

Asma con infiammazione di tipo 2

Type 2 inflammation in asthma



Adriano Vaghi

UO Pneumologia, ASST Rhodense, Ospedale di Garbagnate Milanese (MI)

Riassunto

L'endotipo asmatico T2 è il risultato di una complessa interazione tra meccanismi immunopatologici innati e acquisiti. L'approccio delle scienze "omiche" e della trascrittomica ha consentito di individuare nell'asma due importanti endotipi "T2" e "non T2". I soggetti con asma T2 presentano solitamente eosinofilia periferica e tissutale, ispessimento della membrana basale sottoepiteliale, un maggior grado d'iperreattività bronchiale e una migliore risposta agli steroidi rispetto agli asmatici "non T2". I pazienti con asma grave "T2", e in particolare quelli con endotipo "T2 high", sono meno responsivi agli steroidi e presentano più frequentemente importanti comorbilità come la rinosinusite cronica e la poliposi nasale. In questi pazienti il trattamento con farmaci biologici è diventato un presidio terapeutico di estrema importanza.

Summary

The asthmatic endotype T2 is the result of a complex interaction between innate and acquired immunopathological mechanisms. The approach of omics sciences and transcriptomics has allowed to identify two important endotypes in asthma, "T2" and "not T2". Subjects with T2 asthma usually show peripheral and tissue eosinophilia, subepithelial basal membrane thickening, an increased bronchial hyperreactivity and a better response to steroids than non T2 asthmatics. Patients with T2 severe asthma and particularly with T2 high endotype are less responsive to steroids and most frequently show important comorbidities as chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. In these patients, the treatment with biological drugs has become a fundamental therapeutic strategy.

Introduzione

Attualmente l'asma non può più essere considerata come una singola malattia, ma come una complessa sindrome per cui il termine asma deve essere utilizzato come una diagnosi ombrello che comprende diverse malattie caratterizzate da specifici meccanismi etiopatogenetici (endotipi) e differenti manifestazioni cliniche (fenotipi).

Gli studi di Wenzel e coll. e di altri autori¹⁻⁴ hanno dimostrato che è possibile distinguere due principali fenotipi infiammatori dell'asma grave in base alla presenza della cellularità infiammatoria nell'espettorato indotto e a diversi marcatori biologici in: (a) asma eosinofila e (b) asma non eosinofila.

Gli studi che utilizzano le scienze "omiche", e in particolare la "trascrittomica", hanno consentito di individuare i meccanismi molecolari che stanno alla base degli "endotipi dell'asma" differenziando l'asma dal punto di vista dell'espressione genomica

ca in asma T2 e non T2^{2,4}. Attualmente il termine T2 ha sostituito il termine Th2 che indica solo i meccanismi immunopatologici correlati alla risposta immunitaria acquisita, mentre il termine T2 comprende anche la componente immunitaria innata che vede anche il coinvolgimento delle cellule linfoidi innate di tipo 2 (ILC2).

Gli studi che utilizzano le scienze "omiche" hanno consentito di individuare i meccanismi molecolari che stanno alla base degli "endotipi dell'asma" differenziando l'asma dal punto di vista dell'espressione genomica in asma T2 e non T2.

Nel contesto dell'infiammazione di tipo 2 un ruolo patogenetico fondamentale è svolto dalle interleuchine IL-4, IL-5 e IL-13. Nel contesto dell'infiammazione di tipo 2 un ruolo patogenetico fondamentale è svolto

Parole chiave

Fenotipo • Endotipo • Asma T2 • Farmaci biologici

Key words

Phenotype • Endotype • Asthma T2 • Biological drugs

Ricevuto il 13-10-2019.

Accettato il 29-10-2019.



Adriano Vaghi
UO Pneumologia
ASST Rhodense, Ospedale di Garbagnate Milanese (MI)
viale Carlo Forlanini, 95
20024 Garbagnate Milanese (MI)
adriano.vaghi@aiporicerche.it

dalle interleuchine IL-4, IL-5 e IL-13. Queste citochine sono responsabili sia del processo infiammatorio tipico dell'asma T2 (infiammazione eosinofila) che del rimodellamento delle vie aeree. L'infiammazione di tipo 2 è inoltre caratterizzata da un'aumentata presenza di eosinofili (circolanti e nel polmone) del FeNO, e delle IgE e può essere accompagnata da atopia⁵⁻⁷.

La strategia terapeutica nei confronti dei pazienti affetti da asma grave è profondamente cambiata negli ultimi anni e oggi è possibile adottare un approccio personalizzato e di "precisione" grazie all'individuazione di specifici endotipi della malattia che ci consentono di scegliere tra i diversi interventi terapeutici a disposizione quello mirato a modificare i meccanismi etiopatogenetici specifici che sostengono quella particolare manifestazione patologica dell'asma o endotipo⁸.

Descrizione dei fenotipi clinici dell'asma

Attualmente gli strumenti utilizzabili per individuare fenotipi-endotipi dell'asma e proporre una nuova tassonomia della malattia sono basati sull'analisi (a) dei dati clinici, (b) dei dati strumentali e di laboratorio, (c) del profilo molecolare (endotipizzazione molecolare) utilizzando l'approccio delle scienze "omiche". I risultati delle suddette indagini sono successivamente analizzati utilizzando le metodiche statistiche esplorative non supervisionate come l'analisi dei gruppi (*cluster*

analysis e *unsupervised computational modeling*) a cui si aggiungono varie tecniche di analisi multivariata con l'obiettivo di assegnare i singoli pazienti in gruppi (*cluster*) non definiti a priori⁴⁻⁸.

I principali lavori che hanno utilizzato questa metodica analitica innovativa nello studio della fenotipizzazione dell'asma grave sono riportati nella Tabella I⁹⁻¹⁵.

Sebbene ci siano delle importanti differenze nelle popolazioni indagate, nei parametri utilizzati e nelle metodiche statistiche di analisi, emergono come utili a orientare la fenotipizzazione clinica tre parametri clinici: l'età d'insorgenza, la funzione respiratoria e la presenza di atopia. L'obesità, a seconda delle coorti studiate, si associa a una asma prevalentemente eosinofila, quando l'asma insorge prima dell'obesità, mentre a una flogosi neutrofila quando l'asma compare in soggetti precedentemente obesi¹⁶, quindi questa caratteristica è distribuita in diversi *cluster*. Anche la cellularità infiammatoria dell'espettorato, eosinofila e neutrofila, per quanto sia maggiormente rappresentata in alcuni fenotipi, presenta comunque delle aree di sovrapposizione tra i diversi *cluster* clinici. Le forme di asma più lievi sono invece solitamente paucigranulocitarie. Generalizzando è comunque possibile individuare almeno quattro *cluster* che dimostrano caratteristiche sufficientemente comuni: (1) asma lieve atopica a esordio precoce, (2) asma moderata atopica a esordio precoce, (3) asma grave a esordio tardivo non atopica eosinofila, (4) asma grave non allergica non eosinofila con ostruzione non reversibile (Tabella I).

Tabella I. Fenotipi clinici dell'asma (da Vaghi e De Michele, 2017⁶; Kaur e Chupp, 2019⁸, mod.).

FENOTIPI - ASMA			
Età di insorgenza			
Insorgenza in età giovanile		Insorgenza in età adulta	
• Funzione respiratoria normale	• Funzione respiratoria ridotta	• Funzione respiratoria normale (+/-)	• Funzione respiratoria ridotta (-/-)
• Endotipo T2 atopico	• Endotipo T2 atopico	• Endotipo T2 non atopico elevati eosinofili	• Endotipo non T2 non atopico neutrofilico o misto
• Moore: 1-2 (SARP - ref 9)	• Moore: 4	• Moore: 3 + obesi	• Moore: 5
• Lefandeaux: 1 (U-BIOPED - ref 10)	• Lefandeaux: 4 + obesi	• Lefandeaux: 2 + obesi	• Lefandeaux: 3 + obesi
• Haldar: 3 (UK - ref 11)	• Haldar: 1	• Haldar: 4	• Haldar: 2 + obesi
• Yan: 3 (TEA - ref 12)	• Yan: misto eos + neutr	• Yan: 1 eosinofilo	• Yan: 2 neutrofilico
• Newby: 1 (BTS - ref 13)	• Newby: 3	• Newby: 4	• Newby: 2-5 + obesi
• Hinks: 1 (UK - ref 14)	• Hinks: 4	• Hinks: 5	• Hinks: 3-6 + obesi
• Wu Wei: 2-3 (SARP - ref 15)	• Wu Wei: 6	• Wu Wei: 5	• Wu Wei: 4 + obesi

Nella tabella sono riassunti i principali lavori che hanno utilizzato l'analisi dei gruppi per differenziare i diversi fenotipi clinici dell'asma e che hanno tenuto conto, tra le numerose variabili utilizzate nell'analisi dei gruppi, dell'età d'insorgenza, della funzione respiratoria e della presenza di atopia. I diversi *cluster* individuati sono riassunti nella tabella con il numero indicato dall'autore e sono stati raggruppati per similarità in quattro *cluster* principali: (1) asma lieve atopica a esordio precoce, (2) asma moderata atopica a esordio precoce, (3) asma grave a esordio tardivo non atopica eosinofila, (4) asma grave non allergica non eosinofila con ostruzione non reversibile. Tra parentesi la coorte di pazienti in cui è stato effettuato lo studio e il riferimento bibliografico.

