



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA
DIPARTIMENTO DI PEDIATRIA

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN :
MEDICINA DELLO SVILUPPO E SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE
INDIRIZZO: MALATTIE RARE
XXI CICLO

MASTOCITOSI CUTANEE:
ANALISI EPIDEMIOLOGICA E IMMUNOISTOCHEMICA

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. GIUSEPPE BASSO

Coordinatore di Indirizzo: Ch.mo Prof. GIORGIO PERILONGO

Supervisore : Dott. ANNA BELLONI FORTINA

Dottorando : Dott. ILARIA ROMANO

INDICE

RIASSUNTO	1
INTRODUZIONE	9
1. Storia	9
2. Epidemiologia	9
3. Classificazione	10
4. Manifestazioni cliniche	11
4.1 Manifestazioni cutanee	11
4.2 Mastocitosi cutanea	12
4.3 Manifestazioni sistemiche	14
4.4 Mastocitosi sistemica	15
5. Patogenesi	15
5.1 Struttura di Kit	16
5.2 Alterazioni del recettore Kit e mutazioni di c-kit	18
5.3 Alterazioni di SCF	19
5.4 Anomalie cromosomiche	19
5.5 Alterazioni della regolazione del meccanismo di apoptosi	19
6. Ruolo di Fas-FasL	20
7. Diagnosi	22
SCOPO DEL LAVORO	25
MATERIALI E METODI	25
1. Analisi immunoistochimica su cute lesionale	27
2. Analisi statistica	28
RISULTATI	29
DISCUSSIONE	55
TABELLA ANALISI IIC	63
SCHEMA MASTOCITOSI	64
BIBLIOGRAFIA	67

RIASSUNTO

Presupposti dello studio

Le mastocitosi rappresentano un gruppo eterogeneo di quadri clinici caratterizzati da un'iperplasia (disordine proliferativo primario) dei mastociti che coinvolge principalmente la cute, ma che può interessare anche altri organi e apparati come il midollo osseo, la milza, il fegato, i linfonodi ed il tratto gastrointestinale.

La mastocitosi viene considerata una patologia rara e si stima che la sua prevalenza sia inferiore ad 1 caso ogni 100000 abitanti; non esistono dati definitivi sull'incidenza della mastocitosi in Italia.

Nel 2006 è stata attivata la Rete Italiana Mastocitosi (RIMA), di cui fa parte il nostro Centro.

La RIMA si avvale di specialisti afferenti a diverse branche della Medicina (Dermatologi, Allergologi, Pediatri, Ematologi) e, attraverso i Centri afferenti, ha avviato la registrazione dei pazienti affetti da mastocitosi nel nostro Paese.

La classificazione WHO (World Health Organization) distingue diverse varianti di mastocitosi estremamente eterogenee per sintomatologia, decorso clinico e prognosi. Essa include tre principali varianti: (i) mastocitosi cutanea (orticaria pigmentosa, mastocitoma, mastocitosi cutanea diffusa); (ii) mastocitosi sistemica che comprende la mastocitosi sistemica indolente, la mastocitosi sistemica aggressiva, la mastocitosi sistemica con associato disordine clonale ematopoietico non mastocitario, la leucemia mastocitaria e (iii) mastocitoma extracutaneo.

La mastocitosi cutanea è una patologia benigna nella quale l'accumulo dei mastociti è limitato alla cute; si sviluppa di solito nell'età infantile e tende a regredire spontaneamente con la pubertà. La mastocitosi sistemica è, invece, più frequente nell'adulto ed è caratterizzata dall'accumulo di mastociti in altri organi ed apparati oltre che nella cute.

La causa che conduce alla proliferazione incontrollata dei mastociti rimane ancora sconosciuta. Recentemente, nel tentativo di chiarire l'eziopatogenesi delle mastocitosi, sono state avanzate numerose ipotesi tra cui alterazioni del recettore del SCF (Kit), alterazioni di stem cell factor (SCF o kit-ligando), disregolazione del meccanismo di apoptosi.

Obiettivi

Lo scopo di questo lavoro è stato la valutazione delle caratteristiche demografiche, cliniche, genetiche ed immunopatologiche dei pazienti affetti da mastocitosi cutanea.

Materiali e metodi

Tra il 2006 ed il 2008 sono stati valutati complessivamente 54 pazienti affetti da mastocitosi cutanea; di questi, 45 sono pazienti pediatriche e 9 sono pazienti adulti. Per ogni paziente è stata compilata una scheda anamnestico-clinica contenente informazioni riguardanti il sesso, l'età, l'età di insorgenza della malattia, il tipo di lesioni cutanee, la sede, il numero e le dimensioni delle lesioni, il tipo di mastocitosi, l'eventuale presenza di sintomi cutanei e/o sistemici associati, i fattori scatenanti la sintomatologia e le indagini diagnostiche eseguite.

Ai pazienti affetti da mastocitosi cutanea ad insorgenza in età adulta è stata consigliata l'esecuzione dello striscio midollare e della biopsia osteomidollare per valutare la presenza di un eventuale coinvolgimento sistemico e, se necessario, la ricerca, attraverso indagini strumentali, dell'interessamento di altri organi da parte della malattia.

Lo striscio midollare, dopo colorazione con May-Grunwald-Giemsa, è stato attentamente esaminato per la presenza e l'eventuale percentuale di mastociti atipici. Le biopsie del midollo osseo, oltre all'indagine istologica con colorazioni Ematossilina-Eosina e Giemsa, sono state sottoposte all'analisi immunocitochimica usando anticorpi anti CD117, CD25, CD2 e triptasi mastocitaria.

Inoltre, su tali campioni, è stata eseguita un'analisi molecolare volta all'identificazione della mutazione D816V del c-kit mediante digestione enzimatica con HinfI.

In 8 pazienti adulti è stata, inoltre, eseguita un'analisi immunocitochimica su cute lesionale utilizzando la tecnica APAAP (fosfatasi alcalina-anti-fosfatasi alcalina); sono stati utilizzati i seguenti anticorpi: CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, triptasi mastocitaria, Bcl-2, FAS, FAS ligando.

Risultati e discussione

La prevalenza da noi osservata della mastocitosi in Veneto risulta essere di circa 1,1 casi su 100000 abitanti; tuttavia, restringendo l'analisi alla sola popolazione pediatrica (45 casi su 785000 minorenni residenti in Veneto) la prevalenza della malattia risulta nettamente superiore (5,7 casi su 100000 abitanti).

Nella nostra casistica la malattia è insorta nell'infanzia (< 2 anni) in 43 (79,6%) pazienti, nel bambino (2-15 anni) in 2 (3,7%) pazienti e in età adulta (>15 anni) in 9 (16,7%) pazienti.

In particolare abbiamo osservato che nel 26,7% dei nostri pazienti pediatriche la malattia è congenita e nel 48,9% insorge nei primi 6 mesi di vita.

Solo in un caso è stata riferita familiarità per mastocitosi; i membri di suddetta famiglia sono stati sottoposti ad indagine genetica per ricercare la presenza di mutazioni genomiche del gene c-kit e/o SCF.

Dei 54 pazienti affetti da mastocitosi cutanea, 31 (57,4%) sono stati classificati come mastocitomi, 22 (40,7%) come orticaria pigmentosa e 1 come teleangectasia macularis eruptiva perstans; dei 31 pazienti con mastocitoma, 27 presentavano lesioni solitarie e 4 lesioni multiple.

Non è stata riscontrata nessuna differenza statisticamente significativa tra la distribuzione della mastocitosi cutanea ed il sesso, mentre si è osservato che la diagnosi di mastocitoma solitario o multiplo interessa esclusivamente i pazienti pediatrici.

Per quanto riguarda la sede delle lesioni, il mastocitoma si localizza con frequenza simile al tronco ed alle estremità. Nei pazienti affetti da orticaria pigmentosa la maggior parte delle lesioni cutanee risultano distribuite al tronco; nessun paziente presenta il coinvolgimento delle regioni palmo-plantari.

La presenza del segno di Darier (edema, eritema e spesso prurito dopo sfregamento della lesione cutanea) è risultato positivo nella quasi totalità dei casi; può, pertanto, essere considerato evocativo e diagnostico di mastocitosi.

Nella nostra casistica i sintomi cutanei più comuni sono il prurito, la formazione di bolle, il flushing e gli episodi di orticaria. La formazione di bolle in sede di lesione è stata osservata esclusivamente in età pediatrica e in particolare nei bambini di età inferiore a 3 anni; inoltre, risulta più frequente nei bambini affetti da mastocitoma solitario o multiplo rispetto a quelli affetti da orticaria pigmentosa.

L'attivazione mastocitaria può anche essere la causa di sintomi extracutanei come stanchezza, dolori addominali associati a vomito e diarrea, cefalee, sincopi ricorrenti, ipotensione e dolori ossei. Nella nostra casistica, il 22,2% dei pazienti adulti e l'11% dei pazienti pediatrici riferisce la presenza di sintomi sistemici; la scarsità del campione di pazienti adulti non permette di evidenziare differenze statisticamente significative.

La comparsa dei sintomi cutanei ed extra-cutanea può avvenire spontaneamente o a seguito di vari stimoli inducenti la degranulazione mastocitaria.

Il 79,6% dei nostri pazienti riferisce, infatti, la comparsa di sintomi cutanei e/o sistemici in seguito a stimoli di origine fisica, psichica, alimentare e in seguito all'assunzione di alcuni farmaci.

Tutti i nostri pazienti hanno eseguito il dosaggio della triptasi sierica; tale enzima, risultando nella norma in tutti i casi con mastocitosi cutanea e aumentato in quelli con interessamento sistemico, si è dimostrato un utile marcatore diagnostico e prognostico di malattia.

Dal momento che il coinvolgimento sistemico non è frequente nel bambino e che nessuno di essi mostra disordini ematologici associati, tali pazienti non sono stati sottoposti a biopsia osteomidollare.

Per quanto riguarda gli adulti, la diagnosi di mastocitosi sistemica è stata confermata nel 44,5% dei pazienti, esclusa nel 22,2% e non indagata nel 33,3% dei casi

Nei soggetti affetti da mastocitosi sistemica la biopsia osteomidollare ha dimostrato la presenza di aggregati di mastociti fusati CD25 positivi ed in parte coesprimenti le molecole CD2 e CD25. I mastociti in condizioni fisiologiche non esprimono tali molecole di superficie; rimane da chiarire quanto l'anomalo pattern di espressione abbia un ruolo nella patogenesi della malattia o semplicemente rifletta l'attivazione dei mastociti.

La mutazione puntiforme A>T del codone 816 del gene c-kit (D816V) è in grado di indurre un'attivazione di Kit ligando-indipendente; l'analisi mutazionale eseguita sui campioni midollari ha evidenziato la presenza di tale mutazione solo nei pazienti con mastocitosi sistemica.

Inoltre, in 8 pazienti adulti è stata eseguita un'analisi immunoistochimica su cute lesionale volta alla valutazione dell'infiltrato cellulare e dei parametri collegati con l'apoptosi.

In tutti i casi studiati si è osservata un'aumentata espressione della proteina Bcl-2 in corrispondenza delle cellule perivasali del compartimento dermico rispetto ai controlli negativi; in un caso essa è risultata aumentata anche in corrispondenza dei cheratinociti basali dell'epidermide. Dal momento che le medesime cellule perivasali, su sezioni seriali, risultano positive per la molecola CD3 (recettore panT) e non per la triptasi, abbiamo potuto concludere che tale proteina viene iperespressa solo dai linfociti T. L'iperespressione della proteina anti-apoptotica Bcl-2 da parte dei linfociti T potrebbe rappresentare un tentativo di risposta contro la proliferazione mastocitaria; l'espressione della molecola Bcl-2 indica una minore tendenza di tale popolazione cellulare ad andare incontro a morte cellulare programmata e quindi ad una maggiore persistenza di tali cellule nel compartimento dermico in risposta all'infiltrazione mastocitaria.

I dati descritti indicano un coinvolgimento sia dei linfociti con funzione helper che di quelli citotossici; il rapporto, infatti, tra le due popolazioni linfocitarie è conservato oscillando da 2:1 a 4:1.

L'espressione della proteina Fas-L, è stata osservata nel compartimento dermico, soprattutto in corrispondenza dell'infiltrato perivascolare di linfociti T mentre il recettore Fas risulta espresso in maniera incostante dai cheratinociti dell'epidermide e, più raramente, in corrispondenza del derma in sede perivasale.

Per quanto riguarda il ruolo del sistema Fas-FasL non si possono ad oggi trarre conclusioni definitive dal momento che i dati sono incostanti. L'espressione di Fas-L potrebbe essere legata al ruolo proinfiammatorio di tale proteina in risposta alla proliferazione mastocitaria.

SUMMARY

Background

Mastocytosis consists of an heterogeneous group of disorders characterized by a pathologic increase in mast cells in tissues including skin, bone marrow, liver, spleen and lymphnodes.

Mastocytosis is a rare disease and it has been estimated that its prevalence is about 1:100000 inhabitants.

In 2006 the RIMA (Rete Italiana Mastocitosi) has been activated and our Center has been included in RIMA which in turn cooperates with European Competence Network on Mastocytosis.

In view of the heterogeneous clinical presentation and prognosis of mastocytosis, various classifications have been proposed.

A WHO consensus classification for mastocytosis exists, which includes three major categories: (i) cutaneous mastocytosis (urticaria pigmentosa, mastocytoma, diffuse cutaneous mastocytosis); (ii) systemic mastocytosis including indolent systemic mastocytosis, aggressive systemic mastocytosis, systemic mastocytosis with an associated clonal non-mast cell lineage disease and mast cell leukemia and (iii) extracutaneous mastocytoma.

Childhood-onset cutaneous mastocytosis regresses spontaneously in the majority of cases by puberty whereas virtually all adult-onset cases persist and may progress to systemic mast cell disease.

The causes for the increase of mast cell numbers are largely unknown, although several hypotheses have been proposed to explain the pathological hyperplasia of mast cells (alterations of the SCF receptor kit, alterations of stem cell factor, dysregulation of apoptosis).

Objective

The aim of this study was to evaluate the demographic, clinical, genetic and immunopathological features of cutaneous mastocytosis.

Materials and methods

We reviewed the records of 54 patients (45 children and 9 adults) with a diagnosis of cutaneous mastocytosis consecutively seen between 2006 and 2008 in the Dermatology Unit of the Pediatric Department and in the Dermatology Department of the University of Padua.

Patients were evaluated for sex, age of onset, type of mastocytosis, site of lesions, presence or absence of cutaneous and systemic symptoms, causative factors and systemic involvement.

A bone marrow biopsy and aspirate is recommended in the evaluation of all patients with adult-onset disease; in children with cutaneous disease, a bone marrow biopsy should be considered only if there is suspicion of systemic involvement.

Bone marrow smears, after May-Grunwald-Giemsa staining, had carefully been examined for the presence and the percentage of atypical mast cells.

Bone marrow biopsies were analyzed by Ematoxiline-Eosine and Giemsa staining and immunohistochemistry using CD117 (kit), CD25, CD2 and tryptase antibody.

Furthermore, a molecular analysis for D816V mutation of c-kit gene was performed on bone marrow samples with the restriction enzyme *HinfI* by RFLP.

Skin biopsies from 8 adult patients underwent immunopathological analysis by a conventional immunohistochemical approach using the following antibody: CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, tryptase, Bcl-2, FAS, FAS ligand.

Results and discussion

The prevalence of mastocytosis in Veneto is about 1,1:100000 inhabitants; nevertheless, analyzing only pediatric patients (45 cases out 785000 under 18 years living in Veneto), the prevalence of the disease seems higher (about 5,7:100000 inhabitants).

In our series, mastocytosis presented in infancy (< 2 years) in 43 (79,6%) patients, in childhood (2-15 years) in 2 (3,7%) patients, in adult life (>15 years) in 9 (16,7%) patients. The disease appeared at birth in 26,7% of pediatric patients and start within the subsequent 6 months in 48,9%.

Only one case was familial; subjects of this family were investigated for genomic mutations of c-kit and SCF gene.

We identified 54 patients with cutaneous mastocytosis: 31 (57,4%) with mastocytoma, 22 (40,7%) with urticaria pigmentosa and 1 with teleangiectasia macularis eruptiva perstans.

The female to male ratio for the whole sample was 1,2:1; other studies had reported a slight male preponderance.

Mastocytoma was localized with similar frequency in correspondence of both the trunk and the extremities; the majority of urticaria pigmentosa lesions was distributed over the trunk; no one showed the involvement of palms and soles.

Darier's sign, in which gentle rubbing of the lesion produces urtication, is positive in almost all cases; it is highly specific for mastocytosis.

The most common symptoms are itch, flushing, urticaria and blistering; the rate of blistering is higher in infants under 3 years and in case of mastocytoma.

About 22% of adults and 11% of children with mastocytosis experience extracutaneous symptoms due to massive mediator release by mast cells; typical symptoms include nausea, vomiting, abdominal pain, diarrhea, hypotension, syncope.

Cutaneous and extracutaneous symptoms may occur spontaneously or secondarily after thermal, mechanical or chemical stimuli.

Serum tryptase measurement has been determined in all patients; in subjects with cutaneous mastocytosis it was normal to slightly elevated whereas in most patients with systemic involvement elevated levels were found; the measurement of serum tryptase levels is a reliable noninvasive diagnostic approach to estimate the burden of mast cells and to distinguish between categories of disease.

Since pediatric patients had no manifestations of systemic disease, no children underwent bone marrow biopsies. In the 9 adults with cutaneous mastocytosis, systemic involvement was found in 44,5% and excluded in 22,2%; however, 33,3% of patients were not assessed for various reasons. Neoplastic mast cells in bone marrow of systemic mastocytosis co-express either CD2 or CD25, or both, whereas normal mast cells as well as mast cells in reactive tissues usually are CD2 – CD25 negative cells.

The examination of bone marrow included an analysis for a somatic autoactivating mutation at codon 816 of c-kit; in our series D816V was detected only in patients with systemic mastocytosis.

Skin biopsies from 8 adult patients underwent immunohistochemical analysis in order to evaluate cellular infiltration and the expression of some apoptosis-regulating molecules.

In all cases the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 was enhanced in dermic perivascular cells compared to controls; in one case it was enhanced also in epidermal basal layer. Since in serial sections these perivascular cells were positive only to CD3 (panT cell marker), we can conclude that this protein was overexpressed only by T cells. The expression of Bcl-2 by T lymphocytes is consistent with the ability of T cells to persist in correspondence of the mast cells infiltrate. This may therefore enhance the T cell response against mast cells proliferation.

Our data concerning the presence of the two main subpopulations of T cells (CD4 positive and CD8 positive T lymphocyte) indicate that both populations of T lymphocytes are implicated in the response to mast cells proliferations; to this regard we have observed that the ratio between these two subgroups of T cells is conserved.

The expression of the protein Fas-L was observed in the dermal compartment, particularly in association with the perivascular infiltrate of T cells, whereas the Fas receptor was inconstantly expressed by keratinocytes of the epidermal layer and more rarely in correspondence of the perivascular sites.

Therefore on the basis of our data we can not establish any definitive conclusions about the role of the Fas-FasL system in this condition. It may be possible that Fas-L could exert pro-inflammatory effects inducing secretion of IL-1 β .

INTRODUZIONE

La mastocitosi è un gruppo eterogeneo di disordini caratterizzato da un aumento patologico del numero dei mastociti (disordine proliferativo primario) che coinvolge principalmente la cute, ma che può interessare anche altri organi ed apparati come il midollo osseo, la milza, il fegato, il tratto gastrointestinale e i linfonodi. I mastociti derivano da una cellula capostipite midollare pluripotente CD34+ e raggiungono il loro sito specifico, dove maturano in cellule granulose, dopo passaggio attraverso il circolo ematico. L'accasamento, prevalentemente in sede perivascolare, dipende dall'espressione sulla loro superficie di molecole di adesione appartenenti alla famiglia delle integrine. I mastociti intervengono nella liberazione di mediatori importanti nella risposta immunitaria contro parassiti e batteri, nella promozione del rimodellamento e della riparazione tissutale, nel mantenimento dell'omeostasi del tessuto connettivo, nel coordinamento dell'infiammazione e nella regolazione dell'angiogenesi, del tono e della permeabilità vascolare. Si attribuisce loro anche un ruolo nelle reazioni allergiche e nella regolazione dei processi neuroimmunoendocrini.

