

Articolo di revisione / Review article

Caratteristiche patologiche dell'asma - Parte II

Pathology of asthma-Part II

Antonino Di Stefano¹, Vitina Carriero², Francesca Bertolini², Francesca Dossena¹, Mauro Maniscalco³, Gaetano Caramori⁴, Fabio L.M. Ricciardolo²

¹ Divisione di Pneumologia e Laboratorio di Citoimmunopatologia dell'Apparato Cardio Respiratorio, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS, Veruno (NO); ² Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Unità di Malattie Rare del Polmone e Asma Grave, Ospedale San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO); ³ Dipartimento di Pneumologia Riabilitativa, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS, Telese Terme (BN); ⁴ 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 β_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 β_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

Anatomia patologica dell'asma lieve dopo stimolo allergenico

La descrizione delle due fasi della ostruzione del flusso aereo dopo stimolo con allergene in asmatici sensibilizzati comprende la cosiddetta reazione immediata (EAR) e la risposta asmatica ritardata (LAR). La EAR inizia subito dopo lo stimolo (20-30 minuti) e regredisce in 1-2 ore mentre la LAR si sviluppa in circa 2/3 degli asmatici atopici 4-8 ore dopo stimolo^{1,2}. Studi condotti sui meccanismi cellulari e molecolari legati a queste risposte fisiologiche delle vie aeree mediante stimoli esterni specifici possono indicare le terapie ottimali efficaci su aspetti distinti di queste risposte^{1,2}. L'analisi delle biopsie bronchiali da 6 a 48 ore post-stimolo comparate a campioni appaiati ottenuti dopo stimolo con uso di un diluente (PBS) hanno prodotto risultati interessanti.

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@icismaugeri.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 II. Rassegna di Patologia dell'Apparato Respiratorio Online first 2022;Jan 18. <https://doi.org/10.36166/2531-4920-547>

© 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>

In 13 asmatici atopici con malattia lieve intermittente, 24 h dopo stimolo inalatorio con allergene e diluente, l'immunocolorazione di biopsie bronchiali ha mostrato un aumento di EG2+ eosinofili e IL-2R e aumentati livelli di mRNA per IL-5 e GM-CSF³. Non vi erano differenze per leucociti totali (CD45+), linfociti T, neutrofili, macrofagi (CD68+) o mastociti dopo stimolo con allergene rispetto a diluente³. Sulla base di questi dati gli autori hanno suggerito che citochine derivanti dai linfociti T hanno un ruolo nell'aumento locale di eosinofili dopo stimolo con allergene³.

In 6 asmatici lievi con malattia stabile ($FEV_1 > 70\%$ del teorico) e non in trattamento con ICS o OCS, a 6 h dopo stimolo con allergene il numero dei neutrofili, eosinofili, linfociti (CD3+), mastociti e molecole di adesione ICAM-1 e ELAM-1 erano significativamente aumentati⁴. Questo indicava che vi era una migrazione attiva di cellule infiammatorie attraverso l'attivazione di molecole di adesione dopo stimolo con allergene, associate con la diminuzione di FEV_1 e di concentrazione di metacolina richiesta per ridurre il FEV_1 del 20% dai valori di base⁴.

Le citochine che regolano la migrazione eosinofila e la loro funzione sono state studiate nel BAL e nelle biopsie bronchiali da Woolley et al. che hanno valutato la LAR dopo diluente o inalazione allergenica in 7 asmatici atopici con malattia lieve intermittente ($FEV_1\%$ 94 ± 9)⁵. 24 h dopo stimolo con allergene, i campioni di BAL e di biopsie bronchiali hanno mostrato aumento di eosinofili rispetto ai campioni dopo diluente⁵. I livelli di GM-CSF erano anche aumentati nel BAL dopo stimolo con allergene e il GM-CSF nel BAL e il numero di eosinofili correlava significativamente con la gravità della risposta asmatica tardiva (LAR)⁵. Questi dati suggeriscono che GM-CSF gioca un ruolo significativo nel regolare il numero di eosinofili e la loro attivazione in associazione con la LAR in asmatici atopici sensibilizzati⁵.

Laberge et al. hanno studiato 18 asmatici lievi atopici (no ICS da almeno 2 settimane prima della broncoscopia, $FEV_1\%$ del teorico $> 80\%$, tutti in condizioni stabili) 24 h dopo stimolo segmentale con allergene⁶. Nelle biopsie bronchiali, IL-16 e gli eosinofili EG2+ erano aumentati in epitelio bronchiale e sottomucosa 24 h dopo stimolo con allergene. Le cellule immunopositive per IL-16 correlavano con il numero dei CD4+ e CD25+ negli asmatici dopo stimolo con allergene⁶. IL-16 era principalmente espresso dalle cellule T e dagli eosinofili. Gli autori hanno suggerito un ruolo per IL-16 nell'indurre eosinofilia bronchiale negli asmatici dopo stimolo con allergene⁶.