Le tecniche bioinformatiche di *clustering* delle variabili cliniche e infiammatorie hanno consentito di identificare dei fenotipi che hanno una discreta importanza tassonomica, ma da un punto di vista clinico-prognostico gli elementi a disposizione non consentono di identificarne la sottostante patogenesi che permette un effettivo approccio terapeutico personalizzato²⁵⁸.

Descrizione degli endotipi dell'asma basata sulle scienze "omiche": endotipo T2

Le scienze "omiche" consentono un approccio imparziale e non supervisionato e rappresentano quindi una nuova metodologia utile all'individuazione degli endotipi dell'asma e in questo contesto l'approccio "trascrittomico" è quello che ha offerto i più importanti contributi. La "trascrittomico" consente la caratterizzazione dei geni attivati nelle cellule oggetto di studio, effettuando la determinazione quantitativa e qualitativa dell'RNA presente, dato che la presenza di RNA riflette la quota di genoma trascritto e quindi i processi patofisiologici che sono alla base di un particolare endotipo⁶⁸.

Il lavoro seminale di Woodruff e coll.¹⁷, in cui è stata utilizzata la tecnica di *microarray* e della trascrizione polimerasica inversa applicata alla cellule epiteliali bronchiali, ha dimostrato che in circa il 50% dei pazienti con asma lieve-moderata sono iperespressi i *marker* genomici dell'infiammazione di tipo 2, che dipendono dall'attivazione indotta dalla IL-13 quali: la periostina (POSTN), il regolatore dei canali del cloro 1 (CLCA1) e l'inibitore della serpina (SERPINE2). Nei pazienti in cui è dimostrabile una iperespressione T2/IL-13, ma non in quelli con bassa espressione T2/IL-13, è presente un aumentato numero degli eosinofili circolanti e nel Lavaggio Broncoalveolare (BAL), un aumento delle IgE totali e specifiche, dell'iperreattività bronchiale e dello spessore della membrana basale. Ancora più importante è che gli asmatici con flogosi T2/IL-13 sono quelli che traggono i maggiori benefici a seguito della terapia steroidea.

Successivi lavori, effettuati sempre utilizzando le tecniche trascrittomiche, hanno confermato la presenza di *cluster* con caratteristiche T2 e non T2^{18,19}.

In un recente lavoro Peters e coll.¹⁹ hanno dimostrato, effettuando una completa caratterizzazione trascrittomico del *network* della risposta immune delle vie aeree (*whole transcriptome gene sequencing*), che l'infiammazione di tipo 2 è presente nel 58% degli asmatici studiati e il *network* infiammatorio che sostiene la persistenza di questo tipo di infiammazione è costituito da numerose cellule della risposta immunitaria innata in particolare: dai mastociti, dai basofili, dagli eosinofili e dalle cellule dendritiche (IDECs), sottolineando il

ruolo centrale delle citochine IL-4, IL-13 e IL-5 e degli eosinofili. Lo studio evidenzia per la prima volta che le IDECs sono parte integrante dell'infiammazione T2 nelle vie aeree, analogamente a quanto si verifica nella cute dei pazienti con dermatite atopica. Nel lavoro è stato inoltre descritto un particolare endotipo di asma con caratteristiche di "T2 ultrahigh", in cui è massima l'iperespressione genica di tipo 2. Si tratta di soggetti con asma grave eosinofila con ostruzione non reversibile e corticoresistenza. Gli autori non sono stati in grado, per la mancanza di sicuri *marker* trascrittomici, di rilevare il ruolo delle cellule ILC2.

Nell'ambito della coorte U-BIOPRED (*Unbiased Biomarkers in Prediction of Respiratory Disease Outcomes*) Pavlidis e coll.²⁰ hanno valutato la prevalenza dell'asma T2 in un gruppo di pazienti con asma grave utilizzando l'analisi trascrittomico relativa a 34 geni attivati dalla IL-13 nell'epitelio bronchiale (IL-13-IVS) e hanno potuto dimostrare che globalmente il 40% dei pazienti con asma grave presenta un endotipo T2 *high* con la seguente distribuzione rispetto al fumo: il 45% dei non fumatori, il 50% dei fumatori e il 25% degli ex fumatori, mentre solo il 28% dei pazienti con asma lieve-moderata ha presentato le caratteristiche trascrittomiche dell'asma T2. I pazienti con elevata espressione T2 sono caratterizzati dalla presenza di ostruzione bronchiale con discreta risposta al broncodilatatore, aumento dei volumi polmonari, elevati livelli di IgE totali, aumento del FeNO, degli eosinofili circolanti e nell'espettorato, ma non è stato dimostrato rispetto ai controlli un significativo aumento della periostina.

Immunopatogenesi della risposta immunitaria acquisita e innata T2

L'immunopatogenesi della risposta acquisita T2 è stata ampiamente descritta recentemente in numerose revisioni a cui si rinvia^{6,21,22}.

Clinicamente, il fenotipo asmatico con risposta immunopatologica acquisita T2 è caratterizzato dalla presenza di atopìa, aumentati livelli di IgE totali, presenza di IgE specifiche ed eosinofilia.

Lo stimolo alla polarizzazione di cellule T CD4+ *naïve* al fenotipo Th2 è promosso dall'IL-4 inducendo così la produzione di citochine Th2, incluse la stessa IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13; la IL-4 guida inoltre la conversione della classe Ig isotipica degli anticorpi IgM o IgG verso IgE a livello dei linfociti B.

Clinicamente, il fenotipo asmatico con risposta immunopatologica acquisita T2 è caratterizzato dalla presenza di atopìa, aumentati livelli di IgE totali, presenza di IgE specifiche ed eosinofilia. Caratteristiche che corrispondono in gran parte al fenotipo precedentemen-

te descritto come “asma allergica lieve e moderata a esordio giovanile”¹⁰ (Tabella I).

Recentemente è stato dimostrato che l’infiammazione di tipo T2 può essere sostenuta non solo dai linfociti Th2, che sono le cellule cardine della risposta immunitaria acquisita, ma anche da parte di alcune cellule infiammatorie appartenenti all’immunità innata, come le cellule linfoidi ILCs (*Innate Lymphoid Cell*), i linfociti NK (*Natural Killer*), i linfociti NK invariati^{23,24}.

Le ILCs rappresentano un’eterogenea popolazione di cellule di origine linfoide, residenti in tutti gli organi, che non esprimono recettori per specifici antigeni, come i linfociti Th2 e Th1, ma possono essere attivate senza una preventiva sensibilizzazione a seguito del danno cellulare dell’organo in cui risiedono²³.

Sono stati descritti tre fenotipi delle cellule linfoidi innate (ILCs): ILC1, ILC2 e ILC3. Le cellule linfoidi ILC2 svolgono un ruolo importante nella flogosi T2 e vengono attivate a seguito di un danno dell’epitelio bronchiale. L’epitelio bronchiale infatti non è una barriera passiva che si frappone tra l’ambiente esterno e la mucosa bronchiale, ma rappresenta la prima linea di difesa dell’apparato respiratorio. Infatti, quando le cellule epiteliali vengono danneggiate da agenti nocivi come il microparticolato aereo, gli agenti virali, le endotossine e le protesi di origine batterica o presenti negli allergeni, producono numerosi mediatori e in particolare un gruppo di citochine definite come allarmine: IL-33, IL-25 e TSLP (*Thymic Stromal Lymphopoietin*). Le allarmine, in particolare il TSLP e la IL-33, sono tra i principali agenti in grado di stimolare i linfociti ILC2^{23,24}.

I linfociti ILC2, a seguito della loro attivazione, producono numerosi mediatori e citochine, come IL-5, IL-9 e IL-13, IL-21, IL-4, GM-CSF, che stimolano l’infiltrazione tessutale da parte degli eosinofili, la iperproduzione di muco e l’iperreattività bronchiale, oltre che i fenomeni di rimodellamento/riparazione bronchiale. I linfociti ILC2 per quanto siano molto meno numerosi dei linfociti Th2, producono una quantità di citochine circa 10-40 volte superiore ai linfociti Th2^{24,25}.

