

Articolo di revisione / Review article

# Caratteristiche patologiche dell'asma - Parte I

## Pathology of asthma - Part I

Antonino Di Stefano<sup>1</sup>, Vitina Carriero<sup>2</sup>, Francesca Bertolini<sup>2</sup>, Francesca Dossena<sup>1</sup>, Mauro Maniscalco<sup>3</sup>, Gaetano Caramori<sup>4</sup>, Fabio L.M. Ricciardolo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Divisione di Pneumologia e Laboratorio di Citoimmunopatologia dell'Apparato Cardio Respiratorio, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS, Veruno (NO); <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Unità di Malattie Rare del Polmone e Asma Grave, Ospedale San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO); <sup>3</sup> Dipartimento di Pneumologia Riabilitativa, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS, Telesse Terme (BN); <sup>4</sup> Pneumologia, Dipartimento di Scienze Biomediche, Odontoiatriche e delle Immagini Morfologiche e Funzionali (BIOMORF), Università degli Studi di Messina

### Riassunto

Il quadro infiammatorio prevalente in asma eosinofilo lieve allergico e non allergico è ormai ben stabilito. Anche l'asma neutrofilico e le sottostanti risposte infiammatorie che si sviluppano dopo stimolo allergico in asma lieve sono ben definite. L'asma paucigranulocitico e il rimodellamento delle vie aeree che si verifica nelle forme da lievi a gravi della malattia rappresentano acquisizioni più recenti oggi disponibili. Questi avanzamenti hanno portato a una miglior definizione delle strategie terapeutiche che utilizzano corticosteroidi inalati (ICS) e  $\beta_2$  agonisti a lunga durata d'azione (LABA) e a terapie innovative con anticorpi monoclonali contro molecole effettrici. Questo lavoro discute alcuni aspetti della anatomia patologica dell'asma in relazione ai progressi terapeutici emersi.

**Parole chiave:** infiammazione bronchiale, citochine, ILCs, mastociti, fenotipi, asma grave

### Summary

*The prevalent inflammatory picture in mild eosinophilic allergic and non-allergic asthma is now established. Neutrophilic asthma and the underlying inflammatory responses after allergen challenge in mild asthma are also established. Paucigranulocytic asthma and airway remodeling occurring in mild to severe forms of the disease are further recent acquisitions. These advances have led to a better definition of the therapeutic strategy with inhaled corticosteroids (ICS) and long acting  $\beta_2$  agonists (LABA) and to innovative therapies with monoclonal antibodies targeted against key effector molecules. This review discusses some aspects of asthma pathology in relation to therapeutic progress.*

**Key words:** bronchial inflammation, cytokines, ILCs, mast cells, phenotypes, severe asthma

## Introduzione

Le caratteristiche anatomo-patologiche dell'asma bronchiale sono state inizialmente descritte sulla base di studi autoptici di pazienti morti a causa di un attacco d'asma<sup>1</sup>. I cambiamenti strutturali e infiammatori riportati nelle autopsie comprendevano tappi di muco in bronchi e bronchioli, disepitelizzazione bronchiale, ispessimento della membrana basale dell'epitelio bronchiale (RBM), edema della sottomucosa, infiltrazione cellulare infiammatoria dei bronchi e bronchioli, ipertrofia del muscolo liscio delle vie aeree (ASM) e iperplasia delle ghiandole mucose. Questi cambiamenti erano considerati caratteristici nell'asma, quantomeno in presenza di malattia grave<sup>1,2</sup>, ma erano insufficienti per descrivere la relazione tra gravità della malattia e quadro corrispondente anatomo-patologico. Negli anni '90, con l'avvento della broncoscopia e delle biopsie bronchiali e lavaggio

Ricevuto il 8-7-2021  
Accettato il 15-9-2021

### Corrispondenza

Antonino Di Stefano  
Divisione di Pneumologia e Laboratorio di Citoimmunopatologia dell'Apparato Cardio Respiratorio, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS via per Revislate 13, 28013 Veruno (NO)  
antonino.distefano@icsmaugeri.it

### Conflitto di interessi

FLMR dichiara di aver avuto rapporti di finanziamento con A. Menarini Industrie Farmaceutiche Riunite, AstraZeneca, Boehringer Ingelheim, Chiesi, GlaxoSmithKline, Laboratori Guidotti, Lusofarmaco, Mundipharma, Novartis, Sanofi, Teva.

Gli altri autori dichiarano di non avere nessun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.

**Come citare questo articolo:** Di Stefano A, Carriero V, Bertolini F, et al. Caratteristiche patologiche dell'asma - Parte I. Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio 2021;36:206-214. <https://doi.org/10.36166/2531-4920-558>

© Copyright by Associazione Italiana Pneumologi Ospedalieri – Italian Thoracic Society (AIPO – ITS)



