

## Dermatite da contatto

La dermatite allergica da contatto è una comune patologia della pelle causata dalla risposta di ipersensibilità ritardata diretta contro antigeni che entrano in contatto con la pelle.



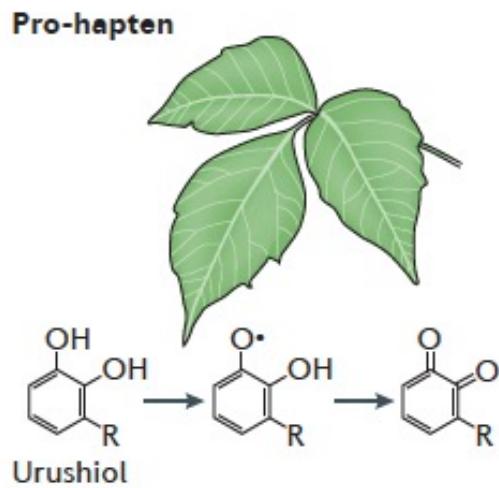
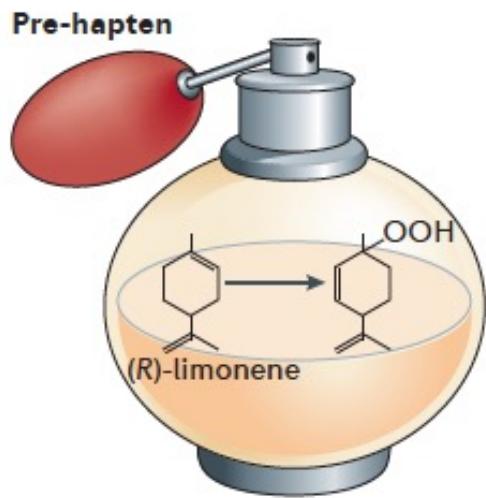
Dermatitis on arm

La dermatite allergica da contatto è caratterizzata da una reazione infiammatoria (dermatite) con un intenso eritema, edema e vesciche.

Fra le malattie professionali è la patologia della pelle più frequente (20%) ed è responsabile della perdita di 4 milioni di giorni di lavoro ed ha un costo di 400 milioni di dollari all'anno.

La dermatite da contatto insorge in individui sensibilizzati in seguito al contatto con alcuni composti chimici.

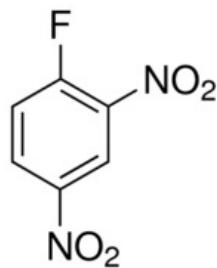
La maggior parte dei composti che causano dermatite da contatto con una rilevanza clinica sono piccole molecole con un PM<500 Dalton chimicamente reattive. Queste molecole reagiscono con proteine autologhe per generare neo-antigeni (haptenization).



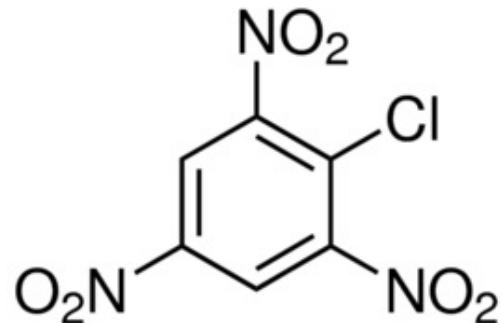
Gli allergeni da contatto sono comunemente presenti nei cosmetici, nella gioielleria, nei prodotti per l'igiene personale, ma anche nelle piante e nell'ambiente. Possono essere composti inorganici come il Nickel o organici come alcuni coloranti o fragranze.

# Caratteristiche degli apteni

sensibilizzanti utilizzati nel  
modello animale



DNFB



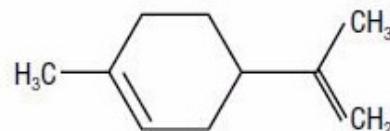
TNCB

sensibilizzanti nell'uomo

Nickel

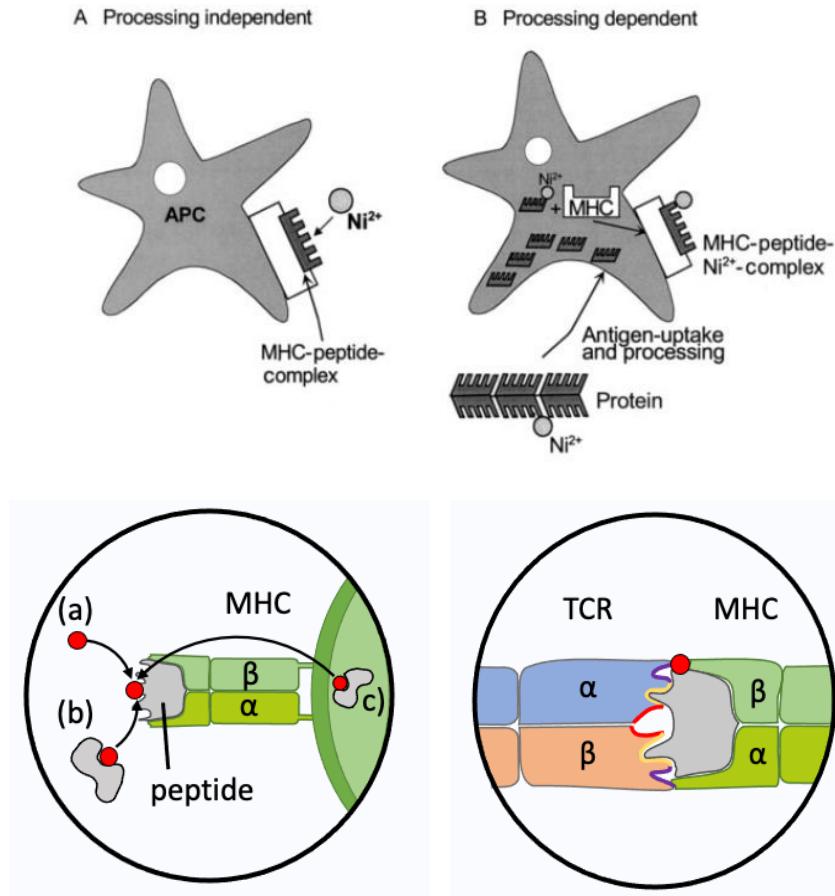
Cromo

limonene

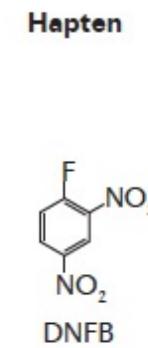
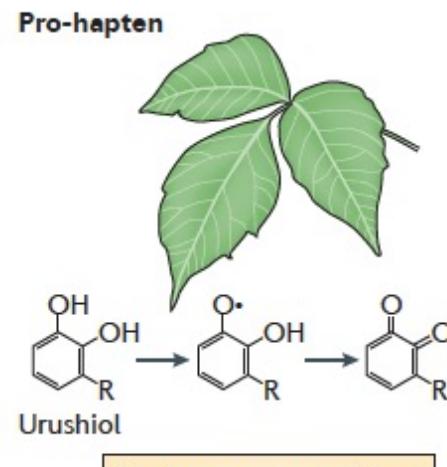
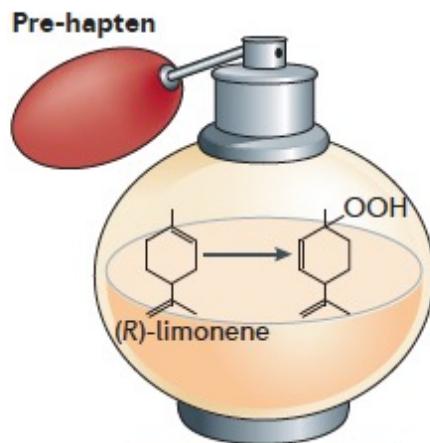


Gli apteni sono piccoli composti in grado di penetrare nella pelle e di reagire con proteine self sia attraverso modificazioni covalenti che non.

# Generazione di neo antigeni



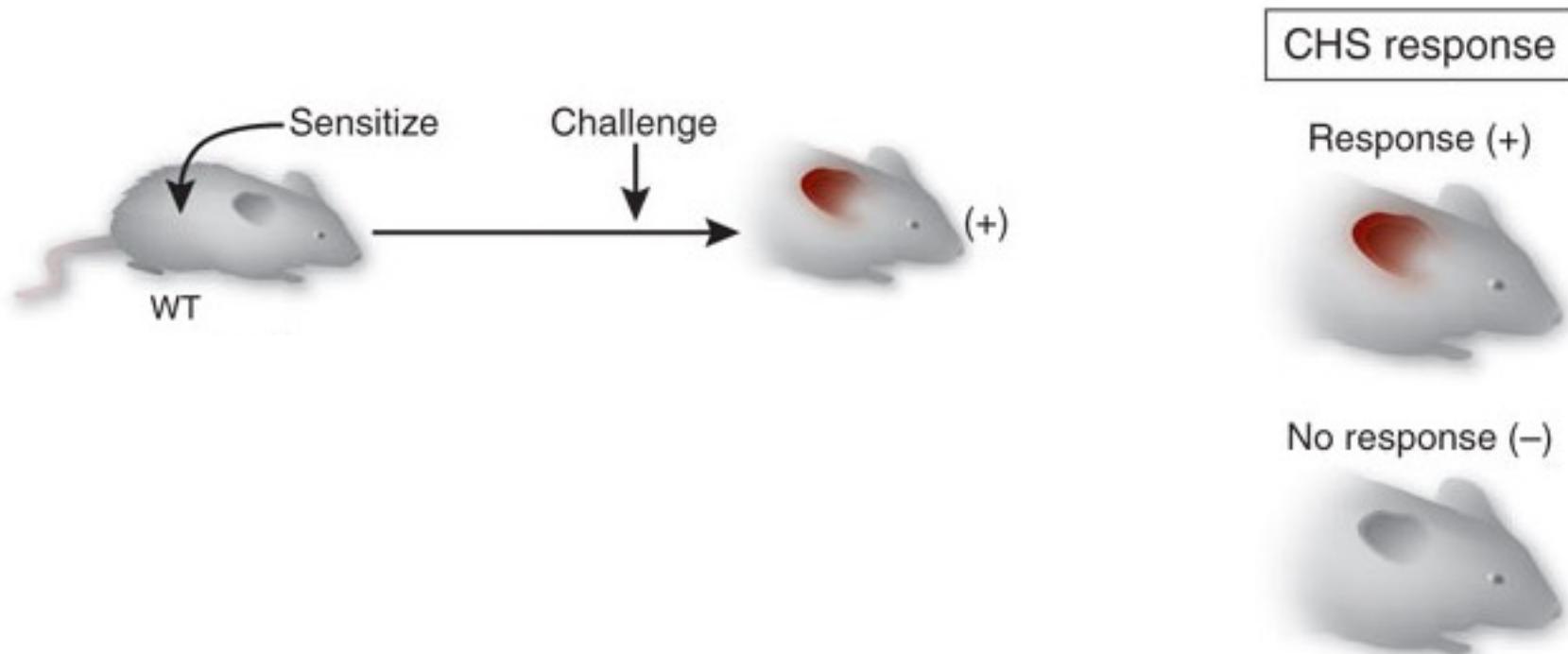
La maggior parte dei sensibilizzanti da contatto sono piccole molecole che da sole non sono immunogeniche. Nel processo di aptenizzazione i sensibilizzanti reagiscono con proteine cellulari dando origine a antigeni in grado di attivare linfociti T. Le molecole cellulari che formano legami con gli apteni possono essere le molecole MHC o proteine cellulari che devono essere processate.