Studi condotti in soggetti asmatici sulla risposta immunopatologia innata nell’asma grave T2

I primi studi sulle cellule ILC2 sono stati effettuati nel modello animale, ma recentemente sono arrivate numerose conferme sul loro ruolo negli studi in soggetti asmatici. Recentemente Smith e coll.²⁶ hanno confrontato la presenza di cellule ILC2 nei pazienti con asma lieve e nei pazienti con asma grave corticodipendenti. Gli autori hanno riscontrato un aumento delle cellule ILC2 nel sangue e nell’espettorato dei pazienti con asma grave rispetto a quelli con asma lieve, dove le cellule ILC2 rappresentano la principale fonte delle

citochine T2. I soggetti con asma grave che hanno una percentuale di eosinofili > 3% nell’espettorato presentano il maggior numero di cellule ILC2 nell’espettorato anche quando l’eosinofilia ematica è inferiore a 300/mL. Il lavoro dimostra che l’attivazione dei linfociti ILC2 e la conseguente aumentata produzione di IL-5 e IL-13 possono promuovere la persistenza dell’eosinofilia nei pazienti con asma grave, malgrado la somministrazione di elevate dosi di steroidi orali. IL-5 e IL-13 determinano infatti un aumento dei livelli ematici di eosinofili e la loro sopravvivenza in circolo; in più IL-4 e IL-13 inducono il reclutamento nelle vie aeree degli eosinofili, aumentando la sintesi di eotassina e portando ad un’*upregulation* dell’espressione delle molecole di adesione endoteliali come la molecola di adesione delle cellule vascolari (VCAM)-1²⁷⁻²⁹. Inoltre, in pazienti con asma grave e corticodipendenti, è stata dimostrata la presenza di elevati livelli di TSLP e di IL-33 a conferma che la produzione di allarmine da parte dell’epitelio bronchiale è scarsamente responsiva all’effetto soppressivo degli steroidi.

Citochine, mediatori e cellule infiammatorie coinvolte nella patogenesi dell’asma T2

Di seguito la descrizione delle principali citochine e cellule infiammatorie coinvolte nelle flogosi T2 (le caratteristiche dei linfociti Th2 e ILC2 sono state precedentemente descritte)²⁴:

IL-5

IL-5 ha una struttura comune con altre citochine ematopoietiche come il GM-CSF e la IL-3 e si lega a una specifica sub unità IL-5 α (IL-5R α) del suo recettore che a sua volta interagisce con la sub unità beta determinandone l’eterodimerizzazione. Il legame ad alta affinità tra IL-5 con il suo recettore innesca la trasduzione del segnale attivando le JAK 1-2 (Janus Kinas) e le STAT 1-3-5 (proteine trasduttrici del segnale e attivatori della traduzione) che a loro volta attivano i geni regolatori che sovrintendono alla differenziazione, proliferazione, maturazione, sopravvivenza, adesione, chemotassi e degranolazione degli eosinofili. La IL-5 svolge anche un’attività regolatrice dei mastociti e dei basofili^{24,26}.

IL4 e IL-13

IL-4 e IL-13 agiscono su due recettori R1 e R2. Il recettore R1 è stimolato unicamente dalla IL-4 ed è formato da due catene IL-4R α /Yc, mentre il recettore R2 è formato dalle catene IL-4R α /IL-13R α 1, quindi i due recettori presentano una catena comune, la IL-4R α . I recettori di tipo R1 sono presenti sulle cellule di origine emopoietica come i linfociti B, linfociti T, monociti, eosinofili, fibroblasti e sono attivati solo dalla IL-4 che determina l’eterodimerizzazione delle due catene cui segue la fosforilazione delle JAK1 e JAK3

e successivamente la dimerizzazione della STAT-6 che sovra regola il fattore di trascrizione GATA 3 che sovrintende allo sviluppo della risposta Th2. I recettori R2 possono essere attivati sia dalla IL-4 che dalla IL-13 e si trovano su cellule epiteliali, cellule della muscolatura liscia, fibroblasti, monociti e linfociti B attivati. In questo caso viene fosforilata la JAK1-2 e dimerizzata la STAT-6 con conseguente traslocazione nel nucleo e trascrizione di una serie di geni che avviano una complessa serie di eventi biologici²⁴. Questa particolare conformazione recettoriale è responsabile del fatto che IL-4 e IL-13 possono avere attività in comune o attività specifiche, la prevalenza dell'effetto dipende dalla diversa distribuzione quantitativa e spaziale dei recettori e dalla produzione locale di IL-4 e IL-13. IL-4 è implicata nella polarizzazione dei T *naïve* in Th2 e nella sintesi delle IgE, mentre IL-13 ha un ruolo specifico nella produzione di muco e nell'induzione della fibrosi; entrambe IL-4 e IL-13 hanno un effetto sulla infiammazione eosinofila e sulla genesi della iperresponsività bronchiale. La IL-4 aumenta la capacità delle cellule dendritiche (DCs) di stimolare la secrezione di citochine da parte dei linfociti Th2, mentre la IL-13 aumenta la capacità delle DCs di sopprimere la produzione di Interferon γ (INF- γ). Sia la IL-4 che la IL-13 aumentano la captazione degli antigeni da parte delle DCs e la loro migrazione nei linfonodi dove innescano la differenziazione, in presenza di IL-4, dei linfociti Th0 in Th2. La presenza di IL-4 è anche necessaria per lo *switching* dei B linfociti e la produzione di IgE^{30,31}.

In particolare, la IL-13 gioca un importante ruolo nel rimodellamento bronchiale, modulando l'attività dell'Unità Trofica Epitelio Mesenchimale. Infatti stimola la replicazione dei fibroblasti e la produzione di collagene. Induce nell'epitelio bronchiale la produzione di TGF- β che provoca la deposizione sub epiteliale di collagene e di periostina e la modificazione fenotipica dei macrofagi da M1 in macrofagi M2. La IL-13 aumenta la proliferazione e la contrattilità delle fibre muscolari lisce (upregolando le proteine RhoA) e induce, assieme alla IL-4, lo sviluppo di un fenotipo secernente delle fibrocellule muscolari lisce. La IL-13 determina l'ipertrofia e iperplasia delle *globet cell* e aumenta la produzione di muco. Inoltre la IL-13 stimola l'epitelio a produrre eotassina (CCL11), che è un potente fattore chemiotattico per gli eosinofili e aumenta l'espressione dei recettori CCR3 presenti sulla membrana degli eosinofili che si legano alle proteine di adesione vascolare (VCAM, ICAM) e alla periostina (aptotassi). La IL-13 è inoltre un potente induttore della nitrossido sintetasi inducibile (iNOS) e quindi della produzione di ossido nitrico (NO) che può rappresentare un importante fattore pro flogistico attivando la produzione di radicali liberi dell'azoto. L'NO è anche uno dei principali marcatori biologici del fenotipo T2.

In conclusione, IL-4 e IL-13 giocano un ruolo chiave nella patogenesi nell'endotipo T2, sia allergico che non allergico, dalla sensibilizzazione verso gli antigeni am-

bientali al mantenimento della flogosi fino al *remodeling* bronchiale.

IL-4 e IL-13 giocano un ruolo chiave nella patogenesi nell'endotipo T2, sia allergico che non allergico, dalla sensibilizzazione verso gli antigeni ambientali al mantenimento della flogosi fino al *remodeling* bronchiale.

L'importanza delle citochine IL-4/IL-13 nel determinismo dell'endotipo T2 è anche dimostrata dal fatto che a livello "omico" la presenza dell'endotipo T2 viene dimostrata dall'attivazione dei geni indotti dalla IL-13^{30,32}.

Eosinofili

Gli eosinofili rappresentano le principali cellule infiammatorie associate all'asma T2 e hanno degli effetti pleiotropici sulle cellule costitutive e infiammatorie polmonari. Gli eosinofili hanno la capacità di sintetizzare e immagazzinare proteine citotossiche all'interno di granuli intracellulari. A seguito della loro stimolazione liberano numerosissimi mediatori tra cui citochine (IL-13 e IL-5), chemochine (come la eotassina), mediatori neoformati come i leucotrieni (LTC4-LTD4, LTE4). Le proteine citotossiche comprendono: la proteina basica maggiore (MBP), la perossidasi eosinofila (EPX), le proteine cationiche (ECP) e la neurotossina eosinofila (EDN)^{21,22}. Gli eosinofili producono anche fattori che favoriscono la fibrogenesi come TGF β e VEGF, quindi la loro presenza è associata ai processi di *remodeling* bronchiale e in particolare all'ispessimento della membrana basale³³. Gli eosinofili sono i maggiori produttori di leucotrieni, mediatori neoformati che hanno una spiccata attività broncocostrittiva (più di 1.000 volte l'istamina) e stimolano i linfociti ILC2 a produrre citochine T2 agendo sinergicamente con IL-33. Viene così innescato una sorta di *feedback* positivo tra attivazione eosinofila e attivazione ILC2 che è uno dei fattori di mantenimento della flogosi nell'asma grave T2^{33,34}.

Altre cellule che hanno un importante ruolo nell'asma T2 sono i basofili, i macrofagi e le cellule dendritiche, a cui abbiamo già precedentemente accennato.

