e invaginazioni), per aumentare la superficie di scambio e consentire il passaggio di nutrienti all'epidermide dal derma sottostante. Inoltre, la giunzione dermo-epidermica ha una funzione di comunicazione, infatti viene attraversata continuamente da numerosi segnali che consentono la comunicazione tra derma e epidermide. (figura 1) <sup>2</sup>.



**Figura 1:** Anatomia della pelle. <sup>2</sup>

L'epidermide è lo strato più esterno ed è costituito dai corneociti, che sono cellule morte derivanti dai cheratinociti i quali hanno subito un processo di differenziamento cellulare di natura apoptotica. L'epidermide, nello specifico, è divisa in: strato basale, spinoso, granuloso, lucido e corneo. (figura 2 <sup>48</sup>)



**Figura 2:** struttura dello strato corneo <sup>48</sup>

Lo strato basale è lo strato più profondo, costituito da cheratinociti i quali vanno incontro al processo di differenziamento costante per compensare la perdita di cellule che desquamano in superficie. Oltre ai cheratinociti sono presenti anche i melanociti e le cellule immunitarie, come le cellule di Langerhans e le cellule T. Scorrendo verso l'alto, dopo lo strato basale è presente lo strato spinoso denominato così perché le cellule sono ricche di tonofilamenti e collegate tra loro da prolungamenti citoplasmatici. Inoltre,



sono presenti le cellule di Langerhans, cellule immunitarie implicate nel riconoscimento degli allergeni da contatto e in grado di muoversi tramite i loro prolungamenti, costituendo una sorta di barriera immunitaria. Successivamente è presente lo strato granuloso, lo strato lucido costituito da cellule piatte, senza nucleo il cui citoplasma è costituito da elidina ed infine lo strato corneo formato dai corneociti che sono cellule senza nucleo in cui il citoplasma è sostituito dalla cheratina.

Al di sotto dell'epidermide e della giunzione dermo-epidermica è presente il derma, il quale può essere a sua volta diviso in derma papillare e derma reticolare. Il derma papillare è lo strato più esterno ed a contatto con la giunzione dermo-epidermica. Questo funge da zona di nutrimento per l'epidermide ed è ricco di vasi capillari e terminazione nervose. Mentre il derma reticolare è la parte più profonda e sede degli annessi cutanei. Le fibre di collagene, presenti nel derma, hanno la funzione di sostegno e resistenza meccanica. Il derma è costituito da fibroblasti, mastociti, linfociti, cellule dendritiche, macrofagi. Tutte queste cellule sono immerse nella matrice extracellulare, la quale costituisce una sorta di rete per il movimento delle cellule immunitarie.

Nella matrice extracellulare sono presenti vasi sanguigni, linfatici ed i neuroni. Tramite i vasi le cellule immunitarie circolanti come i neutrofili vengono reclutate nella pelle<sup>3</sup>. Al di sotto del derma si trova l'ipoderma, costituito da adipociti. Lo spessore di questo strato dipende da numerosi fattori, la sua principale funzione è quella protettiva.

La pelle va considerata un organo immunitario, ha l'onere di proteggere l'organismo dall'attacco di agenti mediante la barriera fisica costituita dai corneociti. I quali disposti come i mattoni di un muro in cui la malta è costituita da colesterolo, ceramidi e acidi grassi. Altri strumenti di difesa sono gli annessi cutanei, le biomolecole e le numerose cellule immunitarie che fungono da sentinelle. <sup>4</sup>

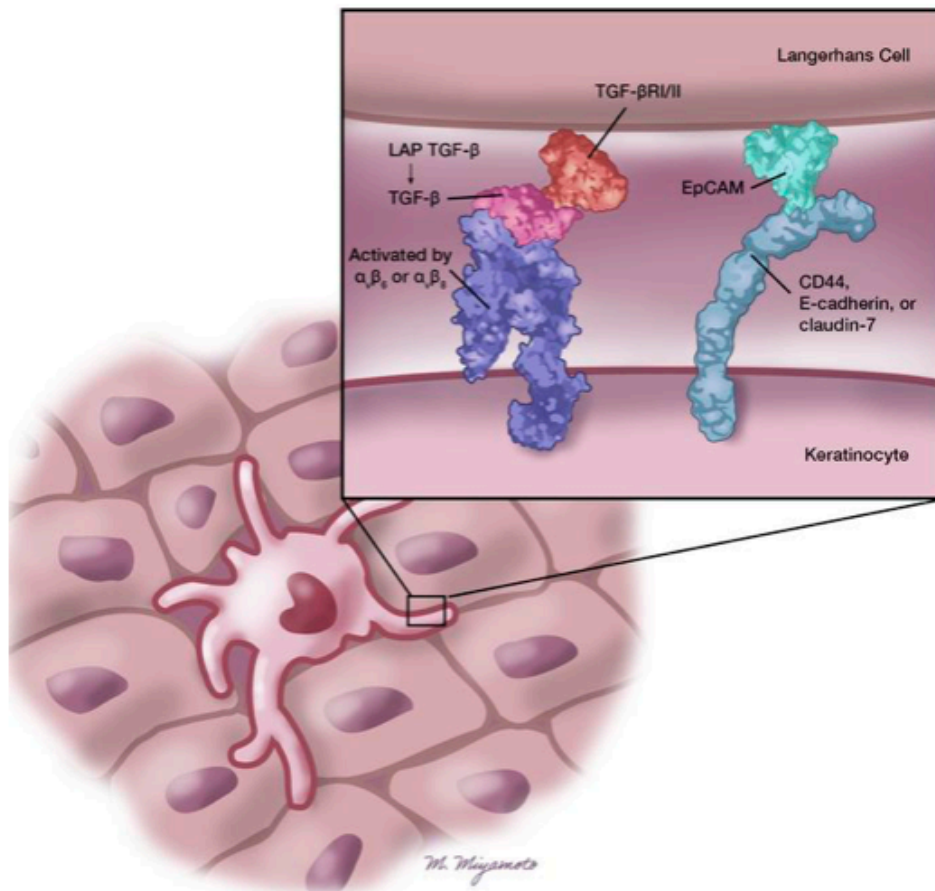
Per molto tempo le cellule immunitarie della pelle sono state studiate singolarmente senza valutare la possibile interazione tra di esse e con i cheratinociti. Tuttavia, proprio queste interazioni sono fondamentali per capire in modo più preciso i processi delle risposte immunitarie.

I cheratinociti sono dotati di una serie di recettori sensibili ai possibili insulti come il recettore TLR1-6 e TLR9. Quando questi recettori vengono attivati dai rispettivi ligandi rilasciano citochine (TNF, IL-6, IL-1, IL-33, IL-36 e la linfopietina timica stromale TSLP), peptidi antimicrobici e allarmine (ad esempio ATP) andando a determinare l'inizio della sensazione di prurito. Inoltre i KC influenzano l'esito delle reazioni immunitarie, la migrazione delle cellule immunitarie ed il reclutamento di altre cellule mediante le citochine rilasciate. <sup>5</sup>

Le principali cellule immunitarie della pelle che cooperano per mantenere l'omeostasi del tessuto e per avviare le risposte immunitarie sono: le cellule di Langerhans, le cellule dendritiche dermiche, mastociti.

Le **cellule di Langerhans** (LC) sono un sottogruppo di macrofagi, dotate di numerosi prolungamenti e presentano l'antigene in quanto possiedono il complesso MHC di II tipo. In condizioni di omeostasi tali cellule sono ancorate ai cheratinociti nello strato spinoso. Tale adesione è dovuta all'espressione di molecole di adesione delle cellule epiteliali (EpCAM), alla E-caderina espressa sulle LC e sui cheratinociti. Il tutto è controllato da TGF- $\beta$ 1 (figura 3 <sup>5</sup>). <sup>5</sup>

Le LC partecipano alla formazione delle giunzioni strette e possono vigilare il tessuto senza creare danni alla barriera fisica formata dai cheratinociti. <sup>5</sup>



**Figura 3:** disposizione delle cellule dendritiche tra i cheratinociti e interazione tra EpCAM e E-caderina <sup>5</sup>

Le LC a seguito dell'attivazione maturano ed estendono i loro prolungamenti verso lo strato granuloso per acquisire l'antigene. Successivamente migrano verso i linfonodi della pelle per presentare l'antigene alle cellule T naïve e avviare la risposta immunitaria adattativa, attivano sia i linfociti T citotossici CD8+ sia i linfociti T helper CD4+. La maturazione di LC è indotta da patterns molecolari associati ai patogeni (PAMP), patterns associati al danno (DAMP), da citochine e allarmine prodotte dai cheratinociti. Per consentire il passaggio delle LC ai vasi linfatici la segnalazione del TGF-β1, durante l'infiammazione, viene interrotta. In questo modo l'interazione tra EpCam e E-caderina viene meno e le LC possono migrare. <sup>5</sup>

Il processo di migrazione delle cellule di Langerhans prevede l'attivazione sequenziale dei recettori per le chemochine CXCR4 e CCR7. Quando le LC

giungono a livello del derma vi è una sovraespressione di CCR7 in modo tale da poter interagire con CCL19 e CCL21 ( chemochine ligando 19 e 21) secrete dalle cellule endoteliali linfatiche. Tale interazione consente alle LC di migrare attraverso i vasi linfatici per arrivare ai linfonodi.<sup>5, 4</sup>

Le **cellule dendritiche dermiche** (dDC) risiedono nel derma e ugualmente alle LC sono cellule presentanti l'antigene (APC). Esistono varie sottoclassi di dDC, tra queste le principali sono le cellule dendritiche convenzionali di tipo 1 (cDC1) e di tipo 2 (dDC2).<sup>4</sup>

La caratteristica di queste cellule è la loro capacità di effettuare una cross-presentazione ovvero sono in grado di presentare gli antigeni processati. I quali solitamente vengono presentati mediante il MHCII, attraverso MHC di tipo I.<sup>4</sup>

E' stato dimostrato che nel topo l'attivazione dei linfociti Th1 è legata alle cDC1 mentre l'attivazione di Th2 e Th17 è legata alle cDC2. Le cDC sono cellule del sistema immunitario fondamentali per l'omeostasi tra pelle e batteri commensali residenti.<sup>4</sup>

Le cellule dendritiche oltre a presentare l'antigene alle cellule T all'interno del derma, migrano fino a raggiungere i linfonodi della pelle dove attivano i linfociti T naïve e T della memoria. A seguito dell'internalizzazione dell'antigene, le cDC esprimono in maggiore quantità il recettore CCR7 e questo aumenta la capacità migratoria delle cellule. Come le cellule di Langerhans, le DC dermiche riescono a farsi strada nella matrice extracellulare mediante una via enzimatica fino a raggiungere i vasi linfatici, questo processo sembra essere dovuto alle interazioni con fibroblasti.<sup>5</sup>

Tramite degli esperimenti in vitro sono state osservate delle interazioni tra ICAM-1 e Thy-1 espresse sui fibroblasti e l'integrina  $\beta$ 2 espressa sulle DC. Tali interazioni tra fibroblasti e DC sono in grado di rimodellare la matrice extracellulare permettendo alle DC di migrare nel derma e giungere ai linfonodi per attivare la risposta immunitaria mediata dai linfociti T.<sup>5</sup>

I **mastociti** (MC) derivano da progenitori pluripotenti del midollo osseo e appartengono alla classe delle cellule emopoietiche. Dopo che vengono rilasciati dal midollo osseo i mastociti immaturi entrano in circolo e in questo modo raggiungono tutti i tessuti. <sup>6</sup>

I mastociti sono facilmente individuabili nei tessuti posti all'interfaccia con l'ambiente esterno. Essi si trovano nel derma vicino ai vasi sanguigni e alle fibre nervose, in particolare nelle aree distali come braccia e gambe. Una volta che i mastociti sono arrivati nei tessuti di destinazione sotto l'influenza di fattori di crescita come il fattore di crescita delle cellule staminali (SCF) e IL-3 si differenziano e maturano. <sup>6</sup>

Sono delle cellule del sistema immunitario caratterizzate da granuli contenenti mediatori preformati: istamina, proteoglicani solfati, triptasi, chimasi, citochine pro-infiammatorie (ad esempio IL-9, IL-33, TLSP). <sup>4,7</sup>

I granuli a seguito dell'attivazione dei mastociti, dovuta a diversi stimoli, vengono esocitati entro pochi secondi. Svolgono inoltre la funzione di secernere mediatori in modo costante per la comunicazione con altre cellule vicine. L'istamina contenuta nei granuli è subito solubile, mentre altri mediatori come il TNF (fattore di necrosi tumorale) rimangono insolubili in una forma particellare. Tale forma permette al TNF di rimanere intanto per un tempo più lungo e venir rilasciato lentamente. In questo modo i mastociti inviano segnali in luoghi distanti dal sito in cui è avvenuta la degranulazione. I mastociti dopo ore dalla loro attivazione iniziano a sintetizzare ex novo ulteriori mediatori (TNF, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13). <sup>4,7</sup>

E' stato dimostrato che, sia nel topo, sia nell'uomo i mastociti residenti nella pelle contengono triptasi e chimasi. Mentre i mastociti residenti in altri tessuti contengono solo triptasi. <sup>4</sup>

Con l'avanzare dell'età il numero di mastociti aumenta e si trovano principalmente attorno alle fibre nervose presenti nel derma che esprimono il peptide intestinale vasoattivo (VIP). <sup>4</sup>

Il VIP è in grado di inibire la liberazione dei granuli da parte dei mastociti. Questo fattore è stato collegato alla riduzione del rimodellamento della matrice extracellulare osservata in età molto avanzata. <sup>4</sup>

I mastociti vengono attivati mediante meccanismi IgE dipendenti o IgE indipendenti. I mastociti presentano il recettore Fcε che lega il complesso IgE-antigene comportando la degranolazione immediata. Questo identifica il loro ruolo molto importante nelle reazioni allergiche. Inoltre, l'interazione tra recettore e IgE va a stimolare la produzione di nuove chemochine e citochine tra cui TNFα, IL-4, IL-1β, IL-9 e IL-13. <sup>4</sup>

Gli MC producono anche mediatori infiammatori lipidici tra cui leucotrieni e prostaglandine, tra queste una delle più note è la prostaglandina D2 (PGD2). Il ruolo di quest'ultima è ancora incerto, in quanto sembra avere sia un ruolo pro-infiammatorio sia antinfiammatorio. Mentre i leucotrieni sono mediatori a breve emivita che hanno un ruolo nelle reazioni allergiche. Quest'ultimi sono in grado di andare a stimolare la produzione di PGD2, istamina e proteasi da parte dei mastociti. Tra i leucotrieni si ricordano LTB4, LTC4, LTD4 e LTE4. <sup>4</sup>

I mastociti presentano sulla loro superficie la famiglia dei recettori PRR (pattern recognition receptors) che comprende i recettori Toll like (TLR), i recettori NLRP (nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat proteins) e i recettori NLR (NOD-like receptors). Questi particolari recettori riconoscono i PAMP (pattern associati a molecole di patogeno) e i segnali di pericolo, a seguito di questo riconoscimento i mastociti vengono attivati mediante un meccanismo IgE indipendente.<sup>7</sup>

In aggiunta i mastociti producono fattori di crescita e citochine tra cui TNFα ed il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) in risposta ad uno stimolo, ma anche in maniera costitutiva. Il TNFα è una citochina prodotta dai mastociti che favorisce il processo di migrazione delle DC verso i linfonodi della pelle.<sup>4</sup>

I mastociti entrano in contatto direttamente con le cellule dendritiche mediante l'antigene 1 associato alla funzione linfocitaria e l'integrina 4 dell'antigene. Questa interazione permette di orientare la degranolazione ed il rilascio di citochine verso le DC consentendo il passaggio di antigeni legati alle IgE dai mastociti alle DC. Le DC ricevono il complesso mastocita-

antigene-IgE vanno a stimolare le cellule T con conseguente aumento del numero di linfociti T. <sup>5</sup>

Recentemente si è posta l'attenzione sulla comunicazione tra mastociti e fibroblasti, i mastociti sono in grado di interagire con i fibroblasti presenti nel derma, producendo IL-4, IL-13 e fattori di crescita dei fibroblasti che ne vanno a stimolare la proliferazione. <sup>5</sup>

Questi particolari aspetti dei mastociti coinvolti nell'omeostasi cutanea verranno discussi nel dettaglio nel capitolo 3.