1. STORIA

La prima descrizione della mastocitosi risale al 1869, anno in cui Nettleship descrisse una "forma inusuale di orticaria" in una bambina di 2 anni; si trattava di pomfi provocati dallo sfregamento delle lesioni cutanee successivamente denominate da Sangster "urticaria pigmentosa" nel 1878. Nel 1887 Unna dimostrò la presenza dei mastociti nelle lesioni cutanee e circa cinquant'anni dopo fu attribuito ad esse da Sezary il termine di mastocitosi. Infine, nel 1949 Ellis documentò il coinvolgimento sistemico dei mastociti avendone osservato la presenza oltre che nella cute anche in fegato, milza, timo, pancreas, midollo osseo e linfonodi (1, 2, 3).

2. EPIDEMIOLOGIA

La mastocitosi viene considerata una malattia rara. Sebbene non esistano dati sull'incidenza della mastocitosi in Italia, studi epidemiologici condotti negli Stati Uniti stimano un'incidenza annua di $6,7/1 \times 10^6$ abitanti (4).

La mastocitosi interessa in ugual misura entrambi i sessi e sembra essere più frequente nella razza caucasica. La malattia può comparire a tutte le età: sono stati descritti due picchi di incidenza, il primo nell'infanzia (65% dei casi) ed il secondo nel giovane adulto (35%). Circa un 15% delle forme sono congenite, il 30% compaiono nei primi 6 mesi di vita, il 10% tra i 2 anni e i 15 anni (1).

La maggior parte dei casi sono sporadici. Le forme familiari sono rare; in letteratura ne sono stati descritti una cinquantina di casi. La modalità di trasmissione sembra essere autosomica dominante

con penetranza incompleta in un terzo dei casi; la non completa concordanza tra gemelli omozigoti suggerisce un'ereditarietà multifattoriale (1, 5).

3. CLASSIFICAZIONE

La mastocitosi comprende un gruppo eterogeneo di malattie caratterizzate da manifestazioni cliniche e prognosi differenti; proprio per questo motivo, sono state proposte varie classificazioni estremamente diverse tra loro (1, 6, 7).

La classificazione correntemente utilizzata è quella proposta nel 2001 da una Working Conference e successivamente adottata dalla World Health Organization (classificazione WHO) (8).

La classificazione WHO distingue 7 varianti di mastocitosi: la mastocitosi cutanea (MC), la mastocitosi sistemica indolente (MSI), la mastocitosi sistemica con associato disordine clonale ematopoietico non mastocitario, la mastocitosi sistemica aggressiva (MSA), la leucemia mastocitaria, il sarcoma mastocitario e il mastocitoma extracutaneo (Tabella 1).

Tabella 1: classificazione WHO della mastocitosi.

VARIANTI/ SOTTOVARIANTI
<p>Mastocitosi cutanea</p> <ul style="list-style-type: none"> - mastocitosi cutanea maculopapulosa (<i>orticaria pigmentosa</i>) - mastocitoma cutaneo - mastocitosi cutanea diffusa
<p>Mastocitosi sistemica indolente</p> <ul style="list-style-type: none"> - mastocitosi sistemica <i>smouldering</i> - mastocitosi isolata del midollo osseo
<p>Mastocitosi sistemica con associato disordine clonale ematopoietico non mastocitario</p> <ul style="list-style-type: none"> - sindrome mielodisplastica - leucemia mieloide acuta - leucemia mieloide cronica - linfoma
<p>Mastocitosi sistemica aggressiva</p> <ul style="list-style-type: none"> - mastocitosi sistemica aggressiva con eosinofilia
Leucemia mastocitaria
Sarcoma mastocitario
Mastocitoma extracutaneo

Una chiara distinzione delle diverse forme di mastocitosi è necessaria per le importanti implicazioni riguardanti l'iter diagnostico, la gestione e la prognosi del paziente affetto; il decorso clinico della malattia può, infatti, variare da "asintomatico" con normale aspettativa di vita ad "altamente aggressivo" (7).

4. MANIFESTAZIONI CLINICHE

Le manifestazioni cliniche e i sintomi delle mastocitosi dipendono in gran parte dalla liberazione di mediatori chimici prodotti dai mastociti, dall'infiltrazione mastocitaria tissutale e/o dalla eventuale presenza di disordini ematologici associati (Tabella 2).

Tabella 2: mediatori dei mastociti.

<p>Granuli</p> <ul style="list-style-type: none"> - istamina - eparina - triptasi, proteasi chemotriptiche
<p>Derivati lipidici</p> <ul style="list-style-type: none"> - leucotrieni - prostaglandina D2 - fattore di attivazione piastrinico
<p>Citochine (TGF-β, TNF-α, IL3, IL5)</p>

4.1 MANIFESTAZIONI CUTANEE

Un segno clinico patognomonico e pertanto fortemente suggestivo di mastocitosi è il **segno di Darier** (edema, eritema e spesso prurito dopo sfregamento delle lesioni cutanee); tale segno viene evocato frizionando la lesione con un oggetto smusso per circa 10 secondi (1).

Quasi tutte le forme di mastocitosi si possono associare a sintomi cutanei; quelli di più frequente riscontro sono il prurito, la formazione di bolle ed il flushing (4).

Il prurito è spesso il primo sintomo con cui si manifesta la mastocitosi; esso può essere di tipo intermittente o irrefrenabile e portare a lesioni da grattamento fino all'escoriazione. La formazione di bolle risulta particolarmente frequente nel bambino di età inferiore ai 2 anni, mentre è eccezionale nell'adulto (1, 9).

Tali manifestazioni possono essere spontanee o secondarie a fattori inducenti la degranulazione mastocitaria siano essi di natura fisica, psichica, alimentare o da farmaci (Tabella 3) (4).

4.2 MASTOCITOSI CUTANEA

La cute è l'organo più frequentemente coinvolto in tutte le forme di mastocitosi. Per definizione nella mastocitosi cutanea l'infiltrazione mastocitaria è confinata esclusivamente alla cute (valent 2005). Tale forma di mastocitosi insorge prevalentemente in età pediatrica, mentre risulta infrequente in età adulta (8,10,11). Le sue manifestazioni includono l'orticaria pigmentosa, il mastocitoma solitario o multiplo, la mastocitosi cutanea diffusa e la forma meno frequente di teleangectasia macularis eruptiva perstans (1, 8).

Tabella 3: fattori inducenti la degranolazione mastocitaria.

Fisici <ul style="list-style-type: none">• traumi• sfregamenti• punture d'insetto• fattori termici (caldo-freddo)• esercizio fisico
Psichici <ul style="list-style-type: none">• stress• ansia
Alimentari <ul style="list-style-type: none">• cibi istamino-liberatori
Farmaci <ul style="list-style-type: none">• acido acetilsalicilico o altri FANS• anestetici generali• codeina, morfina e derivati• antipertensivi (reserpina, idralazina)• antiemetici (scopolamina)• mezzi di contrasto iodati

L'**orticaria pigmentosa** è la forma di mastocitosi cutanea più frequente sia in età pediatrica che in età adulta (4). Essa è caratterizzata da un'eruzione piuttosto monomorfa di macule o maculo-papule di dimensioni variabili da 1 mm a più di 1 cm di diametro, di colore giallo-rosso-bruno, il cui numero può variare da alcuni elementi a centinaia con distribuzione casuale e generalizzata cosiddetta "a pelle di leopardo" (Figura 1). Tali lesioni possono interessare tutto l'ambito cutaneo

incluse le mucose, ma generalmente prediligono il tronco e gli arti, mentre il volto e le regioni palmo-plantari sono spesso risparmiate. La frizione delle lesioni induce la comparsa di un pomfo con eritema circostante; questo segno clinico corrisponde al segno di Darier ed è patognomonico dell'orticaria pigmentosa (10).

Le forme insorte precocemente nell'infanzia tendono per la maggior parte a risolvere spontaneamente nell'adolescenza (9); in una minoranza di casi l'orticaria pigmentosa persiste asintomatica fino all'età adulta con lesioni in genere maculose e di piccola dimensione (2). Le forme che esordiscono in età adulta progrediscono per diversi anni e spesso (circa il 90% dei casi) si associano ad un coinvolgimento sistemico (11).



Figura 1: a) orticaria pigmentosa in una bimba di 3 mesi; b) numerosi elementi maculosi diffusi su gran parte dell'ambito cutaneo con tipico aspetto "a pelle di leopardo".

Oltre alla forma classica maculopapulosa, sono state descritte alcune sottovarianti più rare tra cui la forma in papulo-placche, tipica dei bambini piccoli, caratterizzata da papule-placche di colore giallo-arancio con aspetto xantelasmoideo (2, 4).

Il **mastocitoma** di solito compare entro i 3-6 mesi di vita e si presenta come una macula, una placca o un nodulo di colorito rosso-bruno che può raggiungere un diametro di diversi centimetri (Figura 2). Può essere singolo o meno frequentemente multiplo (≤ 5 lesioni) e in molti casi regredisce spontaneamente. Si localizza spesso agli arti e il suo strofinamento provoca turgore ed eritema locale (segno di Darier positivo) (4). Lesioni bollose possono comparire spontaneamente o dopo sfregamento.



Figura 2: mastocitoma solitario localizzato al braccio destro.

La **mastocitosi cutanea diffusa** è una rara forma di mastocitosi in cui i mastociti infiltrano l'intera cute; di solito insorge entro il primo anno di vita e si può associare a coinvolgimento sistemico.

La cute può apparire normale o ispessita con un colore diffuso giallo-brunastro a "buccia d'arancia". Il segno di Darier è pronunciato e spesso associato sanguinamento e formazione di bolle. Il prurito è generalmente intenso ed è presente un marcato dermografismo. La comparsa di un'eruzione bollosa con formazione di erosioni e croste su tutta la superficie cutanea è frequente e può rappresentare la manifestazione d'esordio della malattia (9). La forma eritrodermica, invece, è caratterizzata da edema diffuso ed ispessimento della cute che appare di consistenza pastosa (1). Solitamente le forme cutanee diffuse risolvono spontaneamente.

La **teleangectasia macularis eruptiva perstans** è la forma più rara di mastocitosi che di solito compare nell'adulto (particolarmente in donne obese di mezza età). Si manifesta con piccole macule teleangectasiche diffuse e dai contorni sfumati. Il segno di Darier è eccezionale e il coinvolgimento sistemico è rarissimo (1).

4.3 MANIFESTAZIONI SISTEMICHE

Circa il 15-33% dei pazienti con mastocitosi cutanea e sistemica indolente presenta sintomi extra-cutanei legati al rilascio massivo di mediatori biologici da parte dei mastociti o all'accumulo di tali cellule in organi extra-cutanei (1). I mediatori chimici prodotti e rilasciati dai mastociti possono essere la causa di cefalea, convulsioni, sintomi gastrointestinali (nausea, diarrea, vomito, pirosi e dolori addominali), ipotensione, sincopi ricorrenti, dolore osseo e reazioni anafilattiche severe. L'infiltrazione mastocitaria tissutale può essere responsabile di organomegalia senza disfunzione d'organo (reperti-B) o di progressiva perdita di funzionalità d'organo (reperti-C) (12). I reperti-B

comprendono: 1) un aumento del numero dei mastociti (>30%) nel midollo osseo; 2) livelli di triptasi sierica >200 ng/ml; 3) epato/splenomegalia; 4) linfadenopatia e 5) osteoporosi diffusa. I reperti-C includono: 1) citopenia (anemia, leucopenia, piastrinopenia); 2) alterazioni della funzionalità epatica (insufficienza epatica, ridotta protidosintesi, disturbi della coagulazione, ascite); 3) ipersplenismo; 4) osteoporosi severa con osteolisi e fratture patologiche.

La presenza di soli reperti-B si riscontra in genere nelle forme di mastocitosi sistemica indolente che hanno un decorso clinico benigno ed una prognosi relativamente buona, mentre le forme più aggressive con prognosi infausta si associano a reperti-C (13).

4.4 MASTOCITOSI SISTEMICA

Nella mastocitosi sistemica (MS) per definizione è coinvolto almeno un organo extracutaneo (generalmente il midollo osseo); è molto rara nei bambini (9).

La **mastocitosi sistemica indolente** (MSI) comprende circa i 2/3 di tutte le mastocitosi sistemiche. Presenta un decorso clinico indolente e prolungato e la prognosi è buona; è frequente l'associazione con sintomi sistemici legati al rilascio di mediatori da parte dei mastociti mentre è generalmente assente l'organomegalia o l'organopatia. La trasformazione in una variante aggressiva o lo sviluppo di una neoplasia associata, sebbene possibile, è infrequente(8, 11).

La **mastocitosi sistemica con associato disordine clonale ematopoietico non mastocitario** è la seconda forma più frequente di mastocitosi sistemica dopo la forma indolente (rappresenta 1/4 -1/3 di tutte le MS); la sua prognosi è legata alla sottostante neoplasia ematologica (11).

La **mastocitosi sistemica aggressiva** (MSA) rappresenta solo il 5% di tutte le MS. Clinicamente si può presentare con epatosplenomegalia e/o linfadenopatia generalizzata, solitamente senza lesioni cutanee tipiche. La condizione necessaria per diagnosticare una mastocitosi sistemica aggressiva è l'organopatia, direttamente correlata all'infiltrazione di vari organi da parte dei mastociti (8, 11).

La **leucemia mastocitaria** è una neoplasia ematologica aggressiva caratterizzata da organopatia progressiva e dalla presenza di un considerevole numero di mastociti atipici sia nell'aspirato midollare che nel sangue periferico (11).

5. PATOGENESI

Ancora oggi la causa della proliferazione incontrollata dei mastociti rimane sconosciuta. Recentemente, nel tentativo di chiarire l'eziopatogenesi delle mastocitosi, sono state avanzate numerose ipotesi (Tabella 4) (1).

Tabella 4: possibili meccanismi patogenetici della mastocitosi

<p>1. Alterazioni del recettore del SCF (Kit)</p> <p>A. Mutazioni attivanti (nelle mastocitosi indolenti ad insorgenza in età adulta e nelle forme aggressive)</p> <p>B. Sovraespressione (nel siero, nei monociti di pazienti con associati disordini ematologici)</p>
<p>2. Alterazioni di stem cell factor (SCF o kit-ligando)</p> <p>A. Aumentata espressione di SCF solubile da parte dei cheratinociti</p> <p>B. Aumentati livelli sierici di SCF</p> <p>C. Aumentati livelli sierici di NGF</p>
<p>3. Anomalie cromosomiche</p>
<p>4. Disregolazione del meccanismo di apoptosi</p> <p>A. Aumentata attività della proteina antiapoptotica Bcl-2 (nelle mastocitosi aggressive)</p> <p>B. Aumentata attività della proteina antiapoptotica Bcl-x (nel midollo osseo delle forme indolenti)</p>

5.1 STRUTTURA DI KIT

C-kit è un proto-oncogene localizzato nella regione pericentromerica del braccio lungo del cromosoma 4 (4q12) (14). Il gene è composto da circa 89 kb e contiene 21 esoni che codificano per il recettore transmembrana (Kit) del stem cell factor (SCF o kit-ligando). Kit è una proteina transmembrana della famiglia delle tirosin-chinasi composta da 976 aminoacidi con un peso molecolare di 145 kD (15). La sua espressione è stata riportata nei progenitori ematopoietici, nei mastociti maturi, nelle cellule di Cajal, nei melanociti, nelle cellule germinali e nelle cellule neoplastiche di tumori stromali del tratto gastrointestinale (GIST), polmone, colon, mammella, seminomi, neuroblastomi, leucemia mieloide acuta, linfoblastica acuta a cellule-T, sindromi mielodisplastiche, disordini mieloproliferativi e linfomi non-Hodgkin (16).

Questa proteina, infatti, gioca un ruolo importante nella differenziazione dei progenitori ematopoietici, nella gametogenesi, nello sviluppo e nell'attivazione funzionale dei mastociti, nella melanogenesi e nella funzione del tratto gastrointestinale.

Kit presenta un *dominio extracellulare* composto da 5 motivi simil-globulinici codificati dagli esoni 1-9 (aa: 23-520), un *dominio transmembrana* codificato dall'esone 10 (aa: 521-543), un *dominio juxtamembrana* codificato dall'esone 11 (aa: 544-581) e un *dominio citoplasmatico* ad attività tirosin-chinasica (TK) codificato dagli esoni 13-21 (aa: 582-937). Le prime 3 anse simil-globuliniche del *dominio extracellulare* legano SCF, mentre la quarta e la quinta sembrano stabilizzare la dimerizzazione di Kit indotta da SCF e determinare il suo clivaggio proteolitico dalla superficie cellulare (16). Il *dominio juxtamembrana* contiene elementi ad alfa-elica la cui

configurazione è fondamentale nella inibizione della fosforilazione e dell'attività kinasica di Kit in assenza del legame con SCF (17). La *porzione citoplasmatica* è composta da due domini separati da un inserto di chinasi: il dominio TK1 costituito dall'estremità N-terminale contenente il sito legante ATP (aa: 582-684); il dominio TK2 composto dall'estremità C-terminale contenente la regione attivante (aa: 810-839) (Figura 3).

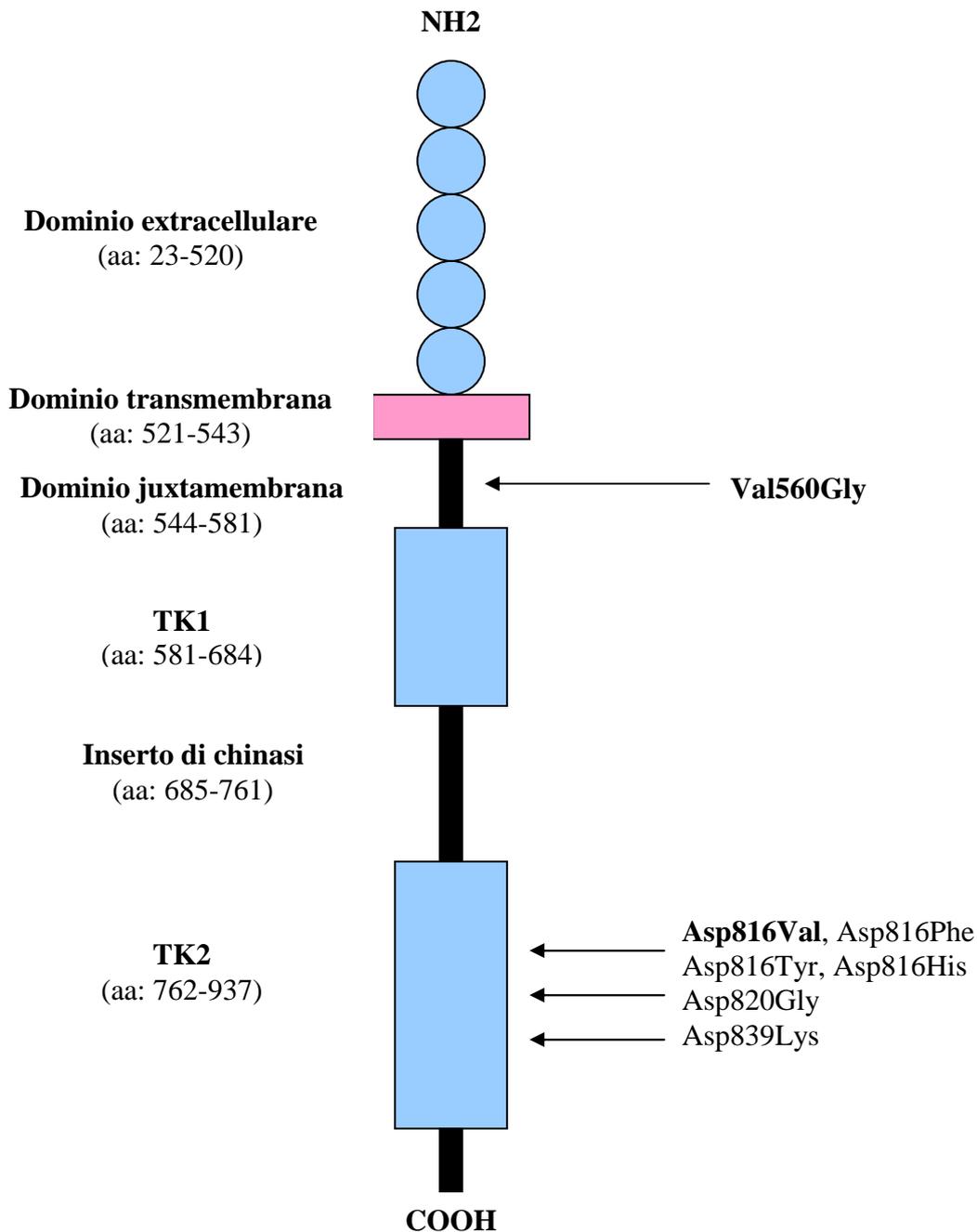


Figura 3: rappresentazione schematica della proteina Kit e localizzazione di alcune mutazione di c-kit.