Lilly et al. hanno studiato 6 asmatici atopici lievi (nessuno utilizzava ICS, $FEV_1\%$, 88 ± 4) 4 h dopo stimolo. I livelli nel BAL e biopsie bronchiali di eotassina erano

aumentati 4 h dopo stimolo segmentale con allergene in tutti i soggetti con asma e l'aumento era associato con il numero di eosinofili nel BAL⁷. L'espressione di eotassina era anche aumentata nelle cellule epiteliali ed endoteliali in biopsie bronchiali, suggerendo un ruolo potenziale per questa CC-chimochina, che attrae gli eosinofili attraverso attivazione del recettore CCR3, nell'infiammazione allergica indotta da stimolo endobronchiale⁷.

Erpenbeck et al. hanno studiato 10 asmatici con malattia lieve intermittente ($FEV_1\%$ teor. 103, intervallo: 79-118; nessuno trattato con corticosteroidi) a 24 h dopo stimolo segmentale allergenico e con diluente⁸. Nel BAL, IL-9, linfociti, neutrofili ed eosinofili erano aumentati dopo 24 h. I linfociti erano identificati come la sorgente principale di IL-9 con immunocitochimica e sia la proteina IL-9 che il suo mRNA correlavano con il numero di eosinofili nel BAL⁸. Questo suggerisce un ruolo specifico per questa citochina nell'indurre eosinofilia dopo stimolo allergenico in asmatici atopici⁸.

Ricciardolo et al. hanno studiato 10 asmatici con malattia lieve intermittente ($FEV_1\%$ teor. $94,8 \pm 7,9$, no utilizzo di ICS) 48 h dopo stimolo con diluente e allergene con un disegno dello studio crociato⁹. Lo studio ha dimostrato aumentati livelli intraepiteliali di Ki-67, eosinofili EG2+ e linfociti CD4+ dopo stimolo con allergene⁹. I linfociti CD4+ e gli eosinofili, ma non i linfociti CD8+ e i mastociti, erano aumentati anche nella sottomucosa dopo stimolo e gli eosinofili correlavano negativamente con la iperreattività delle vie aeree e positivamente con l'ossido nitrico esalato (FeNO)¹⁰. Questi dati indicano una attivazione della proliferazione epiteliale (Ki-67) e una diretta correlazione del numero degli eosinofili nelle biopsie bronchiali con i livelli di iperreattività bronchiale e FeNO negli asmatici lievi dopo stimolo allergenico^{9,10}.

Ravensberg et al. hanno studiato 10 pazienti con asma lieve intermittente atopico ($FEV_1\%$ teor. $94,4 \pm 7,2$, non uso di ICS) 48 h dopo stimolo con diluente o allergene e hanno riportato aumentata immunoespressione di eotassine 2 e 3 nelle biopsie bronchiali dopo stimolo allergenico. L'espressione di eotassina 2 era associata con l'aumentato numero di eosinofili e correlava positivamente con l'ampiezza della LAR²⁰. Questo suggerisce un ruolo per eotassina 2 nell'indurre eosinofilia causata da stimolo allergenico bronchiale in questi pazienti asmatici¹¹.

Corrigan et al. hanno studiato 10 asmatici lievi ($FEV_1\%$ teor. 92,8, intervallo: 81-106), che richiedevano β_2 -agonisti per via inalatoria ma non ICS nel mese precedente la broncoscopia. Questi pazienti hanno eseguito una broncoscopia prima e 24 h dopo stimolo allergenico bronchiale e hanno mostrato aumentato numero di

CD3+, MBP+ (eosinofili), triptasi+ (mastociti), neutrofilii, CD31+ (prevalenti cellule endoteliali), IL-25+ e IL-25R+ in biopsie bronchiali dopo stimolo allergenico ¹². L'espressione di IL-25 correlava con l'ampiezza della LAR indotta da allergene ¹². Gli autori si sono focalizzati sul ruolo della IL-25 e hanno osservato che essa induceva una infiammazione di tipo Th2 indipendente da IL-4 amplificando la risposta dell'infiammazione allergica nei pazienti asmatici ¹³.