Nella pelle risiedono anche **eosinofili** e **cellule immunitarie linfoidi**. La funzione degli eosinofili nel mantenimento dell'omeostasi cutanea è ancora dubbia. Gli eosinofili sono cellule del sistema immunitario che contengono granuli ricchi di proteine, citochine e chemochine. Tali granuli vengono rilasciati a seguito di stimoli. Le cellule in questione hanno un ruolo importante nelle malattie della pelle associate all'infiltrazione eosinofila, come la dermatite da contatto e l'orticaria. Queste cellule sono inoltre coinvolte nella difesa dell'individuo contro infezioni parassitarie. Come i mastociti gli eosinofili sono dei produttori di leucotrieni e PDG2. Questa funzione è fondamentale per consentire l'infiltrazione di eosinofili della pelle nelle reazioni di ipersensibilità. La degranulazione eosinofila comporta un danno tissutale locale.<sup>4</sup>





## Capitolo 2: FISIOPATOLOGIA DELLE PRINCIPALI PATOLOGIE CUTANEE

### 2.1 Dermatite atopica

La dermatite atopica (DA) è una delle manifestazioni infiammatorie della cute più diffuse osservate nei lattanti e nei bambini. E' una malattia tipicamente pediatrica ma può persistere nell'età adulta. L'esordio nell'85% dei casi avviene nei primi 5 anni di vita, mentre l'esordio in età più avanzata è meno frequente. La prevalenza della malattia tra i bambini varia in base alle aree geografiche: 17,2% in USA, 15,6% in Europa e 24% in Giappone che registra quindi la percentuale maggiore. Ciò significa che lì un bambino su 4 è affetto da dermatite. Sono state considerate queste tre aree geografiche perché sono le zone dove la DA è più studiata e più diffusa. La prevalenza varia anche tra gruppi etnici. Infatti, negli Stati Uniti sono più colpiti i bambini di colore rispetto ai bambini bianchi. Negli ultimi decenni la prevalenza e l'incidenza della DA hanno subito un aumento, il quale è stato registrato soprattutto nei paesi industrializzati. Si ritiene che ciò sia dovuto ad un crescente contatto con gli agenti inquinanti ambientali prodotti dalle industrie, dalle abitazioni, dai mezzi di trasporto ed in generale dalle attività umane.<sup>8, 9</sup>

La dermatite atopica è una malattia della pelle caratterizzata dall'insorgenza di un eczema atopico. Viene considerata una malattia genetica in quanto il paziente nasce con un'alterazione della barriera cutanea che a contatto con l'ambiente esterno porta allo sviluppo dell'eczema. L'alterazione della barriera cutanea del paziente è dovuta a un deficit di ceramidi per cui i corneociti non sono tenuti insieme nel modo corretto. Questo comporta che le sostanze irritanti e allergizzanti possono penetrare con facilità. A seguito di tale processo si instaura un'inflammatione subclinica e l'omeostasi della cute non viene più recuperata. Il sistema immunitario per fronteggiare gli allergeni attiva la produzione di citochine pro-infiammatorie con attivazione

dei linfociti T-helper CD4+ di tipo due (Th2). Le cellule Th2 producono IL-13, IL-4, IL-31 le quali vanno a stimolare la produzione di IgE specifiche per l'antigene attivando le cellule B. Oltre all'attivazione di Th2 numerosi studi hanno identificato l'attivazione di Th1, Th17, Th22. Tali vie possono essere più o meno significative in base al gruppo etnico dei pazienti: ad esempio è stato osservato che l'attivazione di Th1 e Th17 è prevalente nei soggetti asiatici, mentre l'attivazione di Th2 è più significativa tra i soggetti di origine europea. Queste sottili differenze possono in parte spiegare le diverse lesioni eczematose a seconda del gruppo etnico.<sup>8</sup>

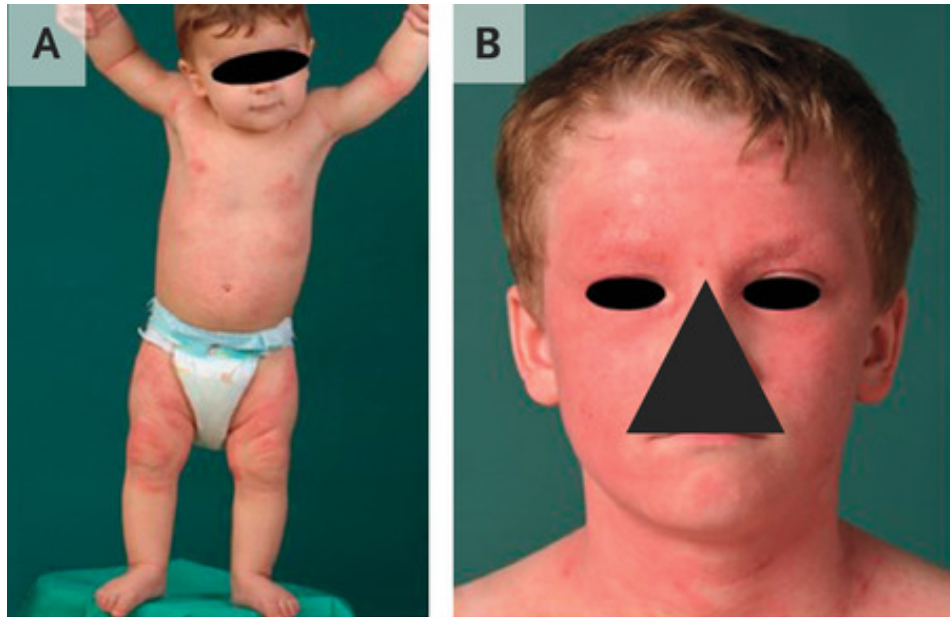
Tuttavia, l'alterazione della barriera cutanea nei pazienti atopici è dovuta anche alla presenza di una mutazione del gene che codifica per la filaggrina. La quale è una delle proteine strutturali dello strato corneo, si occupa di mantenere uniti i corneociti tra di loro e promuove la sintesi dei lipidi epidermici. Inoltre, la filaggrina grazie alla sua degradazione contribuisce alla formazione del Natural Moisturizing Factor (NMF), che è essenziale per il corretto metabolismo dello strato corneo. Di conseguenza una mutazione del gene della filaggrina ne compromette la funzione, causando un'alterazione della funzione barriera della cute ed una maggiore perdita d'acqua transepidermica. A causa di ciò i pazienti atopici manifestano xerosi e un aumento della disbiosi microbica.<sup>8, 10</sup>

Nella patogenesi della DA è pertinente vagliare i fattori ambientali a cui il soggetto è esposto come: le temperature elevate, un'eccessiva sudorazione, inquinamento ambientale, frequenze dell'uso di prodotti per la casa, raggi UV, aumento della durezza dell'acqua, dieta. I fattori ambientali vanno a influenzare la predisposizione oltre al percorso della malattia ed il suo peggioramento.<sup>8, 9</sup>

Dal punto di vista clinico la dermatite atopica si distingue in 3 fasi:

- fase del lattante. Qui è presente una dermatite che coinvolge le guance, le zone distali delle braccia e delle gambe. In tali soggetti si può sviluppare la crosta latte (figura 4)<sup>8</sup>

- fase del bambino. L'eczema coinvolge la testa, viso, guance. A livello delle braccia e delle gambe l'eczema è diffuso nelle pieghe cutanee (figura 5) <sup>8</sup>
- fase dell'adolescenza o dell'adulto. Le lesioni diventano più circoscritte a braccia e gambe. L'eczema diventa cronico e lichenificato ovvero più secco, ispessito e con le ragadi.



**Figura 4:** fase del lattante e del bambino <sup>8</sup>



**Figura 5:** eczema delle gambe durante la fase del bambino <sup>8</sup>

In generale l'eritema è violaceo, caratterizzato dalla presenza di papule, pustole, edema e desquamazione. Il paziente atopico convive con periodi di remissione e periodi di riaccensione dell'infiammazione. Durante il periodo acuto il sintomo più invalidante è il prurito.<sup>8</sup>

Il prurito è un indice fondamentale per individuare l'intensità della malattia ed è dovuto al rilascio di mediatori da parte dei cheratinociti, mastociti, cellule T. In particolare, i mediatori responsabili sono citochine, TSLP, istamina, proteasi e neuropeptidi. L'istamina viene rilasciata prevalentemente dai mastociti, però il prurito è per lo più non istaminergico in questa patologia. Nonostante ciò, i mastociti sono coinvolti nel prurito perché producono e secernono dei neuropeptidi in grado di legarsi con le fibre nervose sensoriali che fanno percepire al paziente l'irritazione, ed il conseguente bisogno di grattarsi. A loro volta le fibre nervose producono la sostanza P che stimola nuovamente il mastocita a degranulare. In questo modo si genera un circolo vizioso di "prurito-grattamento" che sostiene la DA cronica.<sup>8</sup>

I pazienti atopici possono andare incontro alla marcia atopica, ovvero si possono manifestare altre patologie di natura allergica come rinite, allergie alimentari che si manifestano nei primi anni di vita. L'asma invece si può manifestare intorno agli 8 anni.<sup>8</sup> Inoltre in questi soggetti è presente un funzionamento non ottimale delle cellule T e del sistema immunitario innato. E' stata osservata una diminuita presenza di peptidi antimicrobici. Questo porta ad una colonizzazione di S.Aureus nella pelle dei soggetti malati, che può causare un peggioramento dell'eczema atopico.<sup>9</sup>

La DA è una patologia invalidante per il soggetto che abbassa di molto la qualità di vita, compromettendo la qualità del sonno, la capacità di svolgere il proprio lavoro con ripercussioni sulla vita sociale del paziente.<sup>8</sup>

E' fondamentale cercare di mantenere quanto più possibile l'integrità della pelle mediante l'utilizzo di coadiuvanti dermatologici che contengono emollienti e riparatori di membrana durante la fase di remissione. Inoltre, il paziente deve cercare di evitare gli irritanti e le infezioni. Durante la fase

acuta se la DA è da lieve a moderata sono utilizzati i cortisonici topici di potenza medio-elevata (solo per piccole zone e brevi periodi). Se la DA è più grave si utilizzano in aggiunta gli immunomodulatori. In caso di dermatite grave sono utilizzate terapie sistemiche che comprendo anticorpi monoclonali. E' sconsigliato l'utilizzo degli antistaminici H1 in quanto il prurito non è istaminergico. <sup>8, 10</sup>

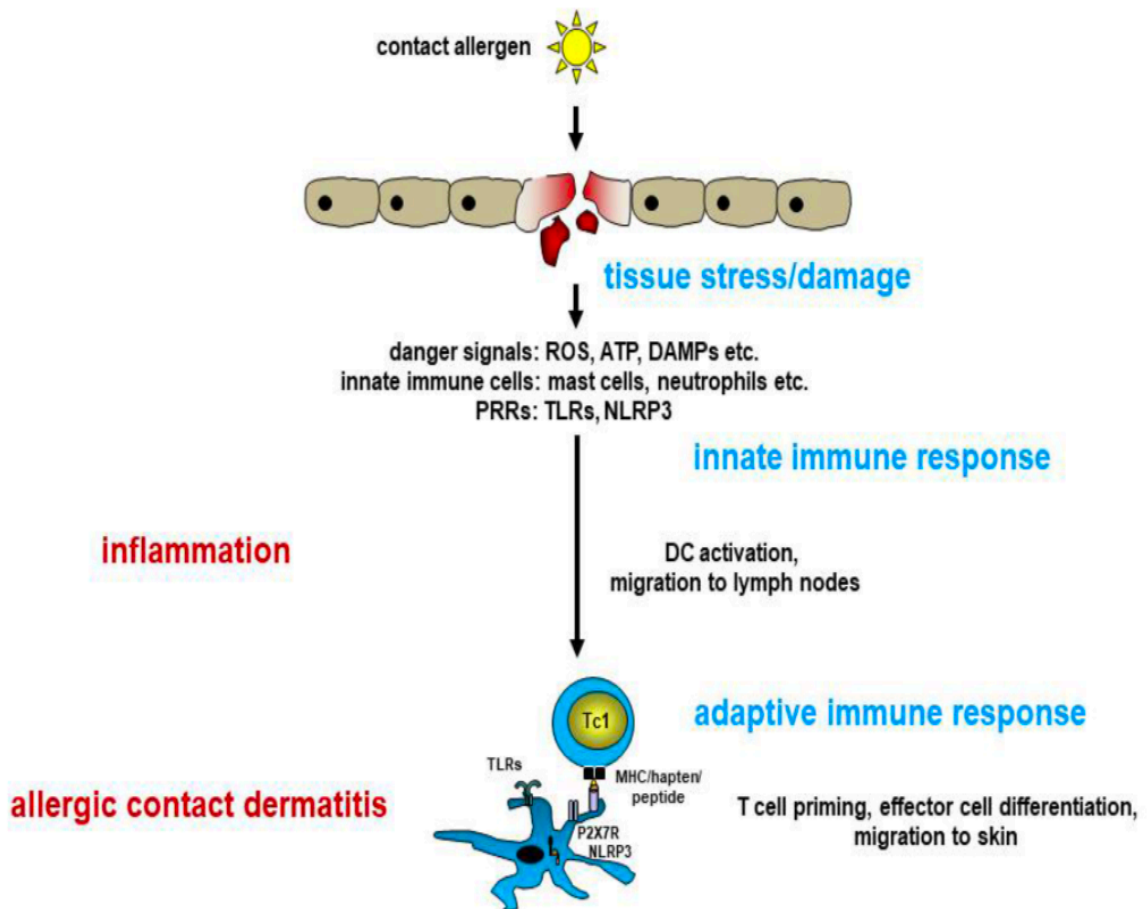
## 2.2 Dermatite allergica da contatto

La dermatite allergica da contatto (ACD) è una delle malattie professionali più comuni attribuita all'esposizione della pelle a varie sostanze irritanti, presenti nel posto di lavoro. Oltre a questo, può essere dovuta anche all'uso quotidiano di cosmetici contenenti allergeni. La ACD è un disturbo cutaneo che colpisce circa l'11% delle donne e il 5% degli uomini.<sup>1 11</sup>

La dermatite allergica da contatto è provocata dal contatto cutaneo con una sostanza verso la quale si è sviluppata una sensibilizzazione da contatto, più precisamente è una reazione di ipersensibilità ritardata di tipo IV mediata dai linfociti T. Le sostanze che causano dermatite allergica da contatto sono delle sostanze organiche a basso peso molecolare o ioni metallici in grado di penetrare nella pelle e legarsi alle proteine carrier.<sup>11 12</sup>

La ACD è un processo composto da due fasi: la fase di sensibilizzazione e la fase di elicitazione.

La fase di sensibilizzazione inizia quando la pelle del soggetto è danneggiata, di conseguenza l'allergene o meglio definito aptene penetra nella cute, si lega alle proteine carrier e in questo modo viene riconosciuto dalle cellule di Langerhans residenti. I cheratinociti rispondono subito allo stress producendo ATP, IL-33, ROS i quali stimolano i recettori Toll-like e recettore NLRP3. Questo determina la mobilitazione delle cellule dell'immunità innata. Successivamente le LC processano l'antigene e migrano ai linfonodi della pelle dove saranno in grado di presentare l'antigene mediante MHC di tipo 1 alle cellule T naïve, le quali si attivano producendo cloni di cellule T effettrici specifiche per l'antigene che entreranno in circolo. Durante la fase di sensibilizzazione non c'è alcuna manifestazione cutanea.<sup>11</sup> (figura 6<sup>11</sup>)



**Figura 6:** fase di sensibilizzazione: gli apteni penetrano nella cute danneggiata e i cheratinociti producono segnali di pericolo come ATP, DAMPs i quali di legano ai recettori Toll Like. Questo determina l'attivazione del sistema immunitario innato che porta alla presentazione dell'antigene da parte delle DC ai linfociti T nei linfonodi della pelle. <sup>11</sup>

A seguito di una seconda esposizione all'aptene inizia la fase di elicitazione in cui l'aptene entra di nuovo in contatto con LC. In tal modo si ha il reclutamento dei linfociti T che infiltrano nella cute andando a determinare l'eczema. La dermatite si manifesta dopo circa 48h dall'esposizione, anche se dipende molto dal tipo di aptene. La risposta infiammatoria della cute è mediata da cellule Th1 e CD8+. <sup>1</sup>

Sia nella fase di sensibilizzazione, che sia nella fase di elicitazione, è stata dimostrata la collaborazione tra diversi tipi di cellule. Tra queste recentemente è stato scoperto il ruolo dei mastociti, i quali sono delle cellule effettrici dell'immunità innata e creano un collegamento tra immunità innata e adattativa. I mastociti rilevano lo stress cellulare e reagiscono al contatto

con IL-33 e ATP prodotti dai cheratinociti danneggiati. A seguito di questo contatto degranulano istamina ed il TNF. Quest'ultimo è molto importante in quanto recluta neutrofili e promuove la maturazione delle cellule dendritiche immature che successivamente migreranno nei linfonodi per presentare l'antigene alle cellule T. <sup>1, 11, 12</sup>

Clinicamente la dermatite allergica da contatto si presenta come un'eruzione cutanea con prurito fastidioso delimitata alla zona di contatto con l'aptene con eventuale edema. <sup>12</sup>

Uno degli apteni più comuni è il nichel e generalmente la ACD è dovuta al contatto prolungato con il metallo dei gioielli. Il metallo in questione è anche componente fondamentale degli acciai inox i quali vengono largamente impiegati nelle produzioni alimentari e farmaceutiche per la loro resistenza alla corrosione. Inoltre, il nichel si può trovare anche nei bottoni degli indumenti, nei dispositivi elettronici ed in altri oggetti di uso quotidiano.

