

RACCOMANDAZIONI E LINEE GUIDA

Raccomandazioni sull'uso della triptasi
nella diagnosi dell'anafilassi e della mastocitosiRecommendations for the use of tryptase
in the diagnosis of anaphylaxis and mastocytosis

Stefan PLATZGUMMER ¹ *, Laura CAPONI ², Vittorio SARGENTINI ³, Daniela VISENTINI ⁴,
Ignazio BRUSCA ⁵, Nicola BIZZARO ⁶, Giampaola PESCE ^{7,8}, Marcello BAGNASCO ⁸, Gaia DELEONARDI ⁹,
Beatrice CARUSO ¹⁰, Antonio ANTICO ¹¹, Chiara BONAGURI ¹², Maria Pompilia VISCONTI ¹³, Bruno MILANESI ¹⁴,
Pierfrancesco AGOSTINI ¹⁵, Maura MUSSO ¹⁶, Danilo VILLALTA ¹⁷

¹Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Franz Tappeiner, Merano, Bolzano, Italia; ²Laboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Università di Pisa, Pisa, Italia; ³Unità Operativa Complessa di Patologia Clinica, Ospedale San Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma, Italia; ⁴Struttura Operativa Semplice Laboratorio di Immunopatologia e Allergologia, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata, Udine, Italia; ⁵Unità Operativa Complessa di Patologia Clinica, Ospedale Buccheri La Ferla Fatebenefratelli, Palermo, Italia; ⁶Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale San Antonio, Tolmezzo, Udine, Italia; ⁷Laboratorio Diagnostico di Autoimmunologia IRCCS, Ospedale Policlinico S. Martino, Genova, Italia; ⁸Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche (DIMI), Università di Genova, Genova, Italia; ⁹Laboratorio Unico Metropolitano, AUSL Bologna, Bologna, Italia; ¹⁰Unità Operativa Complessa Laboratorio Analisi sede di Borgo Trento, AOUI di Verona, Verona, Italia; ¹¹Unità Operativa Complessa Servizio Medicina di Laboratorio, AULSS 7 Regione Veneto, Santorso, Vicenza, Italia; ¹²Struttura Semplice Diagnostica Malattie Autoimmuni, Azienda Ospedaliera Universitaria di Parma, Parma, Italia; ¹³Unità Operativa Semplice Dipartimentale Laboratorio Analisi sede di Bussolengo, ULSS9, Bussolengo, Verona, Italia; ¹⁴Laboratori di Patologia Clinica Aziendali, ASST Garda, Desenzano del Garda, Brescia, Italia; ¹⁵Unità Operativa Complessa di Patologia Clinica, Presidio Ospedaliero San Paolo, ASL Bari, Bari, Italia; ¹⁶Allergologia Laboratorio Analisi, Azienda Sanitaria Ospedaliera S. Croce e Carle, Cuneo, Italia; ¹⁷Struttura Semplice Dipartimentale di Immunologia e Allergologia, Presidio Ospedaliero S. Maria degli Angeli, Pordenone, Italia

*Autore di contatto: Stefan Platzgummer, Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Franz Tappeiner, Merano, Bolzano, Italia.
E-mail: stefan.platzgummer@sabes.it

RIASSUNTO

La triptasi è una molecola prodotta e rilasciata in circolo dai mastociti in seguito a stimoli sia immunologici IgE mediati che non IgE mediati. Il suo dosaggio è perciò di grande utilità nella diagnosi di anafilassi e nella diagnostica delle mastocitosi. In questa rassegna vengono esaminati i vari aspetti legati alle caratteristiche molecolari della triptasi e ai suoi effetti biologici, alle basi genetiche della sua produzione e alla cinetica di rilascio. Vengono inoltre fornite raccomandazioni sulle migliori procedure per una corretta definizione dei valori di riferimento in rapporto alla variabilità inter-individuale e alla sua corretta determinazione nel sangue e in altri liquidi biologici nella diagnosi di anafilassi (da farmaci, alimenti o punture d'insetto), di morte per anafilassi (valutazione *post-mortem*) e di mastocitosi cutanea o sistemica e di sindrome da attivazione dei mastociti.

(Per citare questo articolo: Platzgummer S, Caponi L, Sargentini V, Visentini D, Brusca I, Bizzaro N, et al. Raccomandazioni sull'uso della triptasi nella diagnosi dell'anafilassi e della mastocitosi. Riv Ital Med Lab 2019;15:211-24. DOI: 10.23736/S1825-859X.19.00022-7)

Parole chiave: Triptasi; Anafilassi; Linee guida; Mastocitosi.

ABSTRACT

Tryptase is a serine protease produced by mast cells and released into the circulation after IgE-mediated or non-IgE-mediated stimuli. Its dosage is therefore of great utility in the diagnosis of anaphylaxis and of mastocytosis. In this review, we describe the various aspects related to the molecular characteristics of tryptase and its biological effects, the genetic basis of its production and the release kinetics. Recommendations are also given on the best procedure for a correct definition of the reference values in relation to the inter-individual variability and to the correct determination of tryptase in blood and other biological liquids, in the diagnosis of anaphylaxis (from drugs, food or insect bites), death from anaphylaxis (*post-mortem* assessment) and cutaneous or systemic mastocytosis and mast cell activation syndrome.

Key words: Tryptase; Anaphylaxis; Guideline; Mastocytosis.

Introduzione

La triptasi nella sua forma matura è una serin-proteasi neutra con peso molecolare di 134 kDa. Essa è presente nei granuli secretori dei mastociti e in minor misura nei basofili ed è costituita da quattro subunità di beta-triptasi, unite da legami non covalenti e stabilizzate da proteoglicani. La triptasi viene prodotta a livello del reticolo endoplasmatico e del complesso del Golgi in forma di monomero e specificatamente sotto forma di subunità alfa, beta, gamma ed epsilon. La subunità gamma è una proteasi che rimane legata alla membrana del granulo secretorio, mentre il monomero alfa e una parte della subunità beta vengono rilasciate in continuo in circolo, senza uno stimolo specifico, e vanno a costituire la triptasi basale presente nel siero (Figura 1).¹⁻⁴ Esistono due isoforme dell'alfa-triptasi (alfa I e alfa II) e tre isoforme della beta-triptasi (beta I, beta II e beta III) che presentano una elevata identità strutturale fra loro (attorno al 90%). L'alfa-triptasi rispetto alla beta-triptasi è praticamente del tutto inattiva. A comporre il tetramero maturo nei granuli secretori è soprattutto l'isoforma II della beta-triptasi.

I mastociti (o mastcellule), scoperti nel 1879 da Paul Ehrlich,⁵ nei granuli citoplasmatici contengono molti mediatori, ma la triptasi è considerata il loro marcatore specifico ed è inoltre la proteina maggiormente prodotta in queste cellule. Altri importanti mediatori sono: le amine biogene (istamina e serotonina), altre proteine (chimasi, carbosipeptidasi, catepsina G) proteoglicani (protamina sulfato), idrolasi, enzimi ossidativi e fattori chemiotattici. Le mastcellule dopo attivazione producono inoltre prostaglandine, leucotrieni e fattore attivante le piastrine (PAF). Le mastcellule che sono localizzate nella mucosa dei vari

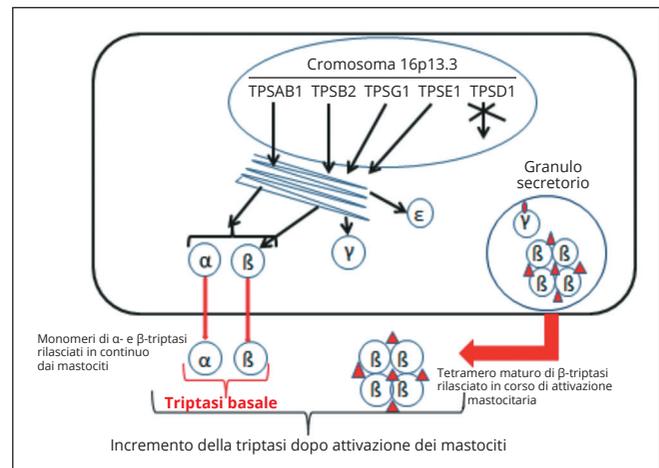


Figura 1.—Produzione e traffico intracellulare della triptasi. Il livello basale della triptasi è dovuto ad un continuo rilascio delle subunità monomeriche alpha e beta della triptasi. La triptasi matura tetrameric, stabilizzata da proteoglicani (soprattutto eparina) è rilasciata solo dopo attivazione dei mastociti (modificato da Vitte).¹

tessuti contengono prevalentemente la triptasi (mastcellule T), mentre quelle localizzate nella sottomucosa contengono, oltre la triptasi, anche l'altra molecola marcatore delle mastcellule, la chimasi (mastcellule TC).⁶ Le mastcellule dei polmoni e della sottomucosa intestinale contengono una più alta concentrazione di triptasi rispetto alle mastcellule della cute e della mucosa dell'intestino.

La triptasi è presente anche nei granulociti basofili, ma a concentrazioni 500 volte inferiori rispetto alle mastcellule, e in scarsa quantità anche nelle cellule precursori del midollo osseo.⁷⁻⁹

Il rilascio della triptasi e di altri mediatori dalle mastocellule è dovuto sia a stimoli immunologici IgE mediati che non IgE mediati. Il principale meccanismo rimane il meccanismo IgE mediato, tipico delle reazioni allergiche. Oltre agli stimoli immunologici anche fenomeni fisici come il calore, sostanze chimiche (tossine, veleni e farmaci, mezzi di contrasto ecc.) possono provocare il rilascio di triptasi.