Il stem cell factor (SCF o kit ligando) è il principale mediatore che interviene nella differenziazione e maturazione finale dei mastociti. A seguito del legame non-covalente di un dimero di SCF ai

motivi simil-globulinici del dominio extracellulare, Kit va in contro a dimerizzazione e attivazione dell'attività intrinseca tirosin-chinasica del dominio intracellulare (18). La successiva autofosforilazione di specifici residui di tirosina genera la formazione di siti di ancoraggio per molecole di trasduzione del segnale che mediano gli effetti biologici di Kit (16, 19). Pertanto, anomalie strutturali di particolari domini della molecola sembrano essere responsabili degli effetti sulla funzione e sulla sopravvivenza dei mastociti.

5.2 ALTERAZIONI DEL RECETTORE KIT E MUTAZIONI DI C-KIT

Nel 1993 vengono identificate per la prima volta due mutazioni di c-kit, una nel codone 560 (dominio juxtamembrana) responsabile della sostituzione di una valina con una glicina, e l'altra nel codone 816 (regione attivante) responsabile della sostituzione di un acido aspartico con una valina, nei mastociti HMC-1 di un paziente affetto da una forma di leucemia mastocitaria (1). Successivamente, numerose mutazioni somatiche di c-kit sono state identificate in pazienti affetti da mastocitosi; molte di queste sono associate ad una costitutiva fosforilazione e attivazione di Kit indipendentemente dal legame di SCF. Tali mutazioni interessano con maggior frequenza gli esoni 11 e 17 codificanti rispettivamente per il dominio juxtamembrana e il dominio TK2. Nel tentativo di meglio comprendere il loro ruolo patogenetico è stato proposto di suddividere le mutazioni attivanti Kit in due gruppi sulla base della loro localizzazione: mutazioni “*regulatory type*” e mutazioni “*enzymatic pocket type*” (19). Le prime, in genere, colpiscono la regolazione dell'attività kinasica di Kit distruggendo la configurazione ad alfa-elica del dominio juxtamembrana con conseguente attivazione costitutiva della proteina; le seconde interessano la regione attivante del dominio TK2 inducendo una attivazione di Kit ligando-indipendente (16). Tra le mutazioni somatiche identificate, la più comune è la mutazione puntiforme A>T in posizione 2468, responsabile della sostituzione di un acido aspartico con una valina nel codone 816 (D816V) (20). D816V, mutazione attivante Kit del tipo “*enzymatic pocket*”, è stata descritta in molti pazienti affetti da mastocitosi sistemica o associata ad un disordine ematologico (1). Recentemente è stata inoltre dimostrata la presenza di D816V anche in molti pazienti adulti affetti da mastocitosi sistemica a decorso indolente, mentre solo raramente in pazienti pediatriche (forme severe di mastocitosi) e in nessuna forma di mastocitosi familiare (1, 18). Questi dati suggeriscono che la mutazione D816V non sia in grado da sola né di causare la trasformazione neoplastica né di spiegare l'eterogeneità clinica della malattia. Inoltre, la sostituzione dell'acido aspartico nel codone 816 con un altro amminoacido (D816Y, D816F) e altre mutazioni puntiformi o delezioni/inserzioni in frame sono state identificate in diversi casi (16, 20). L'identificazione, in molti casi di mastocitosi sistemica, delle mutazioni di c-kit non solo nei

mastociti ma anche in altre cellule ematopoietiche suggerisce che le mastocitosi siano un disordine clonale ematopoietico (21).

5.3 ALTERAZIONI DI SCF

Il stem cell factor (SCF o kit-ligando) è il principale fattore di crescita e differenziazione dei mastociti. Inoltre, SCF regola l'ematopoiesi promuovendo la sopravvivenza, la proliferazione e la differenziazione delle cellule staminali multipotenti e la melanogenesi stimolando la proliferazione dei melanociti e la produzione di melanina (22, 23). Il stem cell factor è codificato da un gene localizzato sul cromosoma 12 ed è sintetizzato da diversi tipi di cellule (fibroblasti, cellule endoteliali e cheratinociti) che esprimono la citochina come proteina transmembrana (22). Esistono due isoforme di SCF, una transmembrana e una solubile, entrambe biologicamente attive (23). Un'alterata espressione di SCF potrebbe essere coinvolta nella patogenesi delle mastocitosi. Inizialmente era stato, infatti, ipotizzato che i pazienti affetti da mastocitosi avessero livelli di SCF nel siero più elevati rispetto ai soggetti sani; ipotesi smentita dal riscontro di livelli simili nei due gruppi (21). Successivamente è stata osservata, nell'epidermide di pazienti affetti da mastocitosi, l'espressione di una forma solubile di SCF, a differenza dei controlli sani che presentavano solo la forma legata alla membrana cellulare (24). Viceversa, altri studi hanno addirittura dimostrato una ridotta espressione di SCF nelle forme di mastocitosi ad insorgenza in età pediatrica (25).

5.4 ANOMALIE CROMOSOMICHE

Nei pazienti affetti da mastocitosi il numero di anomalie cromosomiche sembra essere aumentato (1). Spesso i pazienti affetti da mastocitosi con associato disordine ematologico mostrano rotture cromosomiche e trisomie (26). Le regioni cromosomiche interessate di solito corrispondono a geni che sembrano avere un ruolo nella patogenesi della malattia come i geni codificanti per Kit, SCF, IL-4, IL-6 o IL-9.

5.5 ALTERAZIONI DELLA REGOLAZIONE DEL MECCANISMO DI APOPTOSI

Normalmente l'omeostasi tissutale richiede un costante equilibrio tra crescita e morte cellulare. In condizioni fisiologiche, la morte cellulare si verifica mediante un processo programmato definito apoptosi. Così come accade in molte neoplasie, la prolungata sopravvivenza dei mastociti può essere associata ad un'alterata regolazione del meccanismo di morte cellulare programmata. I membri della famiglia delle proteine bcl-2 svolgono un importante ruolo nel regolare la sopravvivenza e la morte cellulare (27). A questa famiglia appartengono le proteine bcl-2 e bcl-xL

ad attività anti-apoptotica. L'aumentata espressione di bcl-2 e bcl-xL è stata associata a diverse neoplasie, tra cui molte di origine ematologia (28). Nonostante non sia completamente chiaro il meccanismo attraverso cui tali proteine promuovano la trasformazione neoplastica, è noto che un aumento della loro espressione determini un allungamento della sopravvivenza cellulare ed un accumulo di anomalie genetiche (27, 28, 29). Recentemente è stato descritto che i mastociti del midollo osseo di pazienti affetti da mastocitosi sistemica esprimono in maniera significativa la proteina bcl-xL (27, 30). Al contrario, l'espressione della proteina bcl-2 risulta assente o molto bassa, fatta eccezione di due pazienti affetti da leucemia mastocitaria che mostrano elevati livelli di tale proteina nel loro midollo (31). Inoltre, in un più recente studio, è stato riportato che l'espressione della proteina bcl-2 è fortemente aumentata nei mastociti cutanei di pazienti con differenti forme di mastocitosi, mentre l'espressione della proteina bcl-xL è pressoché inalterata o solo lievemente aumentata nelle lesioni cutanee di breve durata. Sempre in questo studio viene, poi, confermata l'aumentata espressione della proteina bcl-xL nelle lesioni midollari degli stessi pazienti a differenza dell'assente o lieve espressione della proteina bcl-2 (27). Questi dati suggeriscono che un'alterata regolazione del processo di morte cellulare programmata contribuisce all'accumulo dei mastociti e che, in questa malattia, la sopravvivenza di tali cellule è diversamente regolata nella cute rispetto a quanto accade nel midollo osseo.

6. RUOLO DI FAS-FASL

Il Fas (CD95/APO-1) è un recettore di membrana che regola il processo di morte cellulare programmata o apoptosi in seguito al legame con il suo ligando (FasL) (32). Fas è largamente espresso in diversi stipi cellulari, mentre l'espressione di FasL sembra essere molto più ristretta. Diverse cellule del sistema immunitario, inclusi i linfociti T e B, dopo essere stati attivati esprimono FasL (33). Fas-L è un trimero e il suo legame con Fas genera la trimerizzazione di tale recettore. Fas si compone di tre domini extracellulari ricchi di residui di cisteina e di un dominio intracellulare di circa 80 amminoacidi responsabile della trasduzione del segnale di morte cellulare.

Il legame di FasL al dominio intracellulare di Fas recluta diverse proteine a formare un complesso iniziante il segnale di morte cellulare programmata (DISC) (34). Di queste, una proteina adattatrice (FADD) funge da ponte tra Fas e la procaspasi 8 determinando un processo di proteolisi e autoattivazione di quest'ultima. La caspasi 8 così attivata (FLICE) genera l'attivazione intracellulare di membri appartenenti alla famiglia delle caspasi. Questa cascata di caspasi, responsabile di una proteolisi caspasi-mediata di specifiche proteine target, ha un ruolo centrale nel processo apoptotico (Figura 4a). Il segnale Fas viene regolato a livello del recettore stesso e della cascata di caspasi ad opera di due proteine, FLIP e FAP-1, che interagiscono con il complesso

iniziante il segnale di morte cellulare programmata (DISC) inibendo tale via di segnale. Inoltre, l'attività delle caspasi viene inibita da una famiglia di proteine dette "proteine inibenti l'apoptosi" (IAPs) (Figura 4b). Tale via di segnale è controllata anche dall'azione bilanciata di dimeri ad attività pro- (ad esempio Bax, Bak) ed anti- (ad esempio Bcl-2 e Bcl-x_L) apoptotica (35).

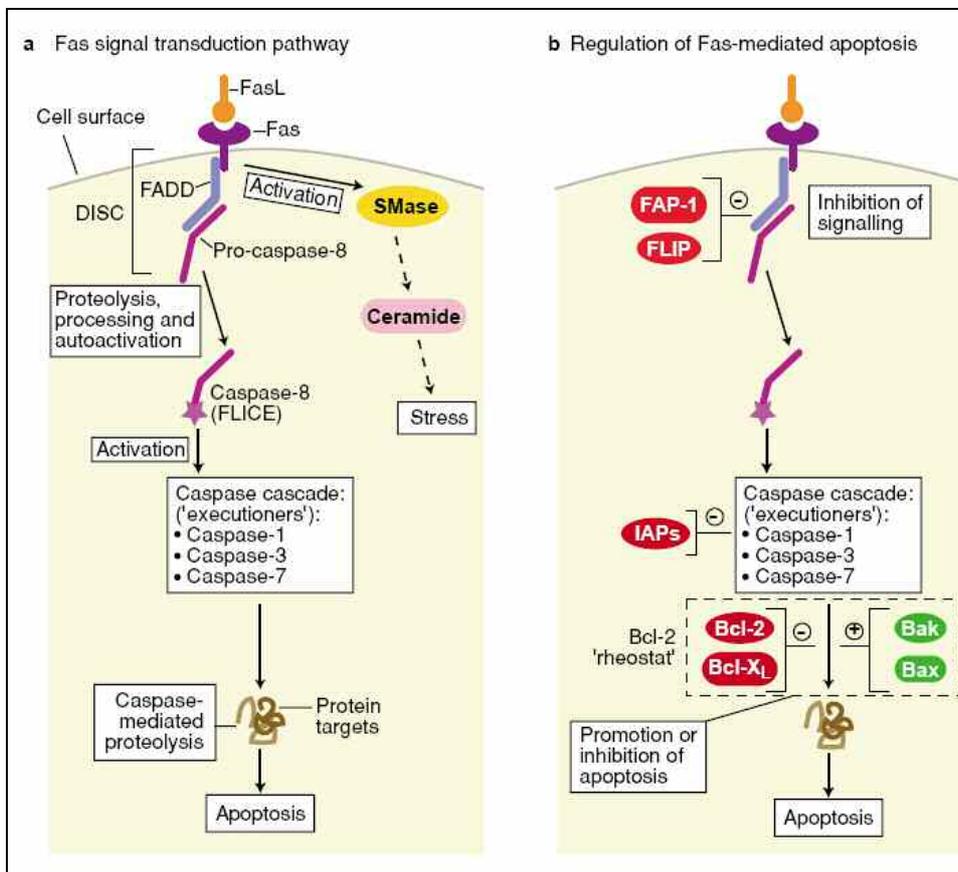


Figura 4: via di trasduzione del segnale Fas (a) e sua regolazione (b).

Il sistema Fas-FasL, oltre alla funzione pro-apoptotica, presenta un'importante funzione immunoregulatoria; infatti, recettore e ligando sono coespressi sulla superficie dei linfociti attivati ed il loro legame favorisce la soppressione della risposta immunitaria (36).

FasL sembra, inoltre, contribuire alla eliminazione dei linfociti autoreattivi durante il processo di acquisizione della tolleranza al self, impedendo l'accumulo di cellule autoreattive dirette contro il self. Recentemente alcuni studi sperimentali hanno ipotizzato che FasL possa svolgere anche un ruolo pro-infiammatorio, in particolare inducendo il reclutamento e l'attivazione dei neutrofili (37). L'azione pro-apoptotica e pro-infiammatoria di FasL, apparentemente opposte ma non mutualmente esclusive, sembrano regolate da altri fattori, come il microambiente citochinico all'interno del quale avviene il processo.

7. DIAGNOSI

La diagnosi di mastocitosi cutanea si basa sulla storia del paziente, sulle caratteristiche cliniche delle lesioni e dovrebbe essere confermata dall'istologia cutanea.

Nelle forme di mastocitosi cutanea ad insorgenza in età adulta è necessario effettuare, oltre all'esame clinico, un emocromo con formula, un profilo biochimico generale, le sottopopolazioni linfocitarie, l'assetto coagulativo, il dosaggio della triptasi sierica e la biopsia osteomidollare (1). Nei bambini con mastocitosi cutanea senza segni di interessamento sistemico è possibile attendere la regressione spontanea della malattia ed, eventualmente, effettuare la biopsia osteomidollare solo nei casi in cui le lesioni cutanee persistano dopo la pubertà (7).

Inoltre, in caso di coinvolgimento sistemico è necessario eseguire una stadiazione completa della malattia al fine di indagare l'eventuale interessamento dell'apparato gastrointestinale (ecografia addome completo, endoscopia) e osteoarticolare (densitometria ossea, radiografia ossea, scintigrafia ossea) (Figura 5) (7, 8).

Recentemente sono stati formulati i criteri diagnostici WHO per la mastocitosi sistemica (Tabella 5) (8, 10, 11).

Tabella 5: criteri diagnostici WHO per la mastocitosi sistemica.

<p><u>Criterio maggiore</u></p> <p>Infiltrati mastocitari multifocali densi (>15 mastociti aggregati) in sezioni istologiche di midollo osseo e/o di altri organi extracutanei con immunoistochimica positiva per triptasi o con altri metodi di colorazione dei mastociti.</p>
<p><u>Criteri minori</u></p> <ol style="list-style-type: none">Presenza di (>25%) mastociti di forma fusata in infiltrati mastocitari rilevati in sezioni istologiche di midollo osseo o di altri organi extracutanei oppure (>25%) di mastociti atipici negli strisci di midollo osseo.Positività della mutazione puntiforme del codone 816 di c-kit (D816V) nel midollo osseo o altri in organi extracutanei.Positività per CD2 e/o CD25 nei mastociti del midollo osseo o di altri organi extracutanei.Concentrazioni sieriche di triptasi spersistentemente > 20 ng/ml (<i>criterio non valido per i pazienti con mastocitosi sistemica con associato disordine clonale ematopoietico non mastocitario</i>)

La diagnosi di mastocitosi sistemica richiede la presenza di un criterio maggiore e uno minore o di tre criteri minori.

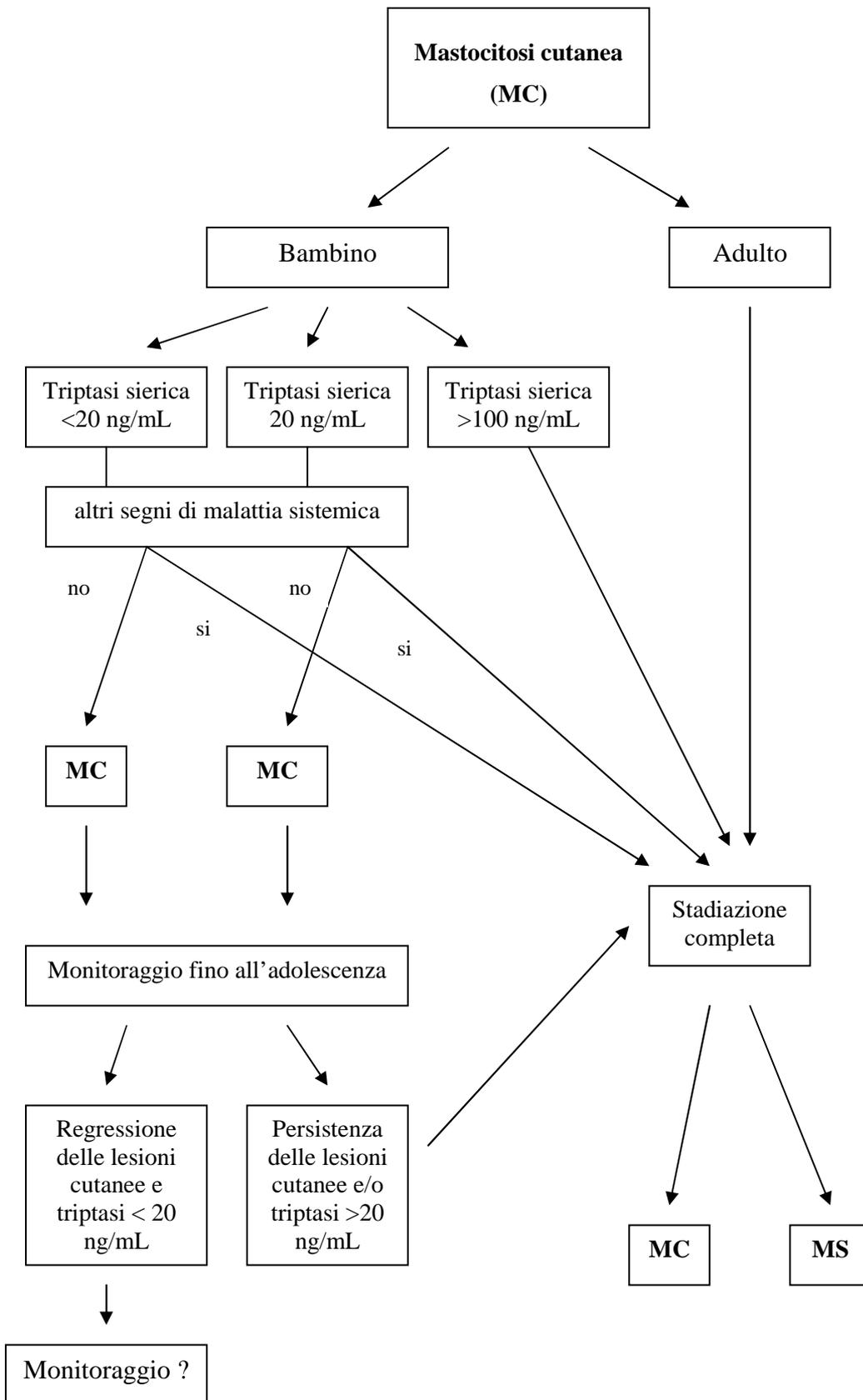


Figura 5: algoritmo diagnostico della mastocitosi.

Tali criteri aiutano a distinguere tra la mastocitosi sistemica e l'iperplasia mastocitaria secondaria ad altre malattie (Tabella 6) (1).

Tabella 6: malattie associate ad una iperplasia secondaria dei mastociti.

<p>1. Malattie infiammatorie:</p> <ul style="list-style-type: none">- infezioni (parassitosi, toxoplasmosi)- reazioni allergiche (orticaria, reazioni anafilattiche a punture di insetto)- disordini del connettivo (cicatrici ipertrofiche)- disordini immunologici (reazioni granulomatose, graft-versus-host disease)
<p>2. Neoplasie</p> <ul style="list-style-type: none">- benigne (neurifibromi, emangiomi)- maligne (carcinoma basocellulare, melanoma)
<p>3. Disordini ematologici:</p> <ul style="list-style-type: none">- benigni (disordini mieloproliferativi, neutropenia cronica, trombocitopenia, sdr ipereosinofila)- maligni (leucemia acuta non linfatica, linfoma maligno, malattia di Hodgking)

SCOPO DEL LAVORO

Lo scopo di questo lavoro è stato la valutazione delle caratteristiche demografiche, cliniche, genetiche ed immunopatologiche dei pazienti affetti da mastocitosi cutanea

MATERIALI E METODI

In questo studio sono stati analizzati 54 pazienti affetti da mastocitosi cutanea; tali pazienti sono giunti, tra il 2006 ed il 2008, alla nostra osservazione presso la Clinica Dermatologica ed il Servizio di Dermatologia Pediatrica del Dipartimento di Pediatria di Padova.