La dermatite allergica da contatto si risolve allontanando l'allergene e cercando di evitare qualsiasi contatto. <sup>11</sup>

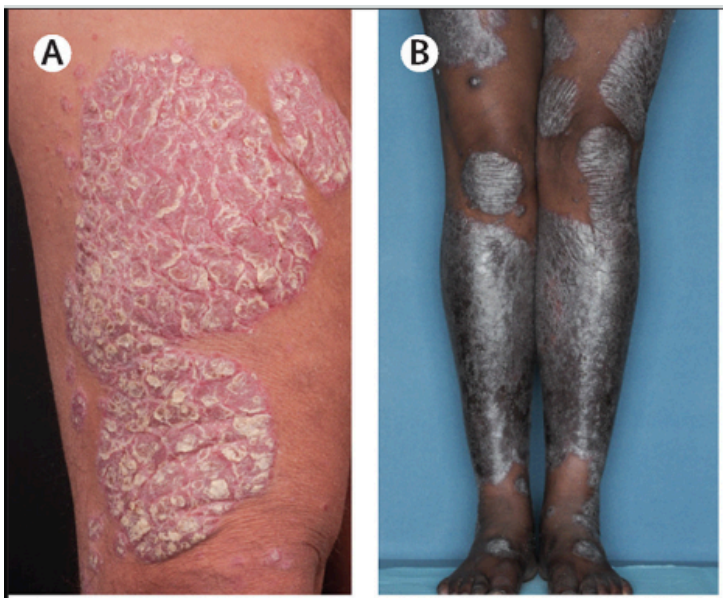
Il trattamento consigliato per la ACD è l'uso di emollienti e di antinfiammatori come i corticosteroidi topici. I corticosteroidi sistemici sono sconsigliati nel trattamento della ACD cronica a causa dei possibili effetti collaterali importanti, talvolta vengono utilizzati per la DAC acuta e grave. La dermatite allergica da contatto può manifestarsi in concomitanza a dermatite atopica. In questi casi specifici la terapia per controllare l'infiammazione richiede l'utilizzo di raggi ultravioletti e di farmaci immunosoppressori sistemici. <sup>11</sup>



### 2.3 Psoriasi

La psoriasi è una malattia infiammatoria della cute con andamento cronico recidivante, non è contagiosa ed è caratterizzata da una patogenesi multifattoriale. E' una malattia che colpisce circa 60 milioni di persone sia bambini che adulti. Si manifesta in egual misura in donne e uomini, con un picco di incidenza tra i 25 e i 28 anni. La prevalenza della malattia è maggiore in Asia e in Europa. Questa malattia colpisce profondamente l'individuo abbassando la qualità della vita, soprattutto nei pazienti colpiti da psoriasi grave che interessa zone funzionali del corpo come il viso, pianta delle mani e dei piedi.<sup>13</sup>

Esistono diversi fenotipi della psoriasi ma il fenotipo più diffuso è la psoriasi a placche o anche detta psoriasi vulgaris che è caratterizzata da placche papulosquamose pruriginose ben delimitate, di colore rosa salmone ricoperte da squame bianche (figura 7 ).<sup>13,14</sup> Le placche possono essere più o meno grandi e di spessore variabile. Una evidente caratteristica delle placche è che sono simmetriche (figura 8)<sup>13</sup> e generalmente nel corpo si formano a livello delle regioni più esterne di ginocchia, gomiti e zona sacrale.<sup>13, 14</sup>



**Figura 7:** Psoriasi a placche<sup>13</sup>



**Figura 8:** simmetria delle placche <sup>13</sup>

Molte volte la psoriasi si manifesta a seguito di un trauma (fenomeno di Koebner), nel luogo del trauma o ferita il paziente predisposto alla psoriasi si gratta e si forma la placca psoriasica. <sup>14</sup>

La psoriasi è una malattia con una predisposizione genetica rilevante e una familiarità del 30%. Diversi studi hanno dimostrato che il principale fattore di rischio genetico è la presenza nel genoma del gene HLA-C\*06:02, il quale in futuro potrebbe essere un potenziale bersaglio per la terapia target. <sup>13 15</sup>

La psoriasi si manifesta quando c'è una predisposizione genetica e un fattore scatenante contemporaneamente. Tale fattore può essere: un fattore ambientale, fattori psicologici come lo stress, infezioni (in particolare quelle da Streptococchi), alcol, fumo, obesità, fattori traumatici, l'utilizzo di farmaci (litio, calcio inibitori, beta bloccanti, antimalarici). <sup>13</sup>

La psoriasi è considerata un disturbo autoimmune che attiva il sistema immunitario causando una iper-proliferazione incontrollata dei cheratinociti con una differenziazione non corretta. I KC che costituiscono la placca psoriasica contengono ancora il nucleo (paracheratosi), determinando un ispessimento dell'epidermide (acantosi). I cheratinociti non formano solo la placca ma sono coinvolti nel sostegno dei processi infiammatori grazie alla loro comunicazione con cellule del sistema immunitario innato e adattativo.

Come era già emerso nella trattazione della dermatite atopica anche in questo caso l'alterazione della barriera cutanea sembra essere uno dei fattori scatenanti. A seguito del trauma i cheratinociti iniziano a produrre numerose citochine e peptidi antimicrobici che vanno ad attivare le cellule dendritiche. Le DC a loro volta portano all'attivazione dei linfociti T-helper in particolare Th1 e Th17. <sup>16</sup>

I linfociti T attivati producono IL-17, IL-12 e IL-22 che vanno a stimolare la proliferazione dei KC dell'epidermide. Queste citochine vanno a favorire anche l'angiogenesi, l'infiltrazione dei neutrofili nel derma e l'aumento delle cellule T helper 1 e 17. Ciò determina l'instaurarsi di un circolo vizioso che si autoalimenta. In questo sistema è importante sottolineare il ruolo dell'interleuchina 23 prodotta dai cheratinociti in proliferazione e da dDC, la quale è coinvolta nella stimolazione dei linfociti Th17. <sup>16 15</sup>

I cheratinociti danneggiati rilasciano IL-33 che si lega al recettore ST2 presente a livello dei mastociti causando una immediata degranolazione. I mastociti hanno un ruolo chiave nella psoriasi in quanto sono i maggiori produttori di IL-17 e IL-22, che sono delle interleuchine coinvolte nella proliferazione dei cheratinociti. Inoltre, i MC sono coinvolti nel prurito e nell'insorgenza del dolore neuropatico. <sup>1</sup>

Il trattamento sistemico di prima linea per la psoriasi comprende l'utilizzo di metotrexato, ciclosporina A e i retinoidi. Il metotrexato inibisce la sintesi di DNA e di conseguenza si ha un rallentamento della crescita dei cheratinociti. Nonostante i suoi effetti collaterali come nausea, leucopenia ed aumento delle transaminasi epatiche viene ampiamente impiegato nel trattamento della psoriasi grave. La ciclosporina è un immunosoppressore, inibisce i linfociti T e anche in questo caso gli effetti collaterali sono importanti: nefrotossicità legata alla lunghezza del periodo di utilizzo, tumore della pelle, ipertensione. La terapia consiste in brevi periodi a intermittenza. <sup>16</sup>

I retinoidi sono delle molecole sintetiche che hanno la medesima struttura della vitamina A. Il più utilizzato in questa classe di farmaci per il trattamento della psoriasi è l'acitretina. <sup>16</sup>

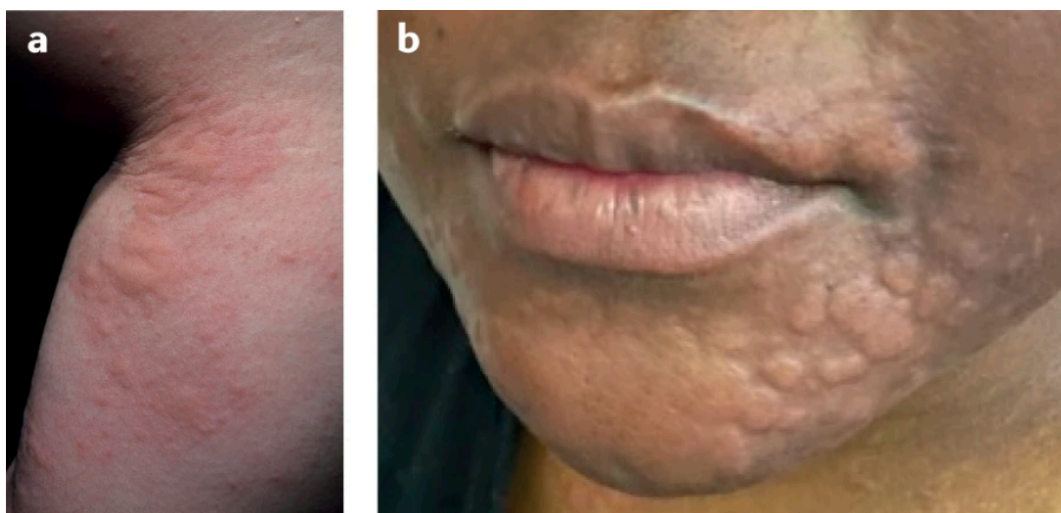
Ulteriori possibili trattamenti sono gli esteri dell'acido fumarico e apremilast (inibitore della fosfodiesterasi 4).<sup>16</sup>

In conclusione, tutti i farmaci elencati sono immunomodulatori tranne apremilast e richiedono un monitoraggio costante dei parametri della funzionalità di fegato e reni, a causa degli importanti effetti collaterali a carico di questi organi.<sup>16</sup>

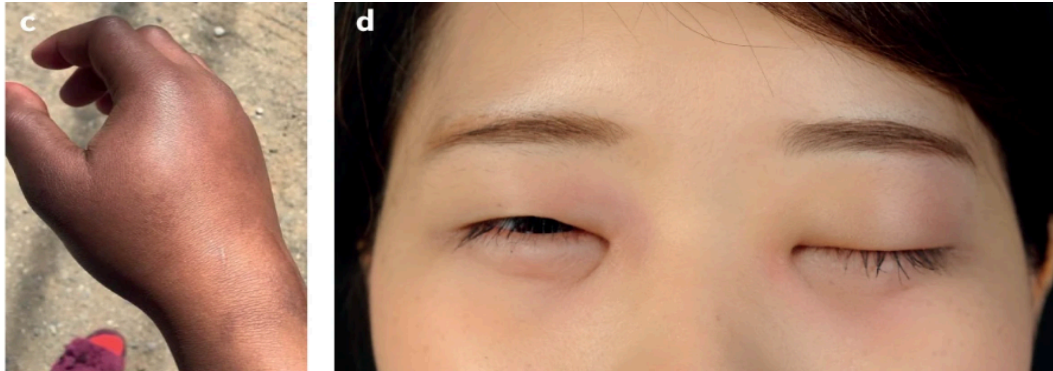
## 2.4 Orticaria

L'orticaria è un disturbo infiammatorio della cute molto diffuso, nella sua forma acuta colpisce circa il 20% di tutta la popolazione e si può evolvere in orticaria cronica nel 5% dei casi. L'improvviso sviluppo di eruzioni cutanee pruriginose è dovuto ad una massiccia degranolazione dei mastociti cutanei che causa il rilascio di istamina e altri mediatori. L'istamina causa la vasodilatazione dei vasi sanguigni con formazione di edema. Inoltre consente alle cellule presenti nel flusso sanguigno come neutrofili di uscire dal vaso (extravasazione) e venire reclutate nella zona della cute interessata.<sup>17</sup>

I pomfi pruriginosi e l'angioedema sono i segni clinici caratteristici della malattia (figura 9 e 10).<sup>17</sup> Come è rappresentato nella figura 9 i pomfi sono caratterizzati da un edema superficiale delimitato e circondato da un eritema rosso. Il paziente è debilitato da un prurito insistente con dolore dovuto all'edema. I pomfi diventano visibili entro pochi minuti ma nell'arco di 24 ore spariscono lasciando la pelle senza alcuna cicatrice. Al contrario l'edema può persistere per diversi giorni ma non è pruriginoso.<sup>18 19</sup>



**Figura 9:** pomfi tipici dell'orticaria<sup>17</sup>



**Figura 10:** angioedema dell'orticaria <sup>17</sup>

L'orticaria viene classificata in base alla sua durata ed alle sue cause. Se l'orticaria dura meno di sei settimane viene definita orticaria acuta generalmente di origine spontanea, se invece dura più di 6 settimane viene definita orticaria cronica. La classificazione basata sulle possibili cause di orticaria individua invece queste due tipologie: orticaria spontanea e inducibile. <sup>18 19</sup>

All'interno della classe "spontanea" è inserita l'orticaria acuta perché le manifestazioni cutanee appaiono in modo spontaneo e non sono associate a fattori specifici. Lo stress e le infezioni possono portare all'aggravarsi della malattia ed all'insorgenza dell'orticaria cronica spontanea (CSU).

L'orticaria cronica inducibile (CIndU). come già si intuisce dal nome è indotta da fattori scatenanti come il freddo o il caldo. In questa ultima forma di orticaria sono state inserite sia orticaria di tipo fisico (orticaria indotte dal freddo e dal caldo, orticaria solare, angioedema vibratorio, orticaria da pressione ritardata, dermografismo sintomatico) sia di tipo non fisico (orticaria da contatto, orticaria acquagenica, orticaria colinergica). <sup>17</sup>

Un recente studio ha riportato che l'orticaria non è solo caratterizzata da pomfi e angioedema ma sono presenti sintomi sistemici in due terzi dei pazienti adulti con CSU. I sintomi diagnosticati sono: dolore o gonfiore articolare, cefalea, vampate di calore, apnea, disturbi gastrointestinali,

palpitazioni. Questi sintomi sono meno rilevanti nella pratica clinica ma riducono la qualità di vita del paziente.<sup>18</sup>

Nonostante l'orticaria sia una patologia molto diffusa tra la popolazione, la patogenesi non è ancora ben definita. La ricerca è molto attiva e si concentra nell'andare a definire il ruolo dei mastociti, i processi immunitari alla base della CSU e i ruoli dei vari mediatori rilasciati. Il ruolo chiave dei mastociti sarà discusso nel capitolo 3.<sup>18</sup>

Le linee guida per il trattamento dell'orticaria indicano gli antistaminici H1 di seconda generazione come i farmaci di prima scelta. Questi farmaci sono degli agonisti inversi del recettore H1 e ne vanno a stabilizzare la sua forma inattiva. In questo modo l'istamina non si può legare al suo recettore e viene ridotto il prurito istamina-dipendente. Sono preferiti gli antistaminici di seconda generazione in quanto non causano sonnolenza al paziente.<sup>18 20</sup>

In base alla gravità dell'orticaria la dose di antistaminico può essere aumentata gradualmente fino ad arrivare ad essere quattro volte superiore alla dose iniziale. Se nel paziente i sintomi non si riducono in modo soddisfacente è opportuno aggiungere alla terapia ciclosporina, omalizumab e montelukast. La ciclosporina è un immunosoppressore in grado di andare ad inibire il rilascio di istamina a carico dei mastociti e dei basofili, influenzando l'attività dei linfociti T. La ciclosporina e omalizumab hanno un profilo di sicurezza maggiore rispetto al montelukast e di conseguenza sono preferiti nella terapia di seconda linea.<sup>18</sup>

## 2.5 Sviluppi farmacologici

Queste patologie infiammatorie della cute, una volta diagnosticate, generalmente prevedono un'iniziale terapia con farmaci convenzionali. Nel caso della dermatite atopica nella fase acuta vengono somministrati corticosteroidi topici. Questi sono dei potenti antinfiammatori in grado di ridurre l'infiammazione ed il dolore del paziente. Le preparazioni di corticosteroidi più potenti si identificano negli unguenti. Infatti, un veicolo con una percentuale di grasso elevata consente di ridurre la perdita dell'acqua intrappolata nella cute, aumentando il grado di idratazione della pelle. In questo modo il farmaco viene assorbito in maggiore quantità. Purtroppo, l'unguento non è piacevole per il paziente in quanto può risultare troppo oleoso e ostacolare le attività quotidiane. I corticosteroidi sistemici vengono somministrati solo in caso di dermatite atopica molto grave a causa degli importanti effetti collaterali.<sup>49</sup>

In modo equivalente tali farmaci vengono utilizzati anche nella dermatite allergica da contatto. Per entrambe le patologie devono essere utilizzati in entrambe le patologie per brevi periodi per evitare l'insorgenza dell'atrofia cutanea.<sup>49</sup>

Gli antistaminici H1 vengono impiegati per la riduzione del prurito di origine istaminergica nell'orticaria. Sono però sconsigliati in caso di dermatite atopica in quanto il prurito non è istaminergico. Nel caso in cui tali farmaci non diano i risultati voluti si aumenta la dose e si associano alla ciclosporina e montelukast. La ciclosporina è un immunosoppressore utilizzata anche nel caso della DA e nella psoriasi che deve essere somministrata per brevi periodi.<sup>18</sup>

Le patologie infiammatorie della cute fin qui descritte hanno un impatto notevole sulla qualità della vita del paziente. Se tali malattie risultano particolarmente gravi oppure se si manifestano in zone come le mani, rendendo il paziente incapace di lavorare. Il problema delle patologie infiammatorie della cute è che gravano in maniera importante sul sistema



sanitario causando un aumento della spesa sanitaria. Questo perché i pazienti possono aver bisogno di visite mediche specialistiche ricorrenti per monitorare lo stato della malattia ed aver bisogno dei farmaci biologici che hanno un costo elevato.