Genetica

I geni che codificano per la triptasi sono localizzati nel cromosoma 16p13.3¹⁰⁻¹³ e comprendono cinque loci. Il gene triptasi alfa/beta 1 (*TPSAB1*) codifica sia la alfa che la beta-triptasi, mentre il gene *TPSB2* codifica esclusivamente le beta-triptasi II e III. Il gene *TPSG1* codifica la gamma-triptasi e il gene *TPSE1* la epsilon-triptasi, forma biochimicamente e immunologicamente diversa dalle alfa e beta triptasi. Il gene *TPSD1*, codificante la delta-triptasi, nei primati è inattivo (Figura 1).

Il gene che codifica la alfa-triptasi è spesso soggetto a mutazioni, che possono comportare un deficit di trascrizione o alterazioni dei siti catalitici, e a volte una completa delezione (fino al 30-57% della popolazione).^{14, 15} Anche i polimorfismi dei geni codificanti per alfa-triptasi e beta-triptasi sono elevati e il numero di alleli funzionali che un individuo possiede varia da due quattro 4.¹⁶ Sebbene il deficit assoluto di triptasi non sia mai stato segnalato, il numero e il tipo di alleli funzionali può influire sul valore basale della triptasi. La frequenza degli aplotipi dei due loci del cromosoma 16 sono 50% per $\beta\beta/\beta\alpha$, 25-29% per $\beta\beta/\beta\beta$ e 21-25% per $\beta\alpha/\beta\alpha$.^{14, 17} Anche se la triptasi basale è a ragione considerato un marcatore surrogato della quantità di mastociti, va sempre tenuto presente, quindi, come il ruolo delle variazioni genetiche possa in parte influenzare il valore basale della triptasi.¹⁸⁻²⁰

Gli effetti biologici della triptasi

La triptasi agisce come molecola vasoattiva, proinfiammatoria, chemiotattica, nonché come riparatrice del danno tissutale.²¹⁻²⁵ In particolare, tramite produzione di bradichinine, promuove la permeabilità vascolare e ha una azione chemiotattica su neutrofili ed eosinofili, cellule coinvolte nella reazione flogistica della fase tardiva della reazione allergica. Inoltre stimola la proliferazione dei fibroblasti e la sintesi di collagene, contribuendo alla riparazione tissutale e alla *restitutio ad integrum*^{26, 27} e stimola la proliferazione della muscolatura liscia dei bronchi. Più recentemente è stato dimostrato un ruolo della triptasi

nella genesi del dolore, quale ad esempio il dolore post-operatorio, tramite la stimolazione dei nocicettori proteasi-attivati.²⁸

Alcuni effetti della triptasi sono maggiormente espressi a un pH basso. Si è visto che la degradazione del fibrinogeno tramite la beta-triptasi avviene 50 volte più velocemente in ambiente acido rispetto ad ambiente con pH 7.4 e anche il clivaggio dei chininogeni a basso peso molecolare avviene solo in queste condizioni.²⁹

Un'altra osservazione importante è che il tetramero della beta-triptasi in ambienti a pH neutro e in assenza di polianioni stabilizzanti come l'eparina si scompone in monomeri inattivi, ma in ambienti acidi riesce a ripristinare nuovamente la forma tetramericamente attiva.³⁰

Dosaggio della triptasi

Sono stati nel tempo sviluppati diversi anticorpi monoclonali per il dosaggio della triptasi. Il primo anticorpo è stato l'anticorpo definito G5,³¹ in grado di riconoscere un epitopo lineare della isoforma beta e quindi delle forme mature di triptasi circolante con una sensibilità di 2,5 µg/l. Successivamente sono stati sviluppati altri anticorpi monoclonali, quali il G4 e il B12 in grado di riconoscere sia le subunità alfa che beta della triptasi.³²

L'unico prodotto commerciale per il dosaggio della triptasi attualmente disponibile in Europa è il test fluoroenzimatico (FEIA) (ImmunoCAP, ThermoFisher, Uppsala, Svezia), che misura sia le forme monomeriche immature dell'alfa e beta-triptasi che le forme tetrameriche mature.

Il valore di riferimento della triptasi serica

Negli ultimi anni la soglia superiore del valore di riferimento indicato per il test FEIA è stata abbassata più volte partendo da un valore iniziale di 15 µg/l, per poi passare a 13,5 µg/l e infine ad un valore di 11,4 µg/l.

Il valore di 11,4 µg/l è stato ottenuto dalla ditta produttrice valutando 126 persone sane, nelle quali il 95° percentile è risultato essere 11,4 µg/l e la media geometrica 3,8 µg/l.

In un secondo lavoro, sempre condotto dalla ditta produttrice, nel quale sono state analizzate 124 persone sane (56 uomini e 68 donne) tra i 3 e i 67 anni, i risultati ottenuti sono stati: media geometrica 3,4 µg/l e 95° percentile 11,4 µg/l, confermando, quindi, i valori precedenti.

Schliemann *et al.*³³ in 1092 pazienti afferenti al loro servizio dermatologico hanno trovato un valore medio di triptasi di 5,13±3,05 µg/l, una mediana di 4,46 µg/l e il 95° percentile di 10,8 µg/l. Di questi pazienti, 106

avevano concentrazioni >8,75 µg/l e 45 avevano concentrazioni >11,4 µg/l. Il valore di 8,75 µg/l è stato considerato come cutoff interno per approfondire la presenza o assenza di una mastocitosi. È da considerare che questi risultati sono stati ottenuti in pazienti nei quali una mastocitosi era stata esclusa ma che avevano subito una reazione allergica/anafilattica in precedenza con un probabile rilascio di triptasi da parte di mastocellule attivate. Nonostante ciò, i valori ottenuti non si discostano significativamente dai valori di riferimento raccomandati dalla ditta produttrice. Questi autori hanno comunque indicato un lieve aumento del valore della soglia della triptasi con il progredire della età (95° percentile nei soggetti tra 15-34 anni: 9,23 µg/l; tra 35 e 64 anni: 10,76 µg/l; oltre i 64 anni: 12,25 µg/l).

Considerato che gravi reazioni anafilattiche possono avvenire in pazienti con mastocitosi anche con valori di triptasi basale al di sotto di 11,4 µg/l,³⁴ alcuni autori consigliano di considerare con cautela l'intervallo tra 8 e 10 µg/l e di eseguire anche in questi casi ulteriori esami per escludere o confermare una mastocitosi.

I livelli di riferimento della triptasi matura, invece, sono <1 µg/l,¹⁶ anche se ciò ha solo importanza teorica in quanto non disponiamo di metodi commerciali per il suo dosaggio come già in precedenza riportato.

Una caratteristica molto importante della triptasi è la bassa variabilità intra-individuale. Il valore basale della triptasi, infatti, varia molto poco nel tempo nell'ambito di uno stesso individuo ed è determinato dal suo background genetico e non da fattori ambientali.¹⁹ Questa informazione è utile nella valutazione dell'anafilassi, in quanto anche variazioni minime della concentrazione possono già essere indicative per la presenza di un evento anafilattico, seppure con valori che rientrano entro la soglia di normalità.

Per la misurazione della triptasi può essere utilizzato sia siero che plasma.³¹ La molecola a temperatura ambiente è stabile per due giorni (48 ore) ed è stabile cinque giorni se il siero o il plasma vengono conservati a 8 °C.

Interferenze nella misurazione della triptasi

Emolisi, ittero e lipemia non sembrano interferire nella misurazione della triptasi serica. Anticorpi eterofili o fattori reumatoidi possono invece interferire con il dosaggio della triptasi, come confermato da vari studi.^{35, 36} Nel caso si sospetti una interferenza da parte di anticorpi eterofili, quest'ultimi dovrebbero essere preventivamente rimossi, tramite pre-incubazione del siero/plasma in un apposito device, prima dell'esecuzione dell'analisi.³³

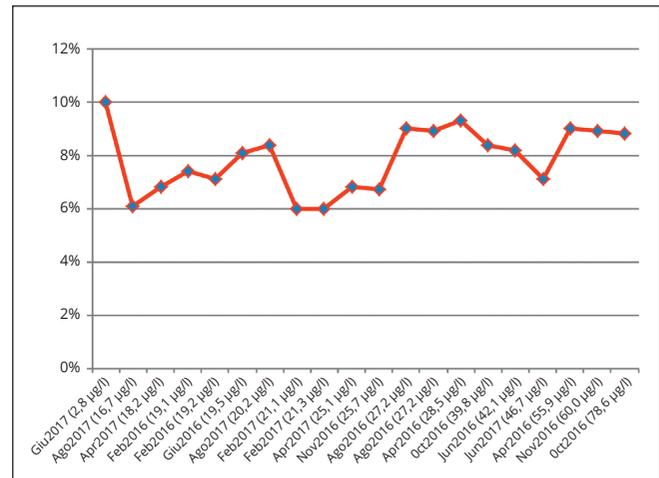


Figura 2.—Coefficienti di variazione (CV) ottenuti nel controllo di qualità NEQAS per diversi valori di triptasi (periodo febbraio 2016-agosto 2017 di ca. 200 partecipanti).

Riproducibilità del test

Il metodo per la determinazione della triptasi, attualmente disponibile in commercio, è un test dotato di una buona precisione, con bassi valori di coefficiente di variazione (CV) intra e inter-assay, come confermato da Schliemann *et al.*³³ che hanno riscontrato una variabilità intra-assay di 1,7% al valore 8,26 µg/l e di 1,1% al valore 44,5 µg/l, nonché una variabilità inter-assay di 7,1% al valore 9,85 µg/l e di 5,5% al valore 33,16 µg/l.