Come riconoscere l'endotipo T2: i biomarcatori

Attualmente disponiamo di diversi biomarcatori che ci consentono di differenziare con una buona approssimazione l'asma T2 dall'asma non T2^{35,36}. Questo approccio è essenziale per individuare i candidati alle terapie con farmaci biologici. Secondo il documento GINA 2019³⁷ il fenotipo T2 può essere identificato, in pazienti con asma grave e in terapia con elevate dosi di corticosteroidi inalatori (ICS) o steroidi orali, quando sono presenti: eosinofili circolanti $\geq 150 \text{ mm}^3$ e/o FeNO $\geq 20 \text{ ppb}$ e/o eosinofili nell'espettorato indotto $\geq 2\%$ e/o asma clinicamente correlata all'allergia. Il documento consiglia di ripetere più volte queste deter-

minazioni, in particolare quando il paziente assume le minime dosi possibili di cortisonici, prima di escludere un endotipo T2.

Comunemente viene ritenuto come un “gold standard” utile per dimostrare la presenza di un’asma di tipo T2 o eosinofilo la presenza di un’eosinofilia nell’espettorato $\geq 2-3\%$. Nei pazienti con asma grave la prevalenza del fenotipo eosinofilo T2 è di circa il 50%. In base a questo “gold standard” è possibile validare la sensibilità e specificità degli altri marcatori al fine di definire la presenza di un’asma di tipo T2. Secondo Wagener e coll.³⁸ valori di eosinofili circolanti $\geq 400/\text{mm}^3$ o FeNO ≥ 61 ppb o periostina ≥ 25 ng/mL hanno un elevato valore predittivo, anche singolarmente, nell’individuare un paziente con asma T2 definita secondo il *gold standard* dell’eosinofilia nell’espettorato $\geq 3\%$. Il problema si pone quando ci si trova davanti a *biomarker* il cui valore è lievemente aumentato, ad esempio un valore di *cut-off* di FeNO ≥ 42 ppb ha un potere predittivo solo del 74% e una accuratezza del 78% nel predire una presenza di eosinofili nell’espettorato maggiore del 3%³⁸. In questo caso l’accuratezza della diagnosi aumenta se vengono considerati più marcatori che sono tra loro concordanti associati a un quadro clinico tipico (approccio bayesiano). Valori di FeNO intermedi (12-65 pp) in presenza di valori di eosinofili circolanti analogamente intermedi (90-400/ mm^3), ma in un paziente con un quadro clinico tipico, ad esempio asma grave a insorgenza tardiva con rinosinusite, poliposi nasale e aspirino-sensibilità definiscono con elevata probabilità un fenotipo T2 anche in assenza di valori dei singoli marcatori superiori al *cut-off* convenuto³⁹. Inoltre, i valori dei marcatori sono spesso variabili quindi una ripetuta determinazione può essere utile per confermare l’effettivo fenotipo. Per contro, ripetuti valori negativi sia di FeNO che di eosinofili (FeNO < 12 , eosinofili circolanti < 90 mm^3) hanno un elevato potere predittivo per escludere un fenotipo eosinofilo o T2³⁹.

Dovremmo considerare l’eosinofilia nell’espettorato come un “gold standard surrogato” in quanto l’effettivo “gold standard” per definire l’endotipo T2 è trascrittomico.

Di fatto dovremmo considerare l’eosinofilia nell’espettorato come un “gold standard surrogato” in quanto l’effettivo “gold standard” per definire l’endotipo T2 è trascrittomico.

Recentemente Pavlidis e coll.²⁰ hanno infatti dimostrato che rispetto al *gold standard* T2 trascrittomico, geni iperespressi dalla IL-13 (IL13-IVS), l’area sotto le curve ROC, che rappresentano il potere predittivo del test, è del 78% per gli eosinofili nell’espettorato, del 68,9% per gli eosinofili circolanti, del 67,8% per il FeNO, del 62% per le IgE e solo del 55% per la periostina che quindi non dimostra un significativo potere predittivo nei confronti dell’endotipo T2. I marcatori e i relativi *cut-off* che correlano meglio con l’eosinofilia

nell’espettorato e con le caratteristiche trascrittomiche T2 sono il FeNO con un *cut-off* ≥ 30 ppb e gli eosinofili circolanti con un *cut-off* ≥ 300 mm^3 . Gli autori concludono che è necessario disporre di nuovi e più performanti *marker* per individuare l’asma T2.

Asma e comorbidità

Di fronte a un paziente con asma grave non controllata, prima di definire il paziente affetto da asma refrattaria è necessario: (a) confermare la diagnosi dopo aver escluso altre patologie che possono dissimularla come la disfunzione delle corde vocali; (b) escludere patologie che possono presentarsi associate all’asma aggravandone il quadro clinico come l’aspergillosi broncopulmonare allergica e la vasculite eosinofila; (c) ottimizzare la terapia e verificare l’adesione alla stessa e il corretto uso degli inalatori; (d) individuare le possibili comorbidità e trattarle. Le comorbidità più comuni nell’asma sono: l’obesità, il reflusso gastroesofageo, la rinosinusite cronica e la poliposi nasale. Altre sono connesse all’impiego cronico degli OCS come l’osteoporosi, il diabete, la cataratta⁴⁰. La rinosinusite cronica e la poliposi nasale si associano frequentemente all’endotipo eosinofilo a insorgenza tardiva di tipo T2 e ne rappresentano di fatto, assieme all’asma, una delle manifestazioni fenotipiche^{6,8,41}. Si tratta di soggetti in cui la rinosinusite si presenta alcuni anni prima dell’asma, spesso compare anche poliposi nasale ed è frequente l’associazione con l’intolleranza ai farmaci anti infiammatori. Nei polipi nasali è stata dimostrata la presenza di cellule ILC2, quindi l’attivazione della risposta immunopatologica T2 innata⁴¹. In questo endotipo giocano un ruolo importante, oltre la IL-5, anche l’IL-4 e l’IL-13⁴¹.

Terapie biologiche nell’asma T2: studi clinici

Le terapie biologiche rappresentano un’importante opportunità per i pazienti con asma grave non controllata⁴². I principali studi che dimostrano l’efficacia con i farmaci biologici sono sintetizzati nelle Tabelle II-V.

Gli anti IL-5, mepolizumab e benralizumab, riducono, nei pazienti con asma eosinofila, le riacutizzazioni rispetto al placebo, rispettivamente del 50% e del 51%.

Gli anti IL-5, mepolizumab e benralizumab, riducono, nei pazienti con asma eosinofila (eosinofili ≥ 300 mm^3), le riacutizzazioni rispetto al placebo, rispettivamente del 50% (studio DREAM)⁴⁷ e del 51% (studio SIROCCO)⁴³.

In una metanalisi Cochrane che ha analizzato 25 studi Normansell e coll.⁵⁰ hanno dimostrato che solo il 16% dei pazienti trattati con omalizumab incorre in riacutizzazioni contro il 26% dei pazienti trattati con placebo (OR = 0,55).

Tabella II. Sintesi dei principali lavori riguardo benralizumab.

Studio	Outcome	Commento
<ul style="list-style-type: none"> • SIROCCO ⁴³ 	Alla 48 ^a settimana: <ul style="list-style-type: none"> • miglioramento del FEV₁: + 157 mL • (media minimi quadrati) • riduzione delle riacutizzazioni del 51% • Nei pazienti trattati con benralizumab ogni 8 settimane rispetto al placebo 	<ul style="list-style-type: none"> • Significativa risposta sulla funzione respiratoria oltre che sulle riacutizzazioni, sono responsivi i pazienti con ≥ 300 eos/mm³, la risposta aumenta con eosinofilia
<ul style="list-style-type: none"> • CALIMA ⁴⁴ 	Alla 56 ^a settimana: <ul style="list-style-type: none"> • miglioramento del FEV₁: + 116 mL (media minimi quadrati) • riduzione delle riacutizzazioni del 36% • Il miglioramento della funzione respiratoria è già evidente alla 4^a settimana e persiste per tutto lo studio • Nei pazienti trattati con benralizumab ogni 8 settimane rispetto al placebo 	<ul style="list-style-type: none"> • Significativa risposta sulla funzione respiratoria oltre che sulle riacutizzazioni, sono responsivi i pazienti con ≥ 300 eos/mm³, la risposta aumenta con eosinofilia
<ul style="list-style-type: none"> • ZONDA asma non controllata risparmio OCS ⁴⁵ 	<ul style="list-style-type: none"> • Riduzione OCS del 75% con benralizumab e del 25% con placebo • Il 50% dei pazienti con prednisone basale < 12,5 mg che hanno ricevuto benralizumab ha sospeso completamente OCS • FEV₁ pre broncodilatatore alla 20 settimana è maggiore di 256 mL nel gruppo trattato con benralizumab rispetto al placebo 	<ul style="list-style-type: none"> • Malgrado riduzione di OCS miglioramento della funzione respiratoria e riduzione riacutizzazioni
<ul style="list-style-type: none"> • Indicazioni LG ERS/ATS 2019 per anti IL-5/IL5R ⁴⁶ 	Raccomandazioni: <ul style="list-style-type: none"> • suggeriamo anti -IL-5 come terapia aggiuntiva nei pazienti adulti con asma grave non controllata e fenotipo eosinofilo e per quelli cortico-dipendenti • <i>cut-off</i> eosinofili ≥ 300/mm³ e precedenti riacutizzazioni 	<ul style="list-style-type: none"> • Qualità evidenze a seconda del biologico considerato • Nota prescrizione benralizumab: eosinofili ≥ 300/mm³
<ul style="list-style-type: none"> • Documento GINA: criteri di eleggibilità per anti IL-5/IL5R ³⁷ 	Riacutizzazioni nell'anno precedente Eosinofili circolanti ≥ 300 mm ³	<ul style="list-style-type: none"> • Fattori che predicono l'efficacia di anti IL5/IL5R: elevati eosinofili circolanti: +++ riacutizzazioni nell'anno precedente: +++ asma esordita in età adulta: ++ poliposi nasale: ++