Affrontare queste patologie è una sfida continua per la ricerca medica, c'è un intenso studio per comprendere sempre più affondo i meccanismi legati al sistema immunitario e le cellule coinvolte. La ricerca mira ad ottenere farmaci biologici sempre più efficaci che hanno come bersaglio specifici recettori e citochine coinvolti nelle vie di segnalazione. E' importante sottolineare il fatto che questi farmaci biologici non sono efficaci nella stessa misura in tutti i pazienti in quanto la via di segnalazione che viene bloccata può essere più o meno espressa nei vari pazienti.

Tra i farmaci biologici approvati per il trattamento della dermatite atopica è presente Tralokinumab (Adtralza® EU). Si tratta di un anticorpo monoclonale IgG4 completamente umano che migliora i sintomi come il prurito, andando anche a migliorare la qualità di vita del paziente. Tralokinumab si lega con elevata affinità a IL-13 in questo modo la citochina non è più in grado di legarsi al suo recettore. E' indicato per il trattamento della DA da moderata a severa, viene somministrato mediante iniezioni sottocutanee e può essere usato in monoterapia oppure in associazione con corticosteroidi topici. Questa terapia è ben tollerata dai pazienti adulti e consente un controllo sintomatico a lungo termine.<sup>21</sup>

Oltre a Tralokinumab, con le medesime indicazioni terapeutiche, è stato approvato Dupilumab. Esso è un anticorpo monoclonale completamente umano che blocca i recettori di IL-4 e IL-13 (due citochine prodotte dai linfociti Th2 ) impedendo a tali citochine di avviare la cascata di segnale. La somministrazione prevista consiste in iniezioni sottocutanee.<sup>22</sup>

Negli ultimi anni sono stati approvati numerosi farmaci biologici per il trattamento della psoriasi a placche da moderata a grave, che permettono un netto miglioramento dei sintomi. Numerosi sono gli inibitori del TNF- $\alpha$  tra cui 3 anticorpi monoclonali che sono Adalimumab, Infliximab e Certolizumab (frammento di anticorpo Fab) e una proteina di fusione

(Etanercept). Nonostante la loro ottima efficacia, come effetto collaterale raro possono causare un peggioramento della psoriasi. Inoltre, i pazienti prima di poter accedere a questa terapia devono essere sottoposti ad un test per la rilevazione della tubercolosi latente perchè gli inibitori del TNF- $\alpha$  possono causarne una riattivazione. Altrettanto importanti sono gli inibitori delle interleuchine: Guselkumab, Tildrakizumab e Rizankimubab che sono anticorpi monoclonali che legano IL-23, mentre Ustekinumab blocca sia IL-23 sia IL-12. Ugualmente agli inibitori del TNF- $\alpha$  presentano un buon profilo di sicurezza ma sono più efficaci.<sup>23</sup>

Ixekizumab e Secukinumab sono degli anticorpi monoclonali che bloccano l'interleuchina 17. Brodalumab interviene sempre nella via di segnalazione di IL-17 ma si lega al suo recettore.<sup>23</sup>

Il test della tubercolosi deve essere fatto anche in queste due ultime classi di anticorpi. L'utilizzo in gravidanza dei farmaci biologici presi in considerazione deve essere limitato in quanto non ci sono dati sufficienti sulla sicurezza.<sup>23</sup>

Omalizumab è il primo anticorpo monoclonale approvato per il trattamento dell'orticaria. Si lega alle IgE libere nel sangue con conseguente minore stimolazione dei recettori Fc $\epsilon$  espressi su mastociti e basofili. In questo modo il rilascio di istamina che causa il prurito è ridotto. Viene utilizzato per il trattamento di CSU cronica in associazione agli antistaminici quando questi non hanno un'azione sufficientemente efficace. Sono in fase di sviluppi altri anticorpi monoclonali che hanno come bersaglio altri mediatori, vie di segnalazione e recettori presenti sui mastociti. Questo per superare l'inefficacia di omalizumab e antistaminici che si manifesta in alcuni pazienti.

17

In conclusione, i farmaci biologici hanno introdotto un'opzione di trattamento delle patologie infiammatorie della cute efficace e sono ben tollerati dai pazienti. Permettono di migliorare i sintomi più debilitanti e aumentare la qualità di vita del paziente. Tuttavia, la ricerca sta avanzando cercando di ottenere dei trattamenti sempre più personalizzati mediante la comprensione più approfondita dei meccanismi di patogenesi.

## Capitolo 3: Il contributo dei mastociti nelle patologie infiammatorie della cute

### 3.1 Funzione dei mastociti nell'omeostasi cutanea

I **mastociti** sono coinvolti in numerosi processi che coinvolgono la cute. Queste cellule sono fondamentali nella guarigione delle ferite, nell'invecchiamento della pelle, nell'angiogenesi ma anche nella difesa contro virus e batteri. Per sostenere questi meccanismi secernono una serie di mediatori che sono necessari per la comunicazione con le cellule immunitarie e non immunitarie. <sup>1</sup>

Nell'ambito della ricerca scientifica recente è stata studiata ampiamente l'interazione tra fibroblasti e mastociti. I fibroblasti sono cellule del tessuto connettivo produttrici dei componenti della matrice extracellulare come il collagene e sono presenti nel derma disposti in prossimità dei mastociti. Tra i mastociti e i fibroblasti esiste una comunicazione bidirezionale; i mastociti presentano sulla loro membrana il recettore Kit che si lega il suo ligando SCF (fattore di crescita delle cellule staminali). I fibroblasti a loro volta controllano il numero e la maturazione dei mastociti attraverso la secrezione di SCF ed il fattore di crescita dei MC. Inoltre, i fibroblasti possono liberare nell'ambiente extracellulare l'enzima Cyp26b1 che inibisce l'attivazione dei mastociti poiché va a ridurre l'espressione di P2RX7 (recettore per l'ATP extracellulare). In situazioni di stress i cheratinociti secernono ATP, che va a stimolare il recettore P2RX7 dei MC attivando la degranolazione. Di conseguenza l'enzima Cyp26b1 riducendo l'espressione dei recettori P2RX7 ostacola l'attivazione dei mastociti mediata dall'ATP. <sup>1, 24</sup>

Al loro volta i mastociti controllano la proliferazione dei fibroblasti mediante IL-4, IL-13, il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) e il fattore di crescita dei fibroblasti di base (bFGF). <sup>25</sup>

I mastociti contribuiscono a l'omeostasi cutanea mediante l'interazione con i KC. Tramite la secrezione di numerosi mediatori i mastociti influenzano

l'attività dei KC. I MC possono produrre il PAF (fattore di attivazione piastrinica) che si lega al recettore PAFR dei KC determinandone la proliferazione. E' stato dimostrato che il PAF nei cheratinociti differenziati può modificare l'attività di chinasi e andare a regolare l'espressione di numerosi geni coinvolti nella proliferazione dei cheratinociti. Il PAF promuovendo l'espressione di questi geni determina l'attivazione dei KC promuovendo la riparazione della cute in caso di ferita. La via di segnalazione PAF-PAFR può essere un possibile bersaglio terapeutico per le terapie future di ferite gravi oppure per l'iper-proliferazione cutanea patologica.<sup>25</sup>

A seguito della degranolazione i mastociti rilasciano istamina che inibisce la normale differenziazione dei cheratinociti, disturbando l'equilibrio della cute. Questo processo porta ad un deterioramento della sua funzione barriera. Si è osservato che l'esposizione all'istamina riduce l'espressione delle proteine di adesione dei cheratinociti che formano le giunzioni strette e desmosomiali. Questo comporta una perdita della funzione meccanica della barriera cutanea ed è stato osservato nei pazienti affetti da dermatite atopica aventi elevati livelli di istamina.<sup>26</sup>

Inoltre, è stato dimostrato che i mastociti hanno un ruolo protettivo nel mantenere l'integrità della barriera cutanea attraverso la regolazione dell'espressione dei geni EDC (geni del complesso di differenziazione epiteliale). I livelli ridotti di mastociti nella pelle di topo sono stati associati ad una maggiore permeabilità degli allergeni e ciò comporta manifestazioni allergiche più frequenti.<sup>1</sup>

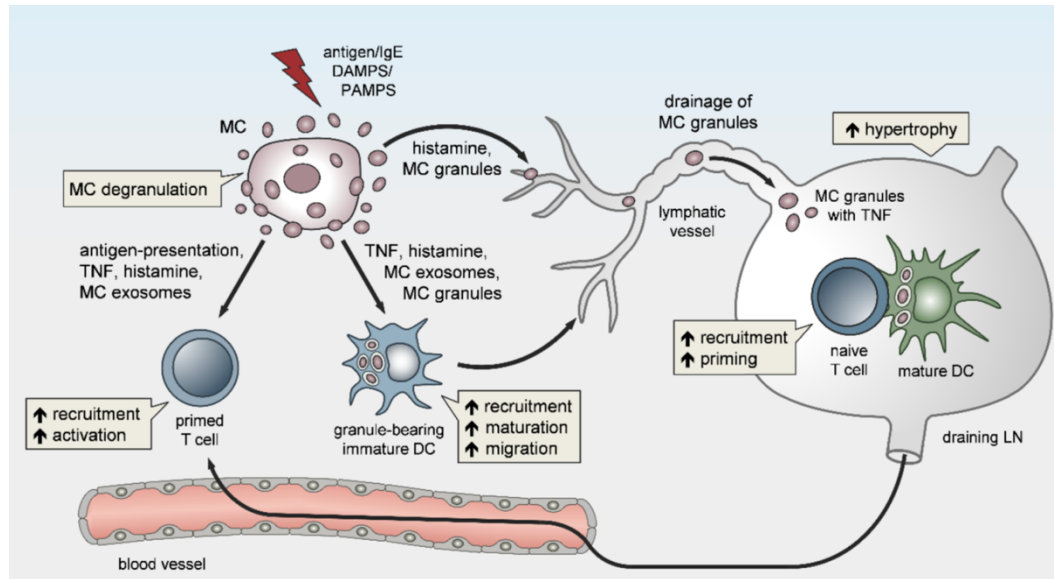
I mastociti hanno un ruolo rilevante nella formazione dei vasi sanguigni (angiogenesi) e dei vasi linfatici (linfongiogenesi). Mediante la secrezione di numerosi mediatori vanno a promuovere lo sviluppo dei vasi, che è fondamentale per lo sviluppo e l'omeostasi della cute. Oltre ad essere molto importante nella guarigione delle ferite. I mastociti secernendo VEGF-A, VEGF-B che favoriscono la crescita e migrazione delle cellule endoteliali sanguigne. Mentre mediante VEGF-C, VEGF-D e istamina promuovono lo sviluppo delle cellule endoteliali linfatiche. Va notato che queste interazioni

sono reciproche infatti, il VEGF-A prodotto dalle cellule epiteliali gioca un ruolo nella proliferazione e maturazione dei mastociti nella pelle. <sup>1</sup>

I mastociti svolgono un ruolo importante nella risposta del sistema immunitario contro infezioni batteriche. Quando un'infezione batterica si manifesta i mastociti riconoscono i batteri tramite i recettori TLR e secernono una serie di mediatori tra cui istamina e varie citochine. Questi mediatori favoriscono la maturazione delle DC oltre ad andare a richiamare nel sito interessato altre cellule del sistema immunitario come i neutrofilii. Tuttavia, i mastociti possono avere un ruolo diretto nell'infezione batterica anche se non sono cellule fagocitiche specializzate, ma all'occorrenza possono fagocitare il batterio. I mastociti sono anche i principali produttori IL-12 che è essenziale nella difesa ospite. <sup>1</sup>

### 3.2 Ruolo dei mastociti nell'interazione tra sistema immunitario innato e adattativo

Il sistema immunitario è una rete molto complessa composta da numerose cellule e mediatori che lavorano sinergicamente per difendere l'organismo da agenti patogeni. I mastociti sono fondamentali per il sistema immunitario, fungono da collegamento tra la risposta immunitaria innata e adattativa. Essi non solo svolgono un ruolo cruciale nell'indurre e modulare la risposta innata locale, ma orchestrano anche l'ampiezza dell'immunità adattativa a distanza, la quale è mediata attraverso i linfonodi. I mastociti sono dotati di granuli contenenti mediatori preformati che a seguito del riconoscimento dell'agente patogeno vengono rilasciati e danno inizio alla risposta immunitaria innata. Il riconoscimento dell'antigene, delle IgE, dei DAMPS o PAMPS avviene mediante recettori TLR, recettori del complemento, recettori delle immunoglobuline di classe E (Fc) presenti sulla membrana dei MC. Come menzionato in precedenza, i mastociti possono venire stimolati anche dallo stress cellulare. Infatti, riconoscono i segnali di pericolo come l'ATP extracellulare rilasciato dai cheratinociti sotto stress. I mastociti in questo modo vengono stimolati e rilasciano i granuli ricchi di istamina, citochine e proteasi in pochi secondi. L'istamina rilasciata determina l'immediata risposta vascolare con vasodilatazione e aumento della permeabilità dei vasi. Questo comporta la formazione di edema ed extravasazione dei neutrofili. Il reclutamento dei neutrofili nel sito di infiammazione è potenziato dalla degranolazione direzionata verso il flusso sanguigno di TNF da parte dei mastociti (figura 11 <sup>27</sup>). <sup>1, 27</sup>



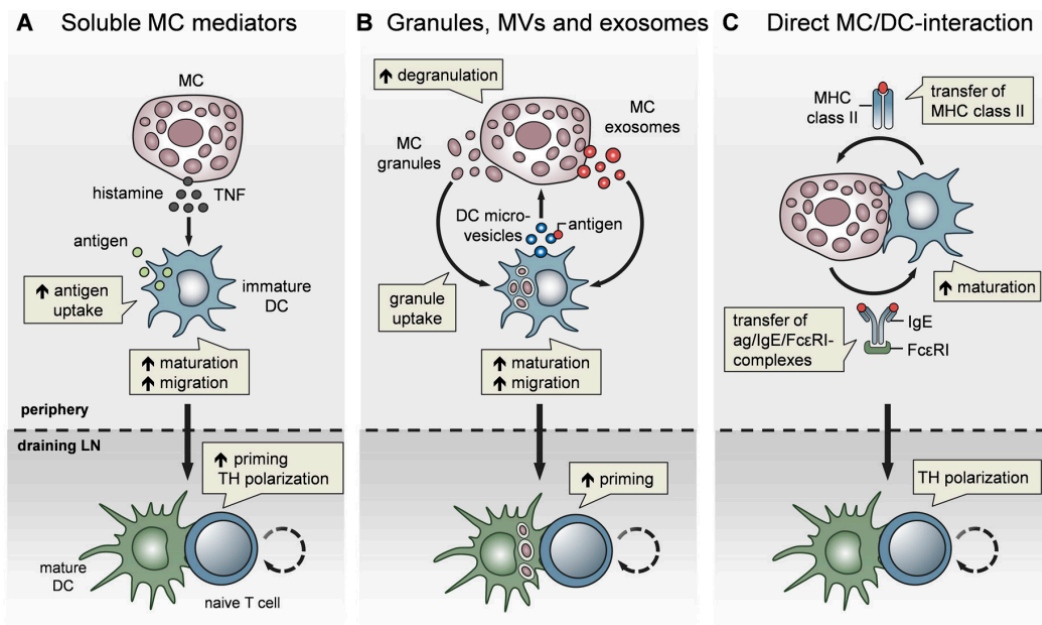
**Figura 11:** Il rilascio dei granuli da parte dei mastociti <sup>27</sup>

I mastociti svolgono un ruolo indiretto nel guidare le risposte immunitarie adattative mediante la regolazione delle funzioni delle cellule dendritiche. Una delle caratteristiche dei mastociti è la loro elevata presenza nella pelle. Qui si trovano disposti in una rete di cellule del sistema immunitario innato con le quali instaurano una comunicazione cellulare molto importante.