La buona riproducibilità del test è anche confermata dai risultati del controllo esterno di qualità UK-NEQAS. La variabilità globale nell'ambito dei 20 sieri di controllo con valori compresi in un range da 2,8 a 78,6 µg/l, inviati nel periodo da febbraio 2016 ad agosto 2017 (circa 200 partecipanti) ha evidenziato CV tra il 6 e il 10%, con una media del 7,8% (Figura 2).

Questi dati vengono confermati anche in un lavoro di Davson *et al.*³⁷ nel quale sono stati inviati 28 campioni con valori di triptasi tra 3,3 e 127 µg/l a 25 diversi laboratori. Il CV medio di tutti i campioni è risultato dell'8% (range 4,4-12,7%).

Indicazioni per la determinazione della triptasi

Il dosaggio della triptasi è indicato nelle seguenti condizioni:

- nel sospetto di anafilassi da farmaci, alimenti e punture d'insetto;
- nel sospetto di morte per anafilassi (valutazione *post mortem*);

- nel sospetto di mastocitosi e nelle sindromi da attivazione dei mastociti.

Triptasi e anafilassi

Considerazioni generali

La triptasi è utile per una corretta diagnosi di anafilassi dato che sintomi simili a quelli di una reazione anafilattica possono essere presenti anche nella reazione vaso-vagale, nello shock settico e cardiogeno come pure nel carcinoma e nel flush benigno.

Nell'anafilassi la triptasi ha la seguente cinetica: circa 5-30 minuti dopo l'evento i valori sierici iniziano a salire, raggiungono il picco dopo 1-3 ore ed entro 16-24 ore dal termine dell'evento ritornano al valore basale. Il tempo di dimezzamento della triptasi è circa 1,5-2,5 ore. Nella Figura 3 viene simulata la cinetica della triptasi in tre pazienti con reazione anafilattica e con valori diversi di triptasi: come si può osservare la triptasi, anche in pazienti con valori di picco >100 µg/l, ritorna ai valori basali entro le 24 dopo il termine dell'evento.

Enrique *et al.*,³⁸ in uno studio in cui sono stati valutati 30 pazienti con anafilassi, hanno dimostrato come, utilizzando il cutoff inizialmente proposto di 13,5 µg/l, solo il 35% (= sensibilità) dei pazienti aveva valori al di sopra di questa soglia, con una specificità del 92,3%. La sensibilità del test aumentava al 94,2% utilizzando un valore di cutoff di 8,2 µg/l, senza perdere di specificità. Dati simili sono stati ottenuti anche da altri autori.^{39, 40} Questo indica, che sia il valore di 13,5 µg/l, che quello proposto attualmente dalla ditta produttrice (11,4 µg/l) è troppo alto per garantire una sufficiente sensibilità del test in caso di anafilassi.

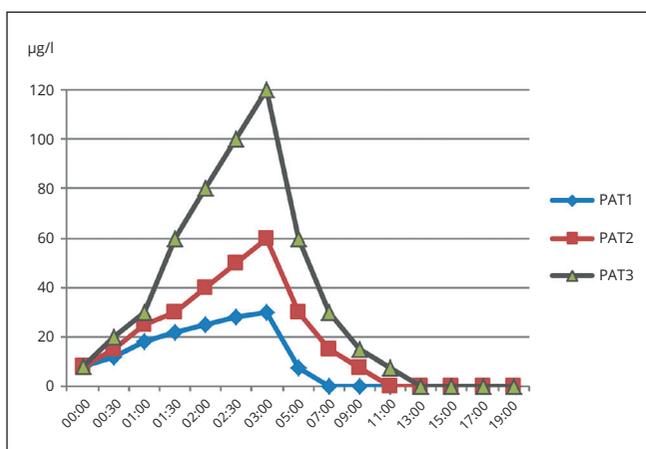


Figura 3.—Cinetica della triptasi in tre pazienti con differenti valori massimi.

I vari autori sono arrivati alla conclusione che l'aumento individuale dal valore basale della triptasi è più sensibile rispetto al valore assoluto e questo viene anche confortato dal fatto che i valori basali di un individuo rimangono stabili nel tempo.

In considerazione di quanto in precedenza riportato, Valent *et al.* suggeriscono che valori superiori al 120% del valore basale + 2 (valore basale × 1.2 + 2) siano da considerare significativi per un evento anafilattico⁴¹ e ciò relativizza il concetto del significato del valore di riferimento per la triptasi.

Nel caso ci sia la necessità di sciogliere in tempi ragionevolmente rapidi un dubbio diagnostico in pazienti che afferiscono al Pronto Soccorso per sospetta anafilassi, di cui non si abbia a disposizione un precedente valore basale della triptasi, Brown *et al.* hanno dimostrato come una variazione del valore di 2,0 µg/l tra due prelievi distanziati un'ora uno dall'altro abbia una sensibilità e specificità per la diagnosi di anafilassi rispettivamente del 73% e del 91%.⁴⁰

Per potere attribuire significatività ad un dato, comunque, data la velocità con cui i valori di triptasi rientrano nella norma dopo un evento scatenante, è assolutamente importante la tempistica in cui vengono eseguiti i prelievi e fondamentale risulta la formazione del personale del Pronto Soccorso.

Valori persistentemente elevati di triptasi dopo una reazione anafilattica giustificano l'ampliamento della diagnostica per la ricerca di una mastocitosi, secondo quanto indicato dalle recenti linee guida proposte dalla OMS.⁴²

Peculiarità della triptasi nelle singole forme di anafilassi

Anafilassi da farmaci e anestetici

I farmaci e gli anestetici (soprattutto i miorellassanti) sono fra le principali cause di anafilassi. In questi pazienti spesso si osservano i livelli più alti di triptasi. I valori della triptasi e la severità dell'anafilassi sono particolarmente alti in pazienti nei quali i farmaci sono stati somministrati per via endovenosa.

Particolare attenzione deve essere prestata nei pazienti che in corso di anestesia generale hanno accusato un calo pressorio, oppure hanno presentato broncospasmo, angioedema o sintomi cutanei come eritema, rush od orticaria. Da differenziare sono le reazioni pseudo-allergiche provocate da un rilascio isolato di istamina a causa di una rapida iniezione di farmaci anestetici (soprattutto i derivati della morfina).

Anafilassi da alimenti

Nell'anafilassi da alimenti i livelli di triptasi di solito raggiungono livelli meno elevati di quelli dell'anafilassi indotta da farmaci.^{43, 44} L'anafilassi da alimenti ha uno sviluppo più lento e spesso bifasico. La degranolazione delle mastocellule è spesso limitata alla mucosa dell'intestino e perciò è ipotizzabile anche una dispersione della triptasi nel lume intestinale. Il contenuto della triptasi nelle mastocellule mucosali è inoltre basso. Nell'anafilassi da alimenti sono ipotizzabili anche altri meccanismi patogenetici senza il coinvolgimento delle mastocellule, ma piuttosto un rilascio di mediatori da granulociti basofili o attivazione di fattori del complemento (C 3a e C 5a) e di chinine. Nell'anafilassi da alimenti, quindi, la formula: valore basale $\times 1.2 + 2$ può essere particolarmente utile, visto che i valori di triptasi spesso non sono di molto elevati.

Anafilassi da puntura di imenottero

Ruëff *et al.*^{45, 46} hanno dimostrato una stretta correlazione tra valori basali della triptasi e rischio di sviluppare gravi reazioni sistemiche dopo una puntura di imenottero, ma anche nella fase di induzione di una terapia di desensibilizzazione agli imenotteri. Questi autori hanno evidenziato che già valori $>5 \mu\text{g/l}$ sono correlati ad un maggiore rischio di anafilassi, che aumenta con l'aumentare del valore della triptasi basale. Anche l'incremento del valore basale della triptasi con l'età è stato messo in relazione con il maggior numero di reazioni severe nella popolazione di età più avanzata.⁴⁷

La mastocitosi viene nella maggior parte dei casi scoperta solo dopo che un soggetto ha accusato una reazione avversa, spesso severa, in seguito a puntura da imenotteri. Il 5-19% dei pazienti con mastocitosi sviluppa infatti anafilassi dopo puntura da imenotteri.

Bonadonna *et al.*⁴⁸ hanno evidenziato che, se il valore basale della triptasi è maggiore di $11,4 \mu\text{g/l}$ e si verifica anafilassi dopo puntura di imenottero, nell'88% dei casi ci si trova di fronte ad una mastocitosi e che, in presenza di triptasi basale $>11,4 \mu\text{g/l}$ e di un dosaggio delle IgE specifiche per apidi e/o vespidi negativo, la probabilità di una sottostante mastocitosi è del 100%.⁴⁸

In pazienti con anafilassi e valori di triptasi persistentemente alti, si raccomanda una terapia di desensibilizzazione per tutta la vita, anche se la diagnosi di mastocitosi non è stata confermata.⁴⁹⁻⁵¹

Esiste comunque una stretta correlazione con l'aumento della triptasi e il grado di ipotensione. Questa correlazione è stata riscontrata sia in pazienti che hanno subito un'ana-

filassi dopo una puntura da imenotteri^{31, 52} che in soggetti con altre forme di anafilassi.⁵³

Per quanto sopra riportato, un recente documento di consensus delle società italiane di allergologia sul trattamento delle allergie al veleno di imenotteri prevede che, in caso di reazioni sistemiche, venga sempre eseguito in fase diagnostica il dosaggio della triptasi.⁵⁴

Anafilassi fatale e utilizzo della triptasi post-mortem

Elevati valori di triptasi nel *post-mortem* sono stati riportati fin dal 1991,⁴⁴ suggerendo la possibilità di poter eseguire una diagnosi di anafilassi *post-mortem* tramite il dosaggio della triptasi, nonché di poter classificare come dovute ad anafilassi, o comunque ad attivazione mastocitaria, alcune morti inspiegate, incluse alcune morti improvvise in età pediatrica.⁵⁵⁻⁵⁷ Anche se questo concetto può trovare tuttora una sua validità, va tenuto però presente che la triptasi dosata *post-mortem* è stata trovata elevata anche in soggetti deceduti per un grave trauma, per infarto del miocardio, per asfissia, o malattie polmonari.

