

INTERNATIONAL

# NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

2024 • Vol. 42 • n. 2

**L'Ossido Nitrico  
come Marker T2 nell'Asma**

***Nitric Oxide as a T2  
Marker in Asthma***

***El Óxido Nítrico como  
Marcador T2 en el Asma***



**La Farmacogenetica  
e la Farmacogenomica  
nella Terapia dell'Asma**

***Pharmacogenetics  
and Pharmacogenomics  
in Asthma Therapy***

***Farmacogenética  
y Farmacogenómica en  
el tratamiento del Asma***

# **N**OTIZIARIO ALLERGOLOGICO

2024 • Vol. 42 • n. 2

DIRETTORE RESPONSABILE  
EDITOR IN CHIEF • DIRECTOR EDITORIAL  
**Gianni Mistrello**

REDAZIONE  
EDITORIAL STAFF • REDACCIÓN  
**Lorenzo Romagnoli**

PROGETTO GRAFICO  
GRAPHIC DESIGN • DISEÑO GRÁFICO  
**Maura Fattorini**

STAMPA  
PRINT • IMPRENTA  
**Àncora Arti Grafiche**  
via Benigno Crespi, 30 - 20159  
Milano, Italia • Milan, Italy



## **Lofarma** 1945

AMMINISTRAZIONE  
ADMINISTRATION • ADMINISTRACIÓN

Lofarma S.p.A.  
*Viale Cassala 40, 20143*  
*Milano, Italia • Milan, Italy*  
tel. +39 02 581981  
fax +39 02 8322512  
e-mail: [redazione@lofarma.it](mailto:redazione@lofarma.it)  
[www.lofarma.it](http://www.lofarma.it)  
[www.lofarma.com](http://www.lofarma.com)

Registrazione Tribunale di Milano n. 306 dell' 1.8.1980  
Pubblicazione quadrimestrale  
Registration with the Court of Milan n. 306 of 1.8.1980  
Four-monthly publication  
Registro en el Tribunal de Milán n. 306 de 1.8.1980  
Publicación cuatrimestral

Il **Notiziario Allergologico** è on-line su  
The **Notiziario Allergologico** is on-line at  
El **Notiziario Allergologico** está en-línea en

**[www.lofarma.it](http://www.lofarma.it)**

COPERTINA • COVER • PORTADA



Scopri la storia dell'immagine di copertina a pagina 133

Discover the story of the cover image on page 134

Descubre la historia de la imagen de portada en la página 135

# INDICE

Notiziario Allergologico, 2024 Vol. 42, n. 2

## EDITORIALE

2

Gianni Mistrello



## AGGIORNAMENTI

### L'ossido nitrico nell'aria esalata marcatore di flogosi T2 (Type-2) nell'asma

4

Giuseppe Guida

### La Farmacogenetica e la Farmacogenomica nella Terapia dell'Asma

18

Mario Cazzola



## RECENSIONI

### Allergeni alimentari "nascosti" e rari in età pediatrica

33

Tomei L. et al.

### Sensibilizzazione alla ciclofilina, il pan-allergene causa di misteriose allergie ai pollini nei bambini

35

Matricardi et al.

### Microbiota orofaringeo e sua rilevanza nei bambini asmatici

37

Ghedin E, Huang YJ.

### Allergie alimentari e microbioma intestinale

39

Gonzalez-Visiedo M et al.



## LOFARMA ACADEMY

Franco Frati

### FeNO e rinite allergica

42

### Determinazione del FeNO nel monitoraggio della AIT

43

## Notiziario Allergologico

VERSIONE PDF

Il **Notiziario Allergologico** nasce e vive da oltre quarant'anni. Oggi diventa internazionale con una nuova veste grafica che prevede la traduzione di tutti i contenuti in tre lingue. La finalità rimane immutata se non implementata: promuovere la cultura allergologica offrendo ai lettori la possibilità di un approfondimento e di un aggiornamento su varie tematiche allergologiche anche rivolte al futuro, grazie alla competenza e autorevolezza degli autori degli articoli pubblicati. Il carattere divulgativo degli articoli contribuisce a rendere gli stessi fruibili da un vasto numero di specialisti non solo allergologi ma anche pneumologi, pediatri, dermatologi etc.