Per ogni paziente è stata compilata una scheda anamnestico-clinica contenente informazioni riguardanti il sesso, l'età, l'età di insorgenza della malattia, il tipo di lesioni cutanee, la sede, il numero e le dimensioni delle lesioni, il tipo di mastocitosi, l'eventuale presenza di sintomi cutanei e/o sistemici associati, i fattori scatenanti la sintomatologia e le indagini diagnostiche eseguite.

Per quanto riguarda l'età d'insorgenza della mastocitosi, essa è stata suddivisa in 3 fasce d'età in accordo con i dati del National Institutes of Health (38):

- < 2 anni (mastocitosi dell'infanzia)
- 2 -15 anni (mastocitosi del bambino)
- >15 anni (mastocitosi dell'adulto)

La sede delle lesioni è stata classificata, sulla base delle sedi coinvolte, in 4 gruppi:

- testa-collo
- interessamento contemporaneo di tronco ed arti
- interessamento esclusivo del tronco
- interessamento esclusivo degli arti

In 11 pazienti, 9 adulti e 2 bambini, la diagnosi clinica è stata confermata dall'analisi istopatologica mediante l'uso di colorazione Ematossilina-Eosina, Giemsa o Blu di toluidina e di colorazioni immunoistochimiche che utilizzano anticorpi anti c-kit (CD 117) e anti triptasi. Nei restanti casi, tutti pediatrici, la diagnosi è stata formulata sulla base del fenotipo clinico, in accordo con la classificazione WHO della mastocitosi.

Nei casi pediatrici, oltre all'aspetto clinico del quadro cutaneo, è stato valutato l'andamento della malattia ed il dosaggio della triptasi sierica. Dal momento che in nessun bambino si sono osservate anomalie della formula ematica, epatosplenomegalia, adenopatie sospette o un tasso di triptasi > 20 ng/ml, nessuno di essi è stato sottoposto alla biopsia osteomidollare.

Tutti i pazienti affetti da mastocitosi cutanea ad insorgenza in età adulta sono stati sottoposti ai seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, profilo

biochimico generale, assetto coagulativo e dosaggio della triptasi sierica. A questi pazienti, inoltre, è stata consigliata l'esecuzione dello striscio midollare e della biopsia osteomidollare per valutare la presenza di un eventuale coinvolgimento sistemico (vedi sopra algoritmo diagnostico) e, se necessario, la ricerca, attraverso indagini strumentali, dell'interessamento di altri organi da parte della malattia. Lo striscio e la biopsia osteomidollare sono state eseguite presso l'Ematologia del Policlinico "G.B.Rossi" – Università degli studi di Verona.

Lo striscio midollare, dopo colorazione con May-Grunwald-Giemsa, è stato attentamente esaminato per la presenza e l'eventuale percentuale di mastociti atipici. Le biopsie del midollo osseo, oltre all'indagine istologica con colorazioni Ematossilina-Eosina e Giemsa, sono state sottoposte all'analisi immunohistochimica usando anticorpi anti CD117, CD25, CD2 e triptasi mastocitaria.

Nei campioni midollari è stato, inoltre, eseguito uno studio immunofenotipico dei mastociti mediante esame citofluorimetrico; a tale scopo sono stati utilizzati i seguenti anticorpi monoclonali: CD25, CD2, CD45, CD34, CD117.

Su tali campioni è stata eseguita anche un'analisi molecolare per la ricerca di mutazioni attivanti note del gene c-kit mediante RT-PCR degli esoni 16, 17, 18 e digestione enzimatica con HinfI (Restriction Fragment Length Polymorphism). I frammenti così ottenuti sono stati visualizzati mediante separazione in gel di agarosio al 4% e colorazione con bromuro di etidio. La digestione con questo enzima della sequenza wild-type determina la formazione di frammenti di 171 e 116 bp. La mutazione puntiforme A>T in posizione 2468 (all'interno del frammento di 171 bp), responsabile della sostituzione di un acido aspartico con una valina nel codone 816 (D816V) introduce un nuovo sito di riconoscimento per HinfI; ne consegue la formazione di frammenti di 157 e 14 bp (figura 1).

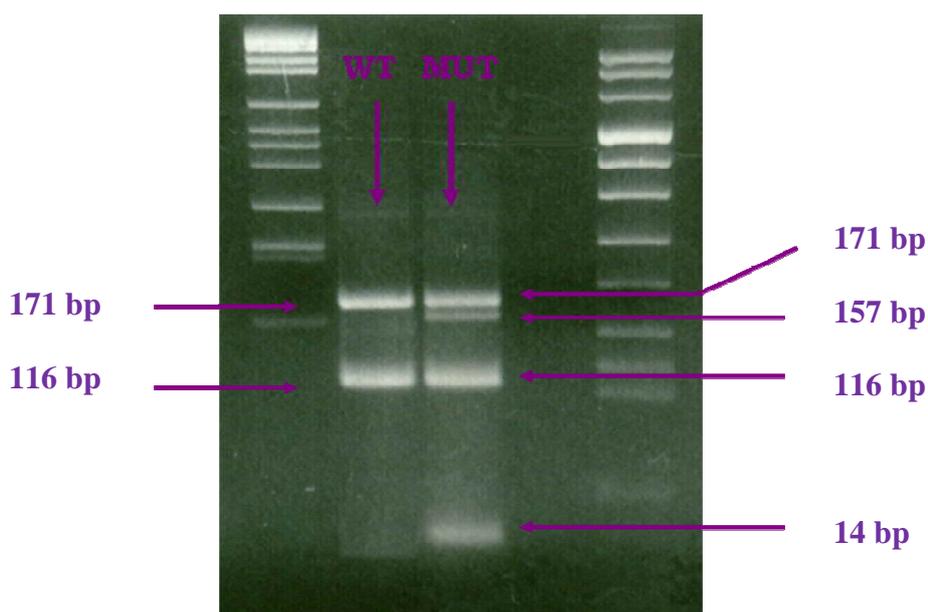


Figura 1: digestione enzimatica con HinfI (Restriction Fragment Length Polymorphism).

In 8 pazienti adulti è stata, inoltre, effettuata una seconda biopsia su cute lesionale al fine di eseguire l'analisi immunoistochimica.

1. ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA SU CUTE LESIONALE

I campioni di cute sono stati inclusi con OCT compound (Lab. Tek Division, Miles Laboratories, Naperville, IL, USA), congelati in azoto liquido e conservati a -80°C . Per l'analisi immunoistochimica sono state utilizzate sezioni congelate di 4-6 micron ottenute mediante un criostato Reichart e poste su vetrini pretrattati con poli-L-lysina. Le sezioni congelate di cute normale e patologica sono state fatte asciugare a temperatura ambiente per 24 ore e quindi fissate in acetone per 2 minuti a -20 gradi. Per l'analisi immunoistochimica è stato utilizzata la tecnica APAAP (fosfatasi alcalina-anti-fosfatasi alcalina) (39) (Figura 2).

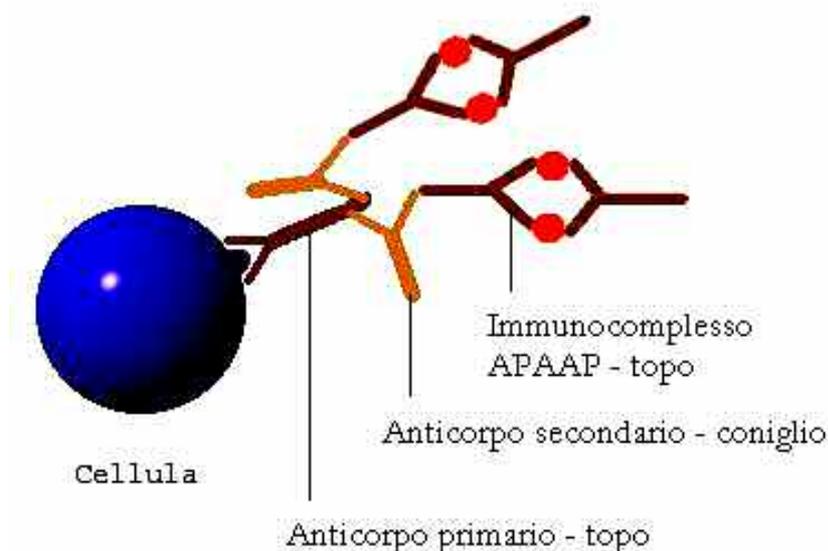


Figura 2: tecnica APAAP.

Dopo la fissazione, le sezioni sono state lavate con TBS pH 7,6 pre-incubate per 10 minuti con siero di topo normale al 10% in TBS, per inibire i legami aspecifici delle Ig di topo, e successivamente con gli anticorpi monoclonali ad appropriate diluizioni per tutta la notte in camera umida a 4°C . I seguenti anticorpi monoclonali sono stati utilizzati nello studio: CD1a (clone NA1/34, DAKO, Glostrup, Denmark), CD3 (clone UCHT1, DAKO), CD4 (clone MT310, DAKO), CD8 (clone DK25, DAKO), CD19 (clone HD37 DAKO), BCL2, FAS, FAS ligando; è stato, inoltre, utilizzato l'anticorpo policlonale anti triptasi mastocitaria.

Dopo tre lavaggi di 1-2 minuti in TBS a pH 7,6, un'immunoglobulina di coniglio anti-topo (Dakopatts) (diluizione 1:25) è stata applicata sulle sezioni per 30 minuti in camera umida a temperatura ambiente. Dopo tre lavaggi in TBS pH 7,6 le sezioni sono state incubate con APAAP-complex (Dakopatts) (diluizione 1:20) per 30 minuti in camera umida a temperatura ambiente. Dopo 3 lavaggi per 1-2 minuti in TBS pH 7,6 le sezioni sono state incubate con il substrato per la fosfatasi alcalina. Tale substrato è stato preparato sciogliendo 20 mg di naftolo-AS-MX-fosfato (Sigma) in 2 ml di dimetilformamide, e poi aggiungendo 100 ml 0,1M di TBS, pH 8,2 contenente 100 mg di fast red TR Salt (Sigma) e 1mM di Levamisole (Sigma) per bloccare l'attività della fosfatasi alcalina endogena. Questo composto è stato filtrato utilizzando un filtro da 0,2 micron direttamente sui vetrini e mantenuto per 15-20 minuti sui vetrini. Dopo tre ulteriori lavaggi con TBS, seguiti da un lavaggio per 5 minuti con un getto d'acqua corrente al fine di bloccare la reazione, le cellule positive risultavano colorate rosso carminio. Le sezioni sono state quindi controcolorate con l'ematossilina di Mayer (BDH, Poole, UK) ed i vetrini copri-oggetto montati con Apathy medium (BDH).

Il numero di cellule epidermiche e dermiche positive per ciascun anticorpo è stato espresso mediante punteggio + (basso), ++ (moderato), +++ (alto).

I controlli sani, che sono risultati invariabilmente negativi, sono stati eseguiti omettendo l'anticorpo primario oppure rimpiazzandolo con irrilevanti mAbs di identico isotipo ma diversa specificità.

2. ANALISI STATISTICA

L'analisi statistica dei dati raccolti è stata eseguita utilizzando il software S.P.S.S. per Windows (Statistical Packages for Social Sciences).

I risultati ottenuti sono espressi come dati ordinali e tali dati sono stati analizzati con il test del χ^2 di Pearson e, quando necessario, con il test esatto di Fischer.

Un P-value inferiore a 0,05 è stato considerato significativo.

RISULTATI

Dal 2006 al 2008 sono giunti alla nostra osservazione 54 (F:M 29:25) pazienti affetti da mastocitosi cutanea (MC); di questi, 45 (F:M 24:21) sono pazienti pediatrici e 9 (F:M 6:3) sono pazienti adulti.

Il rapporto F:M dell'intero campione è 1,2:1.

L'età media dei pazienti pediatrici e adulti è risultata rispettivamente di $2,2 \pm 2,4$ e $34,3 \pm 7,9$ anni.

Nella nostra casistica la malattia è insorta nell'infanzia (< 2 anni) in 43 (79,6%) pazienti, nel bambino (2-15 anni) in 2 (3,7%) pazienti e in età adulta (>15 anni) in 9 (16,7%) pazienti (Figura 1).

In particolare, abbiamo osservato che nel 26,7% dei nostri pazienti pediatrici la malattia è congenita e nel 48,9% insorge nei primi 6 mesi di vita.

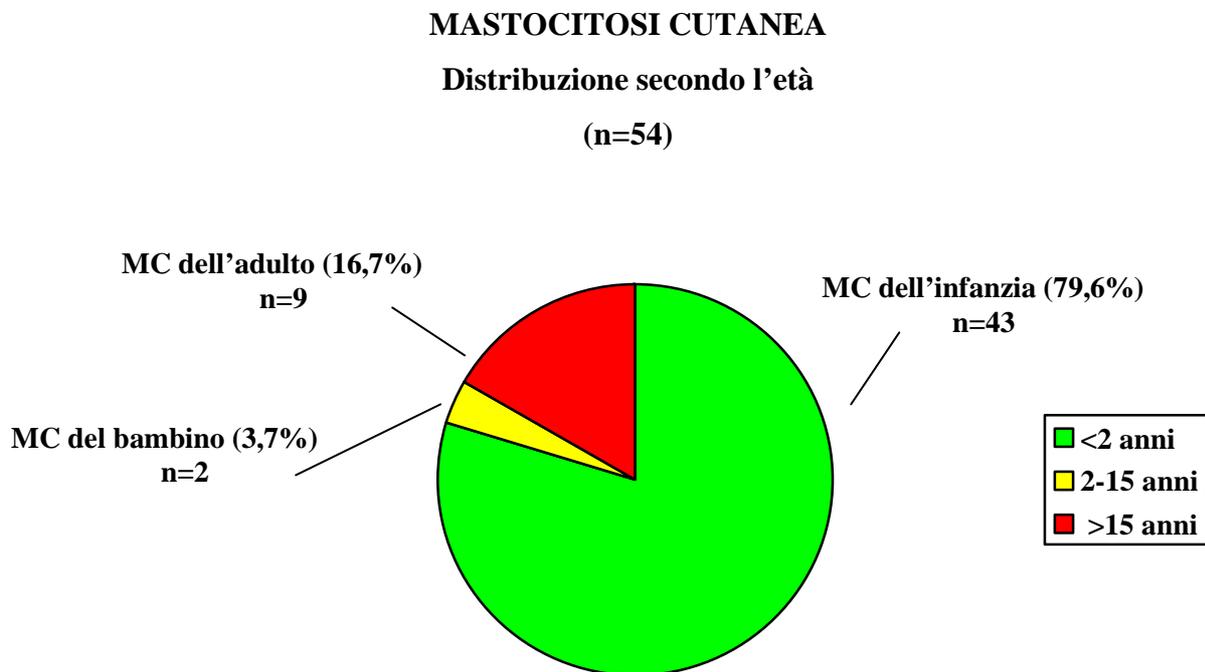


Figura 1: distribuzione di MC secondo l'età di insorgenza nella nostra popolazione.

Solo un paziente riferisce familiarità per mastocitosi (vedi sezione "Un caso di mastocitosi familiare"); tutti gli altri casi sono sporadici.

Dei 54 pazienti affetti da mastocitosi cutanea, 31 (57,4%) sono stati classificati come mastocitomi, 22 (40,7%) come orticaria pigmentosa e 1 come teleangectasia macularis eruptiva perstans; dei 31 pazienti con mastocitoma, 27 presentavano lesioni solitarie e 4 lesioni multiple (Tabella 1).

I **mastocitomi solitari o multipli** si presentano in genere come noduli o placche di colorito giallo-arancio o bruno e dimensioni variabili; nella nostra casistica, il 12,9% dei pazienti mostra lesioni nodulari e l'87,1% lesioni in placca di dimensioni variabili tra 5 mm-3 cm.

Tabella 1. Forme cliniche di MC nella nostra popolazione.

Diagnosi	Numero pazienti	% pazienti
Mastocitoma solitario	27	50%
Mastocitoma multiplo	4	7,4%
Orticaria pigmentosa	22	40,7%
Teleangectasia macularis eruptiva perstans	1	1,9%

L'**orticaria pigmentosa**, caratterizzata da macule e/o papule di piccole dimensioni e colorito rosso-violaceo tendente al bruno, si presenta nel 31,8% dei nostri pazienti solo con elementi maculosi e nel 63,7% con la contemporanea presenza di macule e papule di dimensioni variabili tra 2-15 mm. In un solo paziente abbiamo osservato la variante in papule/placche di colore giallastro con aspetto xantelasmoideo.

Infine, la **teleangectasia macularis eruptiva perstans** (TMEP), caratterizzata da piccole (2-5 mm) macule teleangectasiche di colorito rosso-bruno, è stata riscontrata in un solo caso.

Non abbiamo osservato nessun caso di mastocitosi cutanea diffusa.

Abbiamo, quindi, analizzato la distribuzione delle diverse forme cliniche di mastocitosi cutanea in rapporto al sesso e all'età di insorgenza (Tabella 2).

Tabella 2. Distribuzione di MC in rapporto al sesso e all'età di insorgenza.

Tipo di CM		Età insorgenza	
		Bambino	Adulto
Mastocitoma solitario	F	15	-
	M	12	-
	totale	27	-
Mastocitoma multiplo	F	1	-
	M	3	-
	totale	4	-
Orticaria pigmentosa	F	8	5
	M	6	3
	totale	14	8
TMEP	F	-	1
	M	-	-
	totale	-	1

Non è stata riscontrata nessuna differenza statisticamente significativa tra la distribuzione della mastocitosi cutanea ed il sesso, mentre si può osservare come la diagnosi di mastocitoma solitario o multiplo interessi esclusivamente i pazienti pediatrici ($p < 0,0001$ con il test esatto di Fisher). La localizzazione delle lesioni è stata valutata nei 54 pazienti ed è riportata nella Tabella 3.

Tabella 3. Distribuzione delle lesioni in rapporto al tipo di MC.

Sede	Mastocitoma (n=31)	Orticaria pigmentosa (n=22)
testa /collo	6 (19,3%)	1 (4,6%)
tronco + arti	-	12 (54,5%)
solo tronco	13 (41,9%)	9 (40,9%)
solo arti	12 (38,8%)	-

Il mastocitoma si localizza con frequenza simile al tronco (nel 41,9% dei casi) ed alle estremità (nel 38,8% dei casi). Nei pazienti affetti da orticaria pigmentosa la maggior parte delle lesioni cutanee risultano distribuite al tronco; nessun paziente presenta il coinvolgimento delle regioni palmo-plantari.

La presenza del segno di Darier (edema, eritema e spesso prurito dopo sfregamento della lesione cutanea) è stata valutata in tutti i nostri pazienti ed esso è risultato positivo nella quasi totalità dei casi (98%); tale segno è, invece, risultato negativo nel paziente affetto da teleangectasia eruptiva macularis perstans. Pertanto, il segno di Darier può essere considerato evocativo e diagnostico di mastocitosi.

Tutte le forme cliniche di mastocitosi possono presentare sintomi cutanei e/o sistemici legati in gran parte al rilascio di mediatori da parte dei mastociti, all'infiltrazione tissutale mastocitaria e/o alla presenza di disordini ematologici associati (Tabella 4).

Nella nostra casistica i sintomi cutanei più comuni sono risultati il prurito (44,4%), la formazione di bolle (31,5%), il flushing (14,8%) e gli episodi di orticaria (16,7%). La formazione di bolle in sede di lesione è stata osservata esclusivamente in età pediatrica (bambini vs adulti 37,8% vs 0%, $p=0,04$ con il test esatto di Fisher) e in particolare nei bambini di età inferiore a 3 anni ($p=0,04$ con il test χ^2 di Pearson); inoltre, la formazione di bolle risulta più frequente in maniera statisticamente significativa nei bambini affetti da mastocitoma solitario o multiplo rispetto a quelli affetti da orticaria pigmentosa (48,4% vs 14,3% $p=0,03$ con il test χ^2 di Pearson).

Tabella 4. Sintomi cutanei e sistemici associati con MC.