OPEN ACCESS

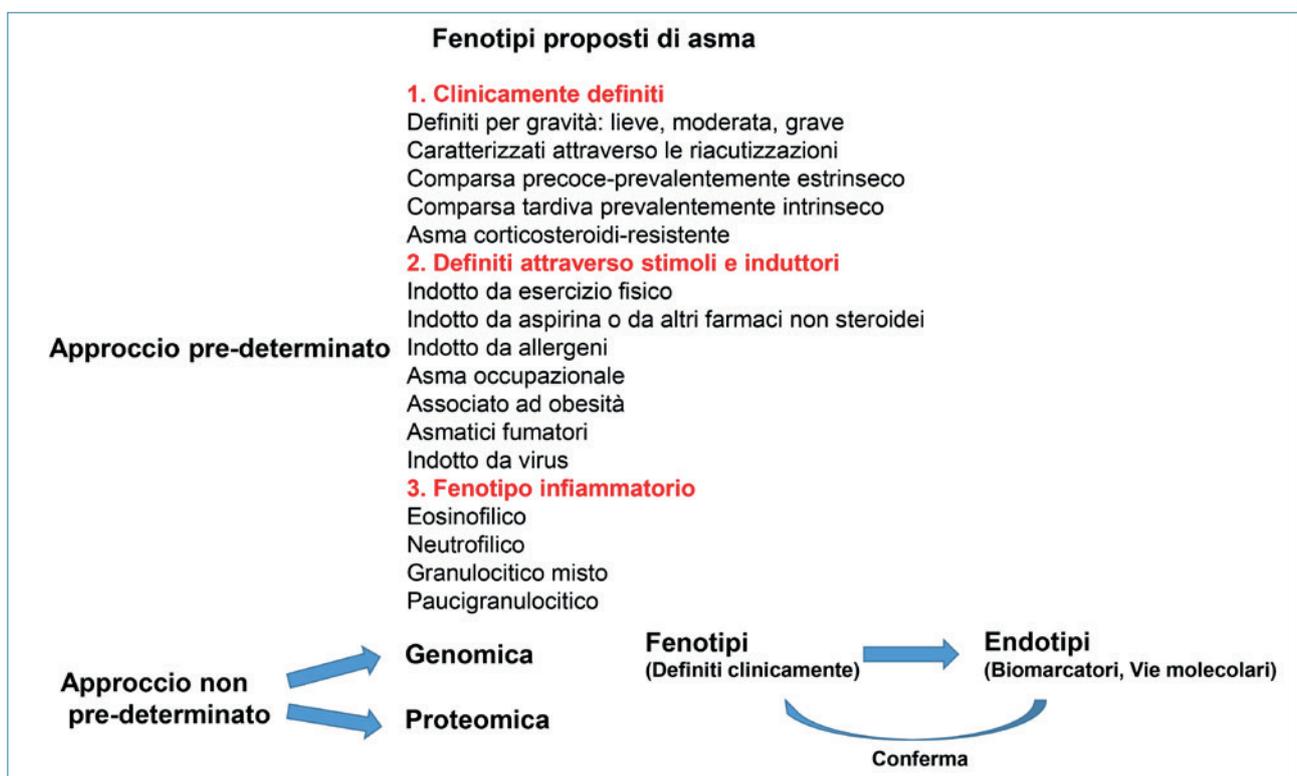
L'articolo è open access e divulgato sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione – Non commerciale – Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

broncoalveolare (BAL), i ricercatori sono stati in grado di studiare asmatici viventi che soffrivano di forme più lievi della malattia. Questo ha permesso una più precisa classificazione delle caratteristiche strutturali e infiammatorie dell'asma in relazione alla gravità della malattia. Con queste metodiche più versatili (BAL, biopsie bronchiali, sputo), è stato possibile comparare asmatici (lievi, moderati, gravi) in condizioni di malattia stabile con pazienti dopo stimolo endobronchiale. Pazienti asmatici sono stati studiati anche prima e dopo somministrazione di diversi trattamenti farmacologici. Questi studi e i loro risultati, hanno contribuito a identificare differenti fenotipi di asma, che possono aiutare a loro volta a definire un trattamento farmacologico più specifico per i diversi fenotipi. In questa revisione discutiamo i dati strutturali e infiammatori riportati in pazienti con asma lieve e malattia ingravescente o dopo stimolo bronchiale. Attraverso la lente dell'anatomia patologica evidenziamo diversi fenotipi di asma e discutiamo i miglioramenti farmacologici in relazione agli avanzamenti nella conoscenza della patogenesi di questa malattia.

## Profilo infiammatorio nell'asma

Negli ultimi 30 anni, l'identificazione di diversi fenotipi di asma ha influenzato significativamente la diagnosti-

ca ed il trattamento della malattia. Tradizionalmente, l'asma era semplicemente differenziata in estrinseco (o atopico) o intrinseco (non atopico)<sup>3</sup>. Tuttavia, la necessità di trovare nuove e più efficaci terapie ha portato ad una più precisa fenotipizzazione dell'asma. La Figura 1 mostra la varietà di fenotipi identificati sulla base di misure cliniche e fisiologiche, o di induttori di sintomi di asma, o specifici fenotipi infiammatori. L'identificazione di questi fenotipi è caratterizzata da un approccio predefinito (*biased*), cioè basato su una pre-definizione di alcune caratteristiche cliniche e biologiche. L'approccio senza pre-definizioni (*unbiased*), che utilizza dati di genomica e proteomica in tutti gli asmatici, ha aiutato a identificare nuove variabili, per esempio l'età di inizio della malattia, lo stato di atopia e di funzione polmonare, come indicatori molto significativi nella fenotipizzazione dell'asma. La validazione di fenotipi definiti clinicamente e dal punto di vista molecolare, tuttavia, è fondamentale per la identificazione di meccanismi biologici specifici che definiscono gli "endotipi" e indicano le vie molecolari che dovrebbero essere considerate per il trattamento farmacologico di questi fenotipi di asma. Gli studi che hanno utilizzato un approccio immuno-patologico hanno fornito avanzamenti sulle caratteristiche strutturali e infiammatorie delle diverse forme di asma. Beasley et al., comparando 8 atopici con asma lieve con



**Figura 1.** Elenco dei fenotipi proposti di asma basato su un approccio predeterminato e diagramma schematico delle nuove variabili identificate con un approccio non predeterminato che mostra il passaggio da fenotipo (basato su caratteristiche clinico-funzionali) ad endotipo (basato su corrispondenti caratteristiche cellulari e immunologiche).

4 controlli non asmatici hanno osservato negli asmatici un processo di disepitelizzazione bronchiale con un più alto numero di cellule epiteliali nel broncolavaggio degli asmatici, una aumentata deposizione di collagene al di sotto della membrana basale epiteliale e una aumentata degranulazione mastocitaria e infiltrazione mucosale di eosinofili <sup>4</sup>. Queste osservazioni sottolineano la presenza di marcati cambiamenti nelle vie aeree di asmatici con malattia lieve. Hamid et al. hanno comparato 10 asmatici atopici con 9 controlli non atopici e hanno osservato una correlazione tra aumentato numero di eosinofili, linfociti T attivati (CD25+) e aumentato mRNA per IL-5 in asma allergico <sup>5</sup>, fornendo evidenza per questa citochina come regolatrice della funzione eosinofila nell'asma bronchiale (Tab. IA, B). Bentley et al. hanno comparato dati da biopsie bronchiali di 10 asmatici intrinseci lievi e 7 asmatici allergici lievi con 12 controlli sani non atopici. Gli autori hanno mostrato un significativo aumento di leucociti totali (CD45+, CD3+, CD4+) e macrofagi (CD68+) negli asmatici intrinseci rispetto ai controlli normali. L'espressione del recettore di IL-2 (CD25+) e degli eosinofili (EG2+) era aumentata negli asmatici intrinseci ed estrinseci rispetto ai controlli normali, suggerendo che queste ultime caratteristiche infiammatorie sono condivise dai due tipi di asma <sup>6</sup> (Tab. IA, B). Questi dati sono in linea con diversi lavori che sottolineano la presenza di più similitudini che differenze riguardo al tipo di flogosi (espressione bronchiale di eosinofili, IL-4, IL-5, IL-13) tra asma intrinseco