La comunicazione tra DC e MC può avvenire mediante i mediatori solubili o i granuli ed esosomi rilasciati dai mastociti. I granuli dei mastociti vengono assorbiti dalle DC, stimolando la loro maturazione e favorendo la migrazione verso i linfonodi della pelle. L'assorbimento dei granuli è fondamentale per l'attività delle DC, infatti aumenta la loro capacità di processare l'antigene e di attivazione dei linfociti T naïve (figura 12 B <sup>27</sup>). Anche i mediatori solubili (figura 12 A <sup>27</sup>) determinano la maturazione delle DC e la loro migrazione, in particolare l'istamina regola la risposta citochinica delle DC e la polarizzazione delle cellule T verso un fenotipo di tipo Th2. E' stato dimostrato che i mastociti attivati da IgE controllano l'equilibrio tra Th1/Th2. <sup>27</sup>

Gli esosomi dei MC sono più stabili nell'ambiente extracellulare rispetto ai mediatori solubili di conseguenza hanno una maggiore capacità di favorire la maturazione delle DC (figura 12 B <sup>27</sup>). <sup>27</sup>

Inoltre, è presente un'interazione fisica tra MC e DC che modula la funzione di quest'ultime (figura 12 C <sup>27</sup>). <sup>27</sup> Questa interazione di tipo fisico può comprendere anche la formazione di sinapsi immunologiche consentendo il trasferimento di MHC di classe II dalle DC ai MC. In questo modo i mastociti acquisiscono la capacità di presentare l'antigene alle cellule T. Tramite ciò i mastociti sono coinvolti nel peggioramento dell'infiammazione cutanea guidata dalle cellule T. <sup>27</sup>



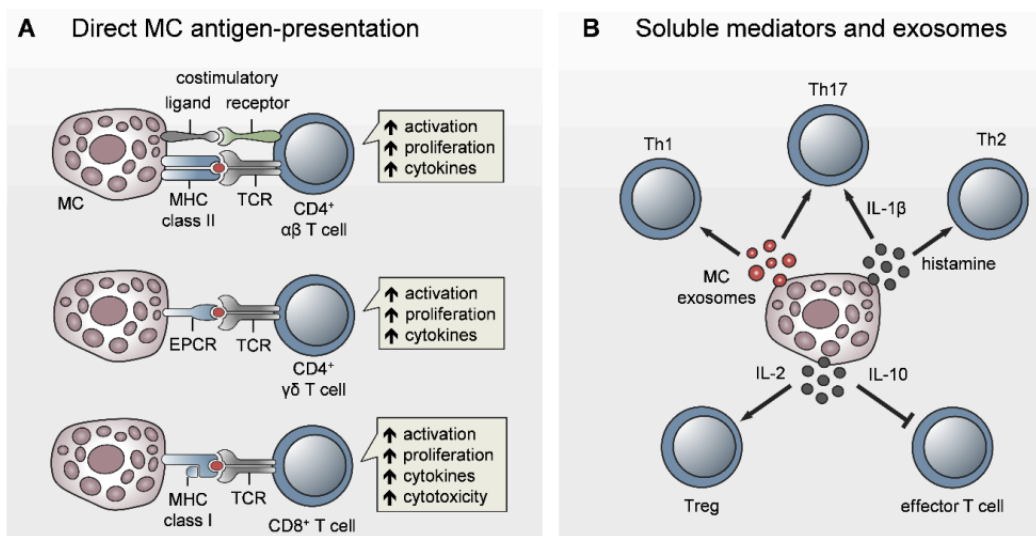
**Figura 12:** interazione dei mastociti con DC tramite mediatori solubili, esosomi oppure interazione diretta <sup>27</sup>

Sono presenti sempre più evidenze che dimostrano la capacità dei mastociti di presentare l'antigene direttamente alle cellule T ma anche di poter influenzare la polarizzazione dei linfociti. La connessione diretta tra MC e linfociti T può avvenire mediante MHC di classe II, recettore della proteina C delle cellule endoteliali (EPCR) oppure tramite MHC di classe I comportando l'attivazione e proliferazione delle cellule T (figura 13 A <sup>27</sup>). Oltre al meccanismo di presentazione dell'antigene, i mastociti influenzano le risposte delle cellule T mediante il rilascio di mediatori solubili ed esosomi. In questo modo i mastociti determinano la polarizzazione delle



cellule T verso diversi fenotipi che possono essere Th1, Th2 oppure Th17. Tuttavia, i mastociti non hanno solamente effetti infiammatori sui linfociti T ma anche effetti antinfiammatori. Questi ultimi mediante il rilascio di IL-2 vanno a regolare l'attività di Treg oppure mediante IL-10 che causa l'inibizione delle cellule T (Figura 13 B <sup>27</sup>).

Complessivamente i mastociti sono cellule fondamentali per la risposta immunitaria dell'ospite ma sono anche l'importante collegamento tra immunità innata e adattativa.<sup>1, 27</sup>



**Figura 13:** figura A interazione diretta tra MC e DC. Figura B: polarizzazione cellule T <sup>27</sup>

### 3.3 Reazioni allergiche cutanee mediate dai mastociti

Le reazioni allergiche cutanee sono delle risposte del sistema immunitario che si verificano sulla pelle a seguito del contatto con un allergene. I mastociti sono considerati una delle cellule chiave nelle risposte allergiche di tipo 1. Essi degranulano dopo che le IgE si legano al recettore ad alta affinità per l'IgE (FcεRI). Il recettore FcεRI è un eterotetramero ed è costituito da un'unità  $\alpha$ , un'unità  $\beta$  e due unità  $\gamma$ , nello specifico è l'unità  $\alpha$  che si lega a IgE mentre  $\beta$  e  $\gamma$  possiedono dei motivi di attivazione immunorecettoriale a base di tirosina (ITAM). Una volta che le molecole di IgE sono legate ai recettori, i recettori FcεRI si aggregano causando la fosforilazione di ITAM e l'attivazione di tirosin-chinasi. Questa cascata di reazioni intracellulari porta alla degranolazione dei mastociti.<sup>6</sup>

L'acquisizione delle IgE da parte dei mastociti è fondamentale per il loro funzionamento e si è scoperto che i mastociti perivascolari del tessuto cutaneo prelevano IgE dal sangue. Questo avviene grazie ai prolungamenti cellulari dei MC che attraversano la parete del vaso sanguigno e scandagliano il sangue.<sup>28</sup>

Uno dei mediatori più importanti della risposta allergica rilasciato dai mastociti è l'istamina che diventa immediatamente solubile. Essa una volta rilasciata, provoca una serie di effetti tra cui un aumento della vasodilatazione e permeabilità delle pareti dei vasi sanguigni con formazione di edema locale, rossore e prurito.<sup>1</sup>

Oltre all'istamina vengono rilasciate dai granuli citochine e chemochine tra cui TNF, IL-6, CXCL-1, eotaxine che determinano il reclutamento di neutrofilii, monociti ed eosinofili. Il reclutamento delle cellule immunitarie è potenziato dal fatto che i MC dopo la degranolazione iniziano un processo di sintesi di mediatori lipidici come i leucotrieni, che vanno a richiamare ulteriori cellule immunitarie.<sup>1</sup>

Inizialmente l'edema che si forma a seguito di una reazione allergica è delimitato localmente. Tuttavia, se la reazione perdura nel tempo l'edema si diffonde e può presentare una consistenza più dura alla palpazione.

E' fondamentale notare che a causa dell'elevato numero di mediatori rilasciati e di vie di segnalazione che si sovrappongono, anche l'incontro locale con l'allergene e l'elevata attivazione dei mastociti può portare a una reazione sistemica grave detta anafilassi. L'anafilassi può essere tanto più grave quanto più è elevata la concentrazione di eparina nel sangue che causa l'attivazione del fattore XII e la formazione di bradichinina. <sup>1</sup>

### 3.4 Ruolo dei mastociti nella dermatite atopica

La dermatite atopica, come precedentemente detto, è una malattia infiammatoria cronica ricorrente caratterizzata da una risposta immunitaria guidata dai linfociti Th2. Esistono diversi fenotipi di DA classificati secondo i livelli di IgE rilevati.

Il ruolo dei mastociti nella dermatite atopica non è ancora stato chiarito completamente, anche se questa malattia è caratterizzata da elevati livelli di IgE che attivano i mastociti tramite il recettore FcεRI. È stato osservato, che sulla membrana delle cellule di Langerhans e sui mastociti durante lo sviluppo della dermatite atopica, i recettori FcεRI sono espressi in numero più elevato rispetto ad una situazione di salute. Infatti, i livelli elevati di IgE sembrano essere essenziali per la presentazione dell'antigene e per l'espansione dei linfociti Th2 che producono IL-4 e IL-5. Queste due citochine sono importanti per il reclutamento degli eosinofili e la loro infiltrazione nel sito dell'infiammazione.<sup>1</sup>

I mastociti sono stati rilevati nelle lesioni croniche della DA e sono in grado di migrare attraverso la matrice extracellulare per raggiungere l'epidermide.<sup>1</sup> Si è osservato che la maggior parte dei mastociti papillari ed epidermici sono disposti vicino alle cellule endoteliali ed esprimendo fattori angiogenetici. Essi hanno un ruolo importante nella neoangiogenesi, che è un fenomeno che si verifica durante la guarigione di una ferita o durante la riparazione dei tessuti. Inoltre, i MC regolano la proliferazione delle cellule endoteliali e secernono la tripsina che demolisce la matrice extracellulare per fare spazio ai nuovi vasi sanguigni.<sup>29</sup>

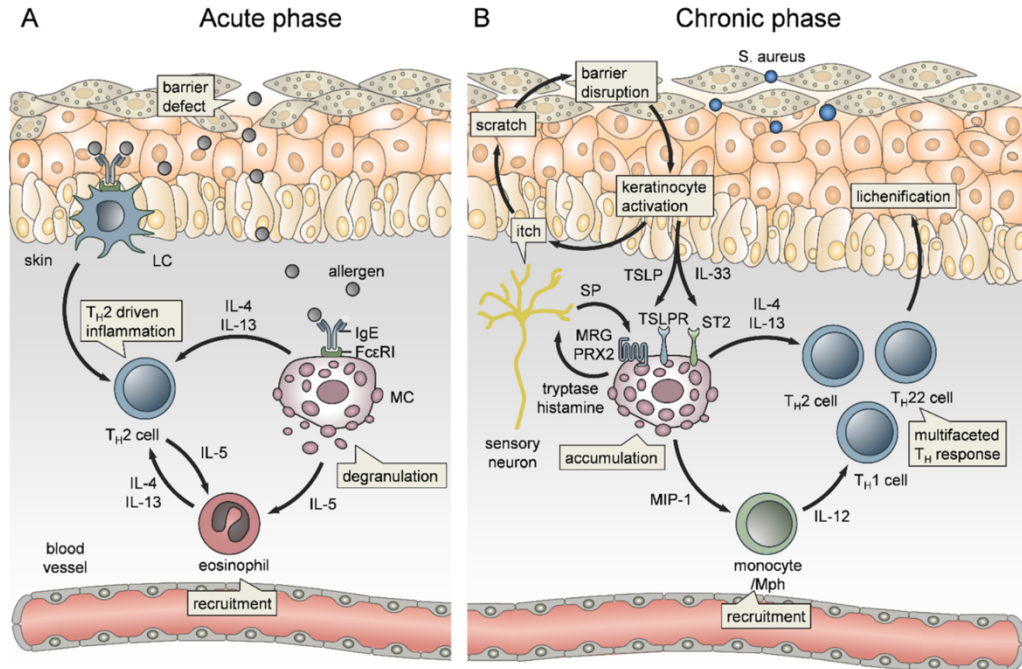
Nella dermatite atopica si è scoperto che le IL-4, IL-5 e IL-13 prodotte dai mastociti, sono delle citochine che con alta probabilità sono coinvolte del circolo vizioso IgE-Th2-Eos. È rilevante sottolineare che IL-4, citochina caratteristica della risposta immunitaria di tipo Th2, a seguito di un contatto prolungato con i MC non solo ne aumenta il numero presente nella pelle ma rimodella fenotipicamente e funzionalmente le caratteristiche dei MC. IL-4 aumenta l'espressione di FcεRI sulla membrana dei MC e aumenta la

degranulazione in risposta a stimoli allergici ma non immunologici. L'istamina è una delle molecole più influenzate da IL-4. Infatti, si è osservato come sotto la stimolazione di IL-4 la quantità di istamina prodotta e rilasciata dai mastociti sia superiore rispetto alla sola stimolazione di SCF. Però IL-4 aumenta il rilascio di istamina solo se i mastociti sono stati attivati dalla via IgE-FCεRI, mentre il rilascio spontaneo di istamina o mediato dalla sostanza P rimane invariato. Questo dimostra come IL-4 supporta selettivamente la via di attivazione dei mastociti dipendente dalle IgE. Per giunta, tutto questo suggerisce che i MC presenti nelle malattie croniche cutanee guidate dalla risposta Th2, in cui IL-4 è sovrabbondante, possano subire una modifica del trascrittoma a seguito della continua attivazione di FCεRI. <sup>30</sup>

I mastociti sono riconosciuti come delle cellule che fungono da ponte tra immunità innata e adattativa contribuendo alla marcia atopica. IL-13 è una delle citochine che fa parte di questo ponte e viene prodotta dai MC, dai linfociti Th2, dai basofili, dalle cellule natural killer T e dalle cellule linfoidi innate di tipo 2. Nella dermatite atopica IL-13 è espressa nelle lesioni ed è coinvolta nella patogenesi della malattia. Infatti promuove l'espressione delle citochine che richiamano linfociti Th2 e promuove l'iperplasia cutanea determinando una compromissione della barriera cutanea. In aggiunta IL-13 inibisce la sintesi di IL-12 da parte delle DC, causando la riduzione della capacità delle DC di promuovere la risposta Th1. Quando avviene il contatto con un allergene insorge un danno sulla cute che induce i KC a liberare IL-33 che attiva immediatamente i mastociti a produrre IL-13. Questa interleuchina non solo inibisce la liberazione di IL-12 da parte delle DC e quindi la loro capacità di polarizzare la risposta verso un fenotipo Th1, ma riduce la secrezione di IFN-γ da parte dei linfociti T CD4+. <sup>31</sup>

La diversa espressione delle varie citochine nella DA varia nei pazienti in base alla gravità e alla durata della lesione cutanea. E' importante sottolineare che la fase acuta della DA è caratterizzato da alti livelli di IL-4 e da una infiltrazione cutanea soprattutto di cellule Th2 (figura 14 A <sup>1</sup>). Invece la fase cronica si identifica con l'attivazione dei macrofagi e degli

Eos e in cui i mastociti a contatto con l'endotelio vasale promuovono l'infiltrazione dei monociti (figura 14 B <sup>1</sup>).



**Figura 14:** i mastociti nella DA. Nella fase acuta (disegno A) l'alterazione dell'epidermide consente agli allergeni di penetrare e legarsi alle IgE attivando il recettore FcεRI sulle LC e sui MC. Il rilascio delle citochine IL-4 e IL-13 da parte dei MC induce una risposta di tipo Th2. I linfociti TH2 tramite IL-5 reclutano gli eosinofili, e si instaura l'infiammazione di tipo Th2. La fase cronica (disegno B) è sostenuta da una risposta Th1 e Th2, e da una attivazione dei MC tramite MRGPRX2 indipendente da IgE. L'asse MC-neuroni-cuti: il prurito causa l'attivazione dei KC che rilasciano IL-33 e TSLP che a stimolano i MC. I MC rilasciano la proteina macrofagica 1 (MIP-1) che è coinvolta nel reclutamento dei monociti e macrofagi che sostengono l'infiammazione. <sup>1</sup>

Il continuo grattamento, che è un sintomo tipico della DA, è un fattore che peggiora la dermatite atopica perché causa una eccessiva espressione delle citochine prodotte e un aumento delle cellule Th2. Questo determina un peggioramento dell'infiammazione tissutale. Anche le infiammazioni causate da agenti microbici peggiorano la DA.