Nel tempo, quindi, il valore di triptasi considerato predittivo di anafilassi come possibile causa di morte è aumentato dai $44,5 \mu\text{g/l}$ ⁵⁷ ai $110 \mu\text{g/L}$ proposti da McLean-Tooke *et al.*⁵⁸ nel 2014. Questi ultimi autori hanno evidenziato, infatti, come valori aumentati di triptasi nei sieri *post-mortem* siano piuttosto frequenti anche se la causa di morte è diversa dall'anafilassi e solo valori $>110 \mu\text{g/l}$ abbiano una alta efficienza diagnostica per anafilassi.

Tuttavia, studi successivi hanno nuovamente proposto soglie più basse per il riscontro di anafilassi quale possibile causa di morte e ad oggi un consenso definitivo non è ancora stato raggiunto.⁵⁹⁻⁶¹

Raccomandazioni per la determinazione della triptasi nell'anafilassi

Riassumendo tutti gli aspetti relativi alla triptasi sopra citati, le caratteristiche intra- e inter-individuali, la cinetica in corso di anafilassi, la stabilità dei valori basali, la variabilità analitica, nel sospetto di anafilassi si raccomanda quanto segue:

- eseguire il primo prelievo preferibilmente tra 30 minuti e 3 ore dopo l'evento;
- nonostante l'aumento della triptasi possa essere già presente dopo 5-30 minuti successivamente all'evento, conviene eseguire il test dopo almeno 30 minuti per evitare risultati falsamente negativi;
- in pazienti con il valore basale già noto (evento peraltro non frequente) confrontare il valore ottenuto con il

valore basale. Nel caso il valore sia superiore del 120% il valore basale + 2 µg/l si conferma il sospetto di anafilassi;

- considerare che valori superiori al cutoff possono di per sé essere già indicativi per un evento anafilattico;
- se possibile eseguire un secondo prelievo 1-6 ore dopo l'evento per valutare la cinetica;
- eseguire un prelievo a distanza di almeno 24 ore dall'evento (meglio dopo 42-78 ore). Questo è considerato come valore basale e serve per paragonare il dato a quello ottenuto entro le 3 ore dall'evento;
- eseguire sempre il dosaggio della triptasi in soggetti che hanno accusato una reazione anafilattica in seguito a puntura da imenotteri anche se l'evento è avvenuto già prima di 24 ore. Valori basali alti devono far pensare a una mastocitosi;
- la triptasi può essere determinata anche in sieri *post-mortem* quando è incerta la causa di morte. In tal caso va ricordato che cause di morte diverse dall'anafilassi possono determinare un incremento della triptasi e solo valori molto elevati possono essere indicativi di anafilassi come causa di morte.

TABELLA I.—*Classificazione della mastocitosi.*

Mastocitosi cutanea	
• Mastocitosi cutanea maculopapulare — orticaria pigmentosa	
• Mastocitosi cutanea diffusa	
• Mastocitoma cutaneo	
Mastocitosi sistemica	
• Mastocitosi sistemica indolente	
• Mastocitosi sistemica smouldering	
• Mastocitosi sistemica con associato disordine clonale non mastocitario	
• Mastocitosi sistemica aggressiva	
• Leucemia mastocellulare	
• Sarcoma mastocellulare	

TABELLA II.—*Criteri diagnostici di mastocitosi sistemica. La diagnosi è confermata se sono presenti il criterio maggiore e uno dei criteri minori, oppure tre criteri minori.*

Criteri	Descrizione
Criterio maggiore	Presenza di diffusi e grossolani aggregati mastocitari (>15) nel midollo osseo o altro tessuto extracutaneo, confermati con esami immunocistochimici o altri colorazioni speciali dei mastociti
Criteri minori	<ol style="list-style-type: none"> 1. triptasi sierica/plasmatica persistentemente elevata (>20 µg/l) 2. atipie di >25% delle mastcellule nei tessuti extracutanei 3. co-espressione del CD25 e/o CD2 da parte dei mastociti 4. mutazione del gene KIT a livello dell'esone 816

Triptasi e mastocitosi

La mastocitosi è una malattia clonale delle mastcellule che si accumulano in diversi organi; viene classificata in una forma cutanea e una forma sistemica (Tabella I). Dal punto di vista clinico la malattia è piuttosto eterogenea e può essere caratterizzata da coinvolgimento primario della cute soprattutto in età pediatrica, senza o con sintomi sistemici, da una forma sistemica pauci- o asintomatica a buona prognosi o da una forma sistemica sintomatica con prognosi meno favorevole. Nelle forme sistemiche l'organo maggiormente coinvolto è il midollo osseo.

La triptasi gioca un ruolo fondamentale nella diagnosi ed è stata inserita dall'OMS come criterio minore per la diagnosi di mastocitosi (Tabella II).⁶²⁻⁶⁴

Epidemiologia

La mastocitosi è una malattia rara che può presentarsi in ogni fascia di età. Si stima che l'incidenza sia inferiore a 10 nuovi casi per milione di abitanti.^{65, 66} Circa due terzi dei pazienti sono bambini e un terzo adulti. Quasi sempre è una malattia sporadica senza predilezione di sesso e solo in rari casi è di tipo familiare con trasmissione autosomica dominante.⁶⁷⁻⁷⁰

Sintomi

Il sintomo principale di tutte le mastocitosi con coinvolgimento cutaneo è il prurito. Dopo una irritazione meccanica, o anche spontaneamente, può presentarsi un eritema o un'orticaria. I sintomi possono anche essere indotti da un cambio di temperatura, sforzo fisico, stress fisico/psichico, da infezioni e ingestione di bevande alcoliche.

Nel caso di mastocitosi sistemica possono essere presenti ulteriori sintomi:

- sintomi da rilascio dei mediatori: essi sono dovuti agli effetti vaso- e neuro-attivi dei mediatori delle mastcellule che coinvolgono la cute (prurito, orticaria, vescicolazione, dermatografismo), il tratto gastrointestinale (diarrea, dolori addominali, crampi, ulcera gastrica ed epigastralgia), i bronchi (dispnea e tosse), il sistema cardiocircolatorio (ipotensione, palpitazione, ma anche episodi pre-sincopali e anafilassi),⁷¹⁻⁷⁴ il sistema nervoso (difficoltà di attenzione, di concentrazione e cefalea) e il sistema muscoloscheletrico (mialgie, dolore osseo, osteopenia, osteoporosi e fratture patologiche);⁷⁵
- sintomi costituzionali: calo ponderale, febbre e sudorazione nelle forme sistemiche progressive;
- sintomi da infiltrazione tissutale: nelle forme sistemiche progressive (epato- e splenomegalia, ascite, malassor-

bimento, fratture ossee, linfadenomegalia, infiltrazione del midollo osseo con anemia, leucopenia e piastrinopenia.)

Patogenesi

Il fattore di crescita più importante del mastocita è la citochina denominata *stem cell factor* (SCF). Questa citochina si lega ad un recettore transmembrana dotato di attività tirosin-chinasica, KIT (CD117), codificato dal proto-oncogene *KIT*. Il legame del SCF a KIT induce nel mastocita una serie di funzioni cellulari: la proliferazione, la differenziazione, la liberazione di mediatori, la migrazione e la sopravvivenza del mastocita.^{76, 77} La maggior parte degli adulti con mastocitosi presenta una mutazione del gene che codifica per KIT, più comunemente nel codone 816, con una sostituzione di una valina con acido aspartico⁷⁸ (Asp816Val, KITD816V) che induce un'attivazione autonoma del recettore KIT, indipendentemente da SCF.⁷⁹⁻⁸³ Più raramente sono presenti altre sostituzioni di aminoacidi nel codone 816 (ad esempio Asp816Phe o Asp816His), o mutazioni nel codone 820 (Asp820Gly), sempre in grado di attivare il recettore KIT.^{84, 85}

Nelle mastocitosi infantili solo in alcuni casi sono state riscontrate le mutazioni che attivano il KIT.^{78, 86} Nei bambini si possono comunque riscontrare mutazioni atipiche, come la Asp816Phe, Asp816Tyr, Arg816Lys o mutazioni silenti come la mutazione Asp816Asp.

Nonostante la scoperta di geni coinvolti nella patogenesi, non tutti gli aspetti relativi alla patogenesi della malattia sono stati chiariti. Nello specifico non si sa ancora quali fattori, oltre le mutazioni in KIT, siano causa della eterogeneità della malattia e quale sia la patogenesi della mastocitosi infantile nel caso di assenza di mutazioni attivanti il KIT.