Gli apteni sono composti in grado di formare legami con proteine dell'ospite. I pro-apteni non sono chimicamente reattivi ma devono essere convertiti da enzimi dell'ospite per diventare chimicamente reattivi (citocromo P450, alcol deidrogenasi). I pre-apteni sono trasformati in apteni attraverso una semplice trasformazione chimica (es: ossidazione dell'aria).

# Contact hypersensitivity

L'ipersensibilità da contatto è un sistema sperimentale utilizzato per studiare la dermatite allergica da contatto umana. Questo modello utilizza i topi e consiste nell'applicazione sull'addome di apteni che sono composti lipofilici (es: dinitrofluorobenzene) in solventi organici. Dopo 5-7 giorni lo stesso composto viene applicato sull'orecchio o sulla zampa dell'animale. Il rigonfiamento che si osserva è indice della risposta effettiva generata.

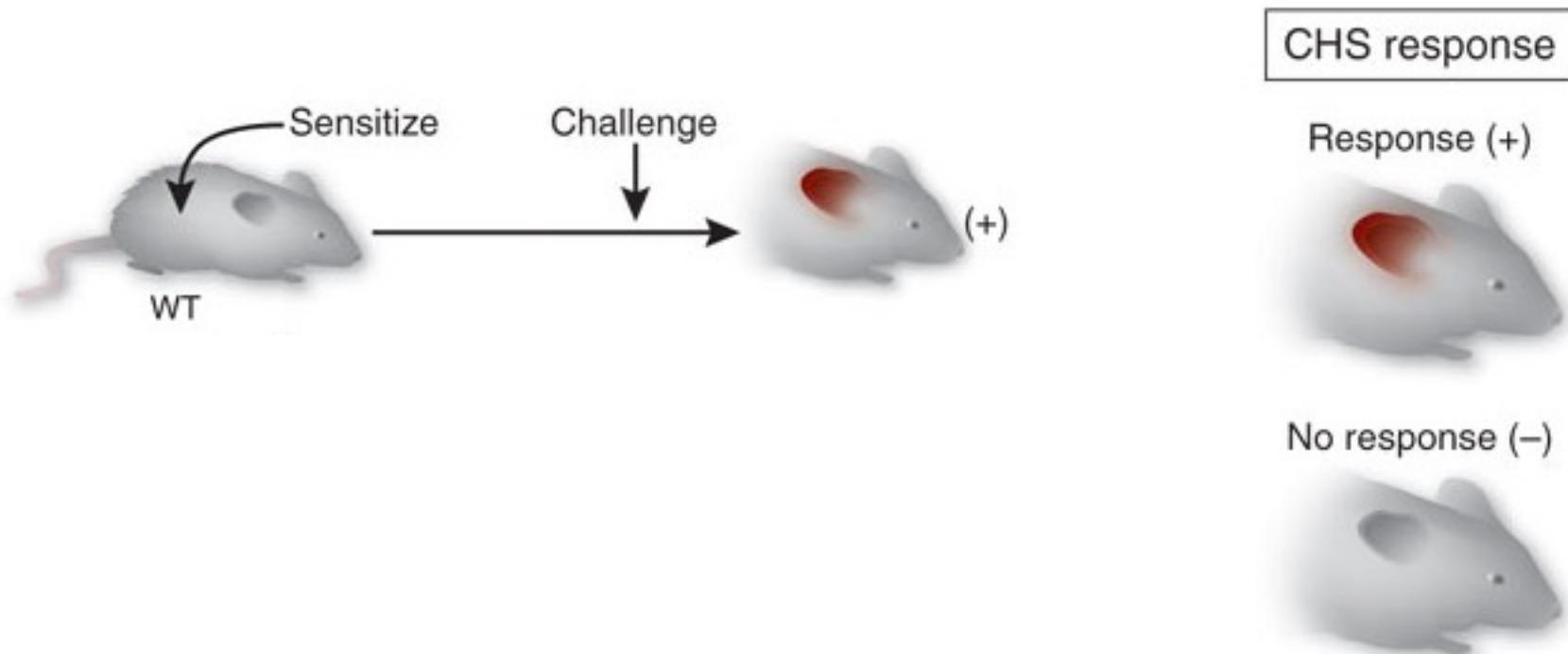


Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Dinitrofluorobenzene (DNFB), trinitrochlorobenzene (TNCB)	Contact hypersensitivity in mice	Induce hyaluronic acid degradation products that activate TLR2 and TLR4, and induce ATP release that leads to inflammasome activation <sup>20,29</sup>	Commonly used experimental haptens

# Contact hypersensitivity

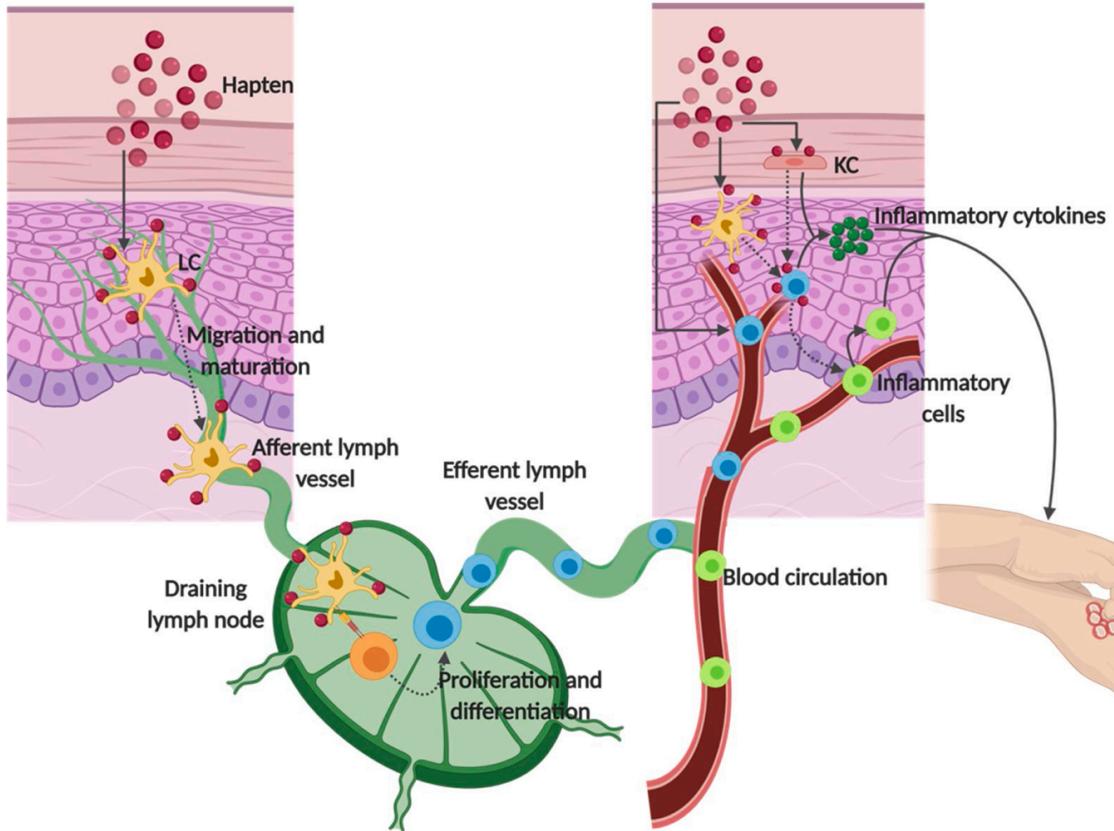
Nell'uomo la dermatite allergica da contatto si sviluppa dopo ripetute esposizioni al composto sensibilizzante. Nel modello animale sono applicati composti lipofilici per 1-2 giorni e a distanza di 5 giorni viene ri-applicato il composto.

L'ipersensibilità da contatto è considerato un esempio di risposta di ipersensibilità di tipo IV e rappresenta un modello di studio appropriato di dermatite allergica da contatto.



Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Dinitrofluorobenzene (DNFB), trinitrochlorobenzene (TNCB)	Contact hypersensitivity in mice	Induce hyaluronic acid degradation products that activate TLR2 and TLR4, and induce ATP release that leads to inflammasome activation <sup>20,29</sup>	Commonly used experimental haptens

## Fasi che caratterizzano lo sviluppo della dermatite allergica da contatto: i) fase di sensibilizzazione e ii) fase effettrice



### Fase di sensibilizzazione (induzione, fase afferente):

In questa fase avviene il riconoscimento del complesso aptene-proteina autologa da parte del sistema immune dell'individuo e questa fase determina la generazione di linfociti T CD4+ e T CD8+ specifici per il complesso aptene-proteina nei linfonodi.

### Fase effettrice (fase efferente)

In questa fase i linfociti T specifici per il complesso aptene-proteina autologa migrano nella pelle inducendo la morte dei cheratinociti e promuovendo il processo infiammatorio.

## Fase di sensibilizzazione

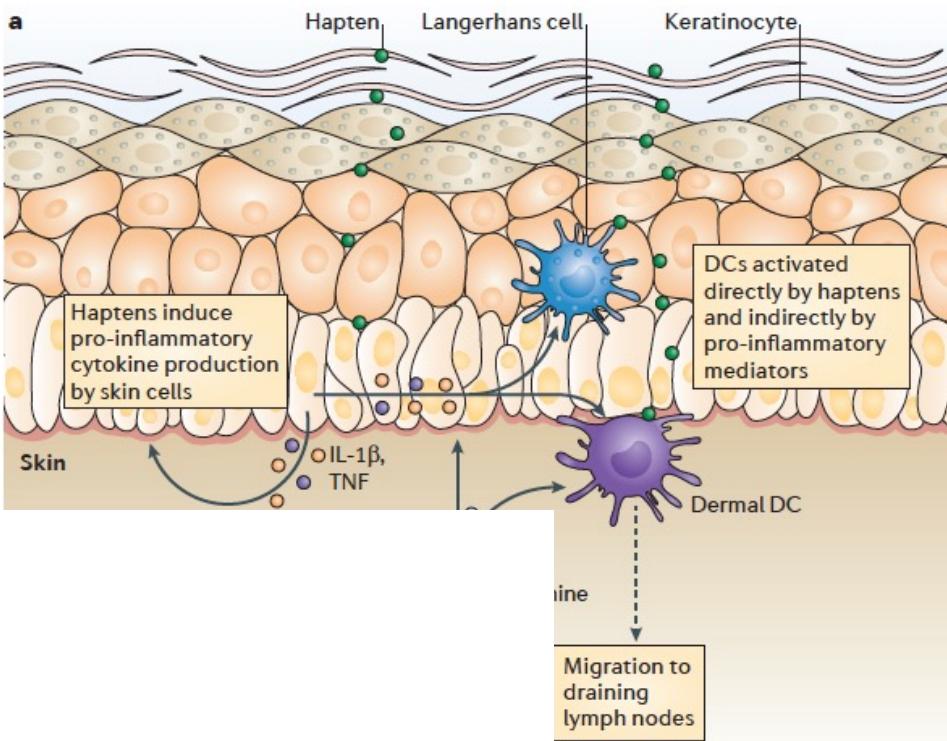
Questa fase ha luogo al primo contatto dell'aptene con la pelle.