Wang et al. hanno studiato 16 asmatici atopici lievi (FEV₁% teor. 99,7, intervallo: 80,3-107,1) che richiedevano solo β₂ agonisti al bisogno e non utilizzavano ICS da almeno 2 mesi prima dello studio ¹⁴. Biopsie bronchiali sono state eseguite prima e 24 h dopo stimolo allergenico. Lo stimolo allergenico ha aumentato significativamente l'espressione dei CD3+, neutrofilii, eosinofili (MBP+) mastociti, IL-25, IL-33 e TSLP sia in epitelio bronchiale che in sottomucosa. CD90 e CD31+ (cellule endoteliali) erano anche aumentate in sottomucosa dopo stimolo allergenico ¹⁴. L'espressione di allarmine (IL-33, TSLP e IL-25) correlava con l'estensione della LAR ¹⁴. Le allarmine giocano un ruolo importante nell'infiammazione di tipo Th2 attivando direttamente le cellule ILC2 o inducendo differenziazione delle cellule T ¹⁵. IL-33 e TSLP erano ampiamente espresse nell'epitelio bronchiale e in altre cellule strutturali come i fibroblasti e le cellule endoteliali in aggiunta ai mastociti e neutrofilii mentre la IL-25 colocalizzava principalmente con gli eosinofili e alcune cellule strutturali. Gli autori

hanno ipotizzato che l'inibizione delle allarmine possa procurare un beneficio clinico nell'asma riducendo la risposta infiammatoria allo stimolo allergenico ¹⁴.

Gli studi anatomo-patologici su biopsie bronchiali dopo stimolo con allergeni mostrano un aumento della risposta infiammatoria, in particolare di tipo Th2. Alcune di queste molecole correlano con la LAR dei pazienti. L'obiettivo di questi studi è di comprendere meglio i cambiamenti nel tempo delle risposte infiammatorie che si verificano entro poche ore dopo lo stimolo specifico con allergeni nel tentativo di identificare i *marker* molecolari più significativi che possono essere farmacologicamente modulati per ridurre gli effetti deleteri associati al peggioramento dei sintomi di asma. La gravità della risposta agli stimoli con allergeni in asmatici sensibilizzati può anche influenzare la gravità dell'asma in condizioni di malattia stabile poiché il numero delle riacutizzazioni per anno di ciascun paziente influenza il declino funzionale del polmone ¹⁶. Alcuni dati sopra menzionati sono sintetizzati in Tabella IA, B.

Rimodellamento delle vie aeree

Nell'asma il termine rimodellamento comprende una serie di cambiamenti delle vie aeree che coinvolgono diversi tipi cellulari. Questi cambiamenti si possono verificare a vario grado in associazione con la progressione della malattia, e in relazione alla ostruzione del flusso aereo e della iperreattività bronchiale. La prima eviden-

Tabella IA. 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 ³	24 h	s	s	a	s	--	--	a	a ^{mRNA}
Montefort 94 ⁴	6 h	a	a	a	a	a	a	--	--
Wooley 95 ⁵	24 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Laberge 00 ⁶	24 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Lilly 01 ⁷	4 h	--	--	a	--	--	--	--	--
Erpenbeck 03 ⁸	24 h	a ^{BAL}	a ^{BAL}	a ^{BAL}	--	--	--	--	--
Ricciardolo 03-12 ^{9,10}	48 h	a ^{CD4- iep,s b}	--	a ^{iep, sb}	s	--	--	--	--
Ravensberg 05	48 h	--	--	a	s	--	--	--	--
Corrigan 11	24 h	a	a	a	a	--	--	--	--
Wang 18 ¹⁴	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; GM-CSF: *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 IB. 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 ³	a ^{mRNA}	--	--	--	--	--	--	--	--
Montefort 94 ⁴	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Wooley 95 ⁵	a ^{BAL}	--	--	--	--	--	--	--	--
Laberge 00 ⁶	--	a	--	--	--	--	--	--	--
Lilly 01 ⁷	--	--	a ^{BAL-BIO}	--	--	--	--	--	--
Erpenbeck 03 ⁸	--	--	--	a ^{BAL}	--	--	--	--	--
Ricciardolo 03-12 ^{9,10}	--	--	--	--	a ^{iep}	--	--	--	--
Ravensberg 05	--	--	a ^{eot2,3}	--	--	--	--	--	--
Corrigan 11	--	--	--	--	--	a	--	--	--
Wang 18 ¹⁴	--	--	--	--	--	a	a	a	a

Linfo: linfociti; neutr: neutrofili; 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.