Per quanto riguarda gli anti IL-4R α (che inibiscono l'attività di entrambe le citochine IL-4/IL-13) Castro e coll. (*The Liberty Asthma QUEST phase 3 trial*) ⁵² hanno dimostrato che il trattamento con dupilumab ha determinato nell'intera popolazione studiata (indipendentemente dai livelli basali di biomarcatori di tipo 2) una riduzione del 47,7% delle gravi riacutizzazioni e un aumento del FEV₁ di 130 mL, mentre nei pazienti trattati con placebo oltre alla terapia di base si è osservata una perdita di 40 mL/anno, che è il decremento della funzione respiratoria solitamente osservato nei pazienti con asma grave.

È stato dimostrato che il trattamento con dupilumab ha determinato nell'intera popolazione studiata una riduzione del 47,7% delle gravi riacutizzazioni e un aumento del FEV₁ di 130 mL.

Questo fenomeno, anche se il periodo di osservazione è stato relativamente breve, consente di ipotizzare un effetto di dupilumab sul rimodellamento bron-

chiale. L'elemento innovativo osservato con dupilumab è che l'efficacia del trattamento si riferisce all'intera popolazione studiata che presenta sia una bassa che una elevata espressione dei biomarcatori T2.

L'effetto terapeutico di dupilumab si è dimostrato però più efficace in presenza di elevati livelli di eosinofili circolanti (es. > 150 mm³, ≥ 300 mm³) e di FeNO (es. > 25 ppb, > 50 ppb), con una riduzione del 65% delle riacutizzazioni e un miglioramento del FEV₁ di ben 240 mL, ma l'incremento del FEV₁ è stato comunque significativo, e pari a 90 mL, anche nel gruppo di pazienti con meno di 150 eosinofili/mm³. Un aumento del FEV₁ pari a 159 mL (media dei minimi quadrati) alla 48esima settimana è stato osservato anche nei pazienti trattati con benralizumab ⁴³, ma solo nei pazienti con un valore ≥ 300 eosinofili/mm³.

Altro elemento innovativo dello studio di Castro e coll. ⁵² è che il FeNO predice la risposta alle riacutizzazioni in modo analogo agli eosinofili. Questo fenomeno dimostra il carattere pleiotropico degli effetti della IL-4/IL-13 che non è limitato, come la IL-5, alla sintesi

Tabella III. Sintesi dei principali lavori riguardo mepolizumab.

Studio	Outcome	Commento
<ul style="list-style-type: none"> DREAM ⁴⁷ 	Mepolizumab rispetto al placebo riduce: <ul style="list-style-type: none"> eosinofili circolanti e nell'espettorato frequenza delle riacutizzazioni (a 1 anno sono ridotte del 50%) numero delle riacutizzazioni che necessitano di ospedalizzazione tempo alla prima riacutizzazione 	<ul style="list-style-type: none"> Primo studio che dimostra efficacia di un anti IL-5, ma non sono state osservate significative differenze rispetto al placebo per: <ul style="list-style-type: none"> FEV₁ QV (ACQ) FeNO Gli eosinofili nell'espettorato non predicano la risposta a mepolizumab La presenza di Eos > 150/mm³ che riduce le riacutizzazioni del 30%
<ul style="list-style-type: none"> MENSA ⁴⁸ 	Mepolizumab rispetto al placebo migliora: <ul style="list-style-type: none"> FEV₁ qualità vita (SGRQ) frequenza delle riacutizzazioni del 50% riacutizzazioni che necessitano di ospedalizzazioni: 32% riacutizzazioni che necessitano di ospedalizzazioni: 61% 	<ul style="list-style-type: none"> Il miglioramento della QV non raggiunge il livello di significatività
<ul style="list-style-type: none"> SIRIUS Riduzione del dosaggio OCS mantenendo il controllo dell'asma ⁴⁹ 	Mepolizumab consente di ridurre OCS: <ul style="list-style-type: none"> riduzione del 50% steroidi orali senza perdita di controllo riduzione delle riacutizzazioni del 32% miglioramento della QV (ACQ) malgrado la riduzione degli OCS 	<ul style="list-style-type: none"> Non si è osservato un miglioramento del FEV₁ alla 24 settimana
<ul style="list-style-type: none"> Indicazioni LG ERS/ATS 2019 per anti IL-5/IL5R ⁴⁶ 	Raccomandazioni: <ul style="list-style-type: none"> suggeriamo anti IL-5 come terapia aggiuntiva nei pz adulti con asma grave non controllata e fenotipo eosinofilo e per quelli cortico dipendenti cut-off eosinofili ≥ 150/mm³ e precedenti riacutizzazioni 	<ul style="list-style-type: none"> Qualità evidenze a seconda del biologico considerato Nota prescrizione mepolizumab: eosinofili > 150/mm³ attuali e almeno un valore > 300/mm³ l'anno precedente
<ul style="list-style-type: none"> Documento GINA: criteri di eleggibilità per anti IL-5/IL5R ³⁷ 	Riacutizzazioni nell'anno precedente Eosinofili circolanti ≥ 300 mm ³	<ul style="list-style-type: none"> Fattori che predicano l'efficacia di anti IL5/IL5R: <ul style="list-style-type: none"> elevati eosinofili circolanti: +++ riacutizzazioni nell'anno precedente: +++ asma esordita in età adulta: ++ poliposi nasale: ++

e attivazione degli eosinofili e quindi può coinvolgere più vie biologiche e marcatori T2. Infatti è stata dimostrata, nei pazienti trattati con dupilumab, oltre ad una riduzione del FeNO, una riduzione delle IgE totali, delle IgE specifiche e del TSLP. Dupilumab può quindi agire sia a monte, effetti prevalentemente IL-4 dipendenti ad esempio sulla sintesi delle IgE, che a valle della cascata infiammatoria T2 (effetti IL-13 prevalenti). Queste caratteristiche spiegano perché dupilumab possa avere un ruolo terapeutico nelle diverse manifestazioni cliniche del fenotipo T2 come la rinosinusite cronica, la poliposi nasale, la dermatite atopica, l'esofagite eosinofila e le allergie alimentari.

Nell'era dei farmaci pre-biologici l'unica opzione terapeutica utilizzabile per ridurre le riacutizzazioni e stabilizzare i pazienti con asma grave era l'impiego continuativo o a cicli, dopo aver ottimizzato la terapia con elevate dosi di cortisone inalatorio, dei cortisonici somministrati per via orale (OCS). I farmaci biologici anti citochine hanno dimostrato, in questi pazienti, di

consentire una significativa riduzione del dosaggio degli OCS. Nello studio SIRIUS ⁴⁹ l'aggiunta del mepolizumab alla terapia convenzionale nei pazienti corticoidi dipendenti ha permesso di ridurre il dosaggio degli OCS del 50% senza una significativa perdita del controllo dell'asma.

Nello studio *Liberty Asthma Venture Trial* il dupilumab ha consentito di ridurre il dosaggio degli OCS del 70% e il 48% dei pazienti ha completamente discontinuato gli OCS.

Non in tutti i pazienti il mepolizumab ha avuto la stessa efficacia, e questo dimostra l'intrinseca eterogeneità presente nel fenotipo eosinofilo dell'asma. La riduzione degli OCS è stata elevata nel 23% dei pazienti, moderata nel 30%, scarsa nell'11 e nel 36% dei pazienti non è stata osservata alcuna riduzione. Nello studio ZONDA ⁴⁵ il benralizumab è stato in grado di

Tabella IV. Sintesi dei principali lavori riguardo omalizumab.