La capacità dell'aptene di indurre sensibilizzazione dipende da due caratteristiche:

i) capacità di attivare direttamente le cellule dendritiche o di attivare le cellule della pelle inducendole a secernere citochine pro-infiammatorie in grado di attivare le cellule dendritiche.

ii) capacità di generare nuovi antigeni interagendo con molecole autologhe.

gli apteni devono attraversare lo strato corneo della pelle per poter reagire con le cellule dell'immunità innata e con le proteine

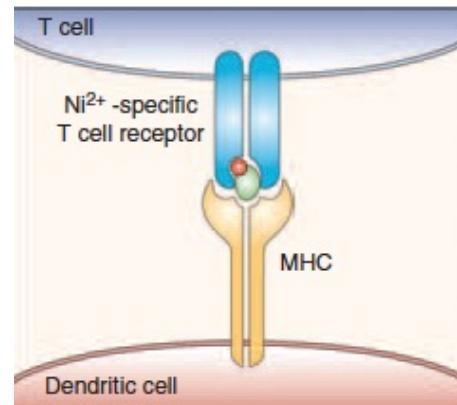
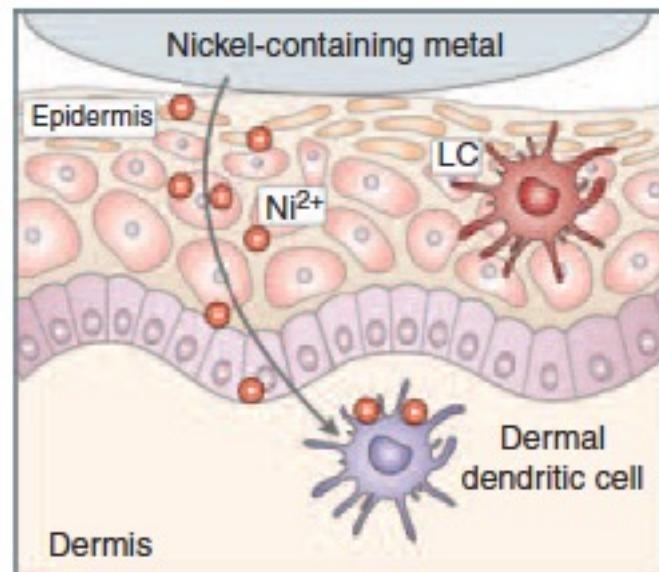


### Box 2 | Essential steps for the induction of allergic contact dermatitis

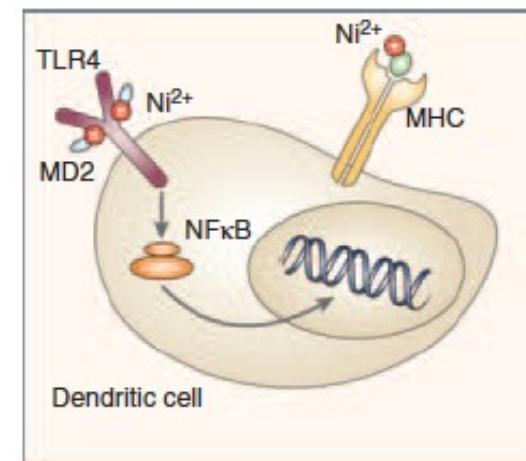
- Percutaneous penetration of the hapten
- Haptenization of self proteins
- Epidermal and dermal inflammation
- Dendritic cell activation and migration from the skin to local lymph nodes

## Fase di sensibilizzazione

Nella fase di sensibilizzazione l'aptene penetra nella pelle.

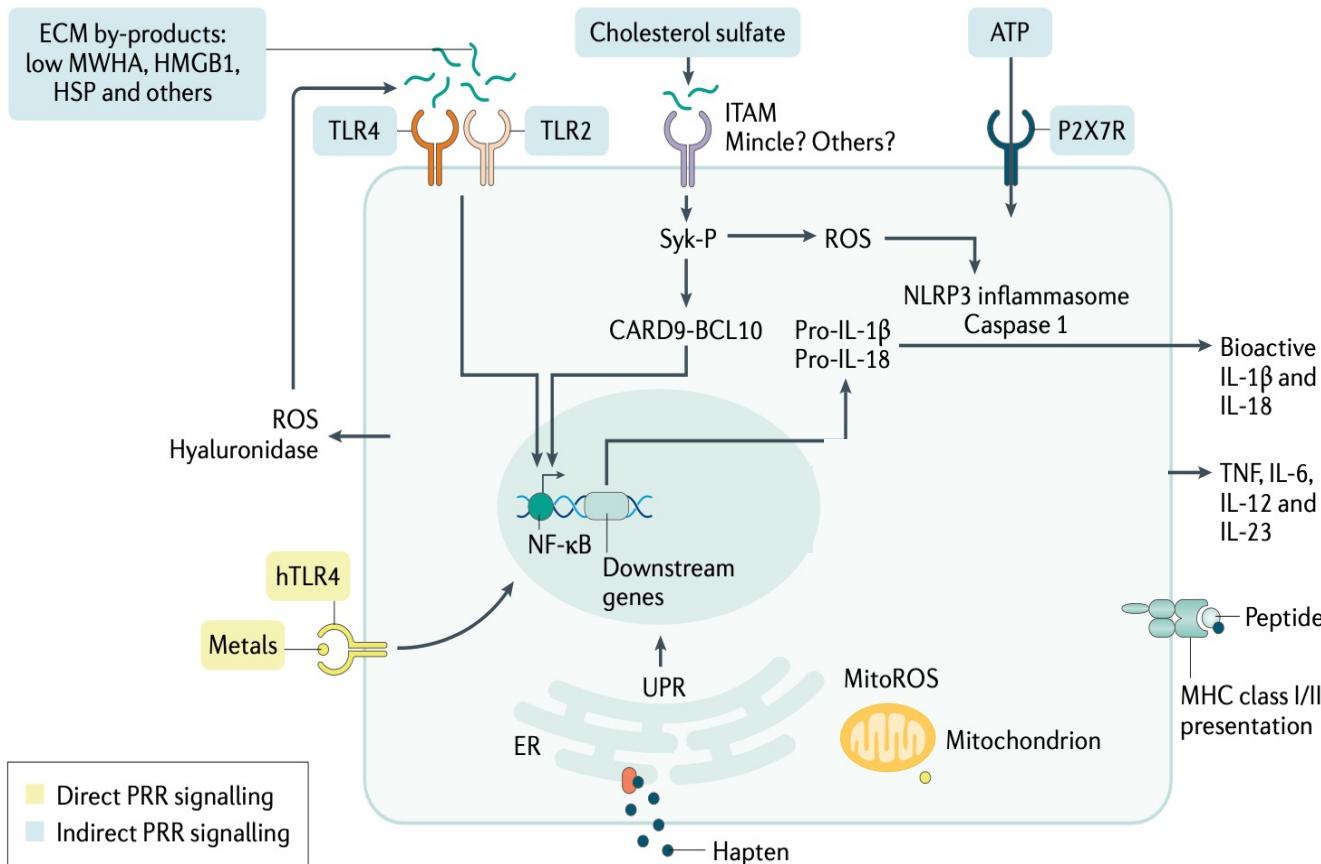


L'aptene reagisce con le molecole MHC o con altre proteine dell'individuo modificando il "self" in "non self"



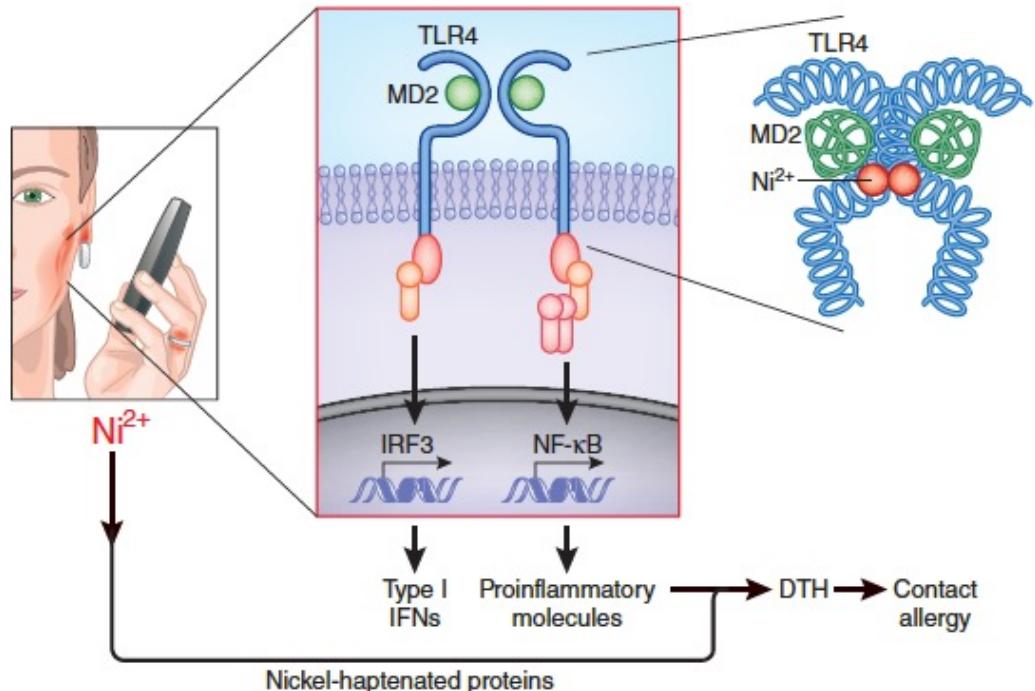
L'aptene attiva le cellule dendritiche condizione necessaria affinche possano essere attivati i linfociti T specifici per i complessi proteina-aptene.

# Riconoscimento degli apteni da parte delle cellule dell'immunità innata



Attraverso la creazione di un ambiente pro-infiammatorio gli apteni favoriscono la piena attivazione delle cellule dendritiche della pelle necessaria per l'attivazione dei linfociti T specifici per il complesso sensibilizzante-proteina autologa.