(non-atopico) ed estrinseco (atopico) <sup>7</sup>. In particolare, gli autori hanno descritto un numero più alto di macrofagi in associazione con la presenza di cellule positive per GM-CSF in asma intrinseco, suggerendo che una disfunzione macrofagica potesse avere un ruolo. D'altro canto, Amin et al. hanno osservato che l'atopia era associata con specifiche cellule infiammatorie nelle vie aeree di asmatici non fumatori, evidenziando alcune differenze tra asma atopico e non atopico. Gli autori hanno riportato che gli asmatici atopici mostravano un numero maggiore di eosinofili e di linfociti T in associazione con una maggior espressione di IL-4 e IL-5, mentre gli asmatici non atopici mostravano principalmente un maggior numero di neutrofili e di IL-8. Inoltre, i pazienti atopici avevano un danno epiteliale bronchiale maggiore rispetto agli asmatici non atopici <sup>8</sup>. Nel loro insieme, questi dati mostrano che l'asma intrinseco può includere differenti sottotipi, con un profilo dominante eosinofilo o dominante neutrofilico.

### Asma allergico e non allergico eosinofilo

La definizione clinica di asma allergico è basata sulla identificazione della sensibilizzazione allergica e una correlazione tra esposizione agli allergeni e i sintomi di asma <sup>9</sup>. L'asma allergico eosinofilo è considerato il fenotipo più comune di asma ed è sostenuto da un processo infiammatorio di tipo Th2 <sup>10</sup>. Robinson et al. per primi hanno osservato un aumentato numero di cellule

**Tabella IA.** Cellule infiammatorie e citochine nelle biopsie bronchiali di asma lieve (FEV<sub>1</sub> > 80% predetto, no ICS, β2 agonisti usati al bisogno).

Autori	Linfo	Eos	Mastociti	IL-2R	Spessore membrana basale	Degranul. Eos	Degranul. mastociti
Beasley 1989 <sup>4</sup>	s	a	s	--	a	a	a
Hamid 1991 <sup>5</sup>	s	a	--	a	--	--	--
Bentley 1992 <sup>6</sup>	a's <sup>e</sup>	a'a <sup>e</sup>	--	a'a <sup>e</sup>	--	--	--
Di Stefano 1993	--	a	a	--	--	--	a
Bradding 1994	--	a	a <sup>ep</sup> s	--	--	--	--
Shimara 2000 <sup>15</sup>	--	a	--	--	--	--	--
Berry 2004	--	a	--	--	--	-	--
Laberge 2000	a	--	--	--	--	--	--
Lai 2016	--	a	--	--	--	--	--
Prefontaine 2010 <sup>27</sup>	--	--	--	--	--	--	--
Li 2018 <sup>28</sup>	--	--	--	--	--	--	--
Qin 2019	--	--	--	--	--	--	--

i: asmatici intrinseci; e: asmatici estrinseci; ep: epitelio bronchiale; ICS: corticosteroidi per via inalatoria; Linfo: linfociti; BM: membrana basale; TNF: fattore di necrosi tumorale; a: aumento significativo; s: valore stabile. Riferimenti non inclusi nella bibliografia dell'articolo considerati rilevanti nella patologia dell'asma lieve: Di Stefano A et al. Am Rev Respir Dis 1993;147:1005-1009; Bradding P et al. Am J Respir Cell Mol Biol 1994;10:471-480; Berry MA et al. J Allergy Clin Immunol 2004;114:1106-1109; Lai T et al. Sci Rep. 2016;6:22835; Qin X et al. Cytokine 2019;117:84-90; Laberge S et al. J Allergy Clin Immunol 2000;106:293-301.

**Tabella IB.** Cellule infiammatorie e citochine nelle biopsie bronchiali di asma lieve (FEV<sub>1</sub> > 80% predetto, no ICS, β<sub>2</sub> agonisti usati al bisogno).

Autori	IL-4	IL-5	TNF $\alpha$	IL-9	IL-13	IL-16	IL-31	IL-33	IL-36
Beasley 1989 <sup>4</sup>	--	--	--	--	--		--	--	--
Hamid 1991 <sup>5</sup>	--	a <sup>mRNA</sup>	--	--	--		--	--	--
Bentley 1992 <sup>6</sup>	--	--	--	--	--		--	--	--
Di Stefano 1993	--	--	--	--	--		--	--	--
Bradding 1994	a	s	a	--	--		--	--	--
Shimara 2000 <sup>15</sup>	--	--	--	a	--		--	--	--
Berry 2004	--	--	--	--	a		--	--	--
Laberge 2000	--	--	--	--	--	a	--	--	--
Lai 2016	--	-	--	--	--		a	--	--
Prefontaine 2010 <sup>27</sup>	--	--	--	--	--		--	s	--
Li 2018 <sup>28</sup>	a	--	--	--	a		--	a <sup>BAL</sup>	--
Qin 2019	--	--	--	--	--		--	--	a <sup>serum</sup>

i: asmatici intrinseci; e: asmatici estrinseci; ep: epitelio bronchiale; ICS: corticosteroidi per via inalatoria; Linfo: linfociti; BM: membrana basale; TNF: fattore di necrosi tumorale; a: aumento significativo; s: valore stabile. Riferimenti non inclusi nella bibliografia dell'articolo considerati rilevanti nella patologia dell'asma lieve: Di Stefano A et al. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:1005-1009; Bradding P et al. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:471-480; Berry MA et al. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1106-1109; Lai T et al. *Sci Rep*. 2016;6:22835; Qin X et al. *Cytokine* 2019;117:84-90; Laberge S et al. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:293-301.

che esprimono mRNA per IL-2, -3, -4, -5 e GM-CSF, ma non per IFN-g, nel BAL di asmatici atopici lievi rispetto a controlli sani. Inoltre, hanno osservato che la maggior parte delle cellule che esprimono mRNA per IL-4 e IL-5 erano linfociti T (CD3+), suggerendo che l'asma atopico è caratterizzato dalla espressione di citochine del tipo Th2<sup>11</sup>.