za di alterazioni strutturali nelle vie aeree degli asmatici arriva nel 1922 da Huber e Koessler che hanno riportato tappi di muco e un ispessimento della parete delle vie aeree di pazienti morti per asma¹⁷. In ricerche successive il rimodellamento è stato valutato anche mediante analisi di BAL e sputo indotto e analisi istopatologica di tessuto polmonare. Questi approcci hanno migliorato le nostre conoscenze fermo restando l'esame istologico delle biopsie bronchiali come la tecnica più appropriata per esplorare le alterazioni strutturali che si verificano nei bronchi¹⁸. I principali cambiamenti istologici nel rimodellamento dell'asma sono le alterazioni epiteliali, l'iperplasia delle cellule goblet e delle ghiandole sottomucosali, l'ipertrofia e l'iperplasia del muscolo liscio bronchiale, la fibrosi sottoepiteliale, l'aumento dei miofibroblasti, la proliferazione microvascolare e l'edema della parete delle vie aeree^{18,19}. Benayoun et al., comparando soggetti di controllo con asmatici da lievi a moderati e asmatici con asma grave persistente, hanno osservato una aumentata presenza di fibroblasti e muscolo liscio delle vie aeree in asma grave, dimostrando che i cambiamenti strutturali evidenti si presentavano nell'asma grave piuttosto che nelle forme più lievi²⁰. Quindi, l'ipertrofia del muscolo liscio bronchiale può distinguere le forme gravi dalle forme lievi di asma. Pepe et al. hanno comparato biopsie bronchiali di pazienti con asma grave e moderato e hanno osservato una distanza ridotta tra epitelio bronchiale e muscolo liscio nell'asma grave²¹. Nelle vie aeree degli asmatici, il rimodellamento si instaura in parallelo con l'infiammazione e i due eventi

sono collegati. Infatti, molti studi hanno mostrato che i meccanismi infiammatori e di rimodellamento si verificano concomitantemente nelle vie aeree degli asmatici. Saha et al., comparando biopsie bronchiali di controlli, asmatici lievi, moderati e gravi, hanno mostrato livelli aumentati di cellule IL-13+ in tutti i gruppi di asmatici rispetto ai controlli. Inoltre, le cellule positive per IL-13 che infiltravano il muscolo liscio erano aumentate in asma grave rispetto agli altri gruppi. Le cellule positive per IL-13 in sottomucosa e muscolo liscio correlavano con l'eosinofilia nello sputo in tutti i gruppi con asma, suggerendo un ruolo per questa citochina di tipo Th2 nell'asma di gravità crescente²².

Naveed et al. hanno mostrato che la triptasi dei mastociti ha indotto una maggior espressione di metalloproteinase-1 (MMP-1) nelle vie aeree degli asmatici, e che l'interazione del muscolo liscio con i mastociti può contribuire alla gravità dell'asma inducendo proliferazione del muscolo liscio bronchiale e iperreattività bronchiale²³. In un altro studio, l'aumento dei neutrofili nel BAL e nel tessuto bronchiale degli asmatici era legato ad aumentata espressione di MMP-9²⁴ e l'espressione in sottomucosa di MMP-9 correlava con lo spessore della membrana basale reticolare²⁵. Ferreira et al. hanno dimostrato in biopsie bronchiali di asmatici gravi che l'iperplasia del muscolo liscio era associata con una diminuzione di periostina, espressione di TGF- β e mastociti. Nello stesso studio, gli autori hanno osservato che l'infiammazione e il rimodellamento erano legate ad una persistente ostruzione del flusso aereo²⁶.

Tuttavia, anche in presenza degli studi citati precedentemente e dell'evidenza che alcune citochine infiammatorie hanno effetti pro-fibrotici e influenzano il rimodellamento, l'ipotesi che quest'ultimo sia il risultato dell'infiammazione necessita di ulteriori conferme.

Grainge et al. hanno dimostrato che un insulto meccanico come la broncocostrizione alla metacolina (un agonista muscarinico) per se nelle vie aeree degli asmatici può indurre danno epiteliale (aumentata espressione di Ki-67) e cambiamenti strutturali delle vie aeree (ispessimento della membrana collagenica sottoepiteliale e iperplasia delle ghiandole mucose)²⁷.

Questo è in linea con recenti studi che mostrano una correlazione tra fattori chiave di rimodellamento vascolare e neurale ed espressione del recettore muscarinico tipo-3 (M3), un recettore cruciale che modula il tono motorio bronchiale nelle vie aeree degli asmatici. Il nostro gruppo di ricerca ha osservato una maggior espressione di fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF)+, CD31+, angiogenina+, e di cellule β -NGF+ nella lamina propria di asmatici gravi, e in misura minore, di asmatici lievi rispetto ai controlli. Questi dati erano associati con una maggior espressione di M3, suggerendo il coinvolgimento di questo recettore in associazione con VEGF e β -NGF nel rimodellamento bronchiale degli asmatici da lievi a gravi²⁸. In questo contesto, Holgate ha proposto la teoria dell'Unità Trofica Mesenchimale ed Epiteliale (EMTU), che postula che il riparo del tessuto danneggiato possa essere l'evento determinante nella patogenesi dell'asma. Attraverso il rilascio epiteliale di fattori di crescita, si potrebbe determinare una attivazione dei fibroblasti presenti in area sottoepiteliale che provocherebbero i cambiamenti strutturali tipici delle vie aeree²⁹. Non solo molecole infiammatorie ma anche molecole di derivazione neuronale e fattori di crescita influenzano il rimodellamento tissutale.