# Attivazione delle cellule presentanti l'antigene da parte del Nickel



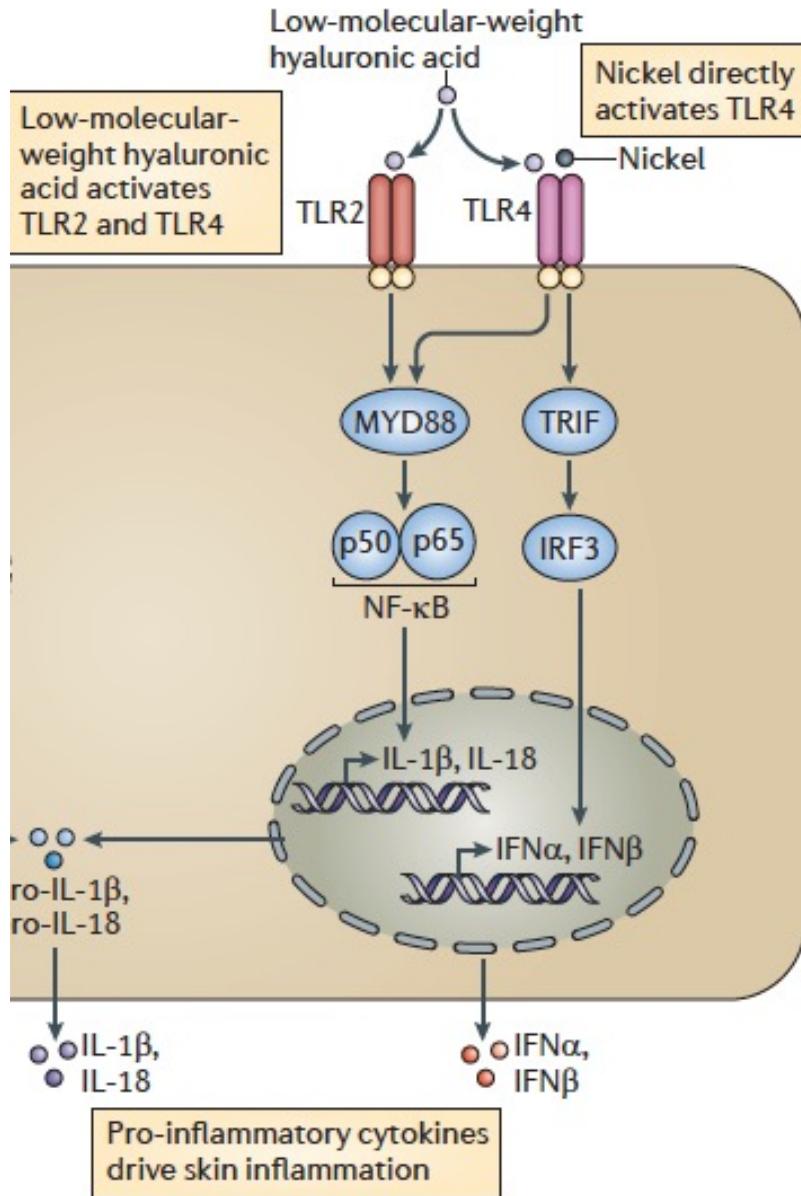
**Figure 1** Contact allergy, shown as erythema in this figure, is commonly induced by nickel ions present in nickel-containing jewelry such as rings and earrings, as well as in nickel-containing cellular telephones. Nickel ion ( $\text{Ni}^{2+}$ ) is shown to bind directly to TLR4, particularly at histidine residues located in the region of interaction where TLR4-MD2 molecules form homodimers with one another. This binding is sufficient for activation of TLR4 (in the absence of LPS) and the subsequent transcription of IRF3 and NF- $\kappa$ B. The later production of type I interferons (IFN) and proinflammatory molecules provides a necessary and cooperative signal that synergizes with delayed-type hypersensitivity (DTH) responses triggered by nickel-haptenated proteins, leading to contact allergy.

Il Nickel è un potente attivatore delle cellule dendritiche. Nella fase di sensibilizzazione

l'interazione Nickel-TLR4 serve ad attivare e mobilizzare le DC che nei linfonodi presenteranno l' $\text{Ni}^{2+}$  ai linfociti T.

I Toll like receptor sono una famiglia di recettori espressi dalle cellule dell'immunità innata (epiteliali, DC, monociti, macrofagi, neutrofili) che riconoscono i pathogen associated molecular patterns (PAMPs). La stimolazione dei TLR induce la secrezione di citochine pro-infiammatorie.

# Gli apteni attivano i Toll like receptors



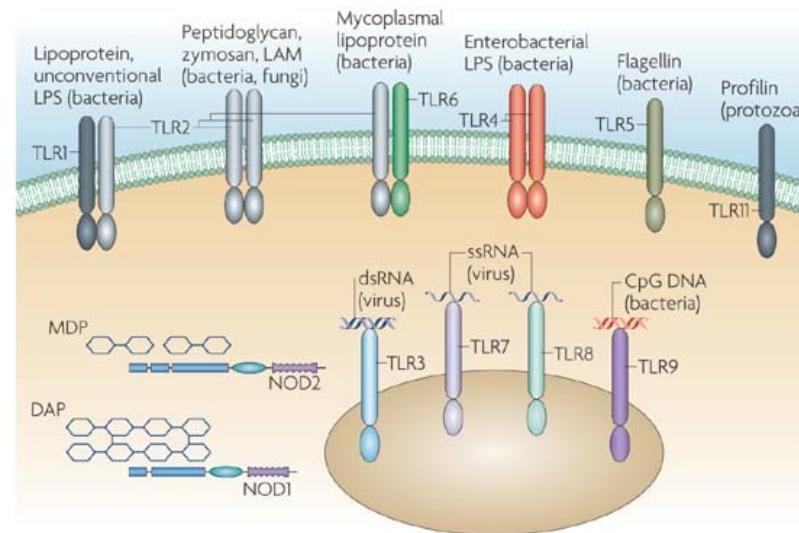
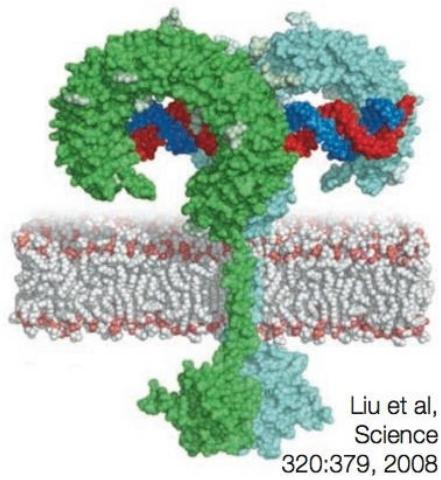
Non tutti i composti che causano dermatite da contatto attivano direttamente i TLR. Nel modello murino è stato dimostrato che in assenza di TLR2 e TLR4 gli animali non sono sensibilizzati e non sviluppano la reazione al TNCB. I forti sensibilizzanti se si accumulano nella cellula stimolano il rilascio di ROS e l'aumento di ialuronidasi che degradano l'acido ialuronico ad alto peso molecolare che sono riconosciuti da il TLR2 e il TLR4.

L'attivazione dei TLR determina l'attivazione di NF- $\kappa$ B con conseguente espressione delle citochine pro-infiammatorie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6.

## Struttura e localizzazione dei TLR

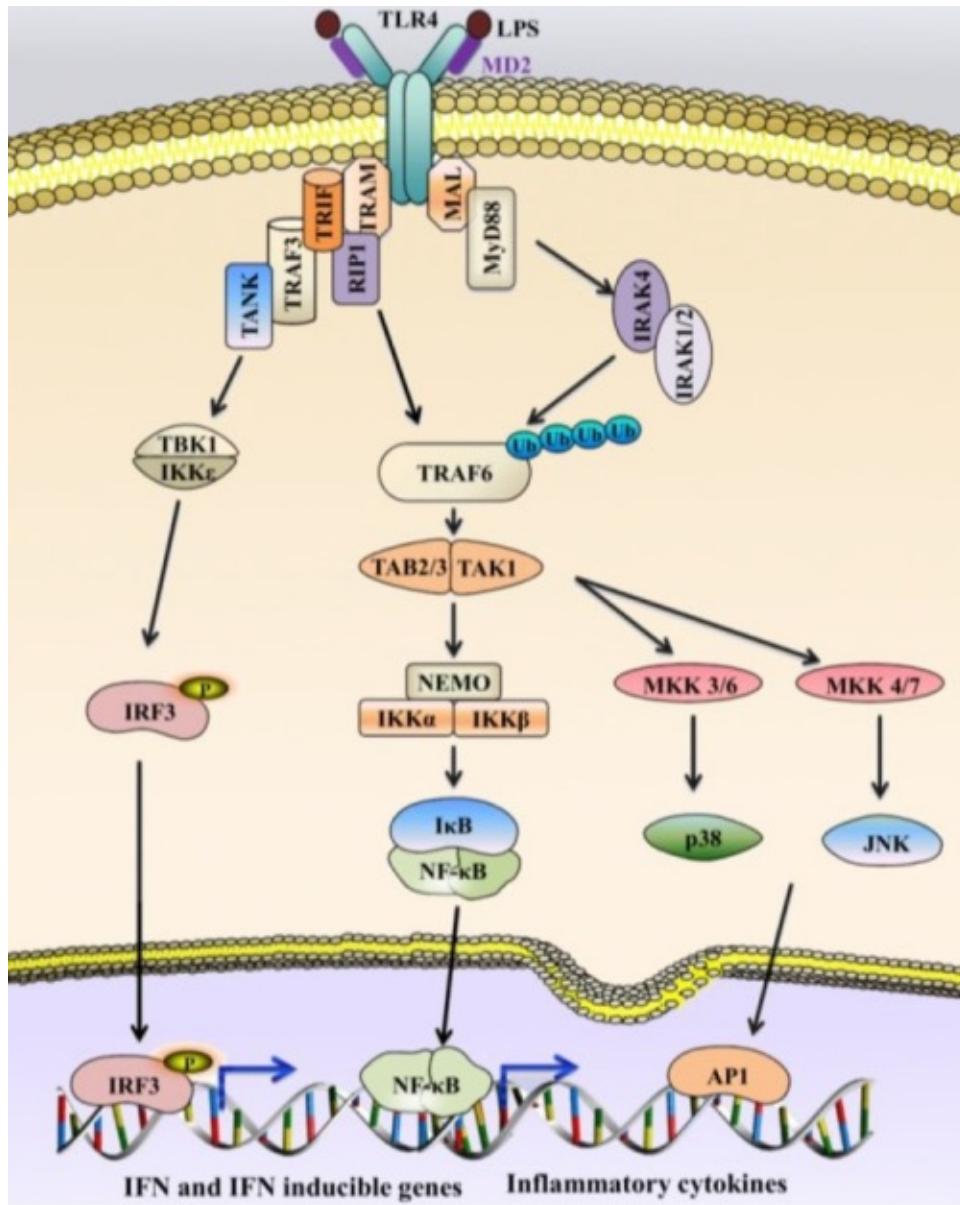
I toll like receptors sono glicoproteine integrali di membrana contenenti nella regione extracellulare ripetizioni di sequenze ricche in leucina definite Leucin Rich Domain (LRD).

La regione intracitoplasmatica contiene un dominio responsabile dell'attivazione cellulare definito TIR (Toll/IL-1 receptor homology domain).