Mastocitosi cutanea

La mastocitosi cutanea è la forma che interessa esclusivamente la cute. In circa 80% dei casi l'accumulo delle mastocellule avviene esclusivamente nella cute ma è da considerare che anche nelle forme sistemiche il coinvolgimento cutaneo è frequente. Il 65% delle forme cutanee esordisce in età infantile e solo il 35% dei casi compare nell'età adulta. Le forme infantili nell'85% dei casi iniziano prima del secondo anno di vita ed il 15% tra i 2 e 15 anni di vita. Le forme infantili nella maggior parte dei casi regrediscono spontaneamente.

Nell'età adulta le forme sistemiche sono molto più frequenti e un esclusivo coinvolgimento cutaneo è presente solo nel 5% dei casi.

Le forme cutanee possono essere suddivise in tre sottogruppi. La mastocitosi cutanea maculopapulare (orticaria pigmentosa) è la forma più frequente (80%), seguita dal mastocitoma cutaneo (17%) e dalla mastocitosi cutanea diffusa (6%).⁸⁷

Nonostante la localizzazione puramente cutanea, i bambini possono presentare anche i classici sintomi di rilascio dei mediatori, quali flushing, eritema, gonfiori, dermatografismo e anche altri sintomi quali sintomi gastrointestinali e/o sistemici.

La prognosi in generale è buona se le lesioni cutanee compaiono prima del terzo anno di vita. La mastocitosi tende a persistere se i sintomi iniziano dopo il secondo/terzo anno di vita.

L'inizio della mastocitosi cutanea nell'età adolescenziale è piuttosto raro. In questi casi comunque, come pure nelle mastocitosi infantili nelle quali il coinvolgimento cutaneo non regredisce durante la pubertà, è da sospettare una mastocitosi sistemica.

Il ruolo della triptasi nella mastocitosi cutanea

Nella mastocitosi cutanea maculopapulare e nel mastocitoma i livelli della triptasi non sono di norma aumentati. In caso di un aumento della triptasi deve essere sempre valutata la presenza di una mastocitosi sistemica. Ovviamente il prelievo deve essere eseguito almeno 24 ore dopo il termine di un evento clinico, considerando, anche, che in età pediatrica un rilascio dei mediatori dalle mastocellule non è evento raro.

Nei casi di mastocitosi cutanea dell'età pediatrica, nei quali si riscontra un valore alto della triptasi (>20 µg/l) in assenza di un coinvolgimento sistemico, il valore è da attribuire al rilascio della triptasi dalle mastocellule cutanee. Tuttavia, viene comunque fortemente raccomandato di monitorare il livello della triptasi nel tempo. Se il livello diminuisce durante la pubertà non è necessario eseguire una valutazione del midollo osseo.

Nella mastocitosi cutanea diffusa, invece, i livelli della triptasi possono essere aumentati anche senza la presenza di una malattia sistemica. Valori persistentemente alti però devono indurre ad un approfondimento diagnostico per poter escludere una mastocitosi sistemica.

Mastocitosi sistemica

La mastocitosi sistemica fa parte delle neoplasie mieloproliferative croniche e viene classificata in diversi gruppi e sottogruppi, secondo la classificazione OMS 2016 (Tabella I).⁶² La forma più frequente (74%; range 46-82%) è la mastocitosi sistemica indolente, quadro in genere a prognosi

TABELLA III.—*Reperti per la valutazione prognostica della mastocitosi secondo le indicazioni dell'OMS.*⁵³

Reperti	Descrizione
Reperti B	Infiltrazione di mastociti alla biopsia ossea >30% (focali, densi aggregati) e/o concentrazione triptasi sierica >200 µg/l Midollo ipercellulare con dismielopoiesi o aspetti mieloproliferativi. I criteri non sono sufficienti per la diagnosi di mielodisplasia o neoplasia mieloproliferativa, con conte ematiche normali o poco alterate Epatomegalia con funzione epatica normale e/o splenomegalia palpabile senza ipersplenismo e/o linfadenomegalia >2 cm palpabili o tramite conferma radiologica
Reperti C	Neutrofili <1000/µl; emoglobina <10 mg/dl; piastrine <100.000/µl in assenza di altre patologie midollari non mastocitarie Splenomegalia palpabile con ipersplenismo Epatomegalie palpabile con alterata funzione epatica, ascite, e/o ipertensione portale Malassorbimento con calo ponderale e infiltrazione gastrointestinale mastocitaria Infiltrazione dei mastociti nelle ossa con larghe osteolisi e/o fratture patologiche

favorevole in quanto solo meno del 10% evolve dopo 20 anni in una forma aggressiva, seguita dalla mastocitosi con associato disordine ematologico (14%; range 6-40%), la mastocitosi sistemica aggressiva (10%; range 5-12%), la leucemia mastocitaria (1%, range <1-6%), il sarcoma mastocitario (<1%) e infine il mastocitoma extracutaneo (<1%).⁸⁷

La diagnosi di mastocitosi sistemica è basata sulla presenza di un criterio maggiore e di un criterio minore, oppure di tre criteri minori, secondo quanto stabilito dall'OMS⁶² e riportato in Tabella II.

Dal punto di vista clinico prognostico la mastocitosi sistemica viene classificata secondo le indicazioni dell'OMS sulla base o meno dei cosiddetti reperti B (segni o sintomi da infiltrazione d'organo senza alterazione della funzione) e dei reperti C (sintomi di disfunzione d'organo da infiltrazione di mastociti neoplastici) (Tabella III), in forma indolente, forma *smouldering* e forma aggressiva.

La mastocitosi viene definita indolente quanto ci siano meno di due reperti B e nessun reperto C, *smouldering* quando sono presenti due o più reperti B e nessun reperto C e aggressiva quando sono presenti uno o più reperti C.

Il ruolo della triptasi nella mastocitosi sistemica

La triptasi è il marcatore di laboratorio più specifico per la diagnosi di mastocitosi sistemica. Come già sopra riportato, il test è stato inserito fra i criteri minori per la diagnosi

(Tabella II). I pazienti con mastocitosi sistemica hanno di solito valori "basali" di triptasi >20 µg/l. È perciò fondamentale misurare il parametro lontano da eventi causati da un rilascio dei mediatori dalle mastocellule ed è inoltre necessario controllare il parametro almeno una seconda volta per avere la conferma di un rialzo persistente dell'enzima. È da notare che il valore assoluto della triptasi sierica non indica il tipo di mastocitosi. La mastocitosi associata ad una malattia ematologica e anche le forme aggressive di mastocitosi possono avere valori simili alla forma indolente.⁸⁸ Nella leucemia mastocitaria invece i valori sono di solito estremamente alti e possono raggiungere anche livelli >1000 µg/l.

Nel sottotipo mastocitosi con malattia ematologica associata il criterio della triptasi non viene applicato dato che il valore alto della triptasi può derivare anche dalle cellule precursori del midollo osseo.

Altri esami di laboratorio

Enzimi e marcatori epatici e renali, emocromo con formula ed eventualmente la determinazione della metil-istamina o dell'acido 1,4-metilimidazolacetico nelle urine delle 24 ore possono essere utili per la diagnosi di mastocitosi.

Altri esami diagnostici

Nella mastocitosi sono necessari altri esami per confermare la diagnosi della malattia.

- diagnostica per immagini: ecografia dell'addome e TC addome, per valutare la presenza di epatosplenomegalia o coinvolgimento di linfonodi;
- densitometria ossea, per valutare la presenza di osteoporosi, sintomo frequente nella mastocitosi sistemica;
- istologia cutanea;
- aspirato midollare;
- diagnostica citomorfologica e immunofenotipica delle mastocellule per valutare le atipie delle mastocellule e la presenza di CD2 e/o CD25;
- biologia molecolare per la conferma di una mutazione KIT.

Raccomandazioni per la determinazione della triptasi nel sospetto di mastocitosi

Determinazione della triptasi nel sospetto di mastocitosi infantile

Valori nella norma non escludono una mastocitosi; valori <20 µg/l associati ad assenza di sintomi da rilascio e assenza di epatosplenomegalia o linfonodi o alterazioni dell'emocromo, suggeriscono che non è necessario proce-

dere con la biopsia midollare; valori >20 µg/l e/o sintomi da rilascio di mediatori e/o epatosplenomegalia, sono indicazioni a procedere con la biopsia midollare.

Determinazione della triptasi nel sospetto di mastocitosi nell'adulto

Nel sospetto di una mastocitosi dell'adulto è raccomandato eseguire sempre il dosaggio della triptasi, dato che il valore è spesso aumentato, anche se va rimarcato che il valore non è indicativo di una specifica forma clinica di mastocitosi, con eccezione della leucemia mastocitaria che ha livelli altissimi.

Nelle reazioni anafilattiche post puntura di insetti viene raccomandato di eseguire sempre il dosaggio della triptasi basale, perché non è infrequente una sottostante mastocitosi, più frequentemente di tipo indolente.

In tutti i casi un valore di triptasi elevato dovrebbe essere confermato con un secondo test a distanza di tempo (almeno 3-4 giorni).

Altre patologie che possono determinare un incremento della triptasi

Valori elevati di triptasi sono stati rilevati in pazienti affetti da leucemia mieloide acuta,⁸⁹ sindrome mielodisplastica,⁹⁰ sindrome ipereosinofila (associata alla mutazione FIP1L1 PDGFRA),⁹¹ insufficienza renale terminale,⁹² in alcune forme di infestazioni da elminti⁹³ e in rari casi è stato descritto un incremento familiare su base genetica.^{94, 95} Nelle leucemie mieloidi acute nel 40% dei pazienti sono stati osservati valori alti di triptasi, prodotta dalle cellule precursori. Nelle sindromi mielodisplastiche la triptasi viene sintetizzata specificamente da mastociti atipici. Nelle sindromi ipereosinofile con mutazione FIP1L1PDGFRA l'iperplasia delle mastcellule è causa dell'aumento della triptasi.