I cheratinociti rilasciano diverse citochine tra cui IL-1β, IL-25, IL-33, TSLP oltre a rilasciare in seguito ad un insulto ATP e HMGB1 che polarizzano le DC verso una risposta di tipo Th2. <sup>1</sup>

In particolare, nella dermatite atopica il TSLP viene rilasciato dai KC in modo aberrante e determina una risposta di tipo Th2. Nelle lesioni dei

pazienti affetti da DA sono stati rilevati elevati livelli di TSLP rispetto ai controlli sani, per questo si considera l'elevata presenza di questo mediatore come una caratteristica della malattia. E' stato dimostrato che il TSLP favorisce l'accumulo dei mastociti nelle lesioni atopiche e la loro attivazione indipendente da IgE, oltre a indurre un aumento della produzione delle citochine pro-infiammatorie di tipo Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13). Questo porta ad un peggioramento della malattia. I mastociti sono stimolati da TSLP grazie al suo legame con il recettore TSLPR, ma anche all'interazione con il recettore X2 accoppiato alla proteina G Mas (MRGPRX2), che viene definita via pseudo-allergica/neurogenica indipendente dalle IgE.<sup>32 33</sup>

Nella fase cronica della dermatite atopica l'aggravarsi della sintomatologia è legato all'attivazione dei mastociti mediata da MRGPRX2 (figura 14 B 1). Esso è un recettore altamente espresso sui mastociti ed accoppiato alle proteine G, che risponde sia a stimoli endogeni come la sostanza P sia a stimoli esogeni come farmaci oppiacei. Nello specifico risponde ai ligandi con proprietà cationiche. Quando questo recettore viene stimolato dalla sostanza P (SP) provoca la degranolazione dei MC e il rilascio di numerosi mediatori pro-infiammatori. Inoltre, MRGPRX2 attiva vie di segnalazione nei neuroni sensoriali che sostengono la trasmissione del prurito.<sup>34</sup>

SP è un neuropeptide essenziale per mantenere la comunicazione bidirezionale tra MC e fibre nervose. SP contribuisce al dolore ed al prurito nella DA e nell'orticaria, ed esplica questa azione legandosi al MRGPRX2 dei MC e ne induce la degranolazione. I MC a seguito di questa stimolazione rilasciano la triptasi che va a legarsi a PAR-2 presente sui neuroni sensoriali scatenando un prurito di tipo istamina-indipendente. E' stato dimostrato che sulla pelle pruriginosa l'espressione di PAR-2 sulle fibre nervose è maggiore rispetto alla pelle non pruriginosa dei pazienti atopici. Questo sostiene il ruolo dell'asse triptasi-PAR-2 nell'insorgenza del prurito.<sup>34 35</sup>

La comunicazione tra MC e nervi è un circolo vizioso che peggiora l'eczema atopico, inoltre questo circolo probabilmente è sostenuto anche da stimoli esterni come l'acaro della polvere. Gli allergeni della polvere possono penetrare attraverso la cute, in quanto la barriera cutanea è alterata dal continuo grattarsi del paziente. Questi penetrano e attivano i recettori MRGPRX2 in modo indiretto o diretto causando il rilascio di mediatori da parte dei MC che stimolano i nocicettori cutanei.<sup>34, 35</sup>

L'alterazione della barriera cutanea dei pazienti atopici causa una colonizzazione di *S. aureus*, riscontrabile nella maggior parte dei pazienti. Le tossine  $\delta$ -tossina e enterotossina B prodotte da questo batterio aumentano l'infiammazione della pelle attivando i MC tramite il MRGPRX2, ma anche tramite un aumento dell'espressione del recettore ST-2 che lega IL-33.<sup>34, 35</sup>

I cheratinociti a seguito di insulti dovuti a patogeni, allergeni o altri agenti ambientali durante la DA subiscono un danno. Tale danneggiamento porta alla secrezione di IL-33, la quale insieme al TSLP, è un segnale di pericolo che avverte il sistema immunitario. IL-33 insieme a TSLP svolgono un ruolo fondamentale nel sostenere la risposta immunitaria di tipo Th2.

IL-33 agisce sui mastociti attraverso il recettore ST2 influenzandone la crescita, la sopravvivenza e la degranolazione, ma agisce anche sui basofili e sui linfociti TH2.<sup>36</sup>

E' importante evidenziare che in un modello murino è stato dimostrato che le MC a seguito di un'esposizione prolungata a IL-33 esprimono MHC di tipo II. Questo promuove un possibile ruolo delle MC nel circolo vizioso di risposta e induzione dell'immunità di tipo Th2.<sup>1</sup>

I mastociti alterano l'omeostasi della pelle, nei pazienti atopici il contenuto di istamina è più elevato rispetto ai controlli sani. L'aumento di istamina causa un'alterazione negativa dei processi di differenziazione dei KC. In uno studio è stato dimostrato che una singola applicazione cutanea di istamina causa la degranolazione dei MC che compromette la formazione corretta della barriera cutanea. Questo esperimento è importante perché fa notare come anche un evento di degranolazione può causare



un'alterazione della funzione barriera della cute. L'istamina compromette la formazione delle giunzioni strette. Infatti, nei pazienti atopici in cui il rilascio di istamina è costante la barriera cutanea perde la sua funzione meccanica esponendo la cute ad una più facile penetrazione di allergeni e agenti patogeni. Inoltre, nella DA sono riscontrabili dei difetti nella composizione lipidica dello strato corneo che in associazione all'alterata differenziazione aberrante dei KC causano un'alterazione dell'epidermide.<sup>26</sup>

In conclusione, nella dermatite atopica i mastociti sono delle cellule chiave nella patogenesi ma sono coinvolti anche nello sviluppo della marcia atopica. Questo perché la lesione cutanea indotta dal grattamento causa l'espansione e l'attivazione dei mastociti intestinali causa allergie alimentari. Ad oggi la ricerca sta compiendo notevoli passi avanti per sviluppare delle terapie biologiche che abbiano come bersaglio i MC.<sup>1</sup>

### 3.5 Ruolo dei mastociti nella dermatite allergica da contatto

La dermatite allergica da contatto (ACD) è una reazione di ipersensibilità di tipo IV ritardato mediata dai linfociti T, verso antigeni che entrano in contatto con la pelle. Generalmente le sostanze che causano DAC sono a basso peso molecolare (<500 dalton) chiamati anche apteni. Nello sviluppo della ACD si identificano due fasi:

- la fase di sensibilizzazione in cui l'aptene penetra la cute per la prima volta e si lega alle proteine dell'organismo innescando l'attivazione delle cellule T;
- la fase di elicitazione in cui le cellule T specifiche a seguito di un'ulteriore esposizione all'aptene si attivano e mediano la risposta infiammatoria cutanea.

I mastociti sono coinvolti criticamente sia nella fase di sensibilizzazione sia nella fase di elicitazione. Per studiare il coinvolgimento dei MC nei decenni precedenti sono stati impiegati modelli murini mutanti per il gene Kit di ipersensibilità da contatto murina (CHS, contact hypersensitivity), che utilizzavano apteni organici come DNFB o TNCB (dinitrofluorobenzene o trinitroclorobenzene). I risultati degli studi condotti con i topi mutanti Kit erano controversi, alcuni sostenevano un ruolo dei MC nella CHS mentre altri studi rilevano una CHS inalterata in assenza di MC. Questo è dovuto al fatto che i topi mutanti Kit presentavano delle alterazioni importanti del sistema immunitario che andavano a compromettere i risultati. Successivamente si è passati all'utilizzo del modello transgenico di carenza dei MC che è innovativo, in quanto è indipendente dalle mutazioni del gene Kit e non sono presenti ulteriori alterazioni del sistema immunitario. Mediante questo modello è stato dimostrato che i MC sono fondamentali per la corretta maturazione e migrazione delle DC verso i linfonodi della pelle dove avviene l'attivazione delle cellule T. In questi topi transgenici la carenza di MC è associata ad una quasi completa inattivazione delle cellule T a seguito di contatto con l'allergene. Quindi i mastociti svolgono un ruolo

fondamentale nella CHS e influenzano gli effetti adjuvanti precoci degli apteni.<sup>1,37</sup>

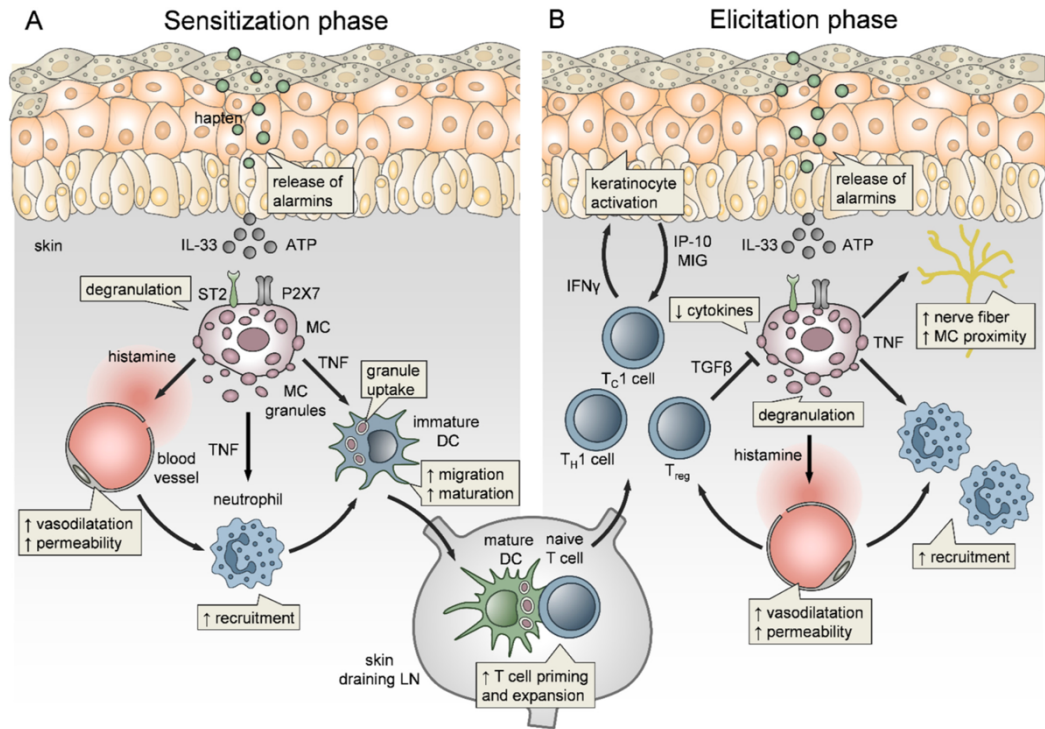
Inoltre, è rilevante notare che la carenza dei MC ha influenzato drasticamente la migrazione delle DC ai linfonodi e di conseguenza ha ridotto l'attivazione delle cellule T. In più ha diminuito l'infiltrazione dei neutrofili nella fase dell'elicitazione e la formazione di edema.<sup>1</sup>

Prima dell'attivazione dei mastociti sembrano esserci delle risposte epidermiche a seguito dell'incontro con gli apteni, queste risposte sono mediate dai cheratinociti e dalle cellule T epidermiche dendritiche (DETC). I KC sono le prime cellule che incontrano l'aptene ed esprimono i recettori TLR che riconoscono gli apteni, determinando la secrezione di TNF, IL-18 e IL-1 $\beta$  che sono delle citochine fondamentali per lo sviluppo della ACD.<sup>38</sup> Le cellule DETC sono una sottopopolazione delle cellule T  $\gamma\delta$  che vengono attivate mediante il recettore natural killer attivante (NKG2D) a seguito dell'esposizione della cute all'allergene. Nel modello murino utilizzato nello studio preso in considerazione, è stato osservato come i KC sotto stress aumentano l'espressione dei ligandi per NKG2D. Grazie a questa osservazione è stata dimostrata un'interazione tra i KC e le DETC indotta dagli allergeni. Ciò porta all'attivazione delle cellule T mediata da IL-1 $\beta$  e dipendente dall'asse NKG2D/ligando con conseguente rilascio di IFN- $\gamma$  e IL-17. Questo potrebbe essere coinvolto nella risposta immunitaria innata non specifica.<sup>11</sup>

Oltre a questo, gli apteni che penetrano causano un'alterazione dell'omeostasi cutanea determinando l'attivazione dell'inflammasoma, il rilascio IL-18 e IL-1 $\beta$ , ROS (specie reattive dell'ossigeno) e la produzione di ATP e IL-33 che fungono da segnali di allarme in grado di attivare i mastociti. Numerosi studi hanno dimostrato il ruolo fondamentale dell'inflammasoma NLRP3 nella fase di sensibilizzazione della ACD in quanto è coinvolto nell'attivazione delle citochine pro-infiammatorie. L'inflammasoma NLRP3 è la tipologia più studiata ed è un complesso multiproteico citosolico, presente nelle cellule dell'immunità innata oltre che

nei cheratinociti. NLRP3 è composto dal recettore NLR (NOD-like receptors), l'attivatore della caspasi ed una proteina adattatrice CARD. Il recettore NLR riconoscendo DAMPs attiva l'inflammasoma che a sua volta attiva la caspasi 1 coinvolta nella conversione delle citochine pro-infiammatorie IL-18 e IL-1 $\beta$  nella loro forma attiva.<sup>1, 39</sup>

Successivamente a questi eventi di segnalazione, i mastociti vengono attivati poiché sono in grado di percepire il danno tissutale mediante i recettori P2X7 e ST2. Tali recettori legano rispettivamente l'ATP extracellulare e IL-33 rilasciati dai cheratinociti danneggiati. Di conseguenza i MC degranulano e l'istamina, contenuta nei granuli, è responsabile della vasodilatazione e l'aumento della permeabilità dell'endotelio che causa l'edema entro 2 ore nella fase di sensibilizzazione, e entro 24/48 ore nella fase di elicitazione (figura 15<sup>1</sup>).<sup>1</sup> È importante sottolineare che l'attivazione dell'endotelio vascolare indotta dall'istamina e il rilassamento del tessuto connettivo è fondamentale per consentire la migrazione delle DC ai linfonodi drenanti, oltre a favorire la corretta infiltrazione dei neutrofili e dei linfociti T nella zona infiammata. È stato dimostrato che un blocco dell'istamina rilasciata dai MC compromette notevolmente le risposte immunitarie mediate dai linfociti T.<sup>40</sup>



**Figura 15:** contributo dei MC nella ACD. *Figura A:* Nella fase di sensibilizzazione i KC sotto stress rilasciano IL-33 e ATP che si legano ai rispettivi recettori ST2, P2X7, stimolando i MC a rilasciare i granuli. Nell'ambiente extracellulare viene liberata istamina e TNF. Il TNF promuove la maturazione e migrazione delle DC verso i linfonodi dove sono artefici dell'attivazione delle cellule T. *Figura B:* Nella fase di elicitazione i MC vengono nuovamente attivati causando vasodilatazione, allungamento delle fibre nervose e reclutamento dei neutrofili. Nell'infiammazione sono coinvolte cellule Th1 e Tc. Le cellule Tc rilasciano IFN $\gamma$  che attiva i KC. I KC sotto stimolazione secernono IP-10 e MIG che stimolano le cellule Tc determinando un aumento dell'infiammazione. Infine, l'attività dei MC è regolata dalle cellule Treg.<sup>1</sup>

Oltre all'istamina, il TNF dei MC è coinvolto in modo critico nel reclutamento dei neutrofili, nella maturazione delle DC e nell'allungamento delle fibre nervose. In particolare, è stato dimostrato che i MC perivascolari sono in grado di degranulare il TNF direttamente all'interno del vaso sanguigno. In tal modo va a reclutare i neutrofili circolanti che presentano sulla loro superficie il recettore TNFR1 e questo consente un efficace extravasazione dei neutrofili nella cute infiammata. I MC perivascolari presentano delle sporgenze che si estendono nel lume del vaso sanguigno anche in condizioni fisiologiche e sono in grado di analizzare i composti circolanti. Le sporgenze dei MC contengono i granuli secretori che a seguito di stimolo infiammatorio aumentano di numero e di dimensioni in maniera tale da degranulare il TNF e altri mediatori pro-infiammatori direttamente in circolo.