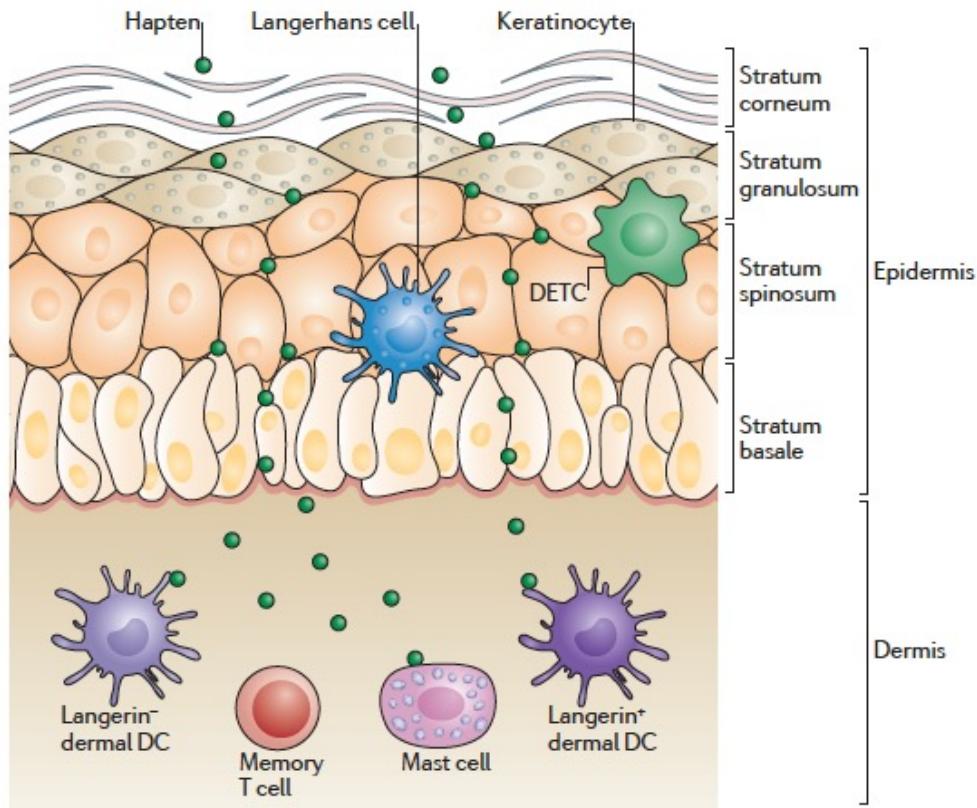


In base alla localizzazione i TLRs possono essere distinti in TLRs di membrana e TLRs presenti nelle vescicole intracitoplasmatiche quali RE, endosomi e lisosomi.

Il TLR4 è stato il primo TLR descritto e si lega al LPS una componente della membrana esterna dei batteri Gram-negativi. **TLR1-10** nell'uomo



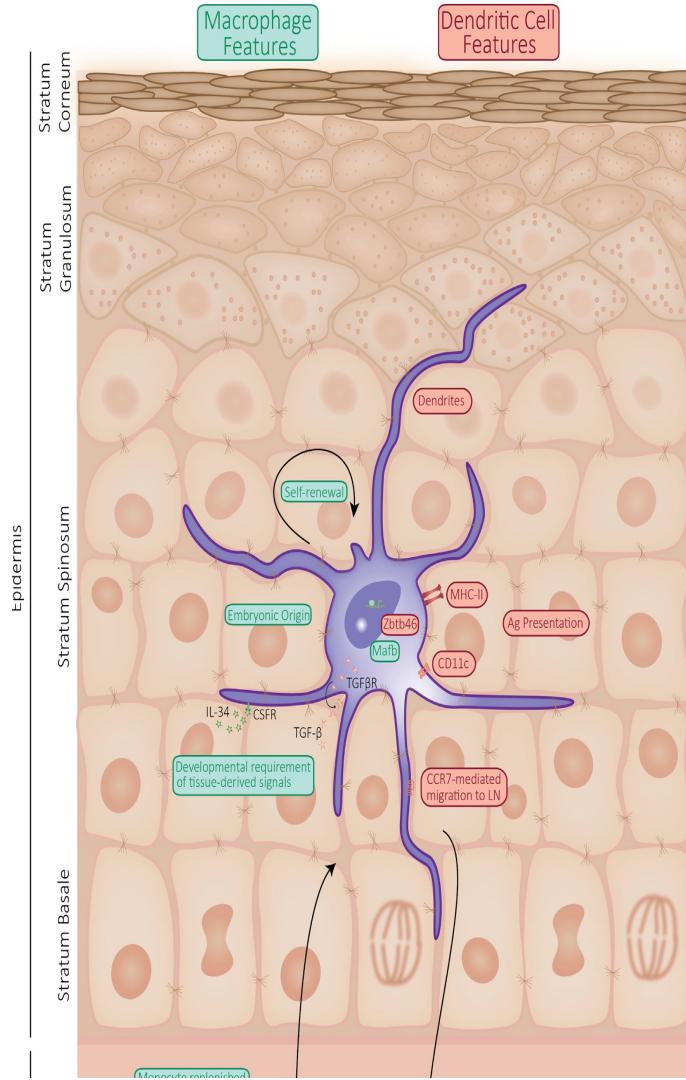
## Sottopopolazioni di cellule dendritiche nella dermatite da contatto



L'evento fondamentale nell'inizio della dermatite da contatto è il priming dei linfociti T CD4+ e CD8+ specifici per l'aptene che in seguito ad attivazione proliferano e si differenziano in cellule effettivi.

Nell'epidermide sono presenti le cellule dei Langerhans mentre nel derma sono presenti le cellule dendritiche del derma che possono essere distinte in base all'espressione della molecola Langerin.

## Caratteristiche delle cellule di Langerhans



Le cellule di Langherans (LC) presentano caratteristiche comuni ai macrofagi e alle cellule dendritiche.

Similmente ai macrofagi le LC originano da un precursore comune ai macrofagi e di origine embrionaria e si autorinnovano al livello dell'epidermide.

Le LC, in comune con le cellule dendritiche, sono in grado di captare e processare gli antigeni e di migrare nei linfonodi dove attivano i linfociti T naive.

# L'assenza delle cellule del Langerans aumenta la reazione di ipersensibilità da contatto

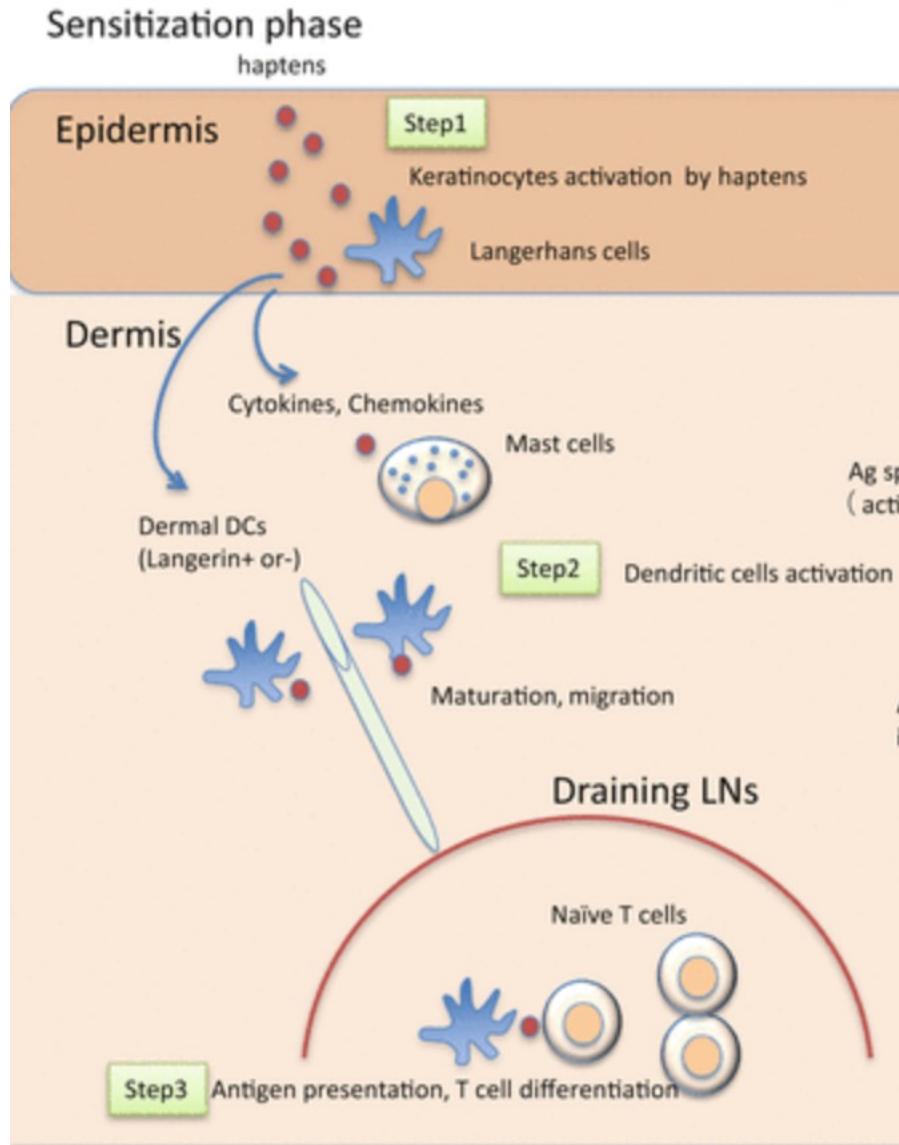
Table 2 | Effects of genetic ablation of DC subsets on the development of contact hypersensitivity

Mouse strain	Effects on dermal DC subsets				Effect on intensity of contact hypersensitivity response	Refs
	Epidermal Langerhans cells	Langerin <sup>+</sup> CD103 <sup>+</sup> dermal DCs	Langerin <sup>-</sup> dermal DCs	CD8 <sup>+</sup> DCs		
<b>Constitutive systems</b>						
HuLangerin-DTA	Absent	Normal	Normal	Normal	Increased	77
HuLangerin-Cre x II10 <sup>fl/fl</sup> or huLangerin-Cre x MHC-II <sup>fl/fl</sup>	Functionally defective	Normal	Normal	Normal	Increased	79

Utilizzando topi che costitutivamente mancano di cellule del Langerans (espressione della tossina difterica sotto il controllo del promotore della langerin umana) è stato dimostrato un aumento della reazione di ipersensibilità da contatto.