Questi dati sono in linea con uno studio successivo che ha valutato l'espressione differenziale di mRNA citochinico nelle vie aeree (campioni di sputo) di pazienti con asma allergico e non allergico e soggetti di controllo<sup>12</sup>. Gli asmatici allergici mostravano una più alta percentuale di eosinofili, di mRNA per IL-4, IL-5 e IL-13 nello sputo indotto rispetto al gruppo di non allergici, anche se, rispetto ai controlli, erano aumentati solo i messaggeri per IL-5 e IL-13 nei pazienti allergici. Inoltre, i livelli aumentati di mRNA per IL-4, IL-5 e IL-13 correlavano significativamente con la percentuale di eosinofili nelle vie aeree. Queste osservazioni mostravano una differenza relativamente modesta tra asmatici allergici e non allergici riguardo ai livelli di mRNA citochinico capace di sostenere l'infiammazione delle vie aeree<sup>12</sup>.

Nello stesso periodo, Amin et al. hanno dimostrato un possibile coinvolgimento dei mastociti nell'asma allergico. La conta dei mastociti in biopsie bronchiali in epitelio, lamina propria e ASM (muscolo liscio) in asmatici allergici e non allergici e in controlli, ha evidenziato la presenza di più mastociti nel muscolo liscio di asmatici allergici rispetto ai non allergici, ma questa differenza non era presente in epitelio e in lamina propria<sup>13</sup>. Tuttavia, il numero dei mastociti era maggiore in entrambi

i gruppi di asmatici rispetto ai controlli. Inoltre, gli autori hanno osservato che la deposizione extracellulare di prodotti secreti dai mastociti in lamina propria e muscolo liscio era più frequente in asmatici allergici rispetto ai non allergici, e questa deposizione di materiale mastocitario correlava con l'espressione di laminina e tenascina nella membrana basale reticolare epiteliale. Questo implicava che i mastociti potessero essere coinvolti nelle alterazioni strutturali presenti in asma allergico<sup>13</sup>.

Recenti dati hanno mostrato che i mastociti sono anche coinvolti nella risposta di tipo Th2 nell'asma. Balzar et al. hanno analizzato l'espressione dei mastociti totali (MCtot) e mastociti triptasi/chimasi+ (MCtc) in biopsie bronchiali, epitelio e BAL di asmatici (lievi, moderati e gravi) e controlli (atopici e non atopici). Gli autori hanno osservato che il numero di MCtot in sottomucosa ed epitelio bronchiale era elevato in lieve vs asma grave, mentre MCtc erano prevalentemente associati al gruppo con asma grave, e quindi hanno proposto che i mastociti erano, per questo, coinvolti nella patogenesi dell'asma, in particolare con fenotipo Th2<sup>14</sup>.

Un'altra citochina che può giocare un ruolo nell'asma allergico è l'interleuchina-9, che promuove l'espansione di cellule mononucleate. Shimara et al. hanno confrontato asmatici atopici con controlli non-atopici e hanno trovato livelli aumentati di mRNA e proteina per IL-9 in biopsie bronchiali di asmatici lievi atopici. Inoltre, i livelli maggiori di mRNA per IL-9 correlavano significativamente con l'ostruzione bronchiale e la responsività delle vie aeree alla metacolina. Gli autori hanno anche osservato che le cellule che producevano la mag-

gior quantità di IL-9 nel tessuto bronchiale dei pazienti asmatici allergici erano linfociti CD3+<sup>15</sup>. Recentemente, Jia et al. hanno trovato livelli aumentati di IL-9 e IL-4, ma non di IFN $\gamma$ , in cellule mononucleate da sangue periferico (PBMCS) di bambini con asma allergico rispetto a bambini sani<sup>16</sup>. Questi dati suggeriscono un ruolo di IL-9 nella patogenesi e progressione dell'asma lieve allergico (Tab. IA, B).

Sulla base di questi studi, è chiaro che le citochine Th2 come IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 prevalgono nell'asma allergico, cosa che spiega l'importanza di queste molecole come "target" farmacologici nella gestione dell'asma allergico. Brevemente, IL-4 provoca la differenziazione di cellule T *naïve* a cellule di tipo Th2, mentre IL-5 è responsabile della maturazione e rilascio di eosinofili nel midollo osseo. IL-13 induce proliferazione di cellule B che producono IgE e di cellule endoteliali<sup>17</sup> mentre IL-9 stimola la proliferazione delle cellule T, mastociti, e la produzione di IgE dalle cellule B<sup>18,19</sup>.

La famiglia delle chemochine che comprende eotassina-1, eotassina-2 ed eotassina-3 è coinvolta nella stimolazione e migrazione di eosinofili; in particolare, eotassina-3 può giocare un ruolo nella persistenza dell'eosinofilia bronchiale indotta da allergeni. Ying et al. hanno osservato una elevata espressione di eotassina e del suo recettore (CCR3) nella mucosa bronchiale di asmatici atopici vs. controlli non-atopici. Ravensberg et al. hanno dimostrato un aumento significativo di eotassina-2 e -3 nella mucosa bronchiale 48 h dopo stimolo allergenico<sup>20</sup>. Questi dati hanno supportato l'ipotesi che il danno della mucosa bronchiale nell'asma allergico coinvolge la secrezione di eotassina.

Wenzel ha contestato il concetto che la via Th2 fosse la sola coinvolta nei meccanismi di asma allergico. Esaminando pazienti con inizio precoce e tardivo di asma allergico, l'autrice ha osservato che i primi avevano un più alto numero di linfociti (CD3+) tissutali rispetto ai secondi, mentre gli asmatici con insorgenza tardiva avevano più eosinofili<sup>21</sup>. Le differenze osservate in questi due fenotipi sottolineavano l'esistenza di vie metaboliche che regolano l'asma eosinofilo al di là della sola risposta immune di tipo Th2, come quella mediata da cellule linfoidi innate di tipo Th2 (ILC2s), derivate da un progenitore linfoide comune<sup>17</sup>. Smith et al. hanno confermato il ruolo potenziale delle ILCs come un meccanismo di asma non-allergico eosinofilo. Gli autori hanno osservato una espressione significativamente maggiore di ILC2 che producono citochine Th2 nel sangue e sputo di pazienti con asma grave non allergico rispetto ad asmatici atopici lievi<sup>22</sup>. Queste cellule rilasciano citochine chiave di tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13) e altri mediatori di crescita tissutale, infiammazione e riparo tissutale<sup>23</sup>. I dati suggeriscono che ILC2 sono coinvolti

nell'asma eosinofilo non atopico e che più alti valori di ILC2s sono anche presenti nel sangue periferico degli asmatici, suggerendo che essi giocano un ruolo importante nella patogenesi della malattia<sup>24</sup>. Per distinguere tra meccanismi allergici e non allergici di migrazione e attivazione eosinofila, l'ultimo tipo (con prevalenza di ILC2s) è descritta come asma T2.