ITALIANO





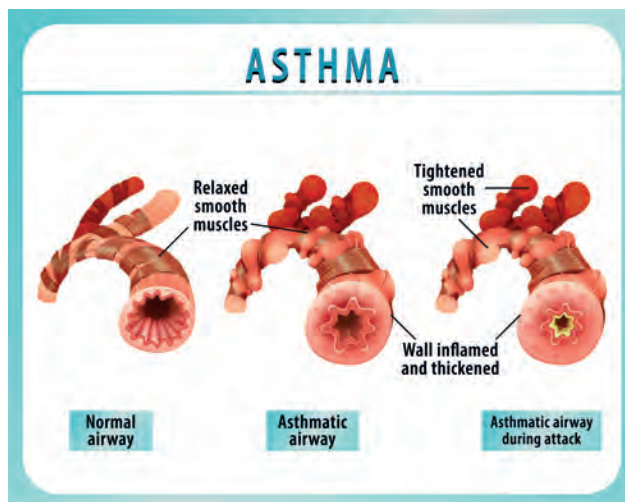
a cura di Gianni Mistrello

**L'**asma è una patologia infiammatoria cronica delle vie aeree caratterizzata da un aumento della reattività bronchiale che causa sintomi quali il respiro sibilante e/o corto, costrizione toracica, tosse associati a episodi di broncospasmo reversibile. L'incidenza della patologia è aumentata significativamente nel tempo e ne soffrono milioni di persone.

In questo numero del Notiziario l'attenzione si è concentrata su questa patologia, fornendo ai lettori degli spunti originali sul tema grazie ai contributi del Dr. Guida (Dip. di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino) e del Prof. Cazzola (Dip. di Medicina sperimentale, Università di Roma Tor vergata).

In particolare, il Dr. Guida ha iniziato il suo articolo descrivendo con dovizia di particolari il complesso meccanismo che porta alla produzione di ossido nitrico (NO), una molecola normalmente presente nell'esperto in quanto prodotta dalle cellule epiteliali bronchiali e che sembra rappresentare non solo una prima forma di difesa ma anche il risultato di una cascata immunitaria conseguente a una serie di stimoli esogeni (allergeni, virus, inquinanti, fattori stressogeni...). Quando però il suo livello nell'esperto supera le 25 ppb (parti per miliardo), il soggetto su cui si è rilevato tale valore presenta una condizione pre-infiammatoria indicativa di una infiammazione del distretto bronchiale dipendente dall'accumulo in loco di un numero significativo di eosinofili. Da tempo lo pneumologo ha arricchito il suo bagaglio di strumenti diagnostici grazie all'impiego di un appropriato apparecchio in grado di determinare accuratamente la quantità di ossido nitrico nell'aria espirata

(FeNO). Sulla base del risultato di questa indagine, lo specialista può avere un'idea preliminare sullo stato infiammatorio bronchiale del paziente e nel caso sottoporre lo stesso a ulteriori indagini multidisciplinari per identificare la tipologia di asma di cui è affetto (per es., allergico). Il test non è invasivo e può quindi rappresentare una valida alternativa ad altri decisamente più invasivi; consiste in una inspirazione a pieni polmoni da parte del paziente che deve poi espirare lentamente, con un flusso espiratorio costante per alcuni secondi, in un boccaglio collegato al misuratore che fornisce poi il dato. Data la sua semplicità e non-invasività il test può essere effettuato anche in particolari categorie di pazienti come i bambini, e può risultare molto utile nel monitoraggio dell'efficacia di una terapia in atto e nel modulare la stessa, personalizzando il dosaggio e riducen-



do gli eventuali rischi di effetti collaterali. Particolarmente interessante, a conclusione del contributo dell'autore, l'aggiornamento sulla determinazione dell'FeNO nel guidare la terapia dell'asma con i farmaci biologici.