TABELLA IV.—Le sindromi di attivazione dei mastociti.

Sindrome	
Sindrome primarie da attivazione delle mastcellule	Mastocitosi Sindrome da attivazione mastocitaria monoclonale (MMAS)
Cause secondarie dell'attivazione delle mastcellule	Malattie allergiche Attivazione delle mastcellule in associazione con malattie croniche infiammatorie, autoimmuni, neoplastiche Orticaria fisica
Cause idiopatiche di attivazione delle mastcellule	Orticaria idiopatica/angioedema Anafilassi idiopatica Sindrome da attivazione mastocitaria idiopatica (MCAS)

Sindromi di attivazione dei mastociti

Come in parte già emerso da quanto sopra riportato, diverse possono essere le cause di attivazione mastocitaria associate ad un aumento della triptasi, le quali sono schematicamente riportate nella Tabella IV.

Fra queste un ruolo particolare lo ricopre la sindrome da attivazione mastocitaria monoclonale (MMAS) che è stata descritta nel 2007^{96, 97} ed è stata classificata come malattia a sé stante.⁹⁸ In essa sono presenti mastcellule monoclonali, con le mutazioni descritte in precedenza e con espressione di CD25 e in un minor numero di casi anche di CD2, ma non vengono interamente rispettati i criteri per poter fare diagnosi di mastocitosi.

Nella MMAS i pazienti presentano periodicamente sintomi da rilascio di mediatori, in assenza delle tipiche lesioni cutanee; non presentano inoltre aggregati di mastcellule nel midollo (criterio maggiore per fare la diagnosi di mastocitosi), e il valore della triptasi può essere normale o leggermente aumentato (in genere <20 µg/l).^{44, 96-99} Il riscontro di tale forma è in genere successivo ad una reazione anafilattica da puntura di imenottero in cui si evidenzia un livello aumentato di triptasi e dove, pur riscontrandosi le anomalie clonali, non sono presenti criteri sufficienti per poter porre diagnosi di mastocitosi.

Un'altra condizione particolare di attivazione della mastcellule descritta di recente è la sindrome da attivazione mastocitaria idiopatica (MCAS).¹⁰⁰ Tale forma, in cui non sono presenti alterazioni clonali delle mastcellule, viene diagnosticata, secondo quanto proposto da Akin *et al.*¹⁰⁰ quando sono presenti episodi intermittenti con sintomi tipici del rilascio di mediatori dalle mastcellule con interessamento di due o più fra i seguenti organi: cute, intestino, apparato respiratorio, sistema cardiovascolare, alte vie respiratorie, congiuntive. Alla clinica deve aggiungersi l'esclusione di altre cause note, primarie o secondarie, di attivazione delle mastcellule, la diminuzione o scomparsa dei sintomi in seguito a trattamento con antistaminici, anti-leucotrienici o stabilizzanti delle mastcellule, nonché la dimostrazione di un incremento dei marcatori (nella fattispecie la triptasi) in almeno due o più episodi in cui sono presenti i sintomi. Da quanto sopra, quindi, risulta evidente che una buona fetta delle anafilassi idiopatiche dovrebbe rientrare nella MCAS.

Utilizzo del dosaggio della triptasi su liquidi diversi dal sangue

Il dosaggio della triptasi può essere eseguito, oltre che sulla matrice sierica, su liquidi biologici di diversa provenienza,

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The production of derivative works from the Article is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo, or other proprietary information of the Publisher.

quali il liquido di lavaggio bronco-alveolare, quello intestinale, il secreto nasale ed il secreto lacrimale. In condizioni basali, a livello della mucosa nasale, la sua determinazione può essere particolarmente utile per monitorare la flogosi *in situ* e generalmente il riscontro di elevate concentrazioni nel fluido nasale è caratteristico di una rinite allergica.

Nel corso dei test di provocazione livelli elevati di triptasi si possono riscontrare in tutti i materiali sopraccitati ogni qualvolta ci troviamo di fronte a patologie a patogenesi allergica. Dopo challenge nasale i mastociti rilasciano istamina e triptasi preformate e questo determina un aumento della loro concentrazione in queste secrezioni,¹⁰¹ insieme a quello della prostaglandina (PGD2) e dei cisteinil leucotrieni (Cys-LT). Il livello di mediatori liberato dopo *challenge* nasale è estremamente variabile da individuo a individuo. In particolare nei responder clinici atopici i livelli di triptasi possono aumentare fino a sette volte rispetto ai livelli basali, in misura nettamente superiore a quanto si verifica per l'istamina.¹⁰² È stato evidenziato, inoltre, come l'incremento della triptasi nel secreto nasale risulti essere particolarmente significativo nei pazienti con allergia perenne al *Dermatophagoides pteronyssinus*.¹⁰³

Il dosaggio, in condizioni basali e dopo challenge allergici, può essere eseguito utilizzando la tecnica di microaspirazione nasale che permette una misurazione quantitativa dei mediatori nelle secrezioni anche con piccoli volumi di materiali opportunamente diluiti.¹⁰⁴ Possono essere utilizzati per il prelievo degli appositi *stick* nasali, particolarmente utili in età pediatrica.¹⁰⁵ Il materiale prelevato può essere processato, con o senza eventuale diluizione, (dopo lavaggio della fase solida con NaCl 0,9% e Tween allo 0,05% tre volte per 5 minuti) con il metodo FEIA (ImmunoCAP, Thermofisher) analogamente a quanto si fa per il dosaggio nel siero.

Meno utilizzati, ma ugualmente possibili, sono i dosaggi nel secreto lacrimale, nella saliva e nei liquidi di lavaggio bronchiale e intestinale. La presenza di triptasi nelle lacrime è dovuta al rilascio da parte di mastociti congiuntivali in pazienti con infiammazione oculare di natura allergica. In particolare il livello di triptasi è elevato nella fase acuta della reazione, ma non in quella tardiva. Infine può essere utile eseguire il dosaggio della triptasi nella saliva prima e dopo un challenge test della mucosa con il cibo incriminato, in soggetti nei quali si sospetta la presenza di un'allergia alimentare, entro pochi minuti dall'insorgenza di sintomi.¹⁰⁶

Conclusioni

Il dosaggio della triptasi ematica è un test semplice, dotato di una buona riproducibilità, alla portata di tutti i labora-

tori, e di grande utilità per la diagnosi di tutte le forme da attivazione mastocitaria. La sua maggiore utilità è nella diagnosi di anafilassi, quando questa è incerta e la clinica può essere compatibile con altre cause, nonché nella diagnostica della mastocitosi. È proprio grazie al dosaggio della triptasi, eseguito spesso dopo un episodio anafilattico seguente a puntura di imenottero, che molte forme di mastocitosi, soprattutto nella forma indolente, o di MMAS, possono venire ora identificate e ciò rimarca la necessità di un lavoro integrato tra allergologi, ematologi e laboratoristi nella diagnostica di tali patologie.

Bibliografia

1. Vitte J. Human mast cell tryptase in biology and medicine. *Mol Immunol* 2015;63:18–24.
2. Pereira PJ, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschner G, Fritz H, *et al*. Human beta-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. *Nature* 1998;392:306–11.
3. Schwartz LB, Bradford TR. Regulation of tryptase from human lung mast cells by heparin. Stabilization of the active tetramer. *J Biol Chem* 1986;261:7372–9.
4. Goldstein SM, Leong J, Schwartz LB, Cooke D. Protease composition of exocytosed human skin mast cell protease-proteoglycan complexes. Tryptase resides in a complex distinct from chymase and carboxypeptidase. *J Immunol* 1992;148:2475–82.
5. Ehrlich P. Beiträge zur Kenntnis der granulierten Bindegewebszellen und der eosinophilen Leukozyten. *Arch Anat Physiol* 1879;3:166–96.
6. Welle M. Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *J Leukoc Biol* 1997;61:233–45.
7. Castells MC, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *J Immunol* 1987;138:2184–9.
8. Jogie-Brahim S, Min HK, Fukuoka Y, Xia HZ, Schwartz LB. Expression of alpha-tryptase and beta-tryptase by human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1086–92.
9. Schwartz LB, Irani AM, Roller K, Castells MC, Schechter NM. Quantitation of histamine, tryptase, and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol* 1987;138:2611–5.
10. Miller JS, Westin EH, Schwartz LB. Cloning and characterization of complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1989;84:1188–95.
11. Miller JS, Moxley G, Schwartz LB. Cloning and characterization of a second complementary DNA for human tryptase. *J Clin Invest* 1990;86:864–70.
12. Vanderslice P, Ballinger SM, Tam EK, Goldstein SM, Craik CS, Caughey GH. Human mast cell tryptase: multiple cDNAs and genes reveal a multigene serine protease family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:3811–5.
13. Pallaoro M, Fejzo MS, Shayesteh L, Blount JL, Caughey GH. Characterization of genes encoding known and novel human mast cell tryptases on chromosome 16p13.3. *J Biol Chem* 1999;274:3355–62.
14. Soto D, Malmsten C, Blount JL, Muilenburg DJ, Caughey GH. Genetic deficiency of human mast cell alpha-tryptase. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1000–6.
15. Abdelmotleb AM, Rose-Zerilli MJ, Barton SJ, Holgate ST, Walls AF, Holloway JW. Alpha-tryptase gene variation is associated with levels of circulating IgE and lung function in asthma. *Clin Exp Allergy* 2014;44:822–30.
16. Trivedi NN, Tamraz B, Chu C, Kwok PY, Caughey GH. Human subjects are protected from mast cell tryptase deficiency despite fre-

quent inheritance of loss-of-function mutations. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1099–105.