I neutrofili reclutati precocemente dai MC sono coinvolti nell'ampiezza e nella durata dell'infiammazione in entrambe le fasi della DAC. <sup>1, 41</sup>

Il TNF secreto dai MC è coinvolto anche nell'interazione con le DC, infatti ne promuove la maturazione e la loro migrazione verso i linfonodi della pelle (figura 15 A <sup>1</sup>). La migrazione delle DC è un evento chiave nella ACD perché consente di attivare la risposta immunitaria adattativa guidata dai linfociti T. Il TNF secreto dai MC sostiene, soprattutto, la migrazione delle cellule del sottotipo cDC1 che determinano l'attivazione dei linfociti T CD8+ effettori della risposta infiammatoria cutanea indotta dagli apteni. <sup>1, 40</sup>

E' stato dimostrato che i granuli rilasciati dai mastociti vengono assorbiti intatti dalle DC e in tal modo favoriscono la maturazione delle DC e la loro migrazione ai linfonodi della pelle (figura 15 A<sup>1</sup>). <sup>1</sup>

I mastociti e le DC influenzano la propria funzionalità in maniera reciproca. Infatti, è stata dimostrata un'interazione dinamica durante l'infiammazione cutanea che culmina nella formazione di sinapsi. L'evento più importante, di questa stretta connessione cellula-cellula, è il trasferimento del complesso MHC di classe II dalle DC ai MC. Le DC prima di migrare verso i linfonodi consegnano ai MC il complesso MHC di classe II. In questo modo i MC acquistano la capacità di presentare l'antigene, determinando un peggioramento dell'infiammazione guidata dai linfociti T. <sup>40</sup>

I mastociti sono delle cellule chiave nella DAC, orchestrano le risposte innate e guidano il reclutamento di altre cellule del sistema immunitario oltre ad influenzare le risposte immunitarie adattative nella fase di elicitazione. In questo determinato contesto si può riassumere il contributo dei mastociti nell'esacerbazione dell'infiammazione mediante 3 meccanismi: <sup>40</sup>

1. acquisizione della capacità di presentare l'antigene alle cellule;<sup>40</sup>
2. influenzare la migrazione, maturazione e funzionalità delle DC;<sup>40</sup>
3. causare il reclutamento l'attivazione dei linfociti T CD8+. <sup>40</sup>

Inoltre, il TNF dei MC è coinvolto nell'allungamento delle fibre nervose determinando una maggiore vicinanza dei mastociti alle fibre nervose (figura 15 B <sup>1</sup>). <sup>1</sup>

I mastociti sono attori chiave della patogenesi nella ACD acuta. Al contrario nella ACD cronica sembrano avere un ruolo di protezione dall'infiammazione cutanea aggravata dall'esposizione ripetuta agli allergeni, tramite il controllo delle cellule TRM CD8+ (cellule T della memoria). Per ottenere questi risultati è stato utilizzato un modello murino di ipersensibilità da contatto cronica (CCHS) che è rappresentativa della ACD. E' stato osservato che i topi privi di MC presentavano un numero più elevato di cellule TRM CD8+ rispetto ai controlli dovuto ad un aumento di IL-15 che è fondamentale per la funzionalità delle cellule TRM. In questi topi privi di MC l'aumento delle cellule TRM porta ad un'infiammazione più grave dopo esposizione ripetuta all'allergene. Infatti, sembra che i MC siano in grado di degradare IL-15 compromettendo la proliferazione delle cellule TRM CD8+. Questo supporta il fatto che i MC presentano anche una funzione immunoregolatoria e non solo pro-infiammatoria nella ACD.<sup>42</sup>

E' importante sottolineare che la produzione di citochine pro-infiammatorie da parte dei MC è regolata dalle cellule Treg (linfociti T regolatori) tramite il TGF- $\beta$  (figura 15 B<sup>1</sup>).<sup>1</sup>

In conclusione, i MC sono le cellule responsabile dell'insorgenza e dell'ampiezza dell'infiammazione in caso di ACD indotta da basse dosi di apteni. Invece, nella ACD grave dovuta ad alte dosi riducono l'infiammazione tramite la secrezione di IL-5. Questa citochina derivante dai MC è fondamentale per il mantenimento della popolazione delle cellule Breg IL-10 (cellule B regolatorie produttrici di IL-10) nei linfonodi, le quali sono coinvolte nei meccanismi di riduzione dell'infiammazione.<sup>43</sup>

### 3.6 Ruolo dei mastociti nella psoriasi

La psoriasi è un disturbo autoimmune della cute che attiva il sistema immunitario. Questa attivazione causa una iper-proliferazione dei KC con formazione della placca psoriasica, oltre ad essere una patologia cutanea caratterizzata da un'importante infiltrazione di cellule immunitarie. La patogenesi è sostenuta sia da risposta immunitaria innata che adattativa, ed è guidata dai linfociti Th1/Th17.

In questo ambito i MC sono stati studiati diversi anni prima rispetto alle precedenti patologie trattate e sono considerati le cellule effettrici della patologia. E' stato dimostrato che la patogenesi è dovuta alla elevata percentuale di MC attivi che degranulano. Attraverso ciò sono i responsabili dei principali sintomi della psoriasi come il prurito e il dolore neuropatico.<sup>1</sup>

Il primo è il sintomo più invalidante della psoriasi che protratto nel tempo instaura un comportamento cronico. Il continuo grattarsi causa un peggioramento della placca psoriasica associato ad un maggiore numero di mastociti attivati. Come precedentemente descritto, l'istamina e triptasi, insieme al fattore di crescita nervoso (NGF), causano l'insorgenza del prurito, dovuto all'interazione di tali mediatori con le fibre nervose (figura 16<sup>1</sup>). E' stato dimostrato utilizzando un modello di psoriasi murina indotta da Imiquimod, che il fattore NGF interagisce con le fibre nervose legandosi al rispettivo recettore. Il NGF riduce la soglia del prurito (ipersensibilità) tramite il prolungamento neuronale, determinando un aumento del prurito nel paziente.<sup>44</sup>

Inoltre NGF ha proprietà autocrine in quanto è coinvolto nella differenziazione, proliferazione e sopravvivenza dei MC. Quando tale fattore viene rilasciato dai mastociti stimola tramite un circuito chiuso i MC a rilasciare i mediatori pro-nocicettivi come l'istamina e nuovamente NGF. Il secondo di questi due nelle lesioni psoriasiche pruriginose è presente in elevate quantità confermando il suo ruolo nell'amplificazione del prurito.<sup>45</sup>

Nella pelle dei soggetti malati sono stati rilevati alti livelli di sostanza P (neuropeptide), che stimola i MC a degranulare. La SP viene rilasciata dalle



fibre nervose in condizioni infiammatorie, a seguito della stimolazione da parte dell'istamina dei MC. Questo evidenzia un circolo vizioso che peggiora il prurito.<sup>45</sup>

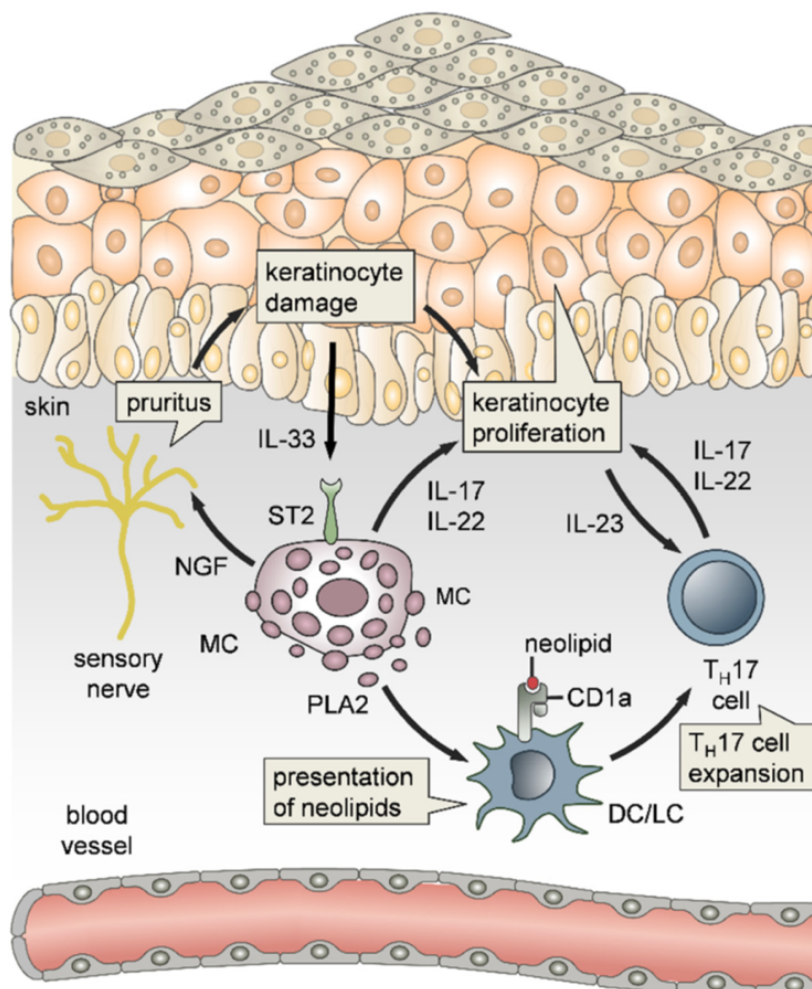
La placca psoriasica è caratterizzata da elevati livelli di IL-33. Questa citochina fa parte della famiglia IL-1, ed è coinvolta nell'omeostasi tissutale e nella risposta immunitaria. E' espressa costitutivamente nei cheratinociti venendo rilasciata dopo un danno tissutale come segnale d'allarme. Successivamente IL-33 si lega al suo recettore ST2 presente nei MC e in altre cellule del sistema immunitario, attivando le vie di segnalazione utili per stimolare le risposte immunitarie. Pertanto, induce la degranolazione e, in associazione alla SP, stimola il rilascio di VEGF da parte dei MC che è associato alla gravità della psoriasi.<sup>46</sup>

E' importante sottolineare che i MC secernono IL-17 e IL-22 che sono i principali mediatori della risposta immunitaria guidata da Th1/Th17. Inoltre, queste citochine inducono l'iper-proliferazione dei KC con conseguente formazione della placca psoriasica, facendo supporre che i mastociti siano coinvolti nel processo di esacerbazione della malattia.<sup>1</sup>

Un ulteriore mediatore molto importante nella patogenesi della psoriasi è PLA2 rilasciata dai MC in seguito a degranolazione. E' stato dimostrato che le cellule presentanti gli antigeni lipidici captano PLA2. Questo processo stimola la produzione di antigeni neolipidici i quali vengono riconosciuti dalle LC che esprimono CD1a. Quest'ultima è una molecola che lega gli antigeni per presentarli ai linfociti Th17, causando un aumento della produzione di IL-17 e IL-22. Infatti, nei pazienti affetti da psoriasi è stato osservato che CD1a amplifica la risposta infiammatoria e aggrava la patologia (figura 16<sup>1</sup>).<sup>47</sup>

In conclusione, i mastociti nella psoriasi non solo controllano la patogenesi in modo diretto producendo IL-17 e IL-22 ma anche in modo indiretto attraverso la stimolazione delle LC. Le cellule dendritiche/LC inducono un'ulteriore produzione di IL-17 e IL-22 da parte dei linfociti T, oltre ad essere coinvolte nella generazione del prurito. Pertanto, i MC possono essere considerati dei validi bersagli per i futuri trattamenti terapeutici.<sup>1</sup>

## Psoriasis



**Figura 16:** MC nella psoriasi. I MC contribuiscono: direttamente all'infiammazione tramite la produzione di IL-17 e IL-22. Indirettamente tramite il rilascio di PLA2 che viene captata dalle LC e DC, causando la produzione degli antigeni neolipidici. Gli antigeni lipidici vengono riconosciuti dalle LC che esprimono la molecola CD1a e in questo le LC presentano gli antigeni ai linfociti Th17 promuovendo un'ulteriore produzione di IL-17 e IL-22.<sup>1</sup>

### 3.7 Ruolo dei mastociti nell'orticaria

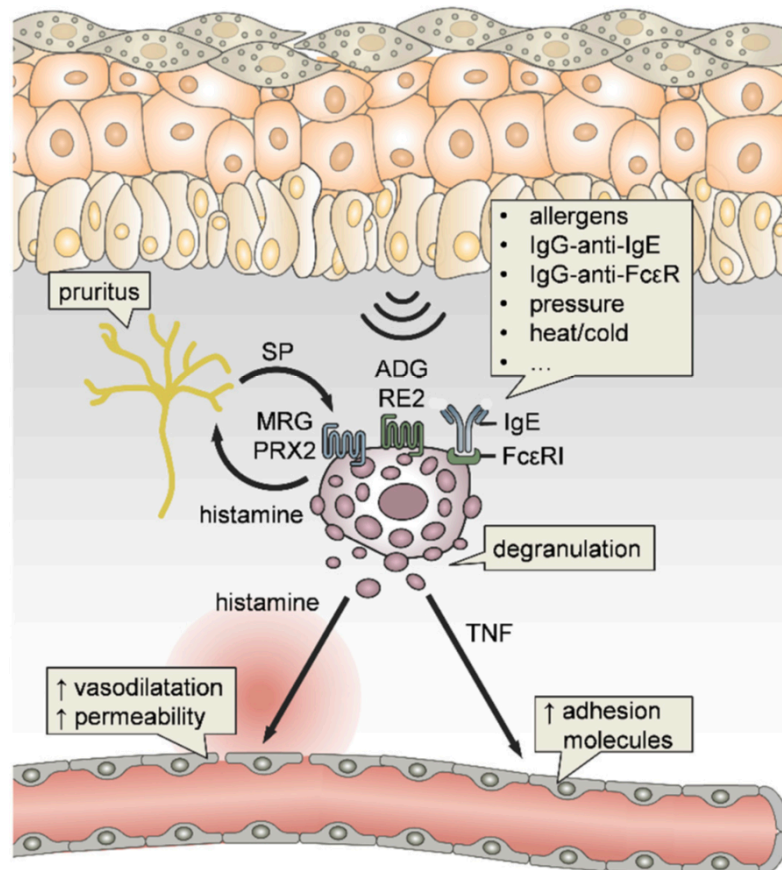
L'orticaria è una malattia della cute estremamente diffusa guidata dall'attivazione dei mastociti e caratterizzata dalla formazione di pomfi pruriginosi e angioedema. Tuttavia, i fattori che determinano la degranolazione dei mastociti sono numerosi e in parte ancora sconosciuti. Nella CSU l'autoimmunità di tipo 1 (anticorpi IgE diretti contro gli autoallergeni) e di tipo 2 (anticorpi IgG contro IgE o il recettore FcεRI) sembrano essere le cause principali della degranolazione dei MC. In base a questa scoperta è stato progettato l'anticorpo monoclonale Omalizumab che si lega alle IgE riducendo la stimolazione di FcεRI e di conseguenza l'attivazione dei MC.

Questo tipo di attivazione dei MC è un meccanismo dipendente dalle IgE, però i MC possono degranulare anche attraverso meccanismi IgE-indipendenti. Nell'orticaria vibratoria, un esempio di orticaria fisica, i MC rispondono alle vibrazioni mediante il recettore ADGRE2 indipendente dalle IgE. Nei soggetti affetti da questa variante di orticaria è stata rilevata un'eccessiva attività dei MC dovuta ad una mutazione di una subunità del recettore ADGRE2. Tramite ciò è stato evidenziato un ruolo importante di questo recettore nella patogenesi dell'orticaria (figura 17<sup>1</sup>).<sup>1</sup>

L'angioedema, sintomo tipico dell'orticaria, è dovuto all'istamina rilasciata dai MC. Quest'ultima causa l'aumento di permeabilità dei vasi sanguigni e la vasodilatazione, favorendo in tal modo la fuoriuscita di fluidi nel derma. Inoltre nell'orticaria, soprattutto nella CSU, è presente un importante infiltrato infiammatorio composto da neutrofili, eosinofili, basofili e linfociti T che vengono richiamati nel sito infiammatorio da fattori chemiotattici. Il TNF, IL-5, IL-17 sono mediatori rilasciati dai mastociti, dai fibroblasti dermici, dai linfociti T e da altre cellule. Nello specifico il TNF derivato dai MC è coinvolto nella extravasazione di cellule immunitarie nella pelle infiammata, poiché va a stimolare l'espressione delle molecole di adesione delle cellule epiteliali ad esempio ICAM-1, P-selectina, E-selectina.<sup>1, 17, 18</sup>

Nell'orticaria è stata individuata un'interazione bidirezionale tra i mastociti e i neuroni sensoriali che è la causa del dolore e del prurito. Questa comunicazione è mediata dalla sostanza P, un neuropeptide presente in elevate quantità nei soggetti affetti da orticaria. Tale mediatore viene riconosciuto dal recettore MRGPRX2 dei MC causando la degranulazione e liberazione dei mediatori. A loro volta i MC rilasciano istamina e triptasi che stimolano le fibre sensoriali a sintetizzare e liberare la SP, in tal modo si instaura un circolo vizioso che perpetua il prurito (figura 17 <sup>1</sup>). Il recettore MRGPRX2 è sovra-espresso nei malati rispetto ai controlli sani ed è un possibile candidato come bersaglio terapeutico per il trattamento dell'orticaria.<sup>1, 17</sup>

## Urticaria



**Figura 17:** Mc nell'orticaria: l'attivazione dei MC avviene tramite recettore FcεRI, ADGRE2 e MRGPRX2. L'istamina liberata induce vasodilatazione e aumento della permeabilità vascolare con la formazione di edema. TNF induce l'espressione delle molecole di adesione delle cellule endoteliali. I MC e le fibre nervose comunicano tramite la SP e istamina in un circolo vizioso che alimenta il prurito e il dolore.<sup>1</sup>



## Conclusione

I mastociti sono delle cellule del sistema immunitario, presenti nei tessuti posti all'interfaccia con l'ambiente esterno. Si trovano con particolare abbondanza nella pelle dove ne mantengono l'omeostasi. I MC hanno un ruolo chiave nella guarigione delle ferite, nell'invecchiamento della cute, nell'angiogenesi e soprattutto sono fondamentali nei processi di difesa contro agenti patogeni che possono penetrare attraverso la cute.