Numerosi studi hanno dimostrato che le terapie basate in generale sull'impiego di farmaci risultano efficaci solo su una certa percentuale della popolazione sottoposta alle suddette terapie. Si tratta dei cosiddetti "responders" mentre il rimanente gruppo fa parte dei "non-responders", ovvero di quei pazienti che presentano gravi effetti collaterali. Diversi sono i fattori che possono giocare un ruolo nel determinare l'efficacia terapeutica di un farmaco. Tra questi la "person to person genetic variability" può essere un fattore essenziale che può essere alla base delle differenze che si riscontrano in un gruppo di pazienti sottoposti a un determinato "drug treatment". Mutazioni di geni bersaglio o degli enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci possono influenzare la risposta ai farmaci. È evidente che l'individuazione di appropriati approcci in grado di predire i pazienti "responders" è di fondamentale importanza in un'ottica di medicina personalizzata. In questo senso la farmacogenetica e la farmacogenomica possono contribuire notevolmente a migliorare la sicurezza e l'efficacia di un farmaco. Spesso si tende a usare scambievolmente i due termini; in realtà la farmacogenetica si basa su test di singoli geni specifici selezionati a priori e mette in evidenza come eventuali mutazioni degli stessi possono condizionare la risposta a un farmaco; la farmacogenomica è invece un approccio senza ipotesi predefinite che si applica a livello dell'intero genoma per individuare i determinanti multigenici coinvolti nella risposta a un farmaco. L'Au-

tore del secondo articolo, il Prof. Cazzola, presenta una panoramica molto esaustiva sugli studi di farmacogenetica e farmacogenomica applicati ai farmaci impiegati nella terapia dell'asma. Per ogni categoria di farmaci anti-asma vengono descritti i vari loci genetici finora individuati e come questi potrebbero essere associati alle risposte terapeutiche. Pur riconoscendo che i risultati degli studi finora effettuati stiano fornendo informazioni significative su un loro potenziale impiego diagnostico, l'autore precisa che essi non sono ancora utilizzabili nella pratica clinica per guidare le decisioni terapeutiche. Lo stesso vale per i farmaci biologici attualmente in uso. Anche in questo caso i pazienti sottoposti a questa terapia mostrano una risposta variabile, ed è possibile che dei polimorfismi nei geni codificanti per citochine o i loro recettori possano influenzare la sua efficacia. L'articolo si conclude con un riferimento all'immunoterapia allergene-specifica (AIT), che non si distingue dagli altri approcci terapeutici in termini di variabilità della efficacia terapeutica nei pazienti trattati. Si è osservato che pazienti asmatici con specifici polimorfismi nei geni che codificano per le citochine IL-4 e IL-13 mostrano una aumentata produzione di IgE specifiche per gli allergeni e una maggiore gravità dei sintomi asmatici. Nel caso di soggetti allergici all'*Alternaria*, i pazienti portatori di questi polimorfismi rispondono meno alla AIT. Al contrario, alti livelli di trascritti di IL-10 nel sangue di pazienti allergici agli acari della polvere sembrano predittivi dell'efficacia della AIT.

*Auguro a tutti una buona lettura*



# L'ossido nitrico nell'aria esalata: marcatore di flogosi T2 (Type-2) nell'asma

Giuseppe Guida

Università degli Studi di Torino,  
Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche,  
Torino (TO)  
AOU San Luigi Gonzaga, SSDU Asma Grave,  
Malattie Rare del Polmone e Fisiopatologia  
Respiratoria, Orbassano (TO)

## 1. Introduzione:

### la scoperta dell'infiammazione T2 (Type-2)

La “definizione di asma bronchiale” come una “malattia infiammatoria cronica delle vie aeree caratterizzata da infiltrazione di cellule infiammatorie, rilascio di mediatori e rimodellamento strutturale delle vie aeree” (1) è stato il risultato di progressive acquisizioni in campo immunologico, fisiopatologico e biomolecolare. La caratterizzazione dell'infiammazione nell'asma ha seguito gli sviluppi delle acquisizioni riguardanti i meccanismi e le cellule coinvolte nell'immunità adattativa e naturale. Le biopsie bronchiali e il lavaggio bronco-alveolare (BAL) di soggetti con asma mostravano tra le alterazioni principali infiltrazione di eosinofili, linfociti, mastociti e neutrofili in numero aumentato rispetto ai soggetti normali (2). L'isolamento di cloni di linfociti Th1 e Th2 umani da parte di Romagnani e collaboratori all'inizio degli anni '90 ha portato a un gran numero di acquisizioni sugli effetti dei linfociti Th1 e Th2 sul sistema immunitario umano e al successivo paradigma che divide le citochine, molecole mediatrici dei se-