Studio	Outcome	Commento
<ul style="list-style-type: none"> • Metanalisi COCHRANE 8 studi controllati ⁵⁰ 	<ul style="list-style-type: none"> • Riduce riacutizzazioni • PI: 26/100 pazienti; OM: 16/100 • Riduce ospedalizzazioni • PI: 3/100 pazienti; OM: 1/100 pazienti • Riduce/sospende ICS ma non OCS • PI: 21/100 pazienti; OM: 40/100 pazienti (OR 2,50) • (WMD) -118 mcg beclometasone dipropionate (BDP) equivalente per giorno 	<ul style="list-style-type: none"> • Farmaco biologico approvato da circa 15 anni per i pazienti > 12 anni, attualmente per pazienti > 6 anni • Indicazioni: asma atopica con allergene perenne e FEV₁ < 80% • Metanalisi condotta su 3.429 pazienti dall'età di 6 fino a 79 anni Altri studi dimostrano <ul style="list-style-type: none"> • miglioramento FEV₁ • riduzione FeNO ed eosinofili circolanti • efficacia nell'asma non allergica
<ul style="list-style-type: none"> • STELLAIR ⁵¹ 	<ul style="list-style-type: none"> • Omalizumab è efficace nei pazienti atopici indipendentemente dal livello di eosinofili 	<ul style="list-style-type: none"> • Studio di comparazione indiretta non dimostra differenze di efficacia tra omalizumab e anti IL-5 nei pazienti eleggibili ai due trattamenti
<ul style="list-style-type: none"> • Indicazioni LG ERS/ATS 2019 per anti IL-5 /IL5R ⁴⁶ 	Raccomandazioni suggeriscono: <ul style="list-style-type: none"> • FeNO ≥ 19,5 ppb • eosinofili ≥ 260/mm³ • età ≥ 12 anni • adulti con asma allergica grave 	<ul style="list-style-type: none"> • Qualità evidenze: bassa
<ul style="list-style-type: none"> • Documento GINA Fattori che predicono l'efficacia di omalizumab ³⁷ 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilizzazione allergica valutata con <i>prick test</i> o IgE • Riacutizzazioni nell'anno precedente • Dosaggio IgE totali e peso del paziente nei <i>range</i> previsti 	<ul style="list-style-type: none"> • Fattori che predicono l'efficacia di omalizumab: eosinofili ≥ 260/mm³: ++ FeNO ≥ 20 ppb: ++ sintomi causati da esposizione agli allergeni: + asma insorta in età infantile: +

PI: placebo; OM: omalizumab

ridurre il dosaggio degli OCS rispetto al basale del 75% e il 50% dei pazienti che utilizzano prednisone basale ad un dosaggio minore di 12,5 mg/die ha sospeso completamente gli OCS. Anche con benralizumab però il 21% dei pazienti trattati non è stato in grado di ridurre il dosaggio degli OCS.

Nello studio *Liberty Asthma Venture Trial* ⁵³ il dupilumab ha consentito di ridurre il dosaggio degli OCS del 70% e il 48% dei pazienti ha completamente discontinuato gli OCS.

Il vantaggio terapeutico ottenuto è indipendente dal numero di eosinofili circolanti, infatti anche nel 75% dei pazienti con meno di 150 eosinofili/mmc è stato possibile ridurre del 50% il dosaggio degli OCS. Questo studio conferma i risultati del lavoro di Castro e coll. ⁵², in cui l'intera popolazione, sia con bassi che con elevati livelli di *marker* T2, si avvantaggia del trattamento con dupilumab anche se sono quelli con i marcatori più elevati che dimostrano il maggior beneficio.

Una recente analisi *post-hoc* dello studio QUEST ASTHMA LIBERTY ⁵⁴ ha valutato l'efficacia di dupilumab in pazienti con asma allergico (definito come: IgE totali ≥ 30 IU/mL e un allergene perenne con IgE specifiche ≥ 0,35 kU/L) da moderato a grave non controllato e in pazienti, della stessa gravità, ma con asma non allergico. Dupilumab ha ridotto significativamente la percentuale annua di riacutizzazione gravi rispetto al placebo del 37–46% nei pazienti con asma allergico e del 45–59% nei pazienti con asma non allergico. In entrambi i gruppi di pazienti dupilumab ha determinato un rapido aumento del FEV₁ già alla seconda set-

timana che è rimasto costante per le successive 52 settimane dello studio. Dupilumab ha determinato una significativa riduzione dei *marker* T2 rispetto al placebo: FeNO, TARC (*Thymus and Activation-Regulated Chemokine*) e IgE. Lo studio dimostra che dupilumab è altrettanto efficace sia nei pazienti con fenotipo allergico che con fenotipo non allergico ed in entrambi i casi determina una netta riduzione delle riacutizzazioni e dei *biomarker* T2.

Per quanto riguarda l'omalizumab, la metanalisi di Normansell e coll. ⁵⁰ ha dimostrato un chiaro effetto cortico-risparmiatore nei confronti degli steroidi inalatori, mentre sono meno solidi i dati riguardanti il risparmio degli OCS.

L'effetto dei farmaci biologici anti-citochine non è semplicemente quello di essere dei cortico-risparmiatori, ma di essere in grado di migliorare il decorso dell'asma contemporaneamente alla riduzione o alla sospensione degli steroidi.

Quello che emerge dall'analisi circa l'efficacia dei farmaci biologici anti-citochine (IL-5 e IL-4/IL-13) è che il loro effetto non è semplicemente quello di essere dei cortico-risparmiatori, cioè principi attivi che riescono a mantenere il controllo dell'asma malgrado la riduzione degli OCS, ma di essere in grado di migliorare il decorso dell'asma contemporaneamente alla riduzione

Tabella V. Sintesi dei principali lavori riguardo dupilumab.

Studio	Outcome	Commento
<ul style="list-style-type: none"> <i>The Liberty Asthma QUEST phase 3 trial</i>⁵² 	<ul style="list-style-type: none"> Riduzione del 47,7% delle riacutizzazioni del 60% in quelli con una conta eosinofila > 150 mm³ del 65,8% in quelli con una conta eosinofila > 300 mm³ del 61% in quelli con FeNO > 25 ppb del 70% in quelli con FeNO > 50 ppb FEV₁ aumento a 12 sett di 320 mL 	<ul style="list-style-type: none"> L'efficacia è maggiore nei pazienti con elevati livelli di FeNO e di eosinofili
<ul style="list-style-type: none"> <i>Liberty Asthma Venture Trial assessed the OCS-sparing effect</i> effetto risparmiatore di OCS⁵³ 	<ul style="list-style-type: none"> Il trattamento riduce del 70% il dosaggio OCS rispetto al 41,9% del placebo. Dopo 24 settimane, malgrado la riduzione di OCS, pazienti trattati con dupilumab hanno una riduzione del 59% delle riacutizzazioni in tutta la popolazione e del 71% quelli con eosinofili ≥ 300 mm³. Alla 24 settimana dupilumab migliora il FEV₁ di 220 mL (+15%) in tutta la popolazione e di 320 mL (25%) in quelli con > 300 eosinofili/mm³ 	<ul style="list-style-type: none"> I benefici maggiori si hanno nei pazienti con maggior livello di FeNO ed eosinofili
<ul style="list-style-type: none"> Indicazioni LG ERS/ATS 2019 per anti IL-5 / IL5R⁴⁶ 	<ul style="list-style-type: none"> Suggeriamo dupilumab nei pazienti adulti con asma grave eosinofila e in quelli con asma grave corticodipendenti indipendentemente dal livello di eosinofili 	<ul style="list-style-type: none"> Qualità evidenza: bassa
<ul style="list-style-type: none"> Documento GINA: criteri di eleggibilità di dupilumab³⁷ 	<ul style="list-style-type: none"> Asma grave eosinofila/con asma di tipo 2: <ul style="list-style-type: none"> - con: <ol style="list-style-type: none"> riacutizzazioni nell'anno precedente EOS nel sangue ≥ 150/uL oppure FeNO ≥ 25 ppb oppure Asma che necessita della terapia di mantenimento con OCS 	<ul style="list-style-type: none"> Fattori che predicono l'efficacia di dupilumab: elevati eosinofili: +++ elevato FeNO: +++ Dupilumab può essere usato anche per trattare: dermatite atopica moderata/grave poliposi nasale

ne o alla sospensione degli steroidi. Questo significa che le anti-citochine possono antagonizzare delle vie biologiche che sono intrinsecamente corticoresistenti²⁰. Nello studio SIRIUS⁴⁹ il mepolizumab, malgrado la progressiva sospensione degli OCS, riduce le riacutizzazioni del 32% e migliora la qualità della vita dei pazienti trattati. Nello studio ZONDA⁴⁵ il benralizumab riduce, insieme agli OCS, le riacutizzazioni del 70% e migliora il FEV₁ di 256 mL alla ventesima settimana rispetto al gruppo placebo. Nello studio *Liberty Asthma Venture Trial*⁵³, dupilumab riduce, nell'intera popolazione dei pazienti trattati, le riacutizzazioni del 59% e aumenta il FEV₁ di 220 mL. Nei pazienti con marcatori T2 più elevati (eosinofili ≥ 300/mm³ e FeNO ≥ 25 ppb) le riacutizzazioni, con il trattamento attivo, si riducono del 71% e il FEV₁ aumenta di 320 mL, mentre nei pazienti con meno di 150 eosinofili mm³ la flessione delle riacutizzazioni, anche se inferiore, è comunque rilevante e raggiunge il 60%, mentre il FEV₁ aumenta di 240 mL. L'effetto sul FEV₁ è visibile dopo le prime due settimane dall'inizio della terapia. Nei pazienti che hanno utilizzato dupilumab, malgrado la sospensione degli OCS, si è anche osservata una riduzione del FeNO, infatti la quota di soggetti con valori di FeNO minore di 25 ppb raddoppia (dal 44% all'84%) nel gruppo che utilizza l'anti IL-4/IL-13, mentre resta stabile nel gruppo placebo⁵³.