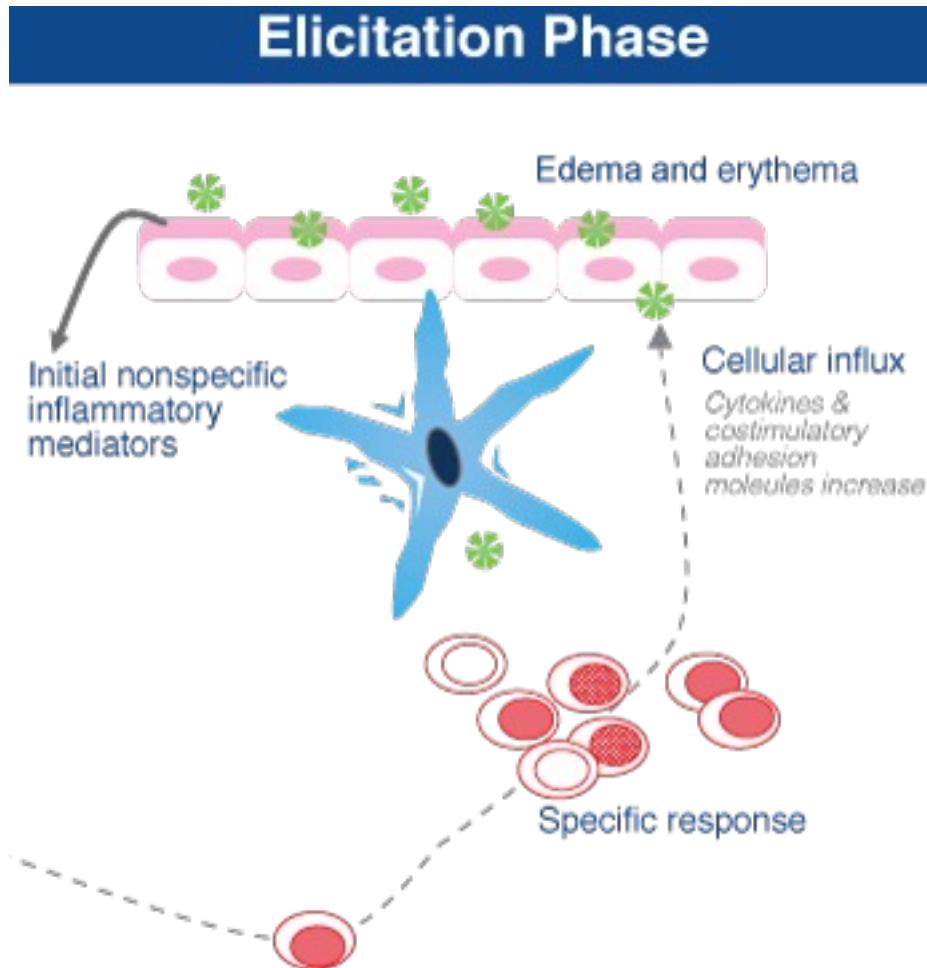
Un aumento di tale reazione si osserva anche nei topi che mancano dell'espressione delle molecole MHC di classe II o dell'IL-10 solo nelle cellule di Langerhans suggerendo che tali cellule sopprimono le reazioni di ipersensibilità attraverso un meccanismo mediato dall'IL-10. Diversamente le DC del derma svolgono una funzione stimolatoria della reazione di ipersensibilità da contatto.

## Fase di sensibilizzazione



Nella fase di sensibilizzazione le cellule dendritiche attivate nella pelle migrano nei linfonodi dove attivano i linfociti TCD8+ e CD4+ citotossici e helper.

# Fase effettrice

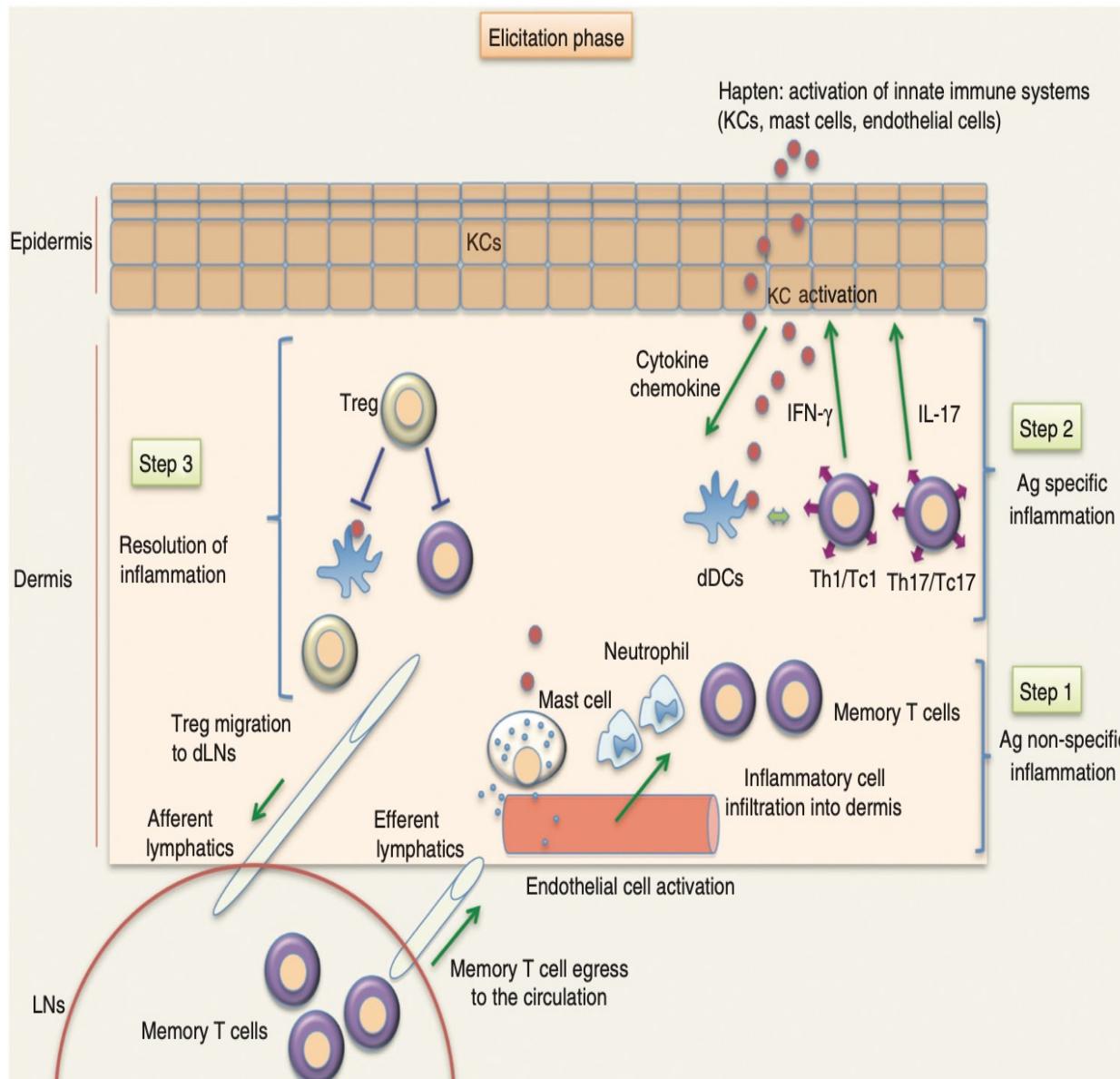


Il danno tissutale nella dermatite allergica da contatto o ipersensibilità da contatto è tipicamente mediato dai linfociti T CD8+.

Nel modello murino è stato dimostrato che:

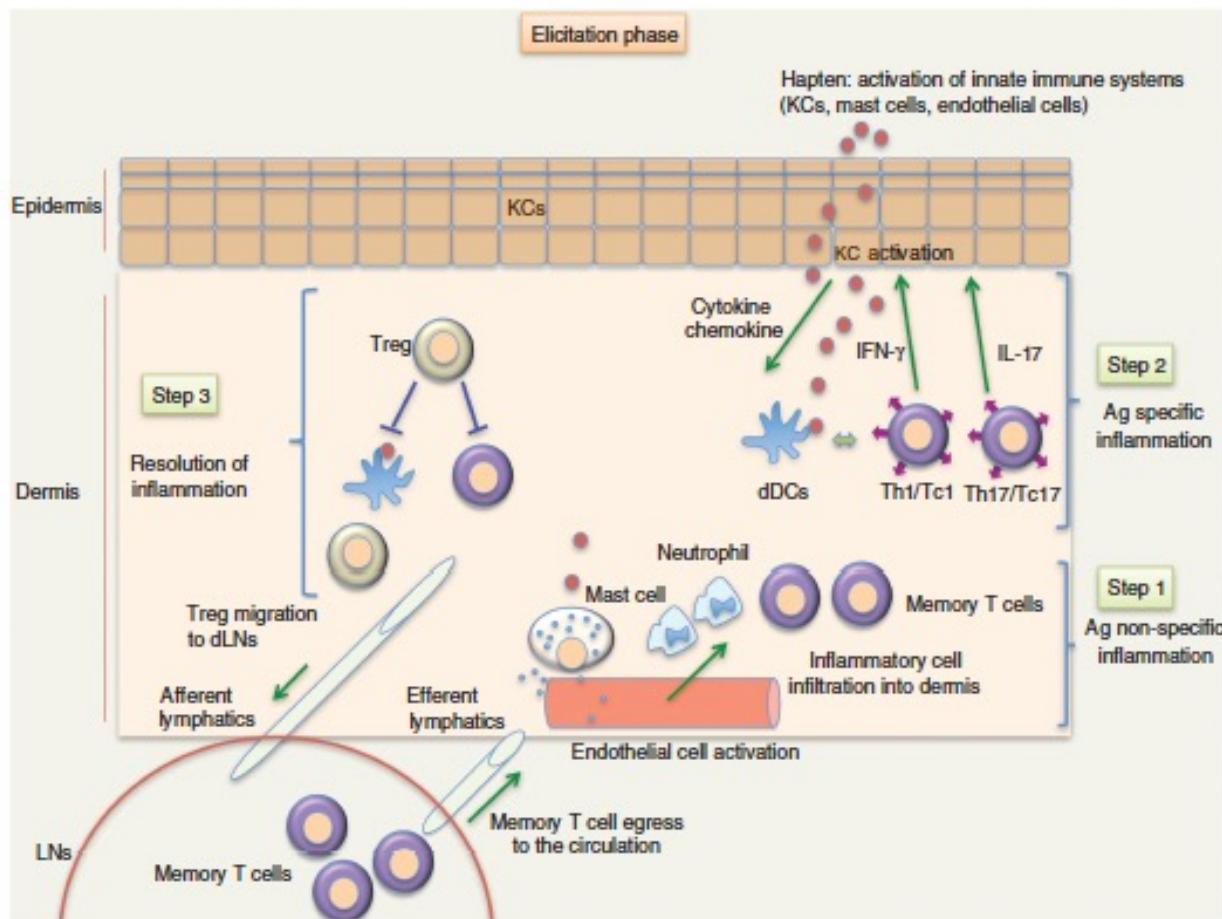
- i) i topi KO per le molecole MHC di classe I non sviluppano ipersensibilità da contatto
- ii) i topi deficienti nelle molecole MHC di classe II sviluppano ipersensibilità da contatto in modo più pronunciato.