Nell'asma, la risposta di tipo T2 nella mucosa bronchiale inizia con il rilascio di linfoproteina stromale timica (TSLP), IL-25 e IL-33 (allarmine) in risposta al danno tissutale epiteliale, al riconoscimento di agenti patogeni o in seguito a esposizione ad allergeni. Queste allarmine attivano direttamente ILC2s per produrre citochine di tipo Th2<sup>25</sup>.

IL-33 è principalmente espressa dai mastociti, ILC2s, eosinofili e Tregs; mentre la IL-25 è espressa nelle cellule epiteliali del polmone dopo esposizione ad allergeni e durante infezione da elminti<sup>25,26</sup>. TSLP è espressa in condizioni basali nei polmoni e la sua sovraespressione porta allo sviluppo di iperresponsività delle vie aeree (AHR). I tipi cellulari che rispondono alla TSLP includono le cellule dendritiche (DCs), monociti, cellule B, mastociti e cellule T e TSLP è capace di promuovere la differenziazione e la secrezione di citochine dalle cellule di tipo Th2<sup>25</sup>. Il ruolo di queste citochine nei meccanismi dell'asma allergico è meglio conosciuto. Préfontaine et al. hanno mostrato un progressivo aumento di mRNA per IL-33 rispetto ai controlli in biopsie bronchiali di pazienti asmatici (da lievi a gravi) e una maggior espressione di immunoreattività epiteliale per IL-33 in asmatici gravi rispetto ad asmatici lievi<sup>27</sup> (Tab. IA, B). Più recentemente, Li et al. hanno mostrato aumentati livelli di IL-33 e TSLP nel BAL in asma lieve rispetto ai controlli. In aggiunta, IL-33 e TSLP correlavano inversamente con la funzione polmonare degli asmatici e con il grado di gravità della malattia, confermando il coinvolgimento di IL-33 e TSLP nella patogenesi dell'asma<sup>28</sup> (Tab. IA, B). Diversi studi hanno esplorato il ruolo di IL-25 nell'asma eosinofilo. Corrigan et al. hanno riportato un significativo aumento di immunoreattività per IL-25 e IL-25R nella sottomucosa di asmatici lievi atopici 24 h dopo stimolo con allergene (Tab. IIA, B). Inoltre, le cellule positive per IL-25 erano eosinofili, mastociti e cellule endoteliali, mentre l'immunoreattività per IL-25R co-localizzava con gli eosinofili, mastociti, cellule endoteliali e linfociti T<sup>29</sup>. Nell'insieme, queste citochine sono ampiamente espresse nell'infiammazione allergica delle vie aeree, suggerendo che queste ultime possano essere considerate *target* molecolari per trattamenti farmacologici. La Tabella IA, B sintetizza i principali studi che hanno contribuito ad una miglior conoscenza dell'asma lieve eosinofilo. L'identificazione, dalla fine degli anni 80', di flogosi bronchiale anche nelle forme di asma lieve

**Tabella IIA.** Dati da biopsie bronchiali di asmatici lievi dopo stimolo con allergeni.

Autori	Ore dopo - stimolo	Lin fo.	Neutr.	Eos- (EG2+ o MBP+)	Mastociti	ICAM1	ELAM1	IL- 2R	IL-5
Bentley 93 <sup>3</sup>	24 h	s	s	a	s	--	--	a	a <sup>mRNA</sup>
Montefort 94 <sup>4</sup>	6 h	a	a	a	a	a	a	--	--
Wooley 95 <sup>5</sup>	24 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Laberge 00 <sup>6</sup>	24 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Lilly 01 <sup>7</sup>	4 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Erpenbeck 03 <sup>8</sup>	24 h	a <sup>BAL</sup>	a <sup>BAL</sup>	a <sup>BAL</sup>	--	--	--	--	--
Ricciardolo 03-12 <sup>9,10</sup>	48 h	a <sup>CD4- iep,s b</sup>	--	a <sup>iep,sb</sup>	s	--	--	--	--
Ravensberg 05	48 h	--	--	a	s	--	--	--	--
Corrigan 11	24 h	a	a	a	a	--	--	--	--
Wang 18 <sup>14</sup>	24 h	a	a	a	a	--	--	--	--

Linfo: linfociti; neutr: neutrofilii; lep: Intraepiteliale; sb: sottomucosa; BAL: lavaggio broncoalveolare; bio: biopsie bronchiali; eot: Eotassine; ICAM: molecola di adesione intracellulare; ELAM: molecola di adesione endoteliale-leucocitaria; IL: interleuchina; GMCSF: *Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor* (fattore stimolante colonie granulocitarie-macrofagiche); TSLP: *Thymic Stromal Lymphopoietin* (linfopoietina stromale timica); a: aumento significativo; s: valore stabile.

Riferimenti non inclusi nella bibliografia dell'articolo Parte II, considerati rilevanti nella patologia dopo stimolo allergico: Ravensberg AJ et al. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:779-85; Corrigan CJ et al. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:116-124.