Avanzamenti farmacologici in relazione con la anatomia patologica dell'asma

Negli ultimi anni, vi è stato un incremento dell'attenzione nella ricerca su due caratteristiche chiave dell'asma: l'infiammazione cronica e il rimodellamento. In aggiunta agli studi sui meccanismi patofisiologici che sottostanno a questi due aspetti, i ricercatori hanno ottenuto nuovi dati sugli effetti che la terapia dell'asma induce sull'infiammazione e il rimodellamento che si verificano nella sottomucosa delle vie aeree dei pazienti asmatici. L'efficacia degli ICS è emersa per prima negli anni '70 e al momento essi rappresentano ancora, in associazione con i β 2 agonisti a lunga durata d'azione (LABA), il trattamento guida nella gestione dell'a-

asma principalmente dovuto alla loro potente azione anti-infiammatoria. Inoltre, gli ICS possono influenzare i processi di rimodellamento poiché questi farmaci influenzano l'attività dei fattori di trascrizione inibendo o inducendo l'espressione di diverse proteine inclusi alcuni fattori di crescita. Questi meccanismi inducono una riduzione della deposizione di proteine della matrice extracellulare indotte dal TGF- β come collageni, fibronectina, elastina, proteoglicani e metalloproteinasi. Uno dei primi studi che hanno valutato i cambiamenti causati sulla infiammazione delle vie aeree dai ICS ha mostrato una riduzione dei mastociti e degli eosinofili in epitelio bronchiale e dei linfociti T nella sottomucosa di asmatici atopici. Questa diminuzione era associata a miglioramenti della funzione polmonare e dei sintomi di asma, suggerendo che gli effetti terapeutici degli ICS potrebbero essere dovuti al loro effetto antiinfiammatorio nella mucosa bronchiale³⁰. Successivamente, Redington et al. hanno osservato che, mentre il numero di cellule infiammatorie (mastociti, eosinofili e linfociti) nella mucosa bronchiale di asmatici sintomatici trattati con OCS e ICS era simile, il gruppo in OCS aveva una maggior espressione di marcatori di attivazione linfocitaria CD25 e HLA-DR nel BAL. Questo indicava una intrinseca resistenza agli steroidi dei linfociti presenti nei pazienti OCS-dipendenti³¹.

Ward et al. hanno studiato l'influenza degli ICS sull'infiammazione e rimodellamento nell'asma. Gli autori hanno riportato che dopo 12 mesi di trattamento con alte dosi di fluticasone propionato (FP) lo spessore della membrana basale reticolare bronchiale dei pazienti asmatici era ridotto in associazione con un significativo miglioramento della iperresponsività bronchiale. Nello stesso studio, gli autori hanno mostrato una riduzione delle cellule infiammatorie nel BAL dopo 3 mesi di trattamento anche associato a una diminuzione di iperresponsività bronchiale che era più bassa di quella ottenuta dopo 12 mesi di trattamento³². Questi dati sono in linea con altri studi che mostrano miglioramenti in riacutizzazioni, funzione polmonare e spessore della membrana basale reticolare successivi ai trattamenti con alte dosi di ICS per diversi periodi di tempo³³.

I dati immuno-patologici hanno confermato l'efficacia della combinazione terapeutica dei LABA e ICS nel controllo dell'asma. Gli studi di Li et al. e Wallin et al. hanno testato gli effetti di FP in combinazione con salmeterolo su funzione del polmone e infiammazione nelle vie aeree degli asmatici (BAL e biopsie bronchiali) in comparazione con solo FP. Entrambi gli studi hanno dimostrato che il trattamento combinato porta a un miglior recupero della funzione polmonare e a una ridotta presenza di cellule infiammatorie (eosinofili e mastociti)

nella lamina propria bronchiale, suggerendo un effetto anti-infiammatorio aggiuntivo dei LABA^{34,35}.

Uno studio ha valutato l'efficacia di ICS e LABA combinati (100/50 µg) nel mantenimento del controllo dell'asma rispetto a un più alto dosaggio di ICS da solo (250 µg). L'efficacia terapeutica è stata monitorata nel BAL e nelle biopsie bronchiali di pazienti con asma moderato valutando i cambiamenti nel numero di cellule infiammatorie (eosinofili, neutrofilii, mastociti) e nello spessore della membrana basale reticolare, prima e dopo trattamento. I due studi non mostravano diversità significative, indicando che una riduzione di dosaggio di ICS quando associata con somministrazione di LABA può essere efficace quanto i più alti dosaggi di ICS nel mantenimento del controllo dell'asma senza alterare la risposta infiammatoria e il rimodellamento bronchiale³⁶.