# L'infiammazione nella fase effettrice



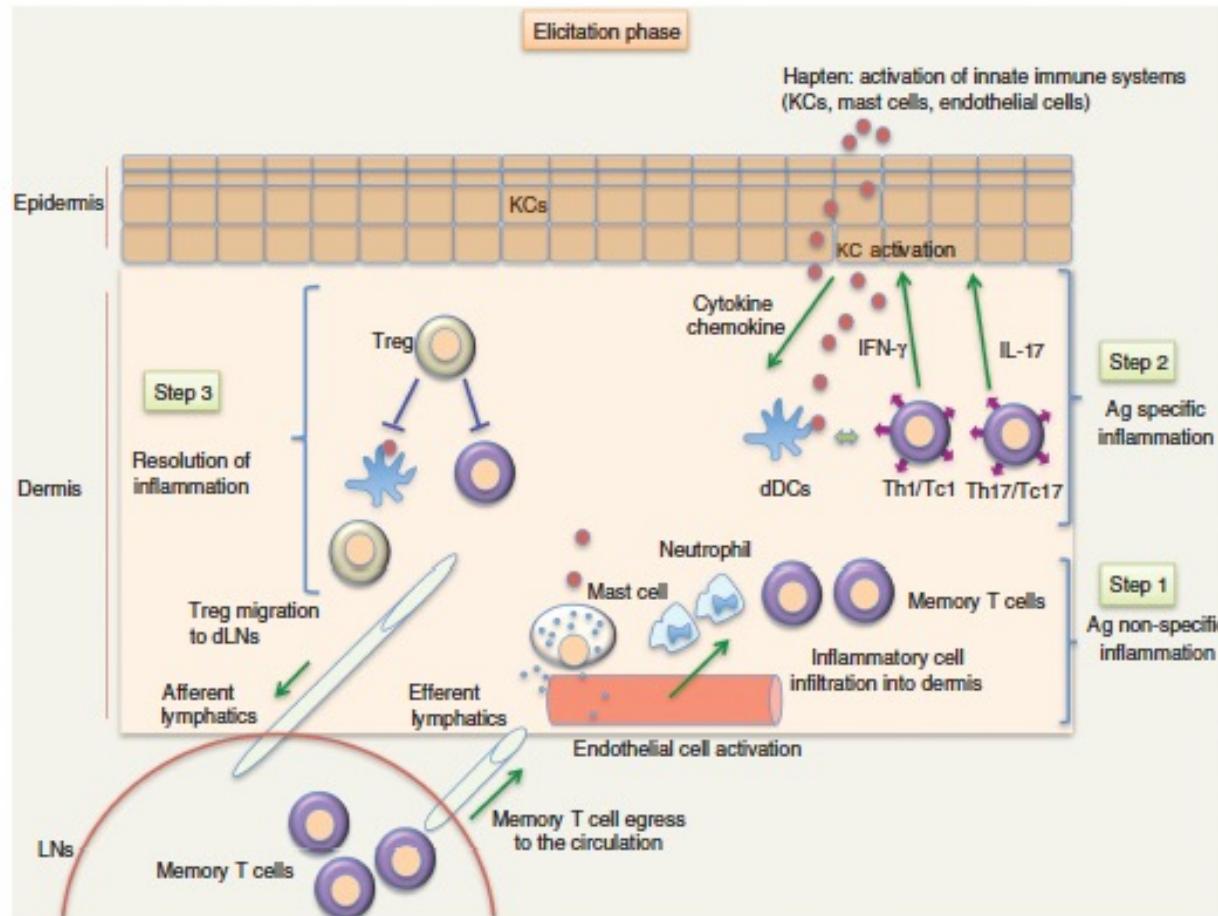
Il processo infiammatorio all'inizio della fase effettrice è mediato dall'azione dell'aptene sulle cellule dell'immunità innata in particolare sui cheratinociti, i neutrofili e i mastociti. Tali cellule rilasciano citochine quali il TNF- $\alpha$  e l'IL-1 $\beta$  che agiscono sulle cellule endoteliali inducendo l'espressione di molecole d'adesione come ICAM e le P/E selettine. Le modificazioni dell'endotelio guidano i linfociti T circolanti e specifici per i neo-antigeni a trasmigrare nel tessuto.

## Fase effettrice

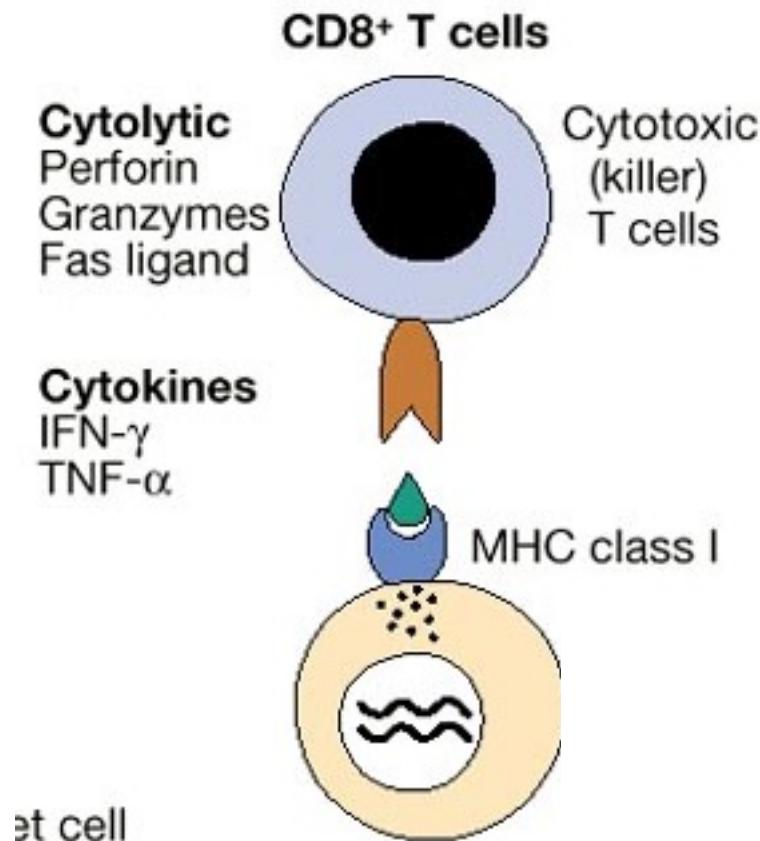


In seguito alla migrazione dei linfociti T nel tessuto, ha inizio l'infiammazione mediata dai linfociti T. In particolare i linfociti CD8+ citotossici che infiltrano il tessuto mediano la lisi dei cheratinociti e in seguito all'interazione con le cellule presentanti l'antigene secernono IFN- $\gamma$  stimolando i cheratinociti a produrre chemochine che richiamano altri linfociti T. Le popolazioni di T CD4+ attivate dipendono dal sensibilizzate; il Nickel attiva Th1 e Th7, le fragranze attivano popolazioni miste T CD4+ Th1-Th17-Th2.

## Fase effettrice



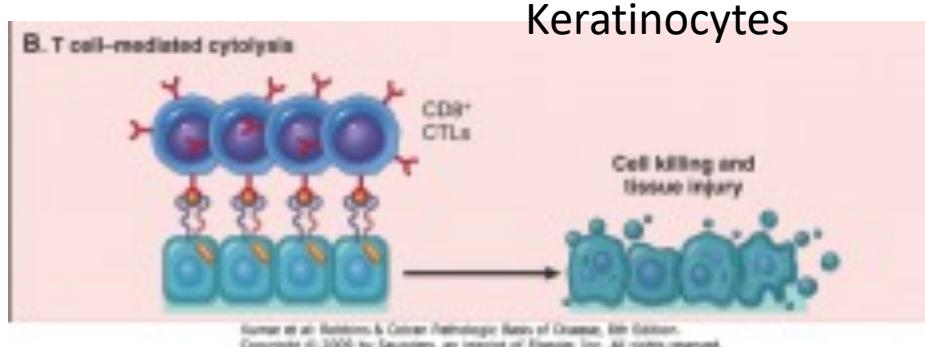
Anche i linfociti T regolatori infiltrano i siti infiammati. I Treg sopprimono la risposta infiammatoria nel modello murino attraverso la produzione di IL-10 e attraverso la generazione di adenosina che sopprime l'attivazione dei leucociti.



I linfociti T CD8+ mediano il danno tissutale nella ipersensibilità da contatto mediante la distruzione dei cheratinociti attraverso l'interazione FAS-FASL.

Inoltre i linfociti T CD8+ contribuiscono insieme ai linfociti T CD4+ alla produzione di citochine quali TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ .

L'IFN- $\gamma$  è un attivatore dei cheratinociti nei quali induce l'espressione delle molecole HLA di classe II, molecole di adesione ed il rilascio di citochine pro-infiammatorie.



## Dermatite da contatto indotta dal Nickel

La dermatite da contatto è una malattia infiammatoria della pelle caratterizzata da lesioni eczematose. Il Nickel rappresenta il più comune allergene da contatto con più del 10% di individui positivi allo skin test. Il Nickel induce una dermatite da contatto causata da una reazione di ipersensibilità ritardata. Nelle reazioni di ipersensibilità da contatto causate da composti chimici applicati alla pelle, il danno tissutale è mediato dall'azione litica dei linfociti T CD8+ e dalla amplificazione del processo infiammatorio attraverso la produzione di IFN- $\gamma$  e TNF-a da parte dei linfociti T CD4+ e CD8+.

Allergen	Allergic response	Mechanism(s) of recognition	Comment
Nickel	Allergic contact dermatitis in humans	Engages two histidine residues in human TLR4; does not bind to mouse TLR4 (REF. 32)	Most common contact allergen; barrier disruption increases the rate of sensitization <sup>36</sup>

# Meccanismo di presentazione del Nickel

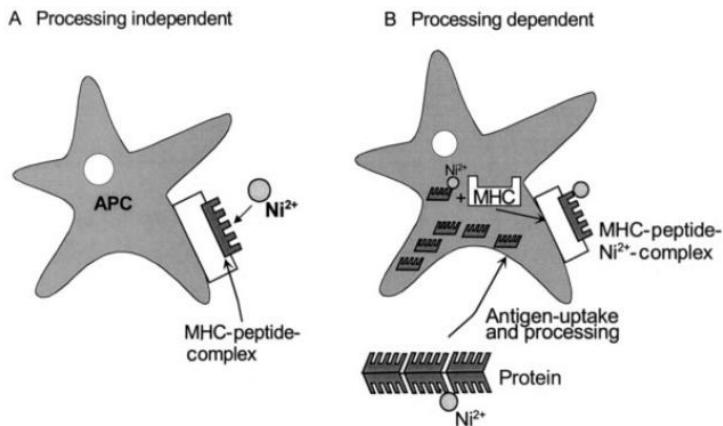
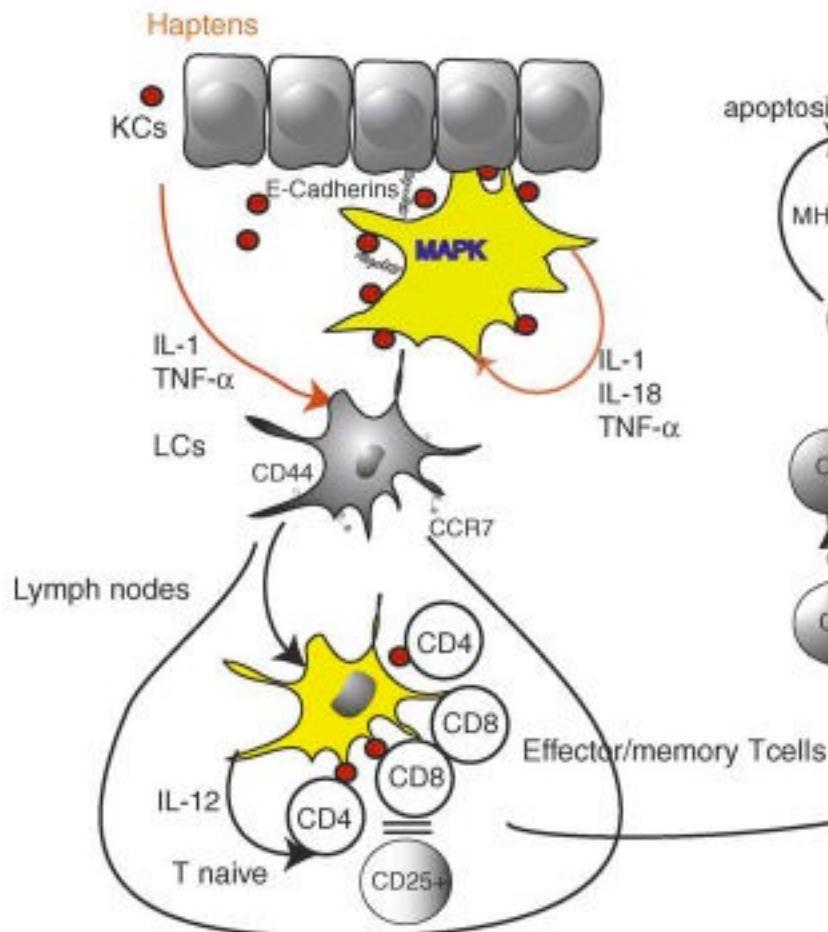