Sintomi cutanei
Segno di Darier (presente praticamente in tutte le MC fatta eccezione di TMEP)
Prurito (44,4%)
Bolle (31,5% solo in bambini < 3 anni di età)
Flushing (14,8%)
Episodi di orticaria (16,7%)
Sintomi sistemici
Gastrointestinali (nausea, diarrea, vomito, pirosi, dolore addominale)
Cardiovascolari (ipotensione, palpitazioni, shock)
Osteoarticolari (dolore osseo, fratture spontanee)
Neurologici (cefalea, sincopi ricorrenti, irritabilità, difficoltà di concentrazione)
Ematologici (raramente sanguinamento)

L'attivazione mastocitaria può anche essere la causa di sintomi extracutanei come stanchezza, dolori addominali associati a vomito e diarrea, cefalee, sincopi ricorrenti, ipotensione e dolori ossei. Nella nostra casistica, il 22,2% dei pazienti adulti e l'11% dei pazienti pediatrici riferisce la presenza di sintomi sistemici; va sottolineato che la scarsità del campione dei pazienti adulti non permette di evidenziare differenze statisticamente significative.

La comparsa dei sintomi cutanei ed extra-cutanei può avvenire spontaneamente o a seguito di vari stimoli inducenti la degranolazione mastocitaria.

Il 79,6% dei nostri pazienti riferisce, infatti, la comparsa di sintomi cutanei e/o sistemici in seguito a stimoli di origine fisica, psichica, alimentare e in seguito all'assunzione di alcuni farmaci. Gli stimoli fisici quali sfregamenti, fattori termici, traumi, attività fisica sono stati riscontrati nel 77,8% dei nostri pazienti, risultando i più frequenti fattori scatenanti la sintomatologia; a seguire l'assunzione di cibi istamino-liberatori (9,4%), gli stimoli emozionali (5,6%) e l'assunzione di farmaci (3,7%). Altri stimoli come la febbre e le infezioni intercorrenti risultano essere fattori scatenanti nel 20% dei bambini e nell'11% degli adulti.

In 11 pazienti, 9 adulti e 2 bambini, la diagnosi clinica è stata confermata dall'analisi istopatologica; nei restanti casi, tutti pediatrici, la diagnosi è stata formulata sulla base del fenotipo clinico, in accordo con la classificazione WHO della mastocitosi. Per quanto riguarda l'analisi istopatologica delle lesioni, il comune denominatore di tutte le varianti di mastocitosi cutanea è la presenza di un infiltrato mastocitario che può essere evidenziato con colorazione Giemsa o Blu di toluidina e/o con

tecniche immunohistochimiche che utilizzano anticorpi anti c-kit (CD117) e anti triptasi mastocitaria (figura 2).

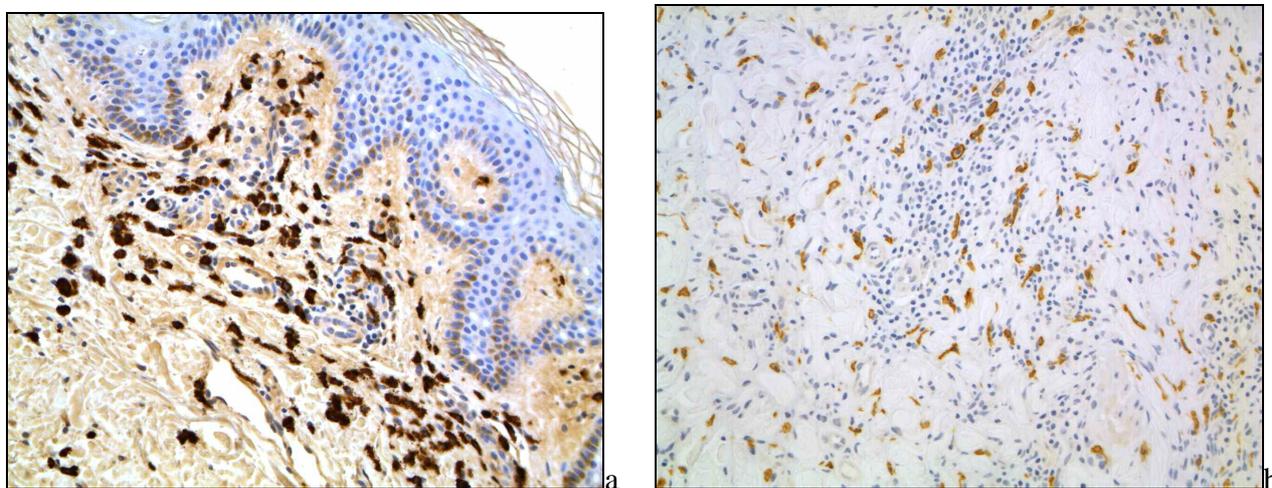


Figura 2: a) immunohistochimica con anticorpi anti triptasi mastocitaria e b) anti c-kit (CD117).

Tutti i nostri pazienti hanno eseguito il dosaggio della triptasi sierica che è risultata nella norma (1-15 ng/ml) in tutti i pazienti pediatrici, mentre elevata (> 20 ng/ml) in 6 dei 9 pazienti adulti.

A tutti i pazienti adulti è stata consigliata l'esecuzione di uno striscio midollare e di una biopsia osteomidollare per valutare la presenza di un eventuale coinvolgimento sistemico e, se necessario, la ricerca, attraverso indagini strumentali, dell'interessamento di altri organi da parte della malattia.

Dei 9 pazienti adulti 6, di cui 3 con livelli sierici di triptasi > 20 ng/ml, 1 con triptasi borderline (17,2 ng/ml) e 2 con triptasi nella norma hanno eseguito la biopsia osteomidollare. In 3 pazienti con triptasi aumentata non è stato possibile effettuare tale indagine per svariate ragioni (rifiuto da parte del paziente, indagine non ancora eseguita).

La diagnosi di mastocitosi sistemica è stata confermata nel 44,5% dei pazienti adulti, esclusa nel 22,2% e non indagata nel 33,3% dei casi (Figura 3).

Dal momento che l'interessamento sistemico non è frequente nel bambino e che nessuno dei nostri pazienti pediatrici presentava anomalie della formula ematica, epatosplenomegalia, adenopatie sospette o un tasso di triptasi > 20 ng/ml, non abbiamo ritenuto opportuno sottoporre tali pazienti a biopsia osteomidollare.

MASTOCITOSI CUTANEA

Coinvolgimento sistemico

Adulti >15 anni

(n=9)

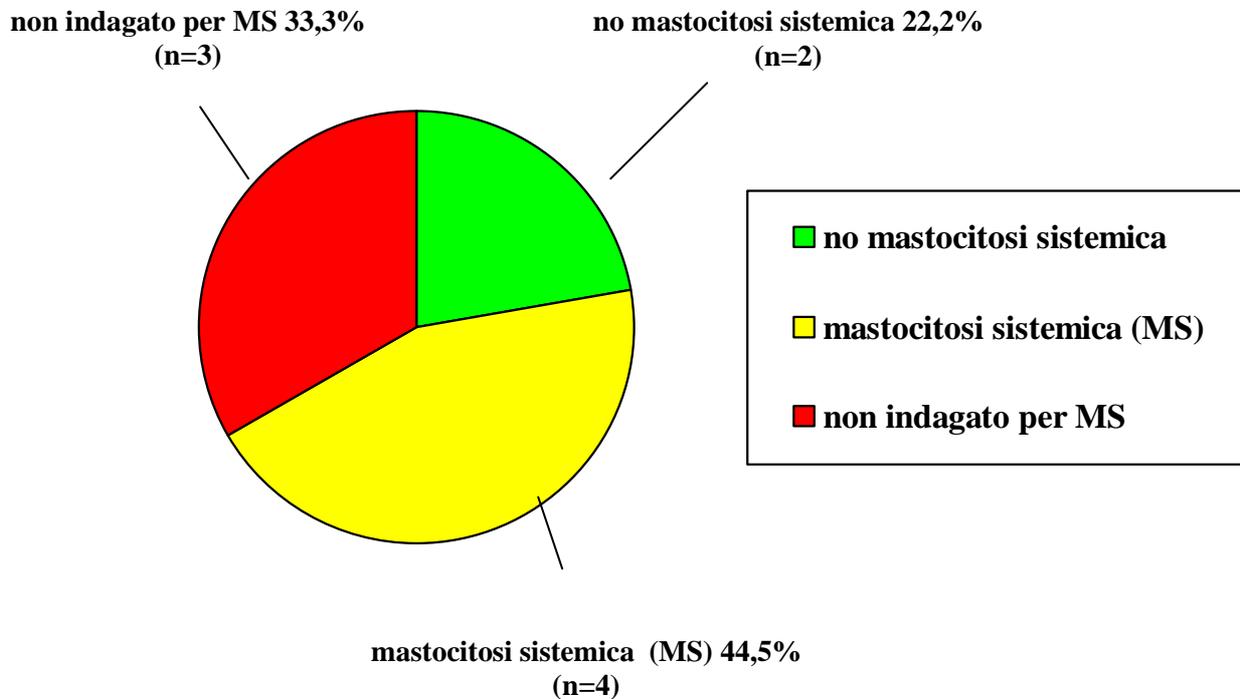


Figura 3: coinvolgimento sistemico nei pazienti adulti con mastocitosi cutanea.

In 8 pazienti adulti, che saranno qui di seguito descritti, è stata effettuata una seconda biopsia su cute lesionale al fine di eseguire l'analisi immunohistochimica.

CASO 1

Il paziente L.B., maschio di 46 anni, presenta dall'età di 21 anni numerose lesioni maculo-papulose di colorito rosso-violaceo tendente al bruno, di piccole dimensioni (2-5 mm), localizzate inizialmente al collo e alla regione inguinale e poi diffuse al tronco e agli arti, con risparmio del volto (Figura 4). Da circa 2 anni non si verifica la comparsa di nuove lesioni.

Il paziente riferisce lieve prurito e nega la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta francamente positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento) e alimentare (assunzione di alcolici e di cibi istamino-liberatori).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.



Figura 4

Il paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma, tranne il PRIST (301 kU/L) e la triptasi sierica (68,7 ng/ml).

Il paziente è stato sottoposto a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunohistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato la diagnosi clinica di orticaria pigmentosa evidenziando un'iperplasia e un'iperpigmentazione degli strati basali dell'epidermide con un infiltrato mastocitario perivascolare superficiale. Anche le colorazioni immunohistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

L'espressione della proteina Bcl-2 risulta particolarmente marcata in corrispondenza dei cheratinociti dello strato basale. Inoltre, tale proteina risulta fortemente espressa nel compartimento dermico in corrispondenza delle cellule infiammatorie perivasali (figura 5).

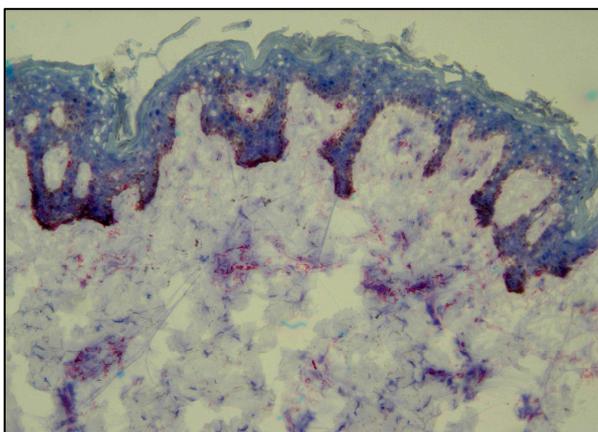


Figura 5: espressione della proteina Bcl-2.

L'espressione di Fas-L si osserva solo in corrispondenza del compartimento dermico ed in particolare in sede perivasale (Figura 6).

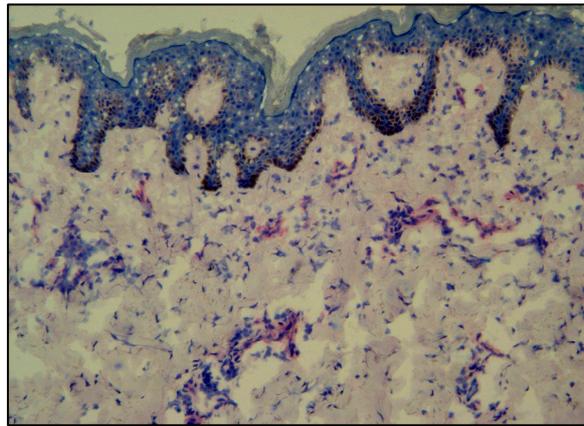


Figura 6: espressione di Fas-L.

La molecola Fas si osserva in corrispondenza dello strato basale e focalmente in corrispondenza dello strato spinoso (Figura 7).

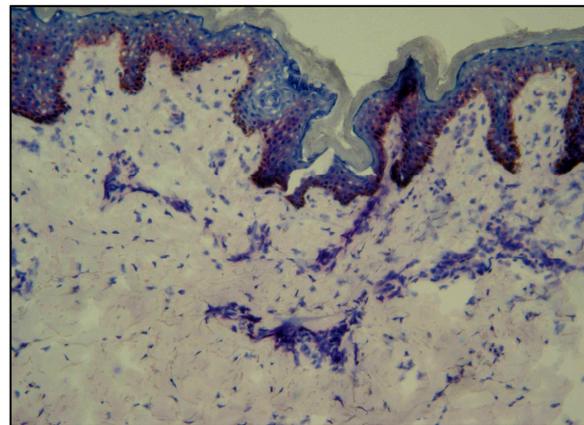


Figura 7: espressione del recettore Fas.

L'utilizzo di sezioni seriali marcate con anticorpi anti triptasi mastocitaria ed anti CD3 (recettore pan-T) evidenzia come tali cellule infiammatorie perivasali esprimenti le molecole Bcl-2 e Fas-L siano rappresentate da linfociti T. Tali linfociti sono prevalentemente CD4+ (rapporto CD4:CD8=3:1); mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

Inoltre, in corrispondenza del compartimento epidermico vi è un marcato aumento delle cellule CD1 positive (cellule di Langerhans) se rapportate alle loro presenza nella cute normale. Rare cellule dendritiche dermiche sono anche osservabili in sede perivasale.

Al paziente è stata consigliata l'esecuzione di uno striscio midollare e di una biopsia osteomidollare per escludere un eventuale coinvolgimento sistemico; tuttavia, per ora, è stato possibile effettuare solamente lo studio immunofenotipico mediante esame citofluorimetrico dei mastociti midollari risultato negativo. Inoltre, il paziente è stato sottoposto a prelievo di sangue periferico e a biopsia cutanea per la ricerca di mutazioni del gene c-kit. La ricerca della mutazione D816V su cellule mononucleate di sangue periferico e su infiltrato mastocitario cutaneo, mediante analisi di restrizione con HinfI, ha dato esito positivo in entrambi i tessuti analizzati.

CASO 2

La paziente M.A.T., femmina di 45 anni, presenta dall'età di 34 anni numerose lesioni maculopapulose di colorito rosso-bruno, dimensioni variabili tra 2-5 mm di diametro, inizialmente localizzate al tronco e successivamente diffuse agli arti inferiori (Figura 8).



Figura 8

Tali lesioni vengono riferite in progressivo aumento numerico.

La paziente riferisce episodi di flushing e nega la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento, cambiamenti di temperatura, punture d'insetto) e psichica (stress).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.

La paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma tranne la triptasi sierica (52,7 ng/ml).

La paziente è stata sottoposta a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunoistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato la diagnosi clinica di orticaria

pigmentosa evidenziando nel derma la presenza di un infiltrato mastocitario prevalentemente periannessiale. Anche le colorazioni immunohistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

In questo caso, la proteina Bcl-2 risulta espressa solo nel compartimento dermico in corrispondenza delle cellule infiammatorie perivasali verosimilmente rappresentate da linfociti T (Figura 9). Questo viene confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti hanno un rapporto CD4:CD8=2:1; mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

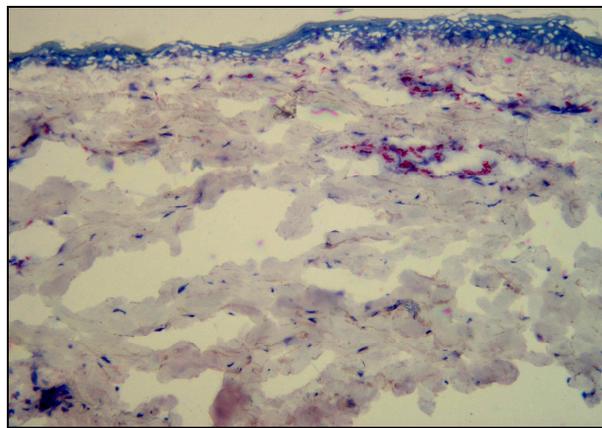


Figura 9: espressione della proteina Bcl-2.

Come nel caso 1, l'espressione di Fas-L si osserva solo in corrispondenza del compartimento dermico ed in particolare in sede perivasale (Figura 10).

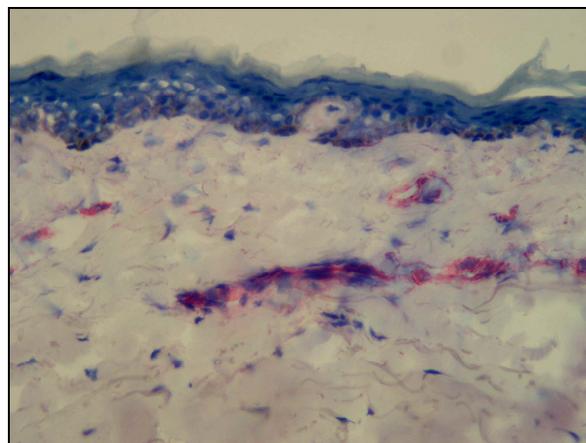


Figura 10: espressione di Fas-L.

La molecola Fas si osserva, anche se in misura minore rispetto al caso precedente, in corrispondenza dello strato basale dell'epidermide (Figura 11).

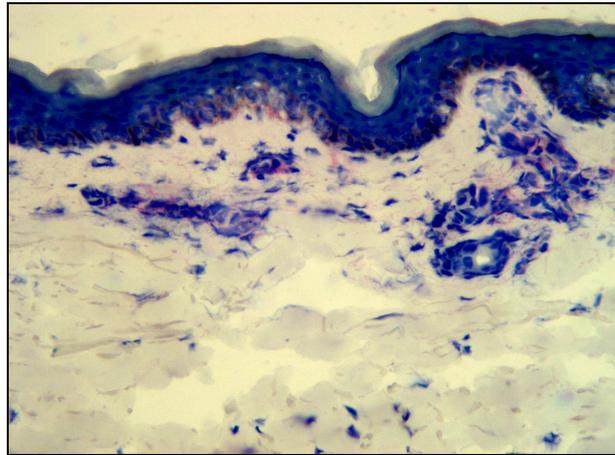


Figura 11: espressione del recettore Fas.

In corrispondenza del compartimento epidermico si apprezza un lieve aumento delle cellule CD1 positive; rare cellule dendritiche dermiche sono anche osservabili in sede perivasale.

La paziente ha eseguito lo striscio midollare, che ha evidenziato la presenza di mastociti atipici, e la biopsia osteomidollare. Quest'ultima è risultata positiva per la localizzazione midollare della mastocitosi evidenziando la presenza di aggregati di mastociti fusati CD25 positivi. Lo studio immunofenotipico mediante esame citofluorimetrico dei mastociti midollari ha, inoltre, dimostrato la presenza di 0,158% di mastociti coesprimenti le molecole CD2 e CD25.

E' stata, pertanto, completata la stadiazione della malattia con le seguenti indagini strumentali: ecografia addome completo e densitometria ossea risultate nella norma.

L'analisi mutazionale eseguita sul campione midollare mediante analisi di restrizione con HinfI ha evidenziato la presenza della mutazione D816V.

CASO 3

La paziente M.P., femmina di 34 anni, presenta dall'età di 28 anni numerose lesioni maculo-papulose di colorito rosso-bruno, dimensioni variabili tra 2-3 mm di diametro, inizialmente localizzate all'addome e poi diffuse a tutto il tronco e al collo (Figura 12).

La paziente riferisce prurito e nega la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.



Figura 12

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento, cambiamenti di temperatura, fotosposizione) e alimentare (assunzione di alcolici).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.

La paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma tranne la triptasi sierica (102 ng/ml).