gnali di comunicazione fra le cellule del sistema immunitario, in tipo 1 (Th1-like) e tipo 2 (Th2-like). Diverse successive acquisizioni hanno mostrato che le citochine Th1 e Th2 potevano essere prodotte da cellule diverse dai linfociti T CD4+, compresi i linfociti T CD8+, i monociti, le cellule NK, i linfociti B, gli eosinofili, i mastociti, i basofili e altre cellule dell'immunità innata. Dal punto di vista fisiopatologico le condizioni che comportano una predominanza di citochine di tipo 2 sono chiamate Type-2 o T2 (3).

## 2. L'infiammazione T2 e “allergia”

Nel 1906 Clemens von Pirquet propose il termine “allergia”. Si trattava di un processo di sensibilizzazione a una proteina (allergene) causa di una reazione da ipersensibilità immediata successiva alla risomministrazione di quella sostanza capace di determinare orticaria, angioedema, broncospasmo e shock. L'allergia si poteva trasferire passivamente da un soggetto allergico a uno non-allergico attraverso quella sostanza definita “reagina” che i coniugi Ishizaka dimostrarono nel 1966 essere un'im-

munoglobulina dell'isotipo E (IgE). I meccanismi cellulari e molecolari coinvolti nella regolazione della sintesi delle IgE umane sono sostenuti dalla interleuchina 4 (IL-4), una citochina Th2-like, mentre l'IFN- $\gamma$  (Th1-like), regola negativamente la sintesi di IgE indotta dall'IL-4 (4). Quindi le cellule Th2 allergene-specifiche sembrano svolgere un ruolo cruciale nell'allergia inducendo la produzione di IgE tramite IL-4.

Le reazioni da ipersensibilità di tipo I sono caratterizzate da una fase effettrice, generalmente molto rapida, durante la quale l'attivazione di basofili e mastociti mediata dalle IgE comporta il rilascio di mediatori di infiammazione e un conseguente danno tissutale. Segue una fase dell'infiammazione allergica tardiva, caratterizzata prevalentemente dall'infiammazione eosinofila, ma in cui altre cellule quali neutrofili, mastociti e linfociti entrano in gioco. Le cellule Th2 favoriscono la proliferazione, la differenziazione e l'attivazione degli eosinofili tramite IL-5 (5).

Più recenti acquisizioni hanno portato all'isolamento e alla descrizione di cellule linfoidi dell'immunità innata di tipo 2 (ILC2), in grado di secernere cito-



chine classicamente associate a linfociti Th2, ma non direttamente coinvolte nella cascata infiammatoria allergica (6). Le ILC2 si localizzano prevalentemente a livello dei siti di interfaccia con l'ambiente esterno, come la sottomucosa bronchiale, e possono essere attivate da segnali provenienti dall'epitelio (allarmine). Una volta attivate, le ILC2 producono citochine Th2 quali IL-4, IL-13, IL-5, ma possono stimolare anche la produzione di IgE da parte dei linfociti B indipendentemente dai linfociti T helper (IgE policlonali).

## 2.1 L'infiammazione T2 nell'asma allergica

L'asma allergico è associato a una risposta Th2-polarizzata e l'analisi del BAL e dei campioni biotipici in modelli murini di asma allergica dimostra un afflusso di eosinofili nella mucosa delle vie aeree, la sovrapproduzione di muco e un'iperreattività bronchiale (AHR) indotte da citochine Th2 quali IL-4, IL-5, IL-13 e IL-9. Nei tessuti di asmatici allergici non solo è confermato l'aumento del numero di cellule che esprimono il recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI), ma quella di infiltrati di cellule T CD4+, mastociti ed eosinofili colocalizzati con IL-4 e IL-5 (7).

Il ruolo centrale degli eosinofili nella fase della risposta infiammatoria allergica tardiva è evidente nella risposta broncocostrittrice ritardata che si verifica 4-6 h dopo il contatto con l'allergene, caratterizzata da una AHR prolungata e da una pronunciata eosinofilia. Gli eosinofili delle vie aeree persistono nell'asmatico allergico anche per 7 giorni

### SOMMARIO

#### Acronimi