ICS influenza anche il rimodellamento vascolare e alte dosi di ICS hanno ridotto il numero di vasi/mm² nella lamina propria degli asmatici. In modo simile, in uno studio controllato con placebo di pazienti asmatici, alti dosaggi di beclometasone dipropionato per via inalatoria dava miglioramenti del FEV₁ e della iperreattività bronchiale, e una riduzione del numero di vasi e percentuale di vascolarizzazione della lamina propria rispetto al placebo. Questo effetto sul rimodellamento vascolare potrebbe essere causato dalla inibizione della espressione di VEGF nel tessuto bronchiale da parte di ICS³³. Recentemente, lo sviluppo di anticorpi monoclonali che agiscono contro fattori chiave della patogenesi dell'asma ha prodotto diversi studi eseguiti per comprendere i miglioramenti ottenuti sulla funzione polmonare e sul numero di riacutizzazioni. Djukanovic et al. hanno condotto uno studio di 4 mesi, randomizzato, doppio cieco, controllato con placebo, per verificare se omalizumab, un anticorpo anti IgE, influenzava l'infiammazione bronchiale in biopsie di pazienti asmatici allergici con malattia da lieve a moderata. Gli autori hanno osservato che i pazienti trattati con omalizumab mostravano una significativa riduzione di eosinofili, linfociti, IL-4, IgE e di recettore per le IgE nella loro mucosa bronchiale. L'assenza di correlazione tra ridotto numero di eosinofili bronchiali ed espressione di IgE ed i cambiamenti della iperreattività bronchiale alla metacolina hanno portato gli autori ad ipotizzare che i miglioramenti indotti da omalizumab nella frequenza delle riacutizzazioni erano dovuti principalmente al suo effetto anti-infiammatorio³⁷.

Una diminuzione del numero degli eosinofili nella mucosa bronchiale causata dal trattamento con omalizumab è stata confermata dallo studio di Riccio et al. che hanno somministrato l'anticorpo per 12 mesi ad asmatici allergici con malattia grave persistente: i responsivi ad omalizumab (OR) mostravano una membrana ba-

sale reticolare (RBM) più sottile rispetto agli omalizumab non responsivi (NOR), in cui la RBM era simile (più spessa) dopo trattamento. I ricercatori hanno anche osservato che nei OR i cambiamenti dello spessore della RBM correlavano con il ridotto numero di eosinofili. In due studi successivi, lo stesso gruppo di ricerca ha analizzato campioni biotipici precedentemente raccolti per studiare i cambiamenti del quadro proteomico, rimodellamento e infiammazione indotte da 12 e 36 mesi di trattamento con omalizumab^{38,39}. L'approccio proteomico ha evidenziato una espressione proteica differenziale tra i gruppi OR e NOR. In aggiunta ad una maggior presenza proteica e un più ampio numero di proteine che cambiavano dopo trattamento con omalizumab, il gruppo OR (ma non il gruppo NOR) mostrava un gruppo di proteine tra le quali galectina 3 (Gal-3) emergeva come un marcatore di risposta al trattamento. Inoltre, l'immunocolorazione positiva per Gal-3 era associata sia con una riduzione del numero degli eosinofili che dello spessore della RBM nelle biopsie bronchiali degli OR dopo 36 mesi di trattamento⁴⁰. Nel loro insieme questi dati identificano Gal-3 come un biomcatore di risposta al trattamento a breve e lungo termine in relazione al decremento, rimodellamento e infiammazione bronchiale.

L'asma paucigranulocitico rappresenta una grande sfida per gli specialisti. A causa dell'assenza di un infiltrato infiammatorio predominante, non è possibile raggiungere un controllo della malattia con le terapie comuni correnti poiché esse agiscono principalmente contro i mediatori di infiammazione. Alcuni benefici possono essere ottenuti agendo verso componenti del rimodellamento. Nell'ultima decade, un trattamento innovativo (termoplastica bronchiale) si è dimostrato efficace nel trattare sottogruppi di pazienti con asma grave non controllato. La termoplastica agisce principalmente verso il rimodellamento delle vie aeree per somministrazione di temperatura controllata nelle pareti delle vie aeree. Recenti studi di Pretolani et al., Salem et al. e Facciolongo et al. hanno mostrato che l'asportazione delle fibre nervose, la riduzione dell'area del muscolo liscio bronchiale e dello spessore della membrana basale sottoepiteliale, indotta dalla termoplastica bronchiale, migliora il controllo dell'asma e la qualità di vita e reduce il numero delle ospedalizzazioni e le riacutizzazioni gravi. Salem et al. hanno anche dimostrato che questi benefici persistono per 27-48 mesi dopo il trattamento⁴¹⁻⁴³.