17. Schwartz LB. Diagnostic value of tryptase in anaphylaxis and mastocytosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2006;26:451–63.

18. Min HK, Moxley G, Neale MC, Schwartz LB. Effect of sex and haplotype on plasma tryptase levels in healthy adults. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:48–51.

19. Sverrild A, van der Sluis S, Kyvik KO, Garvey LH, Porsbjerg C, Backer V, *et al.* Genetic factors account for most of the variation in serum tryptase—a twin study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;111:286–9.

20. Lyons JJ, Sun G, Stone KD, Nelson C, Wisch L, O'Brien M, *et al.* Mendelian inheritance of elevated serum tryptase associated with atopy and connective tissue abnormalities. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1471–4.

21. Miller H, Pemperton A. tissue specific expression of mast cell granule serin proteinases and their role in inflammation in the lung and gut. *Immunology* 2002;105:357–90.

22. Heutink KM, ten Berge IJ, Hack CE, Hamann J, Rowshani AT. Serine proteases of the human immune system in health and disease. *Mol Immunol* 2010;47:1943–55.

23. McLachlan JB, Shelburne CP, Hart JP, Pizzo SV, Goyal R, Brooking-Dixon R, *et al.* Mast cell activators: a new class of highly effective vaccine adjuvants. *Nat Med* 2008;14:536–41.

24. McNeil HP, Adachi R, Stevens RL. Mast cell-restricted tryptases: structure and function in inflammation and pathogen defense. *J Biol Chem* 2007;282:20785–9.

25. van der Linden PW, Hack CE, Poortman J, Vivie-Kipp YC, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Insect-sting challenge in 138 patients: relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:110–8.

26. Frungieri MB, Weidinger S, Meineke V, Köhn FM, Mayerhofer A. Proliferative action of mast-cell tryptase is mediated by PAR2, COX2, prostaglandins, and PPARgamma : possible relevance to human fibrotic disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:15072–7.

27. Chen L, Schrementi ME, Ranzer MJ, Wilgus TA, DiPietro LA. Blockade of mast cell activation reduces cutaneous scar formation. *PLoS One* 2014;9:e85226.

28. Oliveira SM, Silva CR, Ferreira J. Critical role of protease-activated receptor 2 activation by mast cell tryptase in the development of postoperative pain. *Anesthesiology* 2013;118:679–90.

29. Ren S, Lawson AE, Carr M, Baumgarten CM, Schwartz LB. Human tryptase fibrinogenolysis is optimal at acidic pH and generates anticoagulant fragments in the presence of the anti-tryptase monoclonal antibody B12. *J Immunol* 1997;159:3540–8.

30. Ren S, Sakai K, Schwartz LB. Regulation of human mast cell β -tryptase: conversion of inactive monomer to active tetramer at acid pH. *J Immunol* 1998;160:4561–9.

31. Schwartz LB, Bradford TR, Rouse C, Irani AM, Rasp G, Van der Zwan JK, *et al.* Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase: use in systemic anaphylaxis. *J Clin Immunol* 1994;14:190–204.

32. Enander I, Matsson P, Nystrand J, Andersson AS, Eklund E, Bradford TR, *et al.* A new radioimmunoassay for human mast cell tryptase using monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1991;138:39–46.

33. Schliemann S, Seyfarth F, Hipler UC, Elsner P. Impact of age and heterophilic interference on the basal serum tryptase, a risk indication for anaphylaxis, in 1,092 dermatology patients. *Acta Derm Venereol* 2012;92:484–9.

34. Przybilla B, Müller U, Jarisch R, Ruëff F. Erhöhte basale Serumtryptasekonzentration oder Mastozytose als Risikofaktor der Hymenopteren-giftallergie. *Allergo J* 2004;13:440–2.

35. van Toorenenbergen AW, van Daele PL, Boonstra JG. False-elevated serum tryptase assay result caused by heterophilic antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1159–60.

36. Sargur R, Cowley D, Murg S, Wild G, Green K, Shrimpton A, *et*

al. Raised tryptase without anaphylaxis or mastocytosis: heterophilic antibody interference in the serum tryptase assay. *Clin Exp Immunol* 2011;163:339–45.

37. Dawson E, Chapman K, Wienholt L, Hughes T. Inter-laboratory variation in the measurement of serum tryptase. *Intern Med J* 2017;47(S5):5.

38. Enrique E, Garcia-Ortega P, Sotorra O, Gaig P, Richart C. Usefulness of UniCAP-Tryptase fluoroimmunoassay in the diagnosis of anaphylaxis. *Allergy* 1999;54:602–6.

39. Payne V, Kam PC. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. *Anaesthesia* 2004;59:695–703.

40. Brown SG. Clinical features and severity grading of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:371–6.

41. Valent P, Akin C, Arock M, Brockow K, Butterfield JH, Carter MC, *et al.* Definitions, criteria and global classification of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:215–25.

42. Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, *et al.*; World Allergy Organization. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:587–93.e1, 22.

43. Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992;327:380–4.

44. Yunginger JW, Nelson DR, Squillace DL, Jones RT, Holley KE, Hyma BA, *et al.* Laboratory investigation of deaths due to anaphylaxis. *J Forensic Sci* 1991;36:857–65.

45. Ruëff F, Przybilla B, Bilò MB, Müller U, Scheipl F, Aberer W, *et al.* Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: importance of baseline serum tryptase—a study of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1047–54.

46. Ruëff F, Przybilla B, Bilò MB, Müller U, Scheipl F, Aberer W, *et al.*; European Academy of Allergy and Clinical Immunology Interest Group. Predictors of side effects during the buildup phase of venom immunotherapy for Hymenoptera venom allergy: the importance of baseline serum tryptase. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:105–11.

47. Guenova E, Volz T, Eichner M, Hoetzenecker W, Caroli U, Griesinger G, *et al.* Basal serum tryptase as risk assessment for severe Hymenoptera sting reactions in elderly. *Allergy* 2010;65:919–23.

48. Bonadonna P, Perbellini O, Passalacqua G, Caruso B, Colarossi S, Dal Fior D, *et al.* Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:680–6.

49. Haeberli G, Brönnimann M, Hunziker T, Müller U. Elevated basal serum tryptase and hymenoptera venom allergy: relation to severity of sting reactions and to safety and efficacy of venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1216–20.

50. Kleine-Tebbe J, Bufe A, Ebner C, Eigenmann P, Friedrichs F, Fuchs T, *et al.* Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) bei IgE vermittelten allergischen Erkrankungen. *Allergo J* 2009;18:508–37.

51. Ruëff F, Placzek M, Przybilla B. Mastocytosis and Hymenoptera venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:284–8.

52. van der Linden PW, Struyvenberg A, Kraaijenhagen RJ, Hack CE, van der Zwan JK. Anaphylactic shock after insect-sting challenge in 138 persons with a previous insect-sting reaction. *Ann Intern Med* 1993;118:161–8.

53. Sala-Cunill A, Cardona V, Labrador-Horrillo M, Luengo O, Estes O, Garriga T, *et al.* Usefulness and limitations of sequential serum tryptase for the diagnosis of anaphylaxis in 102 patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2013;160:192–9.

54. Bilò MB, Pravettoni V, Bignardi D, Bonadonna P, Mauro M, Novembre E, *et al.* Hymenoptera Venom Allergy: Management of Children and Adults in Clinical Practice. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2019;29:180–205.