La paziente è stata sottoposta a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunoistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato il sospetto clinico di mastocitosi cutanea evidenziando nel derma superficiale in sede perivasale un aumento del numero dei mastociti. Anche le colorazioni immunoistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

Come nel caso 2, l'espressione della proteina Bcl-2 si osserva solo nel compartimento dermico in corrispondenza delle cellule infiammatorie perivasali probabilmente rappresentate da linfociti T (Figura 13). Dato confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti sono prevalentemente CD4+ (rapporto CD4:CD8=4:1); mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

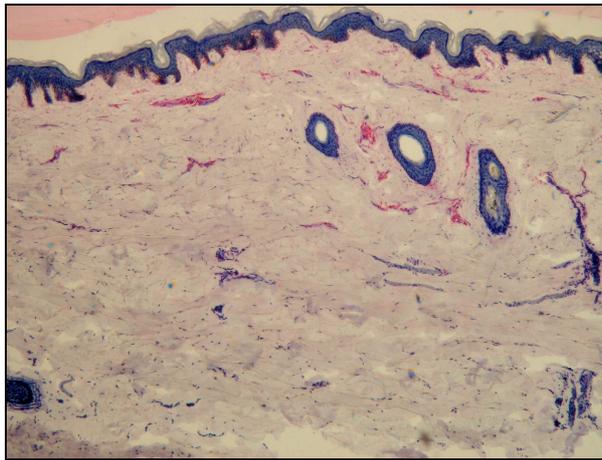


Figura 13: espressione della proteina Bcl-2.

Anche in questo caso, l'espressione di Fas-L si osserva solo in corrispondenza del compartimento dermico ed in particolare in sede perivasale (Figura 14).

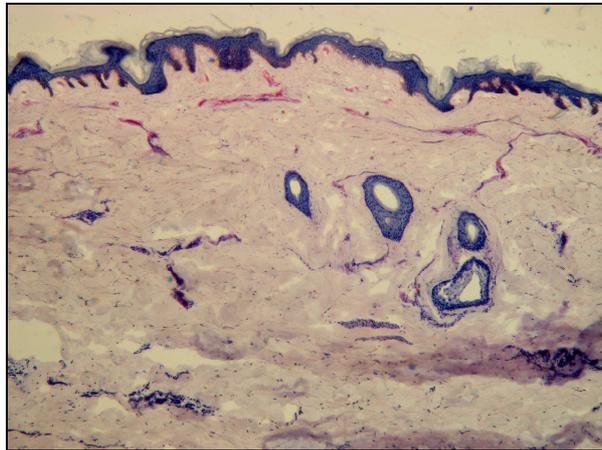


Figura 14: espressione di Fas-L.

Diversamente dai casi 1 e 2, la molecola Fas si osserva solo in corrispondenza del derma ed in particolare in sede perivasale (Figura 15).

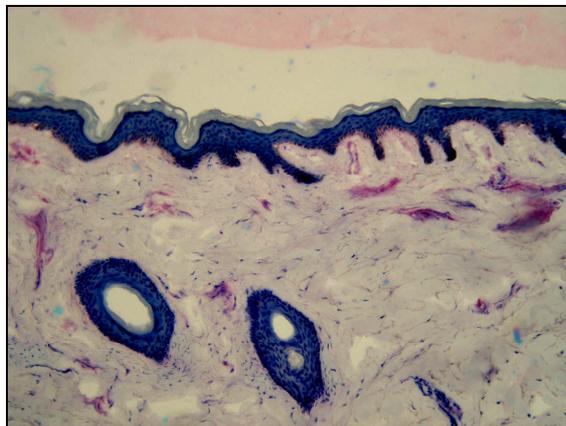


Figura 15: espressione del recettore Fas.

In corrispondenza del compartimento epidermico si apprezza un aumento delle cellule CD1 positive; esse risultano assenti nel compartimento dermico.

La paziente ha eseguito lo striscio midollare, che ha evidenziato la presenza di mastociti atipici, e la biopsia osteomidollare. Quest'ultima è risultata positiva per la localizzazione midollare della mastocitosi e ha dimostrato la presenza di aggregati di mastociti fusati CD25 positivi. Lo studio immunofenotipico mediante esame citofluorimetrico dei mastociti midollari ha, inoltre, riscontrato la presenza di 0,100% di mastociti coesprimenti le molecole CD2 e CD25.

E' stata, pertanto, completata la stadiazione della malattia con le seguenti indagini strumentali: ecografia addome completo e densitometria ossea risultate nella norma.

La ricerca della mutazione D816V sul campione midollare, mediante analisi di restrizione con HinfI, ha dato esito positivo.

CASO 4

Il paziente M.B., maschio di 39 anni, presenta da circa 5 anni la comparsa numerose lesioni maculose di colorito rosso-bruno, dimensioni variabili tra 2-5 mm di diametro, inizialmente localizzate al tronco e rapidamente diffuse agli arti (Figura 16).

Il paziente riferisce episodi di flushing e due episodi di orticaria senza causa nota; nega, invece, la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.



Figura 16

Il paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma tranne la triptasi sierica (69,2 ng/ml).

Il paziente è stato sottoposto a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunohistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato il sospetto clinico di mastocitosi cutanea evidenziando nel derma superficiale in sede perivasale un incremento dei mastociti. Anche le colorazioni immunohistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

Come nei casi 2 e 3, l'espressione della proteina Bcl-2 si osserva nel compartimento dermico soprattutto in corrispondenza dei linfociti perivasali CD3+ (figura 17). Tali linfociti hanno un rapporto CD4:CD8=2:1; mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

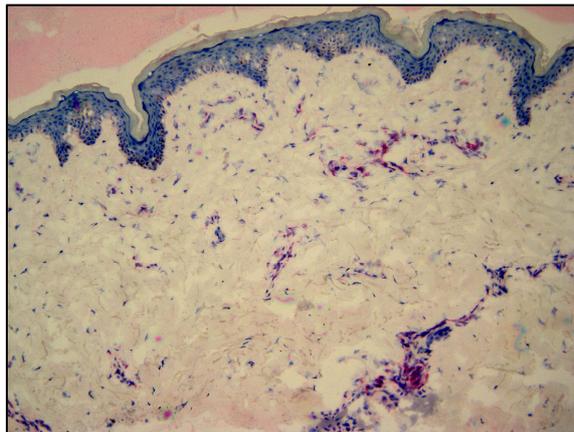


Figura 17: espressione della proteina Bcl-2.

Come nei casi precedenti, l'espressione di Fas-L si osserva in corrispondenza del compartimento dermico ed in particolare in sede perivasale (Figura 18).

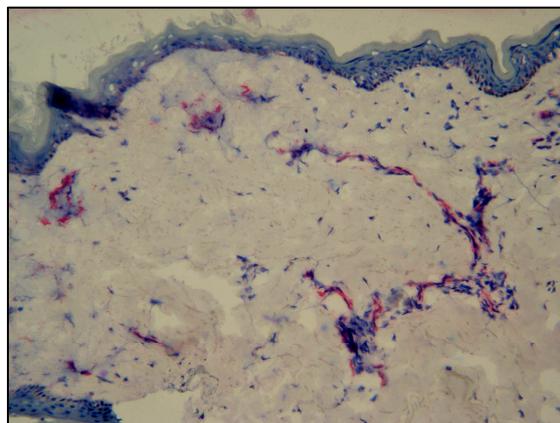


Figura 18: espressione di Fas-L.

In questo caso, l'espressione del recettore Fas non si osserva né a livello del compartimento epidermico né del derma.

In corrispondenza dell'epidermide vi è un aumento delle cellule CD1 positive; rare cellule dendritiche dermiche sono anche osservabili in sede perivasale.

Il paziente ha eseguito lo striscio midollare, che ha evidenziato la presenza di mastociti atipici, e la biopsia osteomidollare. Tale indagine è risultata positiva per la localizzazione midollare della mastocitosi e ha dimostrato la presenza di aggregati di mastociti fusati CD25 positivi. Lo studio immunofenotipico mediante esame citofluorimetrico dei mastociti midollari ha, inoltre, riscontrato la presenza di 0,116% di mastociti coesprimenti le molecole CD2 e CD25.

E' stata, pertanto, completata la stadiazione della malattia con le seguenti indagini strumentali: ecografia addome completo e densitometria ossea risultate nella norma.

L'analisi molecolare eseguita su campioni midollari mediante digestione enzimatica con HinfI ha evidenziato la presenza della mutazione D816V del gene c-kit.

CASO 5

La paziente I.F., femmina di 36 anni, presenta dall'età di 28 anni la comparsa di lesioni papulose di colorito giallo-bruno, con aspetto xantelasmoideo di circa 5 mm di diametro, localizzate al tronco ed agli arti con risparmio del volto (Figura 19).

La paziente non riferisce la presenza di sintomi cutanei e/o sistemici.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta debolmente positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie. Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi. Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa con aspetto xantelasmoideo.



Figura 19

La paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma.

La paziente è stata sottoposta a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunohistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, appare suggestivo per mastocitosi cutanea evidenziando un infiltrato dermico e numerosi elementi mastocitari nel derma superficiale in sede perivasale. Anche le colorazioni immunohistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

In questo caso, la proteina Bcl-2 risulta marcatamente e diffusamente espressa nel compartimento dermico in corrispondenza di un infiltrato infiammatorio probabilmente rappresentato da linfociti T (Figura 20). Questo viene confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti sono prevalentemente CD4+ (rapporto CD4:CD8=4:1); mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

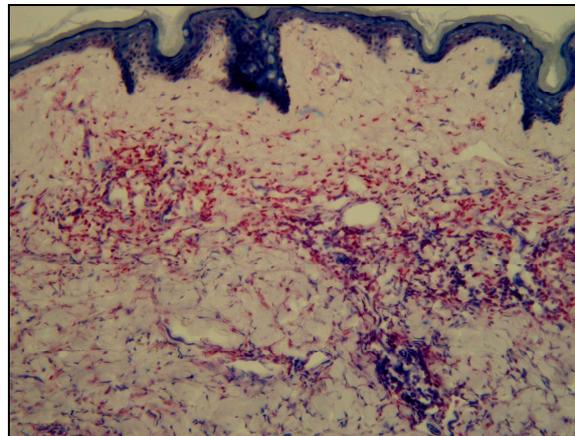


Figura 20: espressione della proteina Bcl-2.

L'espressione di Fas-L e del suo recettore risulta assente.

In corrispondenza del compartimento epidermico vi è un aumento delle cellule CD1 positive.

La paziente ha eseguito lo striscio midollare e la biopsia osteomidollare; entrambe sono risultate negative. Abbiamo ritenuto opportuno sottoporre la paziente ad un ecografia addome completo e a densitometria ossea, al fine di escludere un eventuale coinvolgimento extra-cutaneo da parte della malattia. Tali indagini strumentali sono risultate nella norma.

Anche la ricerca della mutazione D816V del c-kit ha dato esito negativo.

CASO 6

La paziente E.B., femmina di 33 anni, presenta dall'età di 30 anni la comparsa di piccole (3-5 mm) lesioni maculo-papulose di colorito rosso-bruno disseminate di teleangectasie localizzate al tronco (Figura 21).



Figura 21

La paziente riferisce a volte prurito e cefalee ricorrenti.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta negativo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura alimentare (assunzione di alcolici).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di teleangectasia macularis eruptiva perstans.

La paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma.

La paziente è stata sottoposta a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunoistochimica.

L'esame istologico è compatibile con la diagnosi clinica di teleangectasia macularis eruptiva perstans; esso evidenzia un'infiltrazione dermica perivascolare superficiale e reticolare, a manicotto, costituita da linfociti, plasmacellule e aumentato numero di mastociti.

ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

La proteina Bcl-2 risulta fortemente espressa nel compartimento dermico in corrispondenza delle cellule infiammatorie perivasali probabilmente rappresentate da linfociti T (Figura 22). Questo viene confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti hanno un rapporto CD4:CD8=1:1; mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

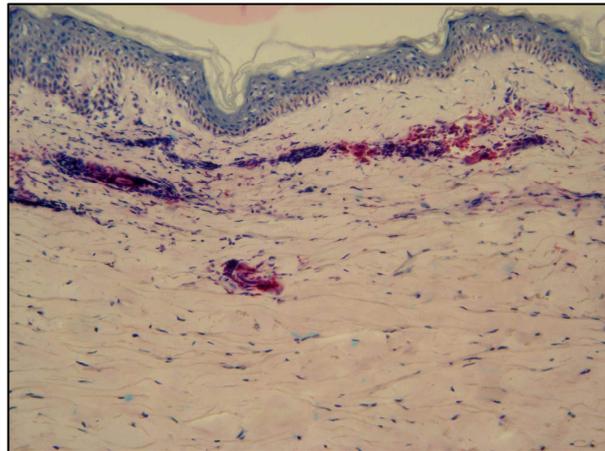


Figura 22: espressione della proteina Bcl-2.

Anche in questo caso l'espressione di Fas-L si osserva solo in corrispondenza del compartimento dermico in sede perivasale (Figura 23).

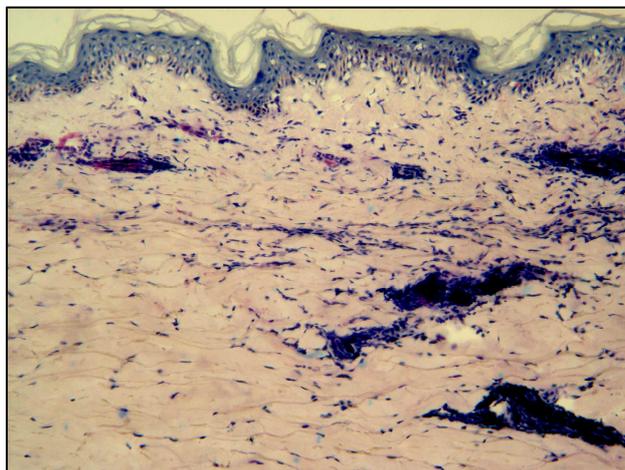


Figura 23: espressione di Fas-L.

Come nei casi 4 e 5, l'espressione del recettore Fas è assente.

In corrispondenza del compartimento epidermico si può osservare un aumento delle cellule CD1 positive.

La paziente ha eseguito lo striscio midollare e la biopsia osteomidollare. Entrambe le indagini sono risultate negative, così come la ricerca della mutazione D816V del c-kit. Abbiamo ritenuto opportuno sottoporre la paziente ad un'ecografia addome completo e a densitometria ossea, al fine di escludere un eventuale coinvolgimento extra-cutaneo da parte della malattia. Entrambe le indagini strumentali sono risultate nella norma.

CASO 7

Il paziente A.A., maschio di 28 anni, presenta da circa 8 anni numerose lesioni maculo-papulose di colorito rosso-bruno, dimensioni variabili tra 2-5 mm di diametro, localizzate al tronco e alla radice degli arti e progressivamente aumentate di numero. Da circa 2 anni non si verifica la comparsa di nuove lesioni.

Il paziente riferisce lieve prurito; nega, invece, la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.

Il paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma tranne la triptasi sierica (25,3 ng/ml).

Il paziente è stato sottoposto a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunoistochimica. L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato la diagnosi clinica di mastocitosi cutanea evidenziando una discreta infiltrazione di mastociti a livello del derma in sede dermica superficiale. Anche le colorazioni immunoistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

L'espressione della proteina Bcl-2 si osserva solo nel compartimento dermico in corrispondenza di un infiltrato infiammatorio probabilmente rappresentato da linfociti T (Figura 24). Dato confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti hanno un rapporto CD4:CD8=1:1; mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

L'espressione di Fas-L e del suo recettore risulta assente.

Inoltre, in corrispondenza del compartimento epidermico vi è un marcato aumento delle cellule CD1 positive.

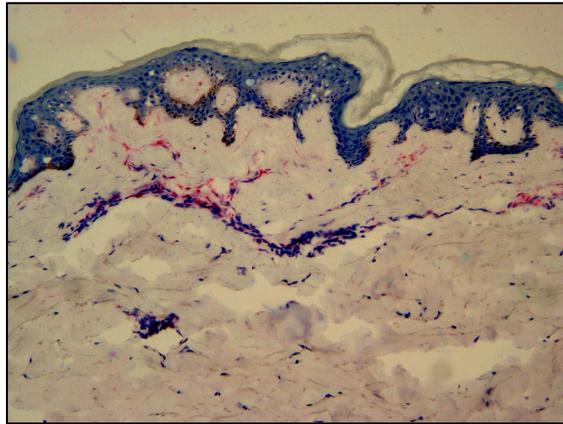


Figura 24: espressione della proteina Bcl-2.

E' stato consigliato al paziente di eseguire ulteriori indagini per escludere un eventuale coinvolgimento sistemico; tuttavia il paziente si è rifiutato di eseguirle.

CASO 8

La paziente M.V., femmina di 41 anni, presenta dall'età di 26 anni numerose lesioni maculo-papulose di colorito rosso-bruno, dimensioni variabili tra 2-3 mm di diametro, localizzate agli arti inferiori, al tronco e al collo (Figura 25).



Figura 25

La paziente riferisce lieve prurito e nega la presenza di sintomi sistemici associati.

All'esame obiettivo cutaneo il segno di Darier risulta lievemente positivo; mentre, non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie.

I fattori scatenanti la sintomatologia cutanea risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento, cambiamenti di temperatura).

Dall'anamnesi familiare non si rileva nessun parente affetto da mastocitosi.

Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.

La paziente ha eseguito i seguenti esami ematochimici: emocromo con formula, sottopopolazioni linfocitarie, assetto coagulativo, funzionalità epatica, PRIST (IgE totali) e triptasi sierica; risultati tutti nella norma tranne la triptasi sierica (42,7 ng/ml).

La paziente è stata sottoposta a biopsia cutanea per l'analisi istologica ed immunohistochimica.

L'esame istologico, eseguito con colorazione Giemsa, ha confermato il sospetto clinico di mastocitosi cutanea. Anche le colorazioni immunohistochimiche con anticorpi anti CD117 e anti triptasi sono risultate positive.

ANALISI IMMUNOISTOCHIMICA CON ANTICORPI ANTI CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, BCL-2, FAS, FAS-L e TRIPTASI MASTOCITARIA

L'espressione della proteina Bcl-2 risulta particolarmente marcata nel compartimento dermico in corrispondenza delle cellule infiammatorie perivasali probabilmente rappresentate da linfociti T (Figura 26). Questo viene confermato dalla positività su sezioni seriali delle stesse cellule per la molecola CD3 (recettore pan-T). Tali linfociti hanno un rapporto CD4:CD8=1:1; mentre, i linfociti B (CD19) sono assenti.

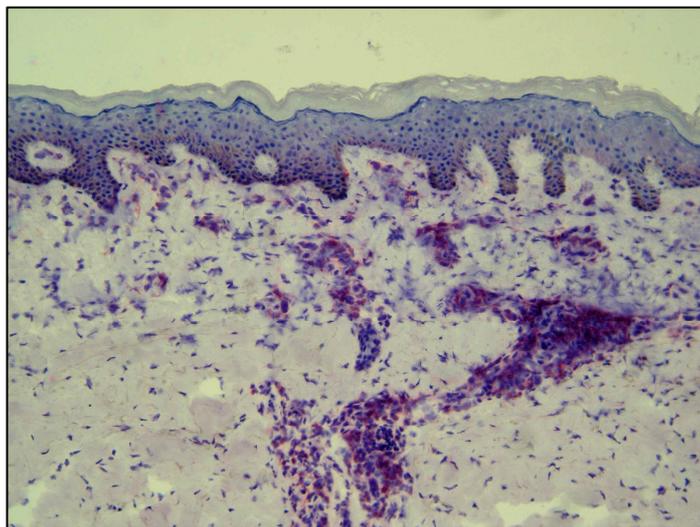


Figura 26: espressione della proteina Bcl-2.

L'espressione di Fas-L è diffusa focalmente nel compartimento dermico (figura 27).

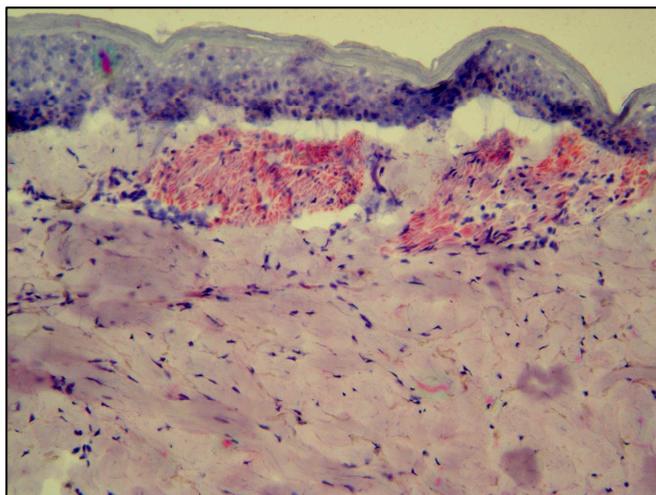


Figura 27: espressione di Fas-L.

L'espressione del recettore Fas risulta assente.

In corrispondenza del compartimento epidermico vi è un aumento delle cellule CD1 positive; rare cellule dendritiche sono anche osservabili nel compartimento dermico.

La paziente non ha ancora eseguito la biopsia osteomidollare e le indagini strumentali necessarie per escludere un eventuale coinvolgimento sistemico.