**Tabella IIB.** Dati da biopsie bronchiali di asmatici lievi dopo stimolo con allergeni.

Autori	GMCSF	IL-16	Eotassine (1,2,3)	IL-9	Ki-67	IL-25 e/o IL-25R	IL-33	TSLP	CD90
Bentley 93 <sup>3</sup>	a <sup>mRNA</sup>	--	--	--	--	--	--	--	--
Montefort 94 <sup>4</sup>	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Wooley 95 <sup>5</sup>	a <sup>BAL</sup>	--	--	--	--	--	--	--	--
Laberge 00 <sup>6</sup>	--	a	--	--	--	--	--	--	--
Lilly 01 <sup>7</sup>	--	--	a <sup>BAL-BIO</sup>	--	--	--	--	--	--
Erpenbeck 03 <sup>8</sup>	--	--	--	a <sup>BAL</sup>	--	--	--	--	--
Ricciardolo 03-12 <sup>9,10</sup>	--	--	--	--	a <sup>iep</sup>	--	--	--	--
Ravensberg 05	--	--	a <sup>eot2,3</sup>	--	--	--	--	--	--
Corrigan 11	--	--	--	--	--	a	--	--	--
Wang 18 <sup>14</sup>	--	--	--	--	--	a	a	a	a

Linfo: linfociti; neutr: neutrofilii; lep: Intraepiteliale; sb: sottomucosa; BAL: lavaggio broncoalveolare; bio: biopsie bronchiali; eot: Eotassine; ICAM: molecola di adesione intracellulare; ELAM: molecola di adesione endoteliale-leucocitaria; IL: interleuchina; GMCSF: *Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor* (fattore stimolante colonie granulocitarie-macrofagiche); TSLP: *Thymic Stromal Lymphopoietin* (linfopoietina stromale timica); a: aumento significativo; s: valore stabile.

Riferimenti non inclusi nella bibliografia dell'articolo Parte II, considerati rilevanti nella patologia dopo stimolo allergico: Ravensberg AJ et al. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:779-85; Corrigan CJ et al. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:116-124.

intermittente ha permesso importanti avanzamenti nel trattamento farmacologico anti-infiammatorio adottato nella gestione corrente della malattia (Tab. IA, B).

### Asma neutrofilico

L'asma è stato per lungo tempo considerato una malattia infiammatoria eosinofila. Tuttavia, nei primi anni

'90, è stato suggerito che i neutrofilii potessero anche avere un ruolo nei meccanismi patogenetici della malattia, in quanto si era osservata una diversa infiammazione tra asma fatale ad evoluzione rapida e lenta. Quest'ultima era caratterizzata da un più alto numero di neutrofilii nella sottomucosa delle vie aeree<sup>30</sup>. Il coincidimento dei neutrofilii nell'asma era successivamente

confermato da Wenzel et al. che hanno osservato che in biopsie bronchiali di asmatici gravi in alto dosaggio di corticosteroidi inalati (ICS) e per via orale (OCS) vi era un più alto numero di neutrofili rispetto ad asmatici lievi e soggetti sani <sup>31</sup>.

L'asma neutrofilico è associato con una malattia più grave e con cellule di tipo Th1, cioè cellule che producono interferon-g (immunità di tipo I) e cellule Th17 che producono IL-17, IL-21 e IL-22 (immunità di tipo 3). Un più alto numero di neutrofili con una maggior presenza di IL-8 e di mieloperossidasi neutrofila (MPO) caratterizza l'asma grave rispetto all'asma lieve <sup>32</sup>. Una più alta neutrofilia nello sputo in asma grave è stata confermata da Shannon et al., che hanno osservato una aumentata espressione di IL-8 e IFN-g nella sottomucosa degli asmatici gravi <sup>33</sup>. L'asma neutrofilico è anche riportato come predominante nell'asma refrattaria grave <sup>31,32</sup> e la colonizzazione batterica delle vie aeree negli asmatici gravi può contribuire al fenotipo neutrofilico dell'asma <sup>34,35</sup>. Recenti dati mostrano che la composizione microbica delle vie aeree differisce in associazione con il quadro infiammatorio, e i pazienti asmatici neutrofilici mostrano una aumentata presenza di patogeni opportunistici nello sputo. Questi autori quindi suggeriscono che il microbiota possa influenzare la risposta a terapie antimicrobiche e steroidee <sup>36</sup>. In aggiunta, il numero di cellule che esprimono citochine come IL-17A, IL-17F e IL-21 è aumentato in biopsie bronchiali di asmatici gravi, che si differenziavano dagli asmatici lievi e controlli sani per una più alta espressione di neutrofili nella loro mucosa bronchiale <sup>37</sup>. Nello stesso studio IL-17F correlava con il numero di neutrofili e il tasso di riacutizzazioni in tutti gli asmatici suggerendo che le citochine Th17 giocano un ruolo nell'indurre neutrofilia e riacutizzazioni nell'asma <sup>37</sup>. Più recentemente, in una comparazione di biopsie bronchiali tra asmatici ad alta neutrofilia (mediana: 94,34 neutrofili/mm<sup>2</sup>) e asmatici a media neutrofilia, i primi avevano aumentati livelli di IgE sieriche, sensibilizzazione ad allergeni perenni, tasso di riacutizzazioni, dipendenza da OCS e numeri maggiori di cellule CD4+ e IL-17+ nella loro mucosa bronchiale. Questo suggerisce che una alta neutrofilia bronchiale può identificare un nuovo sotto-fenotipo di asma <sup>38</sup>.

Le evidenze allo stato attuale sottolineano il coinvolgimento dell'infiammasoma nell'asma neutrofilico. NLRP3 è il complesso costituente l'infiammasoma più studiato nelle malattie infiammatorie come l'asma neutrofilico <sup>39</sup>. NLRP3 risulta attivato da interazioni tra molecole patogene associate a recettori di ricognizione molecolare come i *Toll-like* recettori o da citochine come il TNF e IL-1 $\beta$ . Dopo attivazione di NLRP3, si verifica una sua sovra-regolazione con aumento di caspase 1, IL-1 $\beta$  e IL-18 <sup>40</sup>. I pazienti con asma neutrofilico hanno una maggior espressione di NLRP3, IL-

1 $\beta$  e caspase-1 rispetto ai pazienti con asma eosinofilo, e la aumentata IL-1 $\beta$  nell'asma neutrofilico è legata ad attivazione di NLRP3 <sup>39,41</sup> o alla attivazione di altri infiammatori <sup>42</sup>. Inoltre, il nesso NLRP3/caspase-1/IL-1 $\beta$  è coinvolto nell'asma neutrofilico e refrattaria grave che mostra una più alta espressione di geni per NLRP3 e IL-18R.

Sebbene l'esistenza dell'asma neutrofilico come fenotipo distinto è ancora dibattuto, i dati riportati supportano questa ipotesi. Altri studi sono necessari per chiarire le conoscenze su questo tipo di asma, in modo da migliorare la gestione di questi pazienti con asma grave e non responsivo.