Conclusioni

Negli ultimi decenni, l'analisi istopatologica del tessuto polmonare ha migliorato significativamente la nostra conoscenza della patogenesi dell'asma. Sebbene dif-

ferenti approcci metodologici come l'analisi del BAL e dello sputo indotto abbiano dimostrato di essere efficaci per l'analisi dei meccanismi coinvolti nella malattia, l'esame delle biopsie bronchiali resta il metodo più efficace per descrivere le alterazioni strutturali e infiammatorie che si verificano nell'asma da lieve a grave. Lo studio dell'anatomia patologica dell'asma ha permesso una buona caratterizzazione della malattia, aprendo la via allo sviluppo di terapie specifiche che sono alla base della medicina di precisione.

Bibliografia

- Booij-Noord H, Orië NG, De Vries, K. Immediate and late bronchial obstructive reactions to inhalation of house dust and protective effects of disodium cromoglycate and prednisolone. *J Allergy Clin Immunol* 1971;48:344-354. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(71\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0091-6749(71)90080-7)
- Pepys J, Hutchcroft JF. Bronchial provocation tests in aetiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1975;112:829-859. <https://doi.org/10.1164/arrd.1975.112.6.829>
- Bentley AM, Meng Q, Robinson DS, et al. Increases in activated T lymphocytes, eosinophils, and cytokine mRNA expression for interleukin-5 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in bronchial biopsies after allergen inhalation challenge in atopic asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:35-42. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb/8.1.35>
- Montefort S, Gratziou C, Goulding D, et al. Bronchial biopsy evidence for leukocyte infiltration and upregulation of leukocyte-endothelial cell adhesion molecules 6 hours after local allergen challenge of sensitized asthmatic airways. *J Clin Invest* 1994;93:1411-1421. <https://doi.org/10.1172/JCI117118>
- Woolley KL, Adelroth E, Woolley MJ, et al. Effects of allergen challenge on eosinophils, eosinophil cationic protein, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1915-1924. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.151.6.7767540>
- Laberge S, Pinsonneault S, Varga EM, et al. Increased expression of IL-16 immunoreactivity in bronchial mucosa after segmental allergen challenge in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:293-301. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.108112>
- Lilly CM, Nakamura H, Belostotsky OI, et al. Eotaxin expression after segmental allergen challenge in subjects with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1669-1675. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.7.9812044>
- Erpenbeck VJ, Hohlfield JM, Volkmann B, et al. Segmental allergen challenge in patients with atopic asthma leads to increased IL-9 expression in bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1319-1327. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.1485>
- Ricciardolo FLM, Di Stefano A, van Krieken JH, et al. Proliferation and inflammation in bronchial epithelium after allergen in atopic asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2003;33:905-911. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01686.x>
- Ricciardolo FLM, Di Stefano A, Silvestri M, et al. Exhaled nitric oxide is related to bronchial eosinophilia and airway hyperresponsiveness to bradykinin in allergen-induced asthma exacerbation. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012;25:175-182. <https://doi.org/10.1177/039463201202500120>
- Ravensberg AJ, Ricciardolo FLM, 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>
- 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>
- Wang YH, Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin Exp Allergy* 2009;39:798-806. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03241.x>
- Wang W, Li Y, Lv Z, et al. Bronchial allergen challenge of patients with atopic asthma triggers an alarmin (IL-33, TSLP, and IL-25) response in the airways epithelium and submucosa. *J Immunol* 2018;201:2221-2231. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800709>
- Hirose K, Iwata A, Tamachi T, Nakajima H. Allergic airway inflammation: key players beyond the Th2 cell pathway. *Immunol Rev* 2017;278:145-161. <https://doi.org/10.1111/imr.12540>
- Boulet LP, Reddel HK, Bateman E, et al. The Global Initiative for Asthma (GINA): 25 years later. *Eur Respir J* 2019;54:1900598. <https://doi.org/10.1183/13993003.00598-2019>
- Huber HL, Koessler KK. The pathology of bronchial asthma. *Arch Intern Med (Chic)* 1922;30:689-760. <https://doi.org/10.1001/archinte.1922.00110120002001>
- Bergeron C, Boulet LP. Structural changes in airway diseases: characteristics, mechanisms, consequences, and pharmacologic modulation. *Chest* 2006;129:1068-1087. <https://doi.org/10.1378/chest.129.4.1068>
- Prakash YS, Halayko AJ, Gosens R, et al.; ATS Assembly on Respiratory Structure and Function. An official American Thoracic Society research statement: current challenges facing research and therapeutic advances in airway remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:e4-e19. <https://doi.org/10.1164/rccm.201611-2248ST>
- Benayoun L, Druilhe A, Dombret MC, et al. Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:1360-1368. <https://doi.org/10.1164/rccm.200209-1030OC>
- Pepe C, Foley S, Shannon J, et al. Differences in airway remodeling between subjects with severe and moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:544-549. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.06.011>
- Saha SK, Berry MA, Parker D, et al. Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:685-691. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.01.005>
- Naveed SU, Clements D, Jackson DJ, et al. Matrix metalloproteinase-1 activation contributes to airway smooth muscle growth and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:1000-1009. <https://doi.org/10.1164/rccm.201604-0822OC>
- Ohbayashi H, Shimokata K. Matrix metalloprotein-