CASO DI MASTOCITOSI CUTANEA FAMILIARE

Tra i pazienti giunti alla nostra osservazione, abbiamo seguito un caso di mastocitosi cutanea familiare in cui la malattia coinvolge un'unica generazione; l'albero genealogico di tale famiglia è mostrato in figura 28.

La paziente III:3, bambina di 8 anni, è giunta alla nostra osservazione in quanto dall'età di circa 1 anno presenta al tronco ed alla radice degli arti piccole e numerose lesioni maculari brunastre; il segno di Darier risulta positivo. Il quadro clinico descritto è compatibile con una forma di orticaria pigmentosa.

I genitori riferiscono la presenza di prurito, episodi di flushing e formazione di bolle in sede di lesione soprattutto nei primi anni di vita; vengono riportati anche saltuari episodi di dolore addominale. I fattori scatenanti la sintomatologia risultano essere prevalentemente di natura fisica (sfregamento, cambiamento di temperatura), alimentare (assunzione di cibi istamino-liberatori) e psichica (stress).

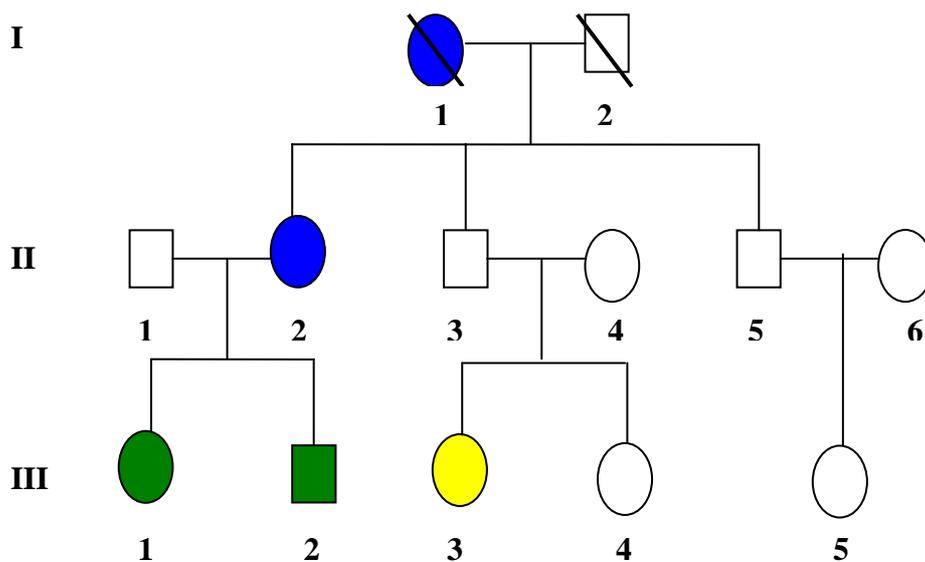
Anche due cugini paterni di primo grado (probando III:1 e III:2) risultano affetti da mastocitosi cutanea.

Al soggetto III:1, femmina di 21 anni, in età infantile è stata diagnosticata clinicamente ed istologicamente un'orticaria pigmentosa; le lesioni cutanee sono progressivamente regredite a partire dai 15 anni e, ad oggi, la malattia si è completamente risolta.

Il paziente III:2, maschio di 18 anni, fratello di III:1, presenta anch'esso un quadro cutaneo compatibile con orticaria pigmentosa confermato dall'esame istopatologico; da circa un anno riferisce una progressiva e graduale autorisoluzione della malattia.

In tutti i 3 probandi, all'esame obiettivo non si apprezzano epatosplenomegalia e/o linfadenomegalie; la formula ematica ed il dosaggio della triptasi plasmatica sono risultati nella norma.

I fratelli III:1 e III:2, così come la madre (II:2) e la nonna materna (I:1), sono affetti anche da vitiligine.



- ◆ orticaria pigmentosa
- ◆ vitiligine
- ◆ orticaria pigmentosa + vitiligine

Figura 28: albero genealogico di famiglia affetta da orticaria pigmentosa e vitiligine.

Ai probandi ed ai loro familiari (I:2, II:2, II:3, II:4, III:4) sono stati prelevati 5 ml di sangue venoso in provetta con EDTA da cui è stato estratto il DNA mediante procedure standard.

Nei probandi III:1 e III:2 e nei loro genitori II:1 e II:2 è stata eseguita un'analisi di linkage nella regione genomica del cromosoma 12 in corrispondenza del gene SCF (kit-ligand) (12q22). Tale analisi è stata effettuata mediante screening di tre loci microsatelliti (D12S346, D12S1657, D12S1706) localizzati in posizione vicina al locus del gene SCF.

La figura 29 mostra che i due fratelli III:1 e III:2 hanno ereditato dalla linea materna (indicata come la linea portatrice del contesto di predisposizione familiare) due aplotipi differenti, escludendo pertanto un coinvolgimento della regione indicata nel determinare il contesto sindromico evidenziato.

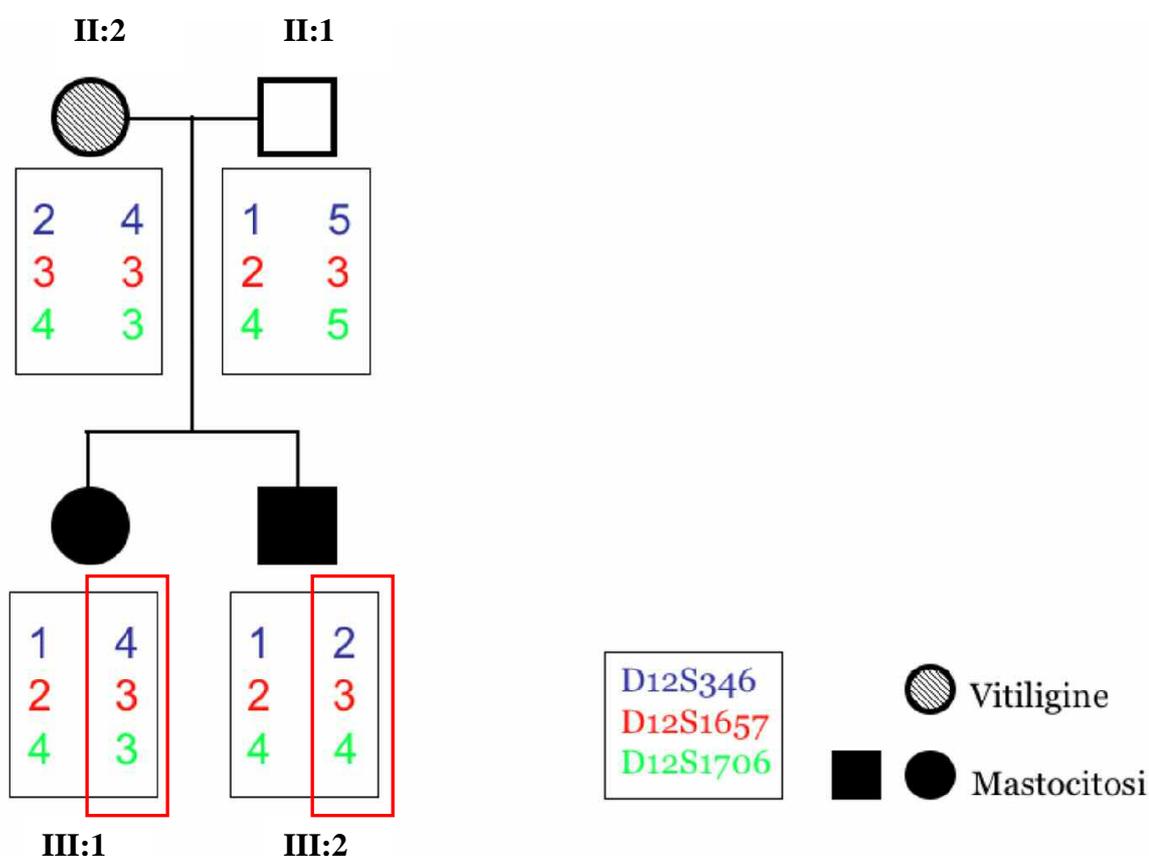


Figura 29: analisi di linkage nella regione genomica del gene SCF.

Inoltre, ai probandi ed ai loro familiari (I:2, II:2, II:3, II:4, III:4) gli esoni 8, 9, 11, 13, 14, 15 e 17 del gene c-kit sono stati amplificati mediante PCR utilizzando dei primers specifici disegnati sulla base di sequenze pubblicate; successivamente si è proceduto al sequenziamento.

I membri della famiglia esaminati presentano la medesima sequenza wild type negli esoni 8, 9, 11, 13, 14 e 15; abbiamo quindi escluso la presenza di mutazioni genomiche in tali regioni del gene c-

kit. È tuttora in corso l'analisi di altri esoni, in particolare dell'esone 17 che, da precedenti studi, sembra avere un ruolo importante nella patogenesi della malattia (40).

DISCUSSIONE

La mastocitosi è un gruppo eterogeneo di disordini caratterizzato da un aumento patologico del numero dei mastociti che coinvolge principalmente la cute, ma che può interessare anche altri organi ed apparati. Nonostante le numerose ipotesi eziopatogenetiche proposte, la causa di tale malattia resta ancora oggi sconosciuta (1). La mastocitosi cutanea può insorgere a qualsiasi età, ma in circa i 2/3 dei casi colpisce l'età pediatrica e può essere accompagnata da sintomi sistemici anche in assenza di infiltrazione di altri organi. Al contrario, la maggior parte dei pazienti adulti affetti da mastocitosi cutanea tipo orticaria pigmentosa mostra, in realtà, un interessamento sistemico (spesso indolente) che viene evidenziato attraverso l'esecuzione di una biopsia osteomidollare (11, 13).

ANALISI CLINICO-EPIDEMIOLOGICA

In questo lavoro abbiamo raccolto, attraverso una scheda anamnestico-clinica, informazioni riguardanti le caratteristiche demografico-cliniche di pazienti affetti da mastocitosi cutanea al fine di eseguire un'analisi epidemiologica.

Sebbene non esistano in letteratura dati affidabili, la mastocitosi viene considerata una patologia rara (41). Studi epidemiologici condotti negli Stati Uniti ed in altri Paesi Europei stimano la prevalenza della mastocitosi (cutanea e sistemica) inferiore ad 1 caso ogni 100000 abitanti; non esistono dati definitivi sull'incidenza della mastocitosi in Italia.

Nel 2006 è stata attivata la Rete Italiana Mastocitosi (RIMA) a cui ha aderito anche il nostro Centro. La RIMA è parte integrante del Network Europeo di Competenza sulla Mastocitosi e si avvale di specialisti afferenti a diverse branche della Medicina (Dermatologi, Allergologi, Pediatri, Ematologi). Attraverso i Centri afferenti, ha avviato la registrazione dei pazienti affetti da mastocitosi nel nostro Paese.

Dal momento che i pazienti afferenti al Servizio di Dermatologia Pediatrica ed alla Clinica Dermatologica di Padova non provengono solo da Padova, ma anche dalle altre province venete, abbiamo rapportato il numero di casi di mastocitosi da noi osservato (n=54) con la popolazione residente nel Veneto (circa 4750000 abitanti, dati ISTAT 2006). In accordo a quanto riportato da altri studi, la prevalenza da noi osservata risulta essere di circa 1,1 casi su 100000 abitanti. Tuttavia, restringendo l'analisi alla sola popolazione pediatrica (45 casi su 785000 minorenni residenti in Veneto) la prevalenza della malattia risulta nettamente superiore (5,7 casi su 100000 abitanti). Inoltre, tale dato è verosimilmente sottostimato in quanto al nostro centro non afferiscono sicuramente tutti i bambini della Regione. Ritengo, comunque, i miei dati più attendibili per quanto riguarda i pazienti pediatrici; il Servizio di Dermatologia Pediatrica di Padova è, infatti, Centro di

Riferimento Regionale e, pertanto, accoglie un bacino d'utenza piuttosto ampio. Per quanto riguarda i pazienti adulti è plausibile che alcuni si possano essere rivolti ad altre strutture o ad altri specialisti (ad esempio ematologi).

Nella nostra casistica, la malattia mostra una lieve predilezione per il sesso femminile (F:M = 1,2:1), diversamente da quanto riportato in precedenti studi che evidenziano una modesta predominanza del sesso maschile (1, 3, 42).

Nell'83,3% dei nostri casi la mastocitosi cutanea insorge in età pediatrica (≤ 15 anni) e nei restanti in età adulta. E' interessante osservare che nel 79,6% dei casi la malattia insorge entro i 2 anni d'età; in particolare, nel 48,9% dei bambini la mastocitosi compare nei primi 6 mesi di vita e nel 26,7% è già presente alla nascita. Questi dati confermano che la mastocitosi cutanea è una malattia più frequente nel bambino che nell'adulto (1, 3, 38). Sebbene in letteratura siano descritti una cinquantina circa di casi di mastocitosi familiare, nessun dei nostri pazienti riferisce familiarità per tale malattia.

Secondo la classificazione WHO, le varianti cliniche di mastocitosi cutanea comprendono il mastocitoma, l'orticaria pigmentosa e la meno frequente mastocitosi cutanea diffusa (8). Recentemente è stata proposta una classificazione modificata che, in accordo con le diverse manifestazioni cutanee della malattia, comprende oltre alla varianti cliniche di mastocitoma, orticaria pigmentosa, mastocitosi cutanea diffusa, anche la forma di teleangectasia macularis eruptiva perstans (1).

Nella nostra popolazione, il 57,4% dei pazienti presenta la forma clinica di mastocitoma (solitario o multiplo), il 40,7% la variante di orticaria pigmentosa e un solo paziente la forma di teleangectasia macularis eruptiva perstans. Non si evidenzia nessuna differenza significativa tra la distribuzione delle diverse forme cliniche di mastocitosi cutanea ed il sesso.

Per quanto riguarda le forme congenite, il 75% dei bambini presenta la variante clinica di mastocitoma mentre i restanti casi la forma di orticaria pigmentosa.

Secondo alcuni autori, la forma di mastocitosi cutanea più frequente in età pediatrica è l'orticaria pigmentosa (3, 9). Al contrario, nella nostra casistica il mastocitoma risulta la variante clinica di più frequente riscontro nel bambino, in accordo con Hannaford R. e Rogers M. (43). E' interessante notare come tutti i casi di mastocitoma da noi osservati colpiscano esclusivamente l'età pediatrica. Questo dimostra la tendenza delle forme di mastocitosi cutanea insorte in età pediatrica a risolvere spontaneamente durante l'adolescenza (20). Infatti, Ben-Amitai *et al.* (42) in uno studio retrospettivo osservano una completa risoluzione o un marcato miglioramento delle lesioni cutanee in oltre il 90% dei bambini affetti da mastocitoma; al follow up dei bambini affetti da orticaria pigmentosa si evidenzia un miglioramento del quadro cutaneo nell'80% circa dei pazienti, con

risoluzione completa in più della metà dei casi. La durata media della malattia risulta essere rispettivamente di circa 7 e 10 anni.

Le sedi più frequentemente interessate dalle lesioni cutanee sono rappresentate dal tronco e dalle estremità; le regioni palmo-plantari vengono risparmiate (42,43). La maggior parte delle lesioni cutanee nei pazienti affetti da orticaria pigmentosa si localizza al tronco (42); nei nostri pazienti affetti da mastocitoma la lesione si localizza al tronco o alle estremità in ugual misura, diversamente da quanto riportato in precedenti studi che indicano come sede più frequente il tronco (43, 44, 45) o gli arti (3).

La diagnosi di mastocitosi cutanea si basa principalmente sull'aspetto clinico delle lesioni e sulla positività al segno di Darier (1). In tutti i nostri pazienti il segno di Darier è stato valutato ed è risultato positivo nella quasi totalità dei casi (98%), fatta eccezione del paziente affetto da teleangectasia eruttiva macularis perstans. In tale variante clinica generalmente il segno di Darier non è presente.

In assenza del segno di Darier e nei casi dubbi è stata eseguita una biopsia cutanea al fine di ottenere la conferma diagnostica attraverso l'esame istopatologico.

In seguito alla liberazione di mediatori chimici da parte dei mastociti e all'infiltrazione mastocitaria tissutale, i pazienti affetti da mastocitosi cutanea possono manifestare sintomi cutanei e/o sistemici.

La variabilità dei sintomi associati alla mastocitosi cutanea nei nostri pazienti è simile a quanto riportato in precedenti studi (3). Il prurito viene riportato nel 44,4% dei nostri pazienti, risultando il sintomo cutaneo più frequente. La formazione di bolle in sede di lesione interessa il 37,8% dei nostri pazienti e risulta più spesso associata a mastocitoma che ad orticaria pigmentosa. Inoltre, è interessante notare come tale manifestazione sia esclusiva dell'età pediatrica ed in particolare dei bambini di età inferiore ai 3 anni. Tra gli altri sintomi cutanei vengono riferiti episodi di orticaria e di flushing. Ad eccezione delle bolle, dalla nostra casistica l'incidenza dei diversi sintomi cutanei risulta simile nel mastocitoma solitario e nell'orticaria pigmentosa; ciò suggerisce che, probabilmente, tali manifestazioni non sono determinate dall'entità numerica dei mastociti presenti (43).

L'attivazione mastocitaria può anche essere causa di sintomi extracutanei come stanchezza, dolori addominali associati a vomito e diarrea, cefalee, sincopi ricorrenti, ipotensione e dolori ossei.

Il 22,2% dei pazienti adulti e l'11% di quelli pediatrici lamenta la presenza di sintomi sistemici, ma nessuno riferisce reazioni anafilattiche severe; va sottolineato che la scarsità del campione dei pazienti adulti non permette di evidenziare differenze statisticamente significative.

Nella nostra casistica, gli stimoli fisici quali sfregamenti, fattori termici, traumi, attività fisica risultano i più frequenti fattori scatenanti la degranolazione mastocitaria; a seguire l'assunzione di

cibi istamino-liberatori, gli stimoli emozionali e l'assunzione di farmaci. Altri stimoli scatenanti come la febbre e le infezioni intercorrenti, raramente descritti in letteratura, vengono riferiti nell'11% dei nostri pazienti adulti e nel 20% di quelli pediatrici. Pertanto è indispensabile cercare di evitare i fattori inducenti la degranolazione mastocitaria, inclusi i farmaci (anestetici, narcotici, scopolamina, tiamina, polimixina B e mezzi di contrasto iodati).

Tutti i nostri pazienti hanno eseguito il dosaggio della triptasi sierica. Il dosaggio di tale enzima, risultando nella norma in tutti i casi con mastocitosi cutanea e aumentato in quelli con interessamento sistemico riscontrato alla biopsia osteomidollare, si è dimostrato un utile marcatore diagnostico e prognostico di malattia. Anche secondo Sperr 2002 *et al.* (46) nei pazienti affetti da mastocitosi cutanea il dosaggio della triptasi sierica risulta nella norma (in circa il 90% dei casi) o solo lievemente aumentato (nel restante 10%); al contrario, tale enzima risulterebbe aumentato in oltre l'80% dei casi di mastocitosi sistemica. Come descritto in letteratura, i livelli di triptasi sembrano correlare con l'entità dell'infiltrato mastocitario e, pertanto, risultano particolarmente utili nel follow-up dei pazienti affetti da mastocitosi sistemica (7, 13, 46).

Dal momento che l'interessamento sistemico non è frequente nel bambino e che nessuno di essi mostra disordini ematologici associati, tali pazienti non sono stati sottoposti a biopsia osteomidollare. Dei 9 pazienti adulti, 6 hanno eseguito tale indagine; essa ha permesso di confermare la diagnosi di mastocitosi sistemica nel 44,5% dei casi, dimostrando la presenza di aggregati di mastociti fusati CD25 positivi ed in parte coesprimenti le molecole CD2 e CD25. I mastociti in condizioni fisiologiche non esprimono CD2 (LFA-2); l'espressione di tale molecola è ristretta ai linfociti T ed alle cellule NK. La presenza aberrante di CD2 sui mastociti neoplastici potrebbe svolgere un ruolo pato-fisiologico nel determinare la malattia; infatti, i mastociti esprimono anche CD58 (LFA-3), ligando naturale di CD2, e l'interazione CD2/CD58 potrebbe determinare l'accumulo e l'aggregazione in clusters dei mastociti neoplastici. Tali molecole vengono espresse solo dai mastociti neoplastici e insieme all'infiltrazione midollare e al dosaggio sierico della triptasi fanno parte dei criteri WHO per la diagnosi della mastocitosi sistemica (12, 13).

Tra i criteri minori WHO per la diagnosi della mastocitosi sistemica viene anche annoverata la positività della mutazione puntiforme A>T del codone 816 di c-kit (D816V) nel midollo osseo; essa è in grado di indurre un'attivazione di Kit ligando-indipendente (16).