### **Asma paucigranulocitico**

La definizione di asma paucigranulocitico (PGA) è basata sulla assenza di elevati livelli di eosinofili e neutrofili nello sputo <sup>43</sup>. Le principali caratteristiche biologiche e strutturali di questo fenotipo di asma sono le alterazioni del muscolo liscio delle vie aeree (ASM), la aumentata ipertrofia e iperplasia muscolare, associate a iperreattività bronchiale <sup>44</sup>. Sono anche caratteristiche di questo tipo di asma un ispessimento della membrana basale reticolare sottoepiteliale e più alti livelli di TGF $\beta$  <sup>45-48</sup> che producono una perdita di associazione tra infiammazione e rimodellamento tissutale. Lo stress ossidativo è stato proposto come un meccanismo potenziale coinvolto nella patogenesi della PGA. Infatti, sono stati descritti livelli normali di proteine S-glutationilate (PSSG) e aumentati livelli di glutaredoxine (Grx1) nello sputo di pazienti con PGA <sup>48</sup>. Mentre le riacutizzazioni dell'asma sono principalmente eosinofile (50%) o neutrofiliche (80%), PGA diventa più evidente come fenotipo a sè nell'asma stabile <sup>49</sup>. Durante le riacutizzazioni, una risposta infiammatoria si sviluppa in quasi tutti gli asmatici. In condizioni stabili, i pazienti con PGA hanno mostrato una miglior funzione polmonare rispetto agli altri fenotipi e l'asma refrattaria grave si verifica meno frequentemente in pazienti con PGA <sup>43</sup>. Sulla base di questi dati ottenuti da campioni di sputo e da misure di funzione polmonare, gli autori si sono chiesti se fosse veramente esistente questo fenotipo di asma, e hanno suggerito che essa potrebbe rappresentare una forma "benigna" di asma in relazione alla buona risposta al trattamento farmacologico <sup>43</sup>. Si pensa che i cambiamenti strutturali e il prevalente rimodellamento delle vie aeree sia poco reversibile in pazienti con PGA. Tuttavia, l'ispessimento della membrana basale sottoepiteliale, caratteristica di questi pazienti, può essere parzialmente ridotto dopo trattamento anti-infiammatorio <sup>50,51</sup> o dopo un periodo di assenza da esposizione ad un agente occupazionale come il Toluene diisocianato (TDI) in asmatici sensibili <sup>52</sup>. Infatti, in asmatici sensibili al TDI, in associazione con una diminuzione della sensibilità alla

molecola, noi abbiamo anche osservato una diminuzione dello spessore della membrana basale reticolare sottoepiteliale e un numero minore di fibroblasti sottoepiteliali, mastociti e linfociti, rispetto ai loro valori alla diagnosi<sup>52</sup>. Vi è la necessità di dati strutturali più ampi in biopsie bronchiali per chiarire meglio il quadro anatomo-patologico delle cellule infiammatorie e strutturali presenti in pazienti con PGA in condizioni stabili e in fase di riacutizzazione.

## Bibliografia

- 1 Djukanović R, Roche WR, Wilson JW, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434-457. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/142.2.434>
- 2 Saetta M, Di Stefano A, Rosina C, et al. Quantitative structural analysis of peripheral airways and arteries in sudden fatal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:138-143. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.1.138>
- 3 Rackemann FM. A working classification of asthma. *Am J Med* 1947;3:601-606. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(47\)90204-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(47)90204-0)
- 4 Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-817. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.3.806>
- 5 Hamid Q, Azzawi M, Ying S, et al. Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J Clin Invest* 1991;87:1541-1546. <https://doi.org/10.1172/jci115166>
- 6 Bentley AM, Menz G, Storz C, et al. Identification of T lymphocytes, macrophages, and activated eosinophils in the bronchial mucosa in intrinsic asthma. Relationship to symptoms and bronchial responsiveness. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:500-506. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/146.2.500>
- 7 Humbert M, Menz G, Ying S, et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today* 1999;20:528-533. [https://doi.org/10.1016/s0167-5699\(99\)01535-2](https://doi.org/10.1016/s0167-5699(99)01535-2)
- 8 Amin K, Lúdvíksdóttir D, Janson C, et al. Inflammation and structural changes in the airways of patients with atopic and nonatopic asthma. BHR Group. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2295-2301. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.9912001>
- 9 Schatz M, Rosenwasser L. The allergic asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014;2:645-648; quiz 649. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2014.09.004>
- 10 Akar-Ghibril N, Casale T, Custovic A, Phipatanakul W. Allergic endotypes and phenotypes of asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8:429-440. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2019.11.008>
- 11 Robinson DS, Hamid Q, Ying S, et al. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 1992;326:298-304. <https://doi.org/10.1056/nejm199201303260504>
- 12 Truyen E, Coteur L, Dilissen E, et al. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax* 2006;61:202-208. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.052399>
- 13 Amin K, Janson C, Boman G, Venge P. The extracellular deposition of mast cell products is increased in hypertrophic airways smooth muscles in allergic asthma but not in non-allergic asthma. *Allergy* 2005;60:1241-1247. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00823.x>
- 14 Balzar S, Fajt ML, Comhair SA, et al. Mast cell phenotype, location, and activation in severe asthma. Data from the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:299-309. <https://doi.org/10.1164/rccm.201002-0295oc>
- 15 Shimara A, Christodoulopoulos P, Soussi-Gounni A, et al. IL-9 and its receptor in allergic and nonallergic lung disease: increased expression in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(1 Pt 1):108-115. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(00\)90185-4](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(00)90185-4)
- 16 Jia L, Wang Y, Li J, et al. Detection of IL-9 producing T cells in the PBMCs of allergic asthmatic patients. *BMC Immunol* 2017;18:38. <https://doi.org/10.1186/s12865-017-0220-1>
- 17 Boonpiyathad T, Sözener ZC, Satitsuksanoa P, Akdis CA. Immunologic mechanisms in asthma. *Semin Immunol* 2019;46:101333. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.101333>
- 18 Hültner L, Druez C, Moeller J, et al. Mast cell growth-enhancing activity (MEA) is structurally related and functionally identical to the novel mouse T cell growth factor P40/TCGFIII (interleukin 9). *Eur J Immunol* 1990;20:1413-1416. <https://doi.org/10.1002/eji.1830200632>
- 19 Louahed J, Kermouni A, Van Snick J, Renaud JC. IL-9 induces expression of granzymes and high-affinity IgE receptor in murine T helper clones. *J Immunol* 1995;154:5061-5070.
- 20 Ravensberg AJ, Ricciardolo FL, van Schadewijk A, et al. Eotaxin-2 and eotaxin-3 expression is associated with persistent eosinophilic bronchial inflammation in patients with asthma after allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:779-785. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.11.045>
- 21 Wenzel SE. Severe asthma in adults. *Exp Lung Res* 2005;31 Suppl 1:22. <https://doi.org/10.1164/rccm.200409-1181pp>
- 22 Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137:75-86.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.05.037>
- 23 Artis D, Spits H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature* 2015;517:293-301. <https://doi.org/10.1038/nature14189>
- 24 Russell RJ, Brightling C. Pathogenesis of asthma: implications for precision medicine. *Clin Sci (Lond)* 2017;131:1723-1735. <https://doi.org/10.1042/cs20160253>
- 25 Licona-Limón P, Kim LK, Palm NW, Flavell RA. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol* 2013;14:536-542. <https://doi.org/10.1038/ni.2617>
- 26 Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): a nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev* 2018;281:154-168. <https://doi.org/10.1111/imr.12619>
- 27 Préfontaine D, Nadigel J, Chouiali F, et al. Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:752-754. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.12.935>
- 28 Li Y, Wang W, Lv Z, et al. Elevated expression of IL-33 and TSLP in the airways of human asthmatics in vivo: a potential bio-