Per gli eosinofili è stato osservato che il trattamento con dupilumab induce una deplezione degli eosinofili nel polmone, causata dal blocco della chemiotassi e attivazione polmonare, mentre gli eosinofili circolanti

restano invariati o in rari casi possono transitoriamente aumentare a causa del mancato sequestro polmonare.

In conclusione, i risultati degli studi dimostrano che i farmaci biologici agiscono in modo qualitativamente differente dai cortisonici, in quanto riescono ad inibire alcune vie biologiche che non sono sopresse, in alcuni pazienti, dagli steroidi.

Dupilumab si differenzia dagli anti IL-5 perché l'effetto terapeutico è riscontrabile anche in soggetti con valori di eosinofili < 150 mm³.

Dupilumab si differenzia dagli anti-IL-5 perché l'effetto terapeutico è riscontrabile anche in soggetti con valori di eosinofili < 150 mm³. La possibilità di poter ridurre o azzerare la terapia steroidea orale rappresenta un'opportunità terapeutica estremamente importante per i pazienti asmatici gravi per gli inevitabili effetti collaterali che l'impiego di questa classe di farmaci comporta.

La scelta del farmaco biologico

Nell'ambito dell'endotipo T2 sono individuabili diversi sotto endotipi, anche se con ampie aree di sovrapposizione, quindi è necessario individuare i criteri che possano orientare verso la scelta del farmaco biologico più appropriato^{42,46}. Ad esempio può essere

Tabella VIa. Suggerimenti per la scelta iniziale del farmaco biologico a seconda dei biomarcatori (da Lim e Nair, 2018³⁶, mod.).

	Elevati eosinofili circolanti o nell'espettorato	Bassi eosinofili circolanti o nell'espettorato
• Elevato FeNO	Anti IL-5/IL-5R Anti IL-4/IL-13	Anti IL-4/IL-13
• Basso FeNO	Anti IL-5/IL-5R	Trattamento non T2
• Elevate IgE	Anti IgE Anti IL-5/IL-5R*	Anti IgE

*In caso di corticodipendenza sono preferibili gli anti IL-5/IL-5R

Tabella VIb. Utilità dei biomarcatori per l'impiego dei farmaci biologici (da Lim e Nair, 2018³⁶; GINA guidelines, 2019³⁷, mod.).

Biomarcatore	Prognostico	Diagnostico e terapeutico	Target terapeutico
• Eosinofili	++	++ anti IL-5 + + anti IL-5R + anti IgE ++ anti IL-4/IL-13*	Si
• FeNO	++	++ anti IL-4/IL-13 + anti IgE ± anti IL-5 ± anti IL-5R	No
• IgE	-	+	Si

*Dupilumab determina una deplezione degli eosinofili nel polmone, ma non di quelli circolanti.

considerata preferibile l'indicazione di omalizumab nei soggetti con asma grave a insorgenza giovanile e atopica, riservando gli anti IL-5 (mepolizumab, benralizumab) ai pazienti con asma ad insorgenza in età adulta in cui sia presente una spiccata eosinofilia e in cui il ruolo dell'allergia sia scarso o assente⁵⁵.

Nell'ambito di questa scelta deve poi essere considerato il diverso meccanismo dei due biologici: mentre mepolizumab riduce la IL-5 circolante, benralizumab induce l'apoptosi degli eosinofili e dei basofili. L'impiego dei biomarcatori può essere utile per indirizzare la scelta del farmaco biologico (vedi Tabella VI). Bisogna inoltre considerare che i biomarcatori possono fornire informazioni di tipo (a) prognostico, (b) diagnostico-terapeutico e rappresentare (c) un target terapeutico. In pazienti con asma grave e in terapia con elevate dosi di ICS e/o OCS il riscontro di elevati valori di FeNO suggerisce la presenza di una scarsa risposta agli steroidi (corticoresistenza), verosimilmente per la prevalente attivazione delle cellule linfoidi ILC2 e la produzione di IL-13, che può orientare verso la scelta, anche in presenza di una modesta eosinofilia, verso un anti IL-4/IL-13. In questo caso il FeNO, oltre ad avere una valenza diagnostica, può essere utilizzato per valutare, insieme al controllo dei sintomi e delle riacutizzazioni, l'efficacia della terapia. La IL-13 infatti induce la sintesi, nell'epitelio bronchiale, della iNOS, quindi i valori del FeNO sono IL-13 dipendenti e la sua produzione non è modificata dalla terapia con anti-IL-5^{31,33}. Il recente documento ERS/ATS (sul "trattamento dell'asma grave")⁴⁶ ha proposto delle raccomandazioni (con bassa evidenza) che possono orientare verso la scelta del farmaco biologico (Tabelle II-V) e analogamente il documento GINA

sull'asma grave³⁷. Per gli anti IL-5 i criteri suggeriti sono: la presenza di eosinofilia ($\geq 150 \text{ mm}^3$), frequenti riacutizzazioni e asma insorta in età adulta, poliposi nasale (ovviamente a seconda del monoclonale utilizzato il *cut-off* degli eosinofili varia). Per gli anti IgE viene sottolineato che la presenza di caratteristiche T2, eosinofili e FeNO aumentano l'efficacia del trattamento, anche se il recente studio STELLAIR ha dimostrato che omalizumab è efficace nei pazienti atopici sia con elevati sia con bassi livelli di eosinofili⁵¹.

Per gli anti IL-4/IL-13 i criteri di scelta sono la presenza di asma grave eosinofila o un'asma grave corticodipendente, indipendentemente dal livello di eosinofili.

Per gli anti IL-4/IL-13 i criteri di scelta sono la presenza di asma grave con infiammazione di tipo 2 (caratterizzata da un aumento degli eosinofili e/o del FeNO) o un'asma grave corticodipendente, indipendentemente dal livello di eosinofili. Infatti dupilumab si è dimostrato efficace, anche se in minor misura, nei pazienti con ridotti eosinofili circolanti; inoltre la presenza di corticodipendenza e di comorbilità che caratterizzano l'endotipo T2, come la poliposi nasale e la dermatite atopica ne rafforza l'indicazione³⁷.

L'efficacia di dupilumab anche in presenza di bassi valori di eosinofili circolanti potrebbe essere dovuta ad un effetto di "mascheramento" causato dalla terapia steroidea o potrebbe essere dovuta al fatto che non disponiamo ancora di una completa e definitiva mappatura dei *biomarker* T2 ed è possibile che alcuni pazienti non siano correttamente riconosciuti come tali o

al fatto che dupilumab possa agire, nel contesto del complesso *network* delle citochine, su molteplici vie biologiche in cui intervengono diversi meccanismi immunopatologici.

Ovviamente esistono ampie aree di sovrapposizione tra i diversi sotto endotipi T2, per cui il paziente che inizia il trattamento con un biologico deve effettuare un regolare *follow-up* e in seguito confermare o modificare l'indirizzo terapeutico⁵⁵.

Il paziente che inizia il trattamento con un biologico deve effettuare un regolare follow-up e in seguito confermare o modificare l'indirizzo terapeutico.

Rimangono alcuni problemi aperti come la durata del trattamento e, in pazienti particolarmente complessi, la possibilità di trattamenti combinati con più biologici.

Conclusioni

I recenti progressi delle scienze omiche hanno consentito di caratterizzare meglio gli endotipi e i sotto endotipi T2 e non T2. Rimane ancora molto da fare per individuare dei biomarcatori, utilizzabili isolatamente o associati, che possano meglio differenziare i sotto endotipi T2 e non T2 dell'asma e costituire nel contempo degli indici prognostici e di risposta alla terapia al fine di poter effettuare interventi sempre più mirati e personalizzati.