55. Pumphrey RS, Roberts IS. Postmortem findings after fatal anaphylactic reactions. *J Clin Pathol* 2000;53:273–6.
56. Buckley MG, Variend S, Walls AF. Elevated serum concentrations of β -tryptase, but not alpha-tryptase, in Sudden Infant Death Syndrome (SIDS). An investigation of anaphylactic mechanisms. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1696–704.
57. Edston E, Eriksson O, van Hage M. Mast cell tryptase in postmortem serum-reference values and confounders. *Int J Legal Med* 2007;121:275–80.
58. McLean-Tooke A, Goulding M, Bundell C, White J, Hollingsworth P. Postmortem serum tryptase levels in anaphylactic and non-anaphylactic deaths. *J Clin Pathol* 2014;67:134–8.
59. Tse R, Wong CX, Kesha K, Garland J, Tran Y, Anne S, *et al.* Post mortem tryptase cut-off level for anaphylactic death. *Forensic Sci Int* 2018;284:5–8.
60. Xiao N, Li DR, Wang Q, Zhang F, Yu YG, Wang HJ. Postmortem Serum Tryptase Levels with Special Regard to Acute Cardiac Deaths. *J Forensic Sci* 2017;62:1336–8.
61. Sun KJ, He JT, Huang HY, Xue Y, Xie XL, Wang Q. Diagnostic role of serum tryptase in anaphylactic deaths in forensic medicine: a systematic review and meta-analysis. *Forensic Sci Med Pathol* 2018;14:209–15.
62. Valent P, Akin C, Metcalfe DD. Mastocytosis: 2016 updated WHO classification and novel emerging treatment concepts. *Blood* 2017;129:1420–7.
63. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127:2391–405.
64. Horny HP, Akin C, Arber D, *et al.* Mastocytosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, *et al.*, eds. World Health Organization (WHO) Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2016.
65. Sagher F, Even-Paz Z. Incidence of mastocytosis. In: Sagher F, Even-Paz Z, editors. Mastocytosis and the mast cell. Basel: Karger; 1967. p. 14–7.
66. Hartmann K, Henz BM. Mastocytosis: recent advances in defining the disease. *Br J Dermatol* 2001;144:682–95.
67. Anstey A, Lowe DG, Kirby JD, Horton MA. Familial mastocytosis: a clinical, immunophenotypic, light and electron microscopic study. *Br J Dermatol* 1991;125:583–7.
68. Rosbotham JL, Malik NM, Syrris P, Jeffery S, Bedlow A, Gharraie S, *et al.* Lack of c-kit mutation in familial urticaria pigmentosa. *Br J Dermatol* 1999;140:849–52.
69. Hartmann K, Biedermann T, Brockow K, Grabbe J, Horny HP, Lippert U, *et al.* Leitlinien der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft (DDG): Mastozytose; 2010 [Internet]. Disponibile alla pagina: <http://www.mastozytose.net/fileadmin/documents/013-0581S1Mastozytose.pdf> [citato 19 aprile 2019].
70. Hartmann K, Wardelmann E, Ma Y, Merkelbach-Bruse S, Preussner LM, Woolery C, *et al.* Novel germline mutation of KIT associated with familial gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis. *Gastroenterology* 2005;129:1042–6.
71. Brockow K, Jofer C, Behrendt H, Ring J. Anaphylaxis in patients with mastocytosis: a study on history, clinical features and risk factors in 120 patients. *Allergy* 2008;63:226–32.
72. Dodd NJ, Bond MG. Fatal anaphylaxis in systemic mastocytosis. *J Clin Pathol* 1979;32:31–4.
73. Müller UR, Horat W, Wüthrich B, Conroy M, Reisman RE. Anaphylaxis after Hymenoptera stings in three patients with urticaria pigmentosa. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:685–9.
74. Wagner N, Fritze D, Przybilla B, Hagedorn M, Ruëff F. Fatal anaphylactic sting reaction in a patient with mastocytosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;146:162–3.
75. King JJ, Crawford EA, Iwenofu OH, Fox EJ. Case report: pathologic long bone fracture in a patient with systemic mastocytosis. *Clin Orthop Relat Res* 2007;459:263–9.
76. Tsai M, Takeishi T, Thompson H, Langley KE, Zsebo KM, Metcalfe DD, *et al.* Induction of mast cell proliferation, maturation, and heparin synthesis by the rat c-kit ligand, stem cell factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:6382–6.
77. Mekori YA, Oh CK, Metcalfe DD. IL-3-dependent murine mast cells undergo apoptosis on removal of IL-3. Prevention of apoptosis by c-kit ligand. *J Immunol* 1993;151:3775–84.
78. Sotlar K, Escribano L, Landt O, Möhrle S, Herrero S, Torrelo A, *et al.* One-step detection of c-kit point mutations using peptide nucleic acid-mediated polymerase chain reaction clamping and hybridization probes. *Am J Pathol* 2003;162:737–46.
79. Furitsu T, Tsujimura T, Tono T, Ikeda H, Kitayama H, Koshimizu U, *et al.* Identification of mutations in the coding sequence of the proto-oncogene c-kit in a human mast cell leukemia cell line causing ligand-independent activation of c-kit product. *J Clin Invest* 1993;92:1736–44.
80. Nagata H, Worobec AS, Oh CK, Chowdhury BA, Tannenbaum S, Suzuki Y, *et al.* Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood mononuclear cells of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disorder. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:10560–4.
81. Longley BJ Jr, Metcalfe DD, Tharp M, Wang X, Tyrrell L, Lu SZ, *et al.* Activating and dominant inactivating c-KIT catalytic domain mutations in distinct clinical forms of human mastocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1609–14.
82. Garcia-Montero AC, Jara-Acevedo M, Teodosio C, Sanchez ML, Nunez R, Prados A, *et al.* KIT mutation in mast cells and other bone marrow hematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders: a prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood* 2006;108:2366–72.
83. Orfao A, Garcia-Montero AC, Sanchez L, Escribano L; REMA. Recent advances in the understanding of mastocytosis: the role of KIT mutations. *Br J Haematol* 2007;138:12–30.
84. Pignon JM, Giraudier S, Duquesnoy P, Jouault H, Imbert M, Vainchenker W, *et al.* A new c-kit mutation in a case of aggressive mast cell disease. *Br J Haematol* 1997;96:374–6.
85. Pullarkat VA, Pullarkat ST, Calverley DC, Brynes RK. Mast cell disease associated with acute myeloid leukemia: detection of a new c-kit mutation Asp816His. *Am J Hematol* 2000;65:307–9.
86. Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Kaneko F. c-kit Mutations in patients with childhood-onset mastocytosis and genotype-phenotype correlation. *J Mol Diagn* 2005;7:252–7.
87. Horny H, Metcalfe D, Bennett J, *et al.* Mastocytosis. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, editors. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Fourth edition. Lyon, France: International Agency for Research and Cancer (IARC); 2008. p. 54–63.
88. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren S, Zweiman B, Worobec AS, *et al.* The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995;96:2702–10.
89. Sperr WR, Jordan JH, Baghestanian M, Kiener HP, Samorapompichit P, Semper H, *et al.* Expression of mast cell tryptase by myeloblasts in a group of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;98:2200–9.
90. Sperr WR, Stehberger B, Wimazal F, Baghestanian M, Schwartz LB, Kundl M, *et al.* Serum tryptase measurements in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 2002;43:1097–105.
91. Klion AD, Noel P, Akin C, Law MA, Gilliland DG, Cools J, *et al.* Elevated serum tryptase levels identify a subset of patients with a myeloproliferative variant of idiopathic hypereosinophilic syndrome associated with tissue fibrosis, poor prognosis, and imatinib responsiveness. *Blood* 2003;101:4660–6.
92. Sirvent AE, González C, Enriquez R, Fernández J, Millán I, Barber X, *et al.* Serum tryptase levels and markers of renal dysfunction in a population with chronic kidney disease. *J Nephrol* 2010;23:282–90.
93. Cooper PJ, Schwartz LB, Irani AM, Awadzi K, Guderian RH, Nutman TB. Association of transient dermal mastocytosis and elevated plasma

tryptase levels with development of adverse reactions after treatment of onchocerciasis with ivermectin. *J Infect Dis* 2002;186:1307–13.

94. Sabato V, Van De Vijver E, Hagendorens M, Vrelust I, Reyniers E, Franssen E, *et al.* Familial hypertryptasemia with associated mast cell activation syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:1448–1450.

95. Sethuraman G, Handa S, Radotra B, Kumar B. Diffuse cutaneous mastocytosis with bullae or bullous mastocytosis: a question of semantics. *Pediatr Dermatol* 1999;16:409–11.

96. Sonneck K, Florian S, Müllauer L, Wimazal F, Födinger M, Sperr WR, *et al.* Diagnostic and subdiagnostic accumulation of mast cells in the bone marrow of patients with anaphylaxis: monoclonal mast cell activation syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;142:158–64.

97. Akin C, Scott LM, Kocabas CN, Kushnir-Sukhov N, Brittain E, Noel P, *et al.* Demonstration of an aberrant mast-cell population with clonal markers in a subset of patients with “idiopathic” anaphylaxis. *Blood* 2007;110:2331–3.

98. Valent P, Akin C, Escibano L, Födinger M, Hartmann K, Brockow K, *et al.* Standards and standardization in mastocytosis: consensus statements on diagnostics, treatment recommendations and response criteria. *Eur J Clin Invest* 2007;37:435–53.

99. Ludolph-Hauser D, Ruëff F, Fries C, Schöpf P, Przybilla B. Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 2001;357:361–2.

100. Akin C, Valent P, Metcalfe DD. Mast cell activation syndrome: proposed diagnostic criteria. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:1099–104.

101. Juliusson S, Holmberg K, Baumgarten CR, Olsson M, Enander I, Pipkorn U. Tryptase in nasal lavage fluid after local allergen challenge. Relationship to histamine levels and TAME-esterase activity. *Allergy* 1991;46:459–65.

102. Castells M, Schwartz LB. Tryptase levels in nasal-lavage fluid as an indicator of the immediate allergic response. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:348–55.

103. Bellussi L, De Lauretis A, D’Onza M, Giannuzzi AL, Passali FM. [Specific nasal provocative test in allergic rhinitis diagnosis: reliability and standardization]. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2002;22:208–14. [Italian]

104. Wang D, Clement P, Smitz J, De Waele M, Derde MP. Correlations between complaints, inflammatory cells and mediator concentrations in nasal secretions after nasal allergen challenge and during natural allergen exposure. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106:278–85.

105. Di Rienzo L, Coen Tirelli G, Marsico C, Di Rienzo A, Cerqua N. Nuova metodica RHINOSTICK per la diagnosi di rinosinopia allergica in età pediatrica: nostra esperienza. *Orl Ped* 2001;12:17–9.

106. Ruëff F, Friedl T, Arnold A, Kramer M, Przybilla B. Release of mast cell tryptase into saliva: a tool to diagnose food allergy by a mucosal challenge test? *Int Arch Allergy Immunol* 2011;155:282–8.

Conflitti di interesse.—Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

Studi condotti su esseri umani e animali.—Per questo tipo di studio non è richiesto l’inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.

Publicato online: 1 luglio 2019. - Accettato: 19 aprile 2019. - Ricevuto: 15 aprile 2019.