- marker of severe refractory disease. *J Immunol* 2018;200:2253-2262. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1701455>
- <sup>29</sup> Corrigan CJ, Wang W, Meng Q, et al. Allergen-induced expression of IL-25 and IL-25 receptor in atopic asthmatic airways and late-phase cutaneous responses. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:116-124. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.03.043>
- <sup>30</sup> Sur S, Crotty TB, Kephart GM. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis* 1993;148:713-719. <https://doi.org/10.1164/ajrcm/148.3.713>
- <sup>31</sup> Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, et al. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1001-1008. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9812110>
- <sup>32</sup> Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, et al. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(5 Pt 1):1532-1539. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.5.9806170>
- <sup>33</sup> Shannon J, Ernst P, Yamauchi Y, et al. Differences in airway cytokine profile in severe asthma compared to moderate asthma. *Chest* 2008;133:420-426. <https://doi.org/10.1378/chest.07-1881>
- <sup>34</sup> Wood LG, Simpson JL, Hansbro PM, et al. Potentially pathogenic bacteria cultured from the sputum of stable asthmatics are associated with increased 8-isoprostane and airway neutrophilia. *Free Radic Res* 2010;44:146-154. <https://doi.org/10.3109/10715760903362576>
- <sup>35</sup> Li N, Qiu R, Yang Z, et al. Sputum microbiota in severe asthma patients: Relationship to eosinophilic inflammation. *Respir Med* 2017;131:192-198. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.08.016>
- <sup>36</sup> Taylor SL, Leong LEX, Choo JM, et al. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141:94-103.e15. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.03.044>
- <sup>37</sup> Ricciardolo FLM, Sorbello V., Folino, A., Identification of IL-17F/frequent exacerbator endotype in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140:395-406. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.10.034>
- <sup>38</sup> Bullone M, Carriero V, Bertolini F, et al. Elevated serum IgE, oral corticosteroid dependence and IL-17/22 expression in highly neutrophilic asthma. *Eur Respir J* 2019;54:1900068. <https://doi.org/10.1183/13993003.00068-2019>
- <sup>39</sup> Kim RY, Pinkerton JW, Gibson PG, et al. Inflammasomes in COPD and neutrophilic asthma. *Thorax* 2015;70:1199-1201. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2014-206736>
- <sup>40</sup> Swanson K, Deng M, Ting JPY. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol* 2019;19:477-489. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0>
- <sup>41</sup> Kuo CS, Pavlidis S, Loza M, et al. T-helper cell type 2 (Th2) and non-Th2 molecular phenotypes of asthma using sputum transcriptomics in U-BIOPRED. *Eur Respir J* 2017;49:1602135. <https://doi.org/10.1183/13993003.02135-2016>
- <sup>42</sup> Rossios C, Pavlidis S, Hoda U, et al. Sputum transcriptomics reveal upregulation of IL-1 receptor family members in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141:560-570. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.02.045>
- <sup>43</sup> Ntontsi P, Loukides S, Bakakos P, et al. Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with paucigranulocytic stable asthma: comparison with different sputum phenotypes. *Allergy* 2017;72:1761-1767. <https://doi.org/10.1111/all.13184>
- <sup>44</sup> Demarche S, Schleich F, Henket M, et al. Detailed analysis of sputum and systemic inflammation in asthma phenotypes: are paucigranulocytic asthmatics really non-inflammatory? *BMC Pulm Med* 2016;16:46. <https://doi.org/10.1186/s12890-016-0208-2>
- <sup>45</sup> Slats AM, Janssen K, van Schadewijk A, et al. Bronchial inflammation and airway responses to deep inspiration in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:121-128. <https://doi.org/10.1164/rccm.200612-1814OC>
- <sup>46</sup> Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1277-1284. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.02.039>
- <sup>47</sup> Tliba O, Panettieri RA. Paucigranulocytic asthma: uncoupling of airway obstruction from inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143:1287-1294. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.06.008>
- <sup>48</sup> Kuipers I, Louis R, Manise M, et al. Increased glutaredoxin-1 and decreased protein S-glutathionylation in sputum of asthmatics. *Eur Respir J* 2013;41:469-472. <https://doi.org/10.1183/09031936.00115212>
- <sup>49</sup> Wang F, He XY, Baines KJ, et al. Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma. *Eur Respir J* 2011;38:567-574. <https://doi.org/10.1183/09031936.00170110>
- <sup>50</sup> Fehrenbach H, Wagner C, Wegmann M. Airway remodeling in asthma: what really matters. *Cell Tissue Res* 2017;367:551-569. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2566-8>
- <sup>51</sup> Durrani SR, Viswanathan RK, Busse WW. What effect does asthma treatment have on airway remodeling? Current perspectives. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:439-448; quiz 449-450. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.06.002>
- <sup>52</sup> Saetta M, Maestrelli P, Turato G, et al. Airway wall remodeling after cessation of exposure to isocyanates in sensitized asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(2 Pt 1):489-494. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.2.7842211>