Bibliografia

- 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 characteristics*. Am J Respir Crit Care Med 1999;160:1001-8.
- Wenzel SE. *Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches*. Nat Med 2012;18:716-25.
- Chung KF, Adcock I. *Clinical phenotypes of asthma should link up with disease mechanisms*. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2015;15:56-62.
- Agache I, Akdis C. *Precision medicine and phenotypes, endotypes, genotypes, regiotypes, and theratypes of allergic diseases*. J Clin Invest 2019;130:1493-503.
- Godar M, Blanchetot C, de Haard H, et al. *Personalized medicine with biologics for severe type 2 asthma: current status and future prospects*. MAbs 2018;10:34-45.
- Vaghi A, De Michele F. *Fenotipi ed endotipi dell'asma grave nell'età adulta*. Rass Patol App Respir 2017;32(Suppl 1):12-23.
- Vaghi A, Rossi A, D'Amato G. *Asma grave e ACOS: differenze e similitudini*. Rass Patol App Respir 2017;32(Suppl 1):40-51.
- Kaur R, Chupp G. *Phenotypes and endotypes of adult asthma: moving toward precision medicine*. J Allergy Clin Immunol 2019;144:1-12.
- Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. *Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program*. Am J Respir Crit Care Med 2010;181:315-23.
- Lefaudeaux D, De Meulder B, Loza M, et al.; U-BIOPRED study group. *U-BIOPRED clinical adult asthma clusters linked to a subset of sputum omics*. J Allergy Clin Immunol 2017;139:1797-807.
- Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, et al. *Cluster analysis and clinical asthma phenotypes*. Am J Respir Crit Care Med 2008;178:218-24.
- Yan X, Chu JH, Gomez J, et al. *Noninvasive analysis of the sputum transcriptome discriminates clinical phenotypes of asthma*. Am J Respir Crit Care Med 2015;191:1116-25.
- Newby C, Heaney L, Menzies-Gow A, et al. *Statistical cluster analysis of the British Thoracic Society Severe Refractory Asthma Registry: clinical outcomes and phenotype stability*. PLoS One 2014;9:e102987.
- Hinks TSC, Brown T, Lau LCK, et al. *Multidimensional endotyping in patients with severe asthma reveals inflammatory heterogeneity in matrix metalloproteinases and chitinase 3-like protein*. J Allergy Clin Immunol 2017;138:61-75.
- Wu W, Bleecker E, Moore WC, et al. *Unsupervised phenotyping of Severe Asthma Research Program participants using expanded lung data*. J Allergy Clin Immunol 2014;133:1280-8.
- Amelink M, de Nijs SB, de Groot JC, et al. *Three phenotypes of adult-onset asthma*. Allergy 2013;68:674-80.
- Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, et al. *T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma*. Am J Respir Crit Care Med 2009;180:388-95.
- Kuo CHS, Pavlidis S, Loza M, et al.; U-BIOPRED study group. *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.
- Peters MC, Ringet L, Dyjack N, et al. *A transcriptomics method to determine airway immune dysfunction in T2 high and T2 low asthma*. Am J Respir Crit Care Med 2019;199:465-77.
- Pavlidis S, Takahashi K, Kee Kwong FG. *"T2-high" in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin*. Eur Respir J 2019;53:2-13.
- Lambrecht BN, Hammad H. *The immunology of asthma*. Nat Immunol 2015;16:45-56.
- Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. *The development of allergic inflammation*. Nature 2008;454:445-54.
- Kubo M. *Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation*. Immunol Rev 2017;278:162-72.
- Wallrapp A, Riesenfeld SJ, Burkett PR, et al. *Type 2 innate lymphoid cells in the induction and resolution of tissue inflammation*. Immunol Rev 2018;286:53-73.
- Lambrecht BN, Hammad H, Fahy V. *The cytokines of asthma*. Immunity 2019;50:975-91.
- Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M, et al. *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.
- Matsusaka M, Kabata H, Fukunaga K, et al. *Phenotype of asthma related with high serum periostin levels*. Allergol Int 2015;64:175-80.
- Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, et al. *Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease*. Nat Rev Drug Discov 2016;15:35-50.
- Pelaia C, Vatrella A, Gallelli L, et al. *Dupilumab for the treatment of asthma*. Expert Opin Biol Ther 2017;17:1565-72.
- Rossjohn J, McKinstry WJ, Woodcock JM, et al. *Structure of the activation domain of the GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta-chain bound to an antagonist*. Blood 2000;95:2491-8.

- ³¹ Ingram JF, Kraft M. *IL-13 in asthma and allergic disease: asthma phenotypes and targeted therapies*. J Allergy Clin Immunol 2012;130:829-42.
- ³² Antczak A, Domańska-Senderowska A, Górski P. *Analysis of changes in expression of IL-4/IL-13/STAT6 pathway and correlation with the selected clinical parameters in patients with atopic asthma*. Int J Immunopathol Pharmacol 2016;29:195-204.
- ³³ Parulekar AD, Koa CC, Diamantb Z, et al. *Targeting the interleukin-4 and interleukin-13 pathways in severe asthma: current knowledge and future needs*. Curr Opin Pulm Med 2018;24:50-5.
- ³⁴ Ramirz G, Yacub MR, Ripa M, et al. *Eosinophils from physiology to disease: a comprehensive review*. Biomed Res Int 2018;2018:9095275.
- ³⁵ Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. *Eosinophil trafficking in allergy and asthma*. J Allergy Clin Immunol 2007;119:1303-10.
- ³⁶ Lim HF, Nair P. *Airway inflammation and inflammatory: biomarkers*. Semin Respir Crit Care Med 2018;39:56-63.
- ³⁷ GINA guidelines. *Adolescents and adult with difficult to treat and severe asthma* (www.ginaasthma.org. Accessed May 6, 2019).
- ³⁸ Wagener AH, de Nijs SB, Lutter R, et al. *External validation of blood eosinophils, FE(NO) and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma*. Thorax 2015;70:115-20.
- ³⁹ Coumou H, Bel EH. *Improving the diagnosis of eosinophilic asthma*. Expert Rev Respir 2016;10:27-35.
- ⁴⁰ Porsbjerg C, Menzies-Gow A. *Co-morbidities in severe asthma: clinical impact and management*. Respirology 2017;22:651-61.
- ⁴¹ Tojima I, Shimizu T. *Group 2 innate lymphoid cells and eosinophilic chronic rhinosinusitis*. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2019;19:18-25.
- ⁴² McGregor MC, Krings JG, Nair P, et al. *Role of biologics in asthma*. Am J Respir Crit Care Med 2019;199:433-45.
- ⁴³ Bleecker ER, FitzGerald JM, Chaney P, et al.; SIROCCO study investigators. *Efficacy and safety of benralizumab for patients with severe asthma uncontrolled with high-dosage inhaled corticosteroids and long-acting beta2-agonists (SIROCCO): a randomised, multicentre, placebo-controlled phase 3 trial*. Lancet 2016;388:2115-27.
- ⁴⁴ FitzGerald JM, Bleecker ER, Nair P, et al.; CALIMA study investigators. *Benralizumab, an anti-interleukin-5 receptor alpha monoclonal antibody, as add-on treatment for patients with severe, uncontrolled, eosinophilic asthma (CALIMA): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial*. Lancet 2016;388:2128-41.
- ⁴⁵ Nair P, Wenzel S, Rabe KF, et al; for the ZONDA Trial Investigators. *Oral glucocorticoid-sparing effect of benralizumab in severe asthma (ZONDA)*. N Engl J Med 2017;376:2448-58.
- ⁴⁶ Holguin F, Cardet JC, Chung KF, et al. *Management of severe asthma: a European Respiratory Society/American Thoracic Society Guideline*. Eur Respir J 2019;pii:1900588.
- ⁴⁷ Pavord ID, Korn S, Howarth P, et al. *Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial*. Lancet 2012;380:651-9.
- ⁴⁸ Ortega HG, Liu MC, Pavord ID, et al.; for the MENSA Investigators. *Mepolizumab treatment in patients with severe eosinophilic asthma*. N Engl J Med 2014;371:1198-207.
- ⁴⁹ Bel EH, Wenzel SE, Thompson PJ, et al.; for the SIRIUS Investigators. *Oral glucocorticoid-sparing effect of mepolizumab in eosinophilic asthma*. N Engl J Med 2014;371:1189-97.
- ⁵⁰ Normansell R, Walker S, Milan SJ, et al. *Omalizumab for asthma in adults and children*. Cochrane Database Syst Rev 2014;(1):CD003559.
- ⁵¹ Humbert M, Taillé C, Mala L, et al.; STELLAIR Investigators. *Omalizumab effectiveness in patients with severe allergic asthma according to blood eosinophil count: the STELLAIR study*. Eur Respir J 2018;51:1702523.
- ⁵² Castro M, Corren J, Pavord ID, et al. *Dupilumab efficacy and safety in moderate-to-severe uncontrolled asthma*. N Engl J Med 2018;378:2486-96.
- ⁵³ Rabe KF, Nair P, Brusselle G, et al. *Efficacy and safety of dupilumab in glucocorticoid-dependent severe asthma*. N Engl J Med 2018;378:2475-85.
- ⁵⁴ Corren J, Bousquet J, Busse WW, et al. *Dupilumab suppresses inflammatory biomarkers in asthma patients with or without allergic rhinitis: post hoc analysis of the LIBERTY ASTHMA QUEST study*. J Allergy Clin Immunol 2019;143:AB97.
- ⁵⁵ Buhl R, Humbert M, Bjermer L, et al.; expert group of the European Consensus Meeting for Severe Eosinophilic asthma. *Severe eosinophilic asthma: a roadmap to consensus*. Eur Respir J 2017;49;pii:1700634.

L'Autore dichiara di non avere alcun conflitto di interesse con l'argomento trattato nell'articolo.