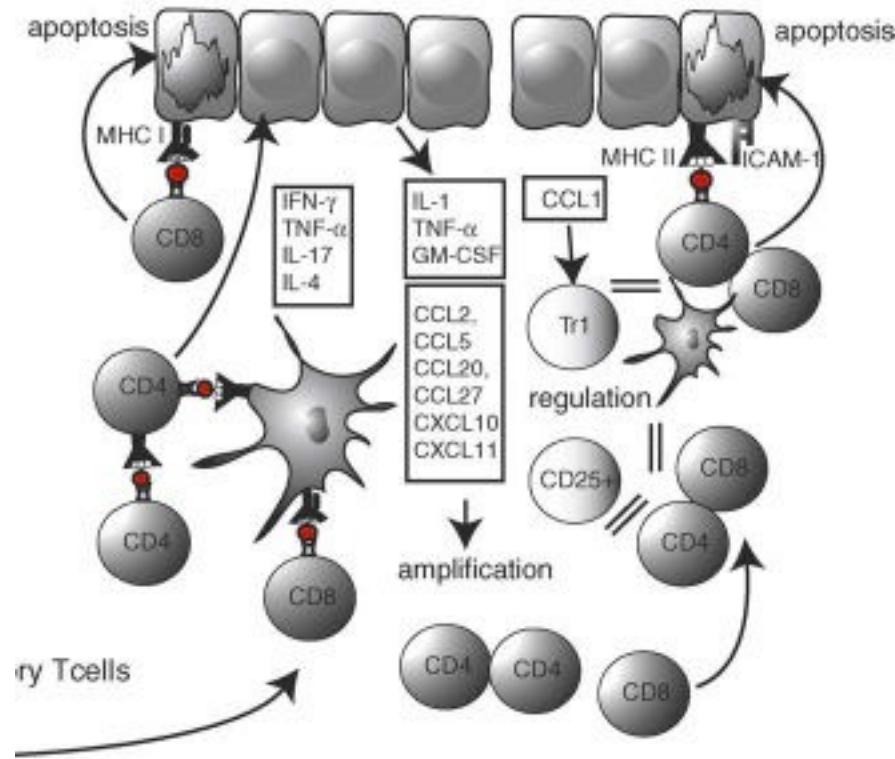
Figure 1. Mechanisms of metal ion (e.g.,  $\text{Ni}^{2+}$ ) presentation. Two pathways of metal ion presentation are outlined: A) To become a complete antigen, the metal ion binds directly to a MHC-bound peptide (processing-independent presentation). B) The metal ions form coordinative bonds to cysteine or histidine residues of soluble or membrane-bound proteins. The modified proteins are taken up by antigen-presenting cells (APC), and are processed and presented to T cells as metal-peptide complexes on MHC molecules.

Il nickel è un metallo ampiamente presente in natura che deve legarsi a proteine per diventare immunogenico. I meccanismi attraverso i quali l' $\text{Ni}^{2+}$  viene presentato includono il legame dell' $\text{Ni}^{2+}$  alla molecola MHC o il legame a proteine cellulari che sono processate e presentate in associazione alle molecole MHC.

## Fase di sensibilizzazione



Le cellule DC della cute sono attivate dal nickel e migrano nei linfonodi dove attivano le cellule Th1 e i linfociti T CD8+.



I linfociti T CD8+ e Th1 specifici per i complessi Nickel proteina autologa migrano nella zona dove è penetrato il Nickel e causano lisi dei cheratinociti che hanno legato il nickel.

I linfociti T CD4+ e CD8+ attraverso la produzione di citochine attivano i cheratinociti e altre cellule dell'immunità innata che a loro volta attraverso la produzione di citochine sostengono il processo infiammatorio.

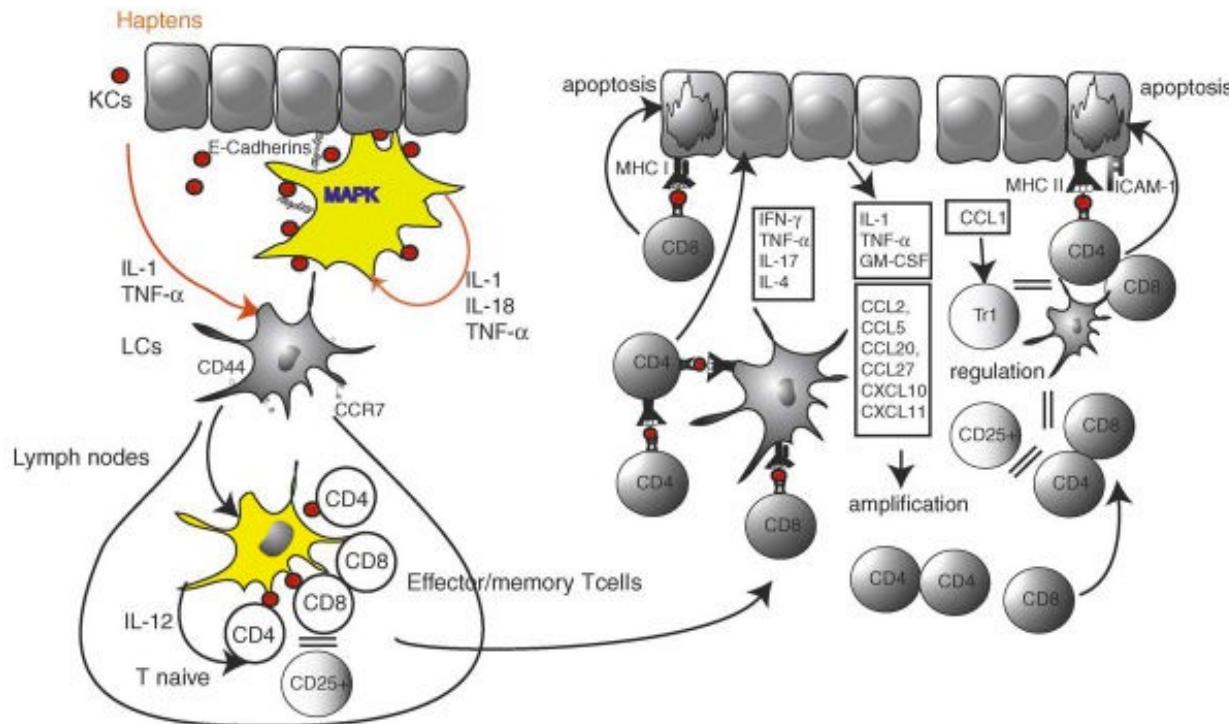


Fig. 1. Expression and regulation of allergic contact dermatitis to nickel. Nickel activates skin dendritic cells promoting their migration to regional lymph nodes, where T cell priming occurs. Memory/effector T cells, thanks to the expression of skin homing receptors, are rapidly recruited at the site of nickel challenge. Keratinocyte apoptosis is mostly due to the intervention of nickel-specific CD8<sup>+</sup> T cells. Type 1 cytokines released by activated CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells activate keratinocytes and other resident cells, which in turn release cytokines and chemokines for the amplification of the inflammatory reaction. CCL1, produced by keratinocytes, dendritic cells and activated T cells is critical for the recruitment of regulatory T cell subsets. Tr1, through the release of IL-10 blocks the activation of T cells by impairing the antigen presenting function of dendritic cells. CD25<sup>+</sup> T cells inhibit the activation of both effector and naïve T cells through a cell-to-cell contact mechanism.

Nel modello murino è stato dimostrato che nelle reazioni allergiche da contatto il danno tissutale è mediato principalmente dalle cellule T CD8+ che sono in grado di lisare i cheratinociti che presentano il metallo in associazione alle molecole di classe I del MHC.

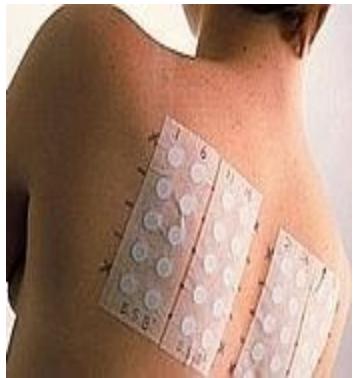
Anche nell'uomo un accumulo di cellule T CD8+ è stato dimostrato in reazioni di ipersensibilità da contatto. Le citochine Th1 rilasciate dai linfociti T CD4+ e CD8+ sono coinvolte nell'amplificazione del processo infiammatorio.

In particolare l'IFN- $\gamma$  attiva i cheratinociti che a loro volta producono citochine e chemochine responsabili del reclutamento di linfociti T.

Malgrado il ripetuto contatto con il metallo la maggior parte degli individui non sviluppa risposte immuni clinicamente evidenti.

- Negli individui non allergici linfociti T CD4+ specifici per il metallo sono facilmente isolati.
- Linfociti T CD8+ sono rari negli individui non allergici.
- Circa il 20% delle cellule Nickel specifiche negli individui non allergici produce IL-10 che è in grado di bloccare la maturazione delle cellule dendritiche.
- Cellule T regolatorie CD4+ CD25+ potrebbero modulare la risposta al Nickel negli individui non allergici.

## Patch test



Il patch test è una procedura diagnostica standardizzata necessaria per confermare la dermatite da contatto.

In questo test i potenziali sensibilizzanti sono applicati sulla schiena del paziente. Dopo 2 giorni il sito di applicazione di ciascun sensibilizzante viene valutato.

Un patch test positivo è indicato dalla presenza di dermatite che ricapitola la fase effettrice della dermatite da contatto.

Questo test permette di identificare il sensibilizzante.

Il trattamento della dermatite da contatto consiste nell'evitare il sensibilizzante. La dermatite viene trattata con corticosteroidi.