- ase-9 and airway remodeling in asthma. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4:177-181. <https://doi.org/10.2174/1568010053586246>
- ²⁵ Hoshino M, Nakamura Y, Sim J, et al. Bronchial subepithelial fibrosis and expression of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *Allergy Clin Immunol* 1998;102:783-788. [https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(98\)70018-1](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(98)70018-1)
- ²⁶ Ferreira DS, Carvalho-Pinto RM, Gregório MG, et al. Airway pathology in severe asthma is related to airflow obstruction but not symptom control. *Allergy* 2018;73:635-643. <https://doi.org/10.1111/all.13323>
- ²⁷ Grainge CL, Lau LCK, Ward JA, et al. Effect of bronchoconstriction on airway remodeling in asthma. *N Engl J Med* 2011;364:2006-2015. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1014350>
- ²⁸ Folino A, Carriero V, Bullone M, et al. Muscarinic receptor M3 contributes to vascular and neural growth factor up-regulation in severe asthma. *Allergy* 2020;75:717-720. <https://doi.org/10.1111/all.14074>
- ²⁹ Holgate ST. The airway epithelium is central to the pathogenesis of asthma. *Allergol Int* 2008;57:1-10. <https://doi.org/10.2332/allergolint.R-07-154>
- ³⁰ Djukanović R, Wilson JW, Britten KM, et al. Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:669-674. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/145.3.669>
- ³¹ Redington AE, Wilson JW, Walls AF, et al. Persistent airway T-lymphocyte activation in chronic corticosteroid-treated symptomatic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;85(6 Pt 1):501-507. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)62579-3](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)62579-3)
- ³² Ward C, Pais M, Bish R, et al. Airway inflammation, basement membrane thickening and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Thorax* 2002;57:309-316. <https://doi.org/10.1136/thorax.57.4.309>
- ³³ Berair R, Brightling CE. Asthma therapy and its effect on airway remodelling. *Drugs* 2014;74:1345-1369. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0250-4>
- ³⁴ Li X, Ward C, Thien F, et al. An antiinflammatory effect of salmeterol, a long-acting β_2 agonist, assessed in airway biopsies and bronchoalveolar lavage in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(5 Pt 1):1493-1499. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.5.9811052>
- ³⁵ Wallin A, Sue-Chu M, Bjermer L, et al. Effect of inhaled fluticasone with and without salmeterol on airway inflammation in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:72-78. <https://doi.org/10.1067/mai.2003.1518>
- ³⁶ Jarjour NN, Wilson SJ, Koenig SM. Control of airway inflammation maintained at a lower steroid dose with 100/50 microg of fluticasone propionate/salmeterol. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:44-52. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.03.043>
- ³⁷ Djukanović R, Wilson SJ, Kraft M, et al. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:583-593. <https://doi.org/10.1164/rccm.200312-1651OC>
- ³⁸ Mauri P, Riccio AM, Rossi R, et al. Proteomics of bronchial biopsies: galectin-3 as a predictive biomarker of airway remodelling modulation in omalizumab-treated severe asthma patients. *Immunol Lett* 2014;162(1 Pt A):2-10. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.08.010>
- ³⁹ Riccio AM, Dal Negro RW, Micheletto C, et al. Omalizumab modulates bronchial reticular basement membrane thickness and eosinophil infiltration in severe persistent allergic asthma patients. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012;25:475-484. <https://doi.org/10.1177/039463201202500217>
- ⁴⁰ Riccio AM, Mauri P, De Ferrari L, et al. Galectin-3: an early predictive biomarker of modulation of airway remodeling in patients with severe asthma treated with omalizumab for 36 months. *Clin Transl Allergy* 2017;7:6. <https://doi.org/10.1186/s13601-017-0143-1>
- ⁴¹ Pretolani M, Bergqvist A, Thabut G, et al. Effectiveness of bronchial thermoplasty in patients with severe refractory asthma: clinical and histopathologic correlations. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139:1176-1185. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.08.009>
- ⁴² Salem IH, Boulet LP, Biardel S, et al. Long-term effects of bronchial thermoplasty on airway smooth muscle and reticular basement membrane thickness in severe asthma. *Ann Am Thorac Soc* 2016;13:1426-1428. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201603-182LE>
- ⁴³ Facciolongo N, Di Stefano A, Pietrini V, et al. Nerve ablation after bronchial thermoplasty and sustained improvement in severe asthma. *BMC Pulm Med* 2018;18:29. <https://doi.org/10.1186/s12890-017-0554-8>