La caratteristica dei MC, grazie alla quale è stato possibile individuarli, è la presenza di granuli nel citoplasma. Questi granuli vengono rilasciati dai MC in tempi di reazione brevissimi a seguito della stimolazione dei recettori presenti sulla membrana. Tali recettori sono sensibili allo stress cellulare dei KC, agli agenti patogeni ed agli allergeni.

I granuli contengono una moltitudine di mediatori preformati come l'istamina e il TNF. La prima è coinvolta nella vasodilatazione e nell'aumento di permeabilità dell'endotelio, mentre il TNF è fondamentale per il reclutamento di neutrofilo nel sito dell'infiammazione.

I MC fungono da ponte tra immunità innata e adattativa, e mediante la degranulazione danno inizio alla risposta innata. Il TNF, l'istamina, gli esosomi e i granuli intatti sono attori indispensabili per l'interazione tra i MC e le DC. Quest'ultima media indirettamente l'ampiezza delle risposte adattative poiché le DC maturano e migrano verso i linfonodi drenanti della pelle, grazie alla stimolazione e captazione di questi mediatori. Le DC nei linfonodi causano l'attivazione dei linfociti T naïve.

E' importante sottolineare l'esistenza di un'interazione di tipo fisico tra le DC e MC che culmina nel trasferimento del MHC di classe II dalle DC ai MC conferendo a quest'ultimi la capacità di presentare direttamente l'antigene ai linfociti T; in tal modo i MC peggiorano l'infiammazione in corso.

Infine, i Mc sono anche coinvolti nelle risposte allergiche di tipo 1 degranulando dopo che le IgE sono riconosciute dal rispettivo recettore FcεRI. In tal occasione, l'istamina rilasciata è responsabile dell'edema

locale caratteristico delle risposte allergiche mentre gli altri mediatori richiamano ulteriori cellule immunitarie nel sito.

Il corretto funzionamento dei mastociti è essenziale per mantenere una risposta difensiva ottimale contro gli agenti patogeni al fine di mantenere l'omeostasi cutanea e la salute dell'individuo. Tuttavia, in questi decenni di ricerca scientifica è diventato sempre più chiaro il ruolo dei mastociti nelle patologie cutanee più diffuse come la dermatite atopica, l'orticaria, la psoriasi e la dermatite allergica da contatto. Tutti i meccanismi dei mastociti, essenziali per l'omeostasi cutanea, durante le patologie sopracitate sono eccessivamente attivati e portano ad una esacerbazione del processo infiammatorio con sintomi sempre più dolorosi e invalidanti per i pazienti.

In conclusione, emerge che la prevalenza delle patologie cutanee sta aumentando in modo esponenziale, sia a causa dell'aumento degli allergeni nell'ambiente che dello stress emotivo. Questo rende sempre più necessario trovare nuove strategie terapeutiche per ridurre i sintomi che più compromettono la qualità di vita dei soggetti affetti. A tal proposito i mastociti emergono come promettenti bersagli terapeutici sui cui la ricerca deve focalizzarsi per poter ottenere nuove terapie più funzionali.







## BIBLIOGRAFIA

- (1) Voss, M.; Kotrba, J.; Gaffal, E.; Katsoulis-Dimitriou, K.; Dudeck, A. Mast Cells in the Skin: Defenders of Integrity or Offenders in Inflammation? *Int J Mol Sci* **2021**, *22* (9). DOI: 10.3390/ijms22094589.
- (2) Gould, J. Superpowered skin. *Nature* **2018**, *563* (7732), S84-S85. DOI: 10.1038/d41586-018-07429-3.
- (3) Kabashima, K.; Honda, T.; Ginhoux, F.; Egawa, G. The immunological anatomy of the skin. *Nat Rev Immunol* **2019**, *19* (1), 19-30. DOI: 10.1038/s41577-018-0084-5.
- (4) Nguyen, A. V.; Soulika, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. *Int J Mol Sci* **2019**, *20* (8). DOI: 10.3390/ijms20081811.
- (5) Sumpter, T. L.; Balmert, S. C.; Kaplan, D. H. Cutaneous immune responses mediated by dendritic cells and mast cells. *JCI Insight* **2019**, *4* (1). DOI: 10.1172/jci.insight.123947.
- (6) Wernersson, S.; Pejler, G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol* **2014**, *14* (7), 478-494. DOI: 10.1038/nri3690.
- (7) Weller, C. L.; Collington, S. J.; Williams, T.; Lamb, J. R. Mast cells in health and disease. *Clin Sci (Lond)* **2011**, *120* (11), 473-484. DOI: 10.1042/CS20100459.
- (8) Ständer, S. Atopic Dermatitis. *N Engl J Med* **2021**, *384* (12), 1136-1143. DOI: 10.1056/NEJMra2023911.
- (9) Nutten, S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. *Ann Nutr Metab* **2015**, *66 Suppl 1*, 8-16. DOI: 10.1159/000370220.
- (10) Langan, S. M.; Irvine, A. D.; Weidinger, S. Atopic dermatitis. *Lancet* **2020**, *396* (10247), 345-360. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31286-1.
- (11) Martin, S. F.; Rustemeyer, T.; Thyssen, J. P. Recent advances in understanding and managing contact dermatitis. *F1000Res* **2018**, *7*. DOI: 10.12688/f1000research.13499.1.
- (12) Brar, K. K. A review of contact dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* **2021**, *126* (1), 32-39. DOI: 10.1016/j.anai.2020.10.003.
- (13) Griffiths, C. E. M.; Armstrong, A. W.; Gudjonsson, J. E.; Barker, J. N. W. N. Psoriasis. *Lancet* **2021**, *397* (10281), 1301-1315. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32549-6.
- (14) Armstrong, A. W.; Read, C. Pathophysiology, Clinical Presentation, and Treatment of Psoriasis: A Review. *JAMA* **2020**, *323* (19), 1945-1960. DOI: 10.1001/jama.2020.4006.
- (15) Hawkes, J. E.; Chan, T. C.; Krueger, J. G. Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies. *J Allergy Clin Immunol* **2017**, *140* (3), 645-653. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.07.004.
- (16) Rendon, A.; Schäkel, K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *Int J Mol Sci* **2019**, *20* (6). DOI: 10.3390/ijms20061475.
- (17) Kolkhir, P.; Giménez-Arnau, A. M.; Kulthanan, K.; Peter, J.; Metz, M.; Maurer, M. Urticaria. *Nat Rev Dis Primers* **2022**, *8* (1), 61. DOI: 10.1038/s41572-022-00389-z.
- (18) Radonjic-Hoesli, S.; Hofmeier, K. S.; Micaletto, S.; Schmid-Grendelmeier, P.; Bircher, A.; Simon, D. Urticaria and Angioedema: an

- Update on Classification and Pathogenesis. *Clin Rev Allergy Immunol* **2018**, 54 (1), 88-101. DOI: 10.1007/s12016-017-8628-1.
- (19) Grattan, C. The urticarias: pathophysiology and management. *Clin Med (Lond)* **2012**, 12 (2), 164-167. DOI: 10.7861/clinmedicine.12-2-164.
- (20) Sabroe, R. A.; Lawlor, F.; Grattan, C. E. H.; Ardern-Jones, M. R.; Bewley, A.; Campbell, L.; Flohr, C.; Leslie, T. A.; Marsland, A. M.; Ogg, G.; et al. British Association of Dermatologists guidelines for the management of people with chronic urticaria 2021. *Br J Dermatol* **2022**, 186 (3), 398-413. DOI: 10.1111/bjd.20892.
- (21) Blair, H. A. Tralokinumab in Atopic Dermatitis: A Profile of Its Use. *Clin Drug Investig* **2022**, 42 (4), 365-374. DOI: 10.1007/s40261-022-01135-9.
- (22) Seegräber, M.; Srour, J.; Walter, A.; Knop, M.; Wollenberg, A. Dupilumab for treatment of atopic dermatitis. *Expert Rev Clin Pharmacol* **2018**, 11 (5), 467-474. DOI: 10.1080/17512433.2018.1449642.
- (23) Grän, F.; Kerstan, A.; Serfling, E.; Goebeler, M.; Muhammad, K. Current Developments in the Immunology of Psoriasis. *Yale J Biol Med* **2020**, 93 (1), 97-110.
- (24) Ito, T.; Smrž, D.; Jung, M. Y.; Bandara, G.; Desai, A.; Smržová, Š.; Kuehn, H. S.; Beaven, M. A.; Metcalfe, D. D.; Gilfillan, A. M. Stem cell factor programs the mast cell activation phenotype. *J Immunol* **2012**, 188 (11), 5428-5437. DOI: 10.4049/jimmunol.1103366.
- (25) Feuerherm, A. J.; Jørgensen, K. M.; Sommerfelt, R. M.; Eidem, L. E.; Lægreid, A.; Johansen, B. Platelet-activating factor induces proliferation in differentiated keratinocytes. *Mol Cell Biochem* **2013**, 384 (1-2), 83-94. DOI: 10.1007/s11010-013-1784-6.
- (26) Gschwandtner, M.; Mildner, M.; Mlitz, V.; Gruber, F.; Eckhart, L.; Werfel, T.; Gutzmer, R.; Elias, P. M.; Tschachler, E. Histamine suppresses epidermal keratinocyte differentiation and impairs skin barrier function in a human skin model. *Allergy* **2013**, 68 (1), 37-47. DOI: 10.1111/all.12051.
- (27) Katsoulis-Dimitriou, K.; Kotrba, J.; Voss, M.; Dudeck, J.; Dudeck, A. Mast Cell Functions Linking Innate Sensing to Adaptive Immunity. *Cells* **2020**, 9 (12). DOI: 10.3390/cells9122538.
- (28) Cheng, L. E.; Hartmann, K.; Roers, A.; Krummel, M. F.; Locksley, R. M. Perivascular mast cells dynamically probe cutaneous blood vessels to capture immunoglobulin E. *Immunity* **2013**, 38 (1), 166-175. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.09.022.
- (29) Hiromatsu, Y.; Toda, S. Mast cells and angiogenesis. *Microsc Res Tech* **2003**, 60 (1), 64-69. DOI: 10.1002/jemt.10244.
- (30) Babina, M.; Guhl, S.; Artuc, M.; Zuberbier, T. IL-4 and human skin mast cells revisited: reinforcement of a pro-allergic phenotype upon prolonged exposure. *Arch Dermatol Res* **2016**, 308 (9), 665-670. DOI: 10.1007/s00403-016-1688-x.
- (31) Leyva-Castillo, J. M.; Das, M.; Artru, E.; Yoon, J.; Galand, C.; Geha, R. S. Mast cell-derived IL-13 downregulates IL-12 production by skin dendritic cells to inhibit the T. *J Allergy Clin Immunol* **2021**, 147 (6), 2305-2315.e2303. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.11.036.

- (32) Babina, M.; Wang, Z.; Franke, K.; Zuberbier, T. Thymic Stromal Lymphopoietin Promotes MRGPRX2-Triggered Degranulation of Skin Mast Cells in a STAT5-Dependent Manner with Further Support from JNK. *Cells* **2021**, *10* (1). DOI: 10.3390/cells10010102.
- (33) Allakhverdi, Z.; Comeau, M. R.; Jessup, H. K.; Yoon, B. R.; Brewer, A.; Chartier, S.; Paquette, N.; Ziegler, S. F.; Sarfati, M.; Delespesse, G. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* **2007**, *204* (2), 253-258. DOI: 10.1084/jem.20062211.
- (34) Kühn, H.; Kolkhir, P.; Babina, M.; Düll, M.; Frischbutter, S.; Fok, J. S.; Jiao, Q.; Metz, M.; Scheffel, J.; Wolf, K.; et al. Mas-related G protein-coupled receptor X2 and its activators in dermatologic allergies. *J Allergy Clin Immunol* **2021**, *147* (2), 456-469. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.08.027.
- (35) Wang, Z.; Babina, M. MRGPRX2 signals its importance in cutaneous mast cell biology: Does MRGPRX2 connect mast cells and atopic dermatitis? *Exp Dermatol* **2020**, *29* (11), 1104-1111. DOI: 10.1111/exd.14182.
- (36) Saluja, R.; Zoltowska, A.; Ketelaar, M. E.; Nilsson, G. IL-33 and Thymic Stromal Lymphopoietin in mast cell functions. *Eur J Pharmacol* **2016**, *778*, 68-76. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.04.047.
- (37) Dudeck, A.; Dudeck, J.; Scholten, J.; Petzold, A.; Surianarayanan, S.; Köhler, A.; Peschke, K.; Vöhringer, D.; Waskow, C.; Krieg, T.; et al. Mast cells are key promoters of contact allergy that mediate the adjuvant effects of haptens. *Immunity* **2011**, *34* (6), 973-984. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.03.028.
- (38) Silvestre, M. C.; Sato, M. N.; Reis, V. M. S. D. Innate immunity and effector and regulatory mechanisms involved in allergic contact dermatitis. *An Bras Dermatol* **2018**, *93* (2), 242-250. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20186340.
- (39) Sebastião, A. I.; Ferreira, I.; Brites, G.; Silva, A.; Neves, B. M.; Teresa Cruz, M. NLRP3 Inflammasome and Allergic Contact Dermatitis: A Connection to Demystify. *Pharmaceutics* **2020**, *12* (9). DOI: 10.3390/pharmaceutics12090867.
- (40) Dudeck, A.; Köberle, M.; Goldmann, O.; Meyer, N.; Dudeck, J.; Lemmens, S.; Rohde, M.; Roldán, N. G.; Dietze-Schwonberg, K.; Orinska, Z.; et al. Mast cells as protectors of health. *J Allergy Clin Immunol* **2019**, *144* (4S), S4-S18. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.10.054.
- (41) Dudeck, J.; Kotrba, J.; Immler, R.; Hoffmann, A.; Voss, M.; Alexaki, V. I.; Morton, L.; Jahn, S. R.; Katsoulis-Dimitriou, K.; Winzer, S.; et al. Directional mast cell degranulation of tumor necrosis factor into blood vessels primes neutrophil extravasation. *Immunity* **2021**, *54* (3), 468-483.e465. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.12.017.
- (42) Gimenez-Rivera, V. A.; Siebenhaar, F.; Zimmermann, C.; Siiskonen, H.; Metz, M.; Maurer, M. Mast Cells Limit the Exacerbation of Chronic Allergic Contact Dermatitis in Response to Repeated Allergen Exposure. *J Immunol* **2016**, *197* (11), 4240-4246. DOI: 10.4049/jimmunol.1600236.
- (43) Kim, H. S.; Lee, M. B.; Lee, D.; Min, K. Y.; Koo, J.; Kim, H. W.; Park, Y. H.; Kim, S. J.; Iikutani, M.; Takaki, S.; et al. The regulatory B cell-

- mediated peripheral tolerance maintained by mast cell IL-5 suppresses oxazolone-induced contact hypersensitivity. *Sci Adv* **2019**, 5 (7), eaav8152. DOI: 10.1126/sciadv.aav8152.
- (44) Oishi, N.; Iwata, H.; Kambe, N.; Kobayashi, N.; Fujimoto, K.; Sato, H.; Hisaka, A.; Ueno, K.; Yamaura, K. Expression of precipitating factors of pruritus found in humans in an imiquimod-induced psoriasis mouse model. *Heliyon* **2019**, 5 (6), e01981. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01981.
- (45) Gupta, K.; Harvima, I. T. Mast cell-neural interactions contribute to pain and itch. *Immunol Rev* **2018**, 282 (1), 168-187. DOI: 10.1111/imr.12622.
- (46) Cannavò, S. P.; Bertino, L.; Di Salvo, E.; Papaiani, V.; Ventura-Spagnolo, E.; Gangemi, S. Possible Roles of IL-33 in the Innate-Adaptive Immune Crosstalk of Psoriasis Pathogenesis. *Mediators Inflamm* **2019**, 2019, 7158014. DOI: 10.1155/2019/7158014.
- (47) Kim, J. H.; Hu, Y.; Yongqing, T.; Kim, J.; Hughes, V. A.; Le Nours, J.; Marquez, E. A.; Purcell, A. W.; Wan, Q.; Sugita, M.; et al. CD1a on Langerhans cells controls inflammatory skin disease. *Nat Immunol* **2016**, 17 (10), 1159-1166. DOI: 10.1038/ni.3523.
- (48) <https://www.eucerin.it/tutto-sulla-pelle/conoscenza-di-base-sulla-pelle/struttura-e-funzione-della-pelle>
- (49) Virga C.; Girolomoni G.; (2016). Rivista Società Italiana di Medicina Generale, n°5, pagine 37-41. Dermatologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona.  
[https://www.simg.it/Riviste/rivista\\_simg/2016/05\\_2016/8.pdf](https://www.simg.it/Riviste/rivista_simg/2016/05_2016/8.pdf)