Tale mutazione è stata inizialmente descritta solo in pazienti affetti da mastocitosi sistemica o associata ad un disordine ematologico (1); successivamente è stata dimostrato la sua presenza in tutti i pazienti adulti affetti da mastocitosi indipendentemente dalla classificazione e dalla prognosi

della patologia, mentre solo raramente in pazienti pediatrici (forme severe di mastocitosi) e in nessuna forma di mastocitosi familiare (1, 18).

Dalla nostra casistica la ricerca della mutazione D816V sui campioni midollari è risultata positiva in tutti i pazienti con mastocitosi sistemica, mentre non è stata riscontrata nei pazienti adulti in cui la biopsia osteomidollare ha escluso una localizzazione midollare della malattia. Questi dati sono in accordo con Valent P. (7) e Akin C. (20) che rintracciano tale mutazione nel 70-90% dei casi di mastocitosi sistemica e in meno del 30% dei casi di mastocitosi cutanea.

ANALISI IMMUNOISTOCHEMICA

L'analisi immunoistochimica su cute lesionale, effettuata su 8 pazienti adulti, ha permesso di valutare l'infiltrato linfocitario (con particolare riferimento alle cellule dendritiche e ai linfociti) ed alcuni parametri implicati nel meccanismo di morte cellulare programmata (Bcl-2, Fas, Fas-ligand) in corrispondenza dei linfociti infiltranti le lesioni mastocitarie, come mostrato nella tabella 1.

In condizioni fisiologiche, la morte cellulare si verifica mediante un processo programmato definito apoptosi. I membri della famiglia delle proteine Bcl-2 svolgono un importante ruolo nel regolare la sopravvivenza e la morte cellulare; in particolare Bcl-2 inibisce l'apoptosi bloccando il rilascio del citocromo C. Un'iperespressione di tale proteina determina un accumulo aberrante di cellule che potrebbe condurre alla patologia neoplastica (27). Al contrario il recettore Fas (CD95/APO-1) sembrerebbe partecipare al processo di morte cellulare programmata inducendo l'apoptosi in seguito al legame con il suo ligando (FasL) (32). Fas è largamente espresso in diversi stipiti cellulari, mentre l'espressione di FasL sembra essere molto più ristretta. Diverse cellule del sistema immunitario, inclusi i linfociti T e B, dopo essere stati attivati esprimono FasL (33). Il bilanciamento tra le molecole ad azione pro- ed anti-apoptotica controlla la suscettibilità della cellula nei confronti della morte programmata. Oltre all'azione pro-apoptotica, la molecola FasL sembra svolgere anche un ruolo pro-infiammatorio attraverso il reclutamento e l'attivazione dei neutrofili; induce, infatti, il rilascio dell'IL-1 β che svolge un'azione chemiotattica su tali cellule (37).

Nella nostra casistica si osserva una marcata espressione della proteina Bcl-2 sia in corrispondenza dei cheratinociti basali dell'epidermide che delle cellule perivasali del compartimento dermico solo in un caso (caso 1); in tutti gli altri casi l'espressione di tale proteina si apprezza esclusivamente nel compartimento dermico, sempre in corrispondenza dell'infiltrato perivasale.

Dal momento che le medesime cellule perivasali, su sezioni seriali, risultano positive per la molecola CD3 (recettore panT) e non per la triptasi, abbiano, quindi, potuto concludere che tale proteina viene iperespressa solo dai linfociti T

Diversamente, in uno studio di Hartmann K. *et al.* (27) viene riportato che i mastociti cutanei di pazienti affetti da mastocitosi presentano un'iperpressione della proteina Bcl-2 rispetto ai mastociti di controlli sani. Secondo gli Autori ciò condurrebbe ad una prolungata sopravvivenza dei mastociti che potrebbe contribuire alla patogenesi della malattia.

Invece, dalla nostra casistica seppur ridotta, sembrerebbe che la proteina anti-apoptotica Bcl-2 venisse iperespressa dai linfociti T e non dai mastociti; ciò potrebbe rappresentare un tentativo di risposta contro la proliferazione mastocitaria. L'espressione della molecola Bcl-2 indica una minore tendenza di tale popolazione cellulare ad andare incontro a morte cellulare programmata e quindi ad una maggiore persistenza di tali cellule nel compartimento dermico in risposta all'infiltrazione mastocitaria.

I dati descritti indicano un coinvolgimento sia dei linfociti con funzione helper che di quelli citotossici; il rapporto, infatti, tra le due popolazioni linfocitarie è conservato oscillando da 2:1 a 4:1.

L'espressione della proteina Fas-L, si osserva nel compartimento dermico, in particolare in sede perivasale, in 5 degli 8 casi (casi 1, 2, 3, 4 e 6). Solo in un caso (caso 8) essa è presente focalmente nel derma, mentre risulta assente in due casi (casi 5 e 7).

Per quanto riguarda l'espressione del recettore Fas, tale molecola si osserva nel compartimento epidermico in due casi (casi 1 e 2); in un caso (caso 3) nel derma in sede perivasale, mentre risulta assente nei restanti (casi 4, 5, 6, 7 e 8).

Per quanto riguarda il ruolo del sistema Fas-FasL non si possono ad oggi trarre conclusioni definitive dal momento che i dati sono incostanti. Sembra comunque esserci una correlazione tra l'espressione della molecola Bcl-2 e della proteina Fas-L nei linfociti infiltranti il derma. L'espressione di Fas-L potrebbe essere legata al ruolo proinfiammatorio di tale proteina in risposta alla proliferazione mastocitaria.

Solo in un paziente (caso 3) è stato possibile osservare l'espressione del recettore Fas sui linfociti perivasali. Anche in questo caso l'espressione di Fas correla con una marcata presenza sia di Bcl-2 che di Fas-L.

In 4/8 casi si apprezza un aumento variabile delle cellule dendritiche (CD1+) sia nel compartimento epidermico che nel derma (casi 1, 2, 4 e 8); mentre, nei restanti 4 casi si apprezza un incremento di tali cellule solo nel compartimento epidermico (casi 3, 5, 6 e 7). La presenza di cellule dendritiche CD1a sia nel compartimento dermico che epidermico correla con la presenza di un significativo numero di linfociti T.

Infine, è interessante segnalare come nel caso 1 ad un incremento significativo delle cellule di Langerhans epidermiche CD1a+ si associ una marcata espressione del recettore Fas in

corrispondenza dello strato basale e dello strato spinoso dell'epidermide. Il significato di tale evento resta da chiarire.

CASO DI MASTOCITOSI CUTANEA FAMILIARE

Le forme di mastocitosi familiare sono rare; in letteratura ne sono stati descritti una cinquantina di casi (1, 41, 47). Va tuttavia considerata la possibilità che un adulto, ipotetico genitore di un bambino affetto da mastocitosi, attualmente all'anamnesi possa negare una storia personale di malattia, ma in realtà nell'infanzia possa aver avuto una forma di mastocitosi con un numero di lesioni limitate e/o localizzate in sedi nascoste che è sfuggita alla diagnosi (42); ne consegue che un caso familiare verrà erroneamente interpretato come sporadico.

Nel nostro centro abbiamo seguito un caso di mastocitosi familiare in cui la diagnosi di orticaria pigmentosa interessa due fratelli ed una loro cugina di primo grado.

Vista la rarità della patologia, è piuttosto probabile che il coinvolgimento contemporaneo di più membri della stessa famiglia non avvenga casualmente, ma che possano essere implicati fattori di tipo genetico (41).

Sono stati descritti casi a trasmissione autosomica dominante, autosomica recessiva o multifattoriale (42); nel caso da noi studiato, l'interessamento di una sola generazione potrebbe far supporre una modalità di trasmissione autosomica recessiva.

L'analisi di linkage nella regione genomica del cromosoma 12 in corrispondenza del gene SCF (kit-ligand) ha escluso un coinvolgimento della regione indicata nel determinare il contesto sindromico evidenziato.

In passato diversi Autori hanno escluso la presenza di mutazioni genomiche negli esoni 11 e 17 del gene c-kit in forme di mastocitosi cutanea familiare (40, 41). Recentemente Tang X. *et al.* (48), studiando un caso di mastocitosi cutanea diffusa familiare, hanno evidenziato la presenza di una nuova mutazione germinale localizzata nell'esone 10 di c-kit (A533D); analogamente Zhang YL. *et al.* (49), sempre in un caso di mastocitosi familiare, hanno identificato una mutazione puntiforme in corrispondenza dell'esone 17 (K509I).

Ad oggi, il sequenziamento genico della famiglia da noi studiata ha escluso la presenza di mutazioni a carico degli esoni 8, 9, 11, 13, 14 e 15 del gene c-kit; siamo comunque ancora in attesa dei risultati riguardanti i restanti esoni.

TABELLA RIASSUNTIVA DELL'ANALISI IIC NEGLI 8 CASI CON MC STUDIATI

PZ		CD1	CD3	CD4:CD8	CD19	BCL-2	FAS-L	FAS
CASO 1	epidermide	+++				+++ strato basale	neg	+++
	derma	+	++	3:1	neg	+++ perivasale	++ perivasale	neg
CASO 2	epidermide	+				neg	neg	+
	derma	+	++ periannessiale	2:1	neg	++ perivasale	++ perivasale	neg
CASO 3	epidermide	++				neg	neg	neg
	derma	neg	++ perivasale	4:1	neg	++ perivasale	+++ perivasale	++ perivasale
CASO 4	epidermide	++				neg	neg	neg
	derma	+	+ perivasale	2:1	neg	++	++ perivasale	neg
CASO 5	epidermide	++				neg	neg	neg
	derma	neg	+++	4:1	neg	+++	neg	neg
CASO 6	epidermide	++				neg	neg	neg
	derma	neg	+ perivasale	1:1	neg	+++ perivasale	+ perivasale	neg
CASO 7	epidermide	+++				neg	neg	neg
	derma	neg	++ perivasale	1:1	neg	++ perivasale	neg	neg
CASO 8	epidermide	++				neg	neg	neg
	derma	+	+ perivasale	1:1	neg	+++ perivasale	+++	neg

Tabella 1

Scheda Mastocitosi

Data.....

Cognome..... Nome.....

Nato a il..... (età.....)

Residente a via.....

Tel..... inviato da.....

Anamnesi patologica prossima

Data insorgenza..... Data diagnosi.....

Sede prima comparsa.....

Evoluzione.....

Familiarità no si.....

Sintomi cutanei:

- segno di Darier
- prurito
- formazione di bolle
- flushing

Sintomi sistemici:

- cardiovascolari.....
- gastroenterici.....
- scheletrici.....
- neurologici.....
- ematologici.....
- anafilassi.....

Fattori triggers:

- insetti
- farmaci
- cambiamenti temperatura
- alcool
- stimoli meccanici
- infezioni
- altri

Esami effettuati:

- biopsia cute.....
.....
- istamina, triptasi.....
.....
- sottopopolazioni linfocitarie.....
.....
- striscio sangue periferico.....
.....
- Rx / TAC torace.....
.....
- ecografia / TAC addome.....
.....
- Rx / scintigrafia/ densitometria ossea.....
.....
- aspirato midollare / biopsia ossea.....
.....
- ricerca mutazioni c-KIT.....
.....
- altro.....
.....
.....
.....
.....

Terapie effettuate:

.....
.....
.....
.....

Esame obiettivo

N° lesioni: 1 >5 >10 >20 >50

Diametro lesioni.....

Localizzazione lesioni

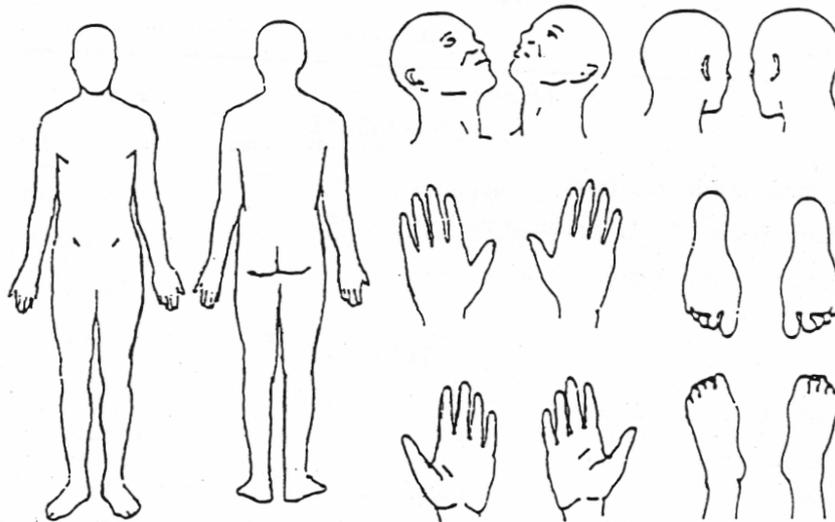


FOTO no si

Iter diagnostico:

.....
.....
.....

Terapia consigliata:

.....
.....
.....
.....

BIBLIOGRAFIA

1. Hartmann K., Henz BM. Mastocytosis: recent advances in defining the disease. *British Journal of Dermatology* 2001;144:682-695.
2. Wolff K., Komar M., Petzelbauer P. Clinical and histopathological aspects of cutaneous mastocytosis. *Leukaemia Research* 2001;25:519-528.
3. Akoglu G., Erkin G., Cakir B. et al. Cutaneous mastocytosis: demographic aspects and clinical features of 55 patients. *JEADV* 2006;20:969-973.
4. Hartmann K., Henz B. Cutaneous mastocytosis – clinical heterogeneity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:143-146.
5. Chang A., Tung RC., Schlesinger T., et al. Familial cutaneous mastocytosis. *Pediatric Dermatology* 2001;18:271-276.
6. Metcalfe DD. Classification and diagnosis of mastocytosis: current status. *J Invest Dermatol* 1991;96:2S-4S.
7. Valent P., Akin C., Escribano L. et al. Standards and standardization in mastocytosis: consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *European Journal of Clinical Investigation* 2007;37:435-453.
8. Horny H.P., Sotlar K., Valent P. Mastocytosis: state of the art. *Pathobiology* 2007;74:121-132.
9. Heide R., Tank B., Oranje A.P. Mastocytosis in childhood. *Pediatric Dermatology* 2002;19:375-381.
10. Valent P., Akin C., Wolfgang RS., et al. Mastocytosis: pathology, genetics, and current options for therapy. *Leukemia and Lymphoma* 2005;46:35-48.
11. Pardanani A., Akin C., Valent P. Pathogenesis, clinical features and treatment advances in mastocytosis. *Best Practice and Research Clinical Haematology* 2006;19:595-615.
12. Valent P., Horny HP., Escribano L. et al. Diagnostic criteria and classification of mastocytosis: a consensus proposal. *Leukemia Research* 2001;25:603-625.
13. Patnaik MM., Rindos M., Kouides PA. et al. Systemic mastocytosis: a concise clinical and laboratory review. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:784-788.
14. Yarden Y., Kuang W.J., Yang-Feng T. et al. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO Journal* 1987; 6:3341-3351.
15. Giebel L.B., Strunk K.M., Holmes S.A. et al. Organization and nucleotide sequence of the human KIT (mast/stem cell growth factor receptor) proto-oncogene. *Oncogene* 1992; 7:2207-2217.

16. Orfao A., Garcia-Montero AC., Sanchez L., et al. Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of kit mutations. *British Journal of Haematology* 2007; 138:12-30.
17. Lev S., Blechman J., Nishikawa S., et al. Interspecies molecular chimeras of kit help define the binding site of the stem cell factor. *Molecular and Cellular Biology* 1993; 13:2224-2234.
18. Feger F., Dumas AR., Leriche L., et al. Kit and c-kit mutations in mastocytosis: a short overview with special reference to novel molecular and diagnostic concepts. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:110-114.
19. Longley BJ., Reguera MJ., Ma Y. Classes of c-kit activating mutations : proposed mechanism of action and implications for disease classification and therapy. *Leukemia Research* 2001; 25:571-576.
20. Akin C. Molecular diagnosis of mast cell disorders. A paper from the 2005 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology. *JMD* 2006;8:412-419.
21. Metcalfe DD., Akin C. Mastocytosis: molecular mechanisms and clinical disease heterogeneity. *Leukemia Research* 2001;25:577-582.
22. Broudy VC. Stem Cell Factor and Hematopoiesis. *Blood* 1997;90:1345-1364.
23. Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor c-kit. *IJBCB* 1999;31:1037-1051.
24. Longley BJ., Morganroth GS., Tyrelli L., et al. Altered metabolism of mast cell growth factor (c-kit ligand) in cutaneous mastocytosis. *N Engl J Med* 1993;328:1302-1307.
25. Hamman K., Haas N., Grabbe J., et al. Expression of stem cell factor in cutaneous mastocytosis. *Br J Dermatol* 1995;118:206-207.
26. Lishner M., Confino-cohen R., Memori YA., et al. Trisomies 9 and 8 detected by fluorescence in situ hybridization in patients with systemic mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:199-204.
27. Hartmann K., Artuc M., Baldus SE., et al. Expression of Bcl-2 and Bcl-xL in cutaneous and bone marrow lesions of mastocytosis. *AJP* 2003;163:819-826.
28. Kitada S., Pedersen IM., Schimmer AD., et al. Dysregulation of apoptosis genes in hematopoietic malignancies. *Oncogene* 2002;13:3459-3474.
29. Baliga BC., Kumar S. Role of bcl-2 family of proteins in malignancy. *Hematol Oncol* 2002;20:63-74.
30. Jordan JH., Walchshofer S., Jurecka W., et al. Immunohistochemical properties of bone marrow mast cells in systemic mastocytosis: evidence for expression of CD2, CD117/Kit and bcl-xL. *Hum Pathol* 2001;32:545-552.
31. Cervero C., Escribano L., San Miguel J.F., et al. Expression of bcl-2 by human bone marrow mast cells and its overexpression in mast cell leukaemia. *Am J Haematol* 1999;60:191-195.

32. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997;88:355-365.
33. Krammer PH., Arnold R., Lavrik IN. Life and death in peripheral T cells. *Nat Rev Immunol* 2007;7:532-542.
34. Oliveira JB., Gupta S. Disorders of apoptosis: mechanisms for autoimmunity in primary immunodeficiency disease. *J Clin Immunol* 2008;28:S20-S28.
35. Kroemer G. The proto-oncogene Bcl-2 and its role in regulating apoptosis. *Nat Med* 1997;3:614-620.
36. Lynch DH., Ramsdell F., Alderson MR. Fas and FasL in the homeostatic regulation of immune responses. *Immunol Today* 1995;16:569-574.
37. Seino K., et al. Chemotactic activity of soluble Fas ligand against phagocytes. *J Immunol* 1998;161:4484-4488.
38. Kettelhut BV., Metcalfe DD. Pediatric mastocytosis. *J Invest Dermatol* 1991;96:15S-18S.
39. Cordell JL., Falini B., Erber WN., et al. Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 1984;32:219-29.
40. Sato-Matsumura KC., Matsumura T., Koizumi H., et al. Analysis of c-kit exon 11 and exon 17 of urticaria pigmentosa that occurred in monozygotic twin sisters. *British Journal of Dermatology* 1999;140:1130-1132.
41. Rosbotham JL., Malik NM., Syrris P., et al. Lack of c-kit mutation in familial urticaria pigmentosa. *British Journal of Dermatology* 1999;140:849-852.
42. Ben-Amitai D., Aryeh Metzker A., Herman A., et al. Pediatric cutaneous mastocytosis: a review of 180 patients. *IMAJ* 2005;7:320-322.
43. Hannaford R., Rogers M. Presentation of cutaneous mastocytosis in 173 children. *Australian J Dermatol* 2001;42:15-21.
44. Azana JM., Torello A., Mediero I., et al. Urticaria pigmentosa: a review of pediatric cases. *Pediatr Dermatol* 1994;11:102-106.
45. Caplan R. The natural course of urticaria pigmentosa. *Arch dermatol* 1963;87:146-157.
46. Sperr WR., Jordan JH., Fiegl M., et al. Serum tryptase levels in patients with mastocytosis: correlation with mast cell burden and implication for defining the category of disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:136-141.
47. Chang A., Tung RC., Schlesinger T., et al. Familial cutaneous mastocytosis. *Pediatric Dermatology* 2001;18:271-276.
48. Tang X., Boxer M., Drummond A., et al. A germline mutation in kit in familial diffuse cutaneous mastocytosis. *J Med Genet* 2004;41.

49. Zhang LY., Smith ML., Schultheis B., et al. A novel K509I mutation of kit identified in familial mastocytosis – in vitro and in vivo responsiveness to imatinib therapy. *Leukemia Research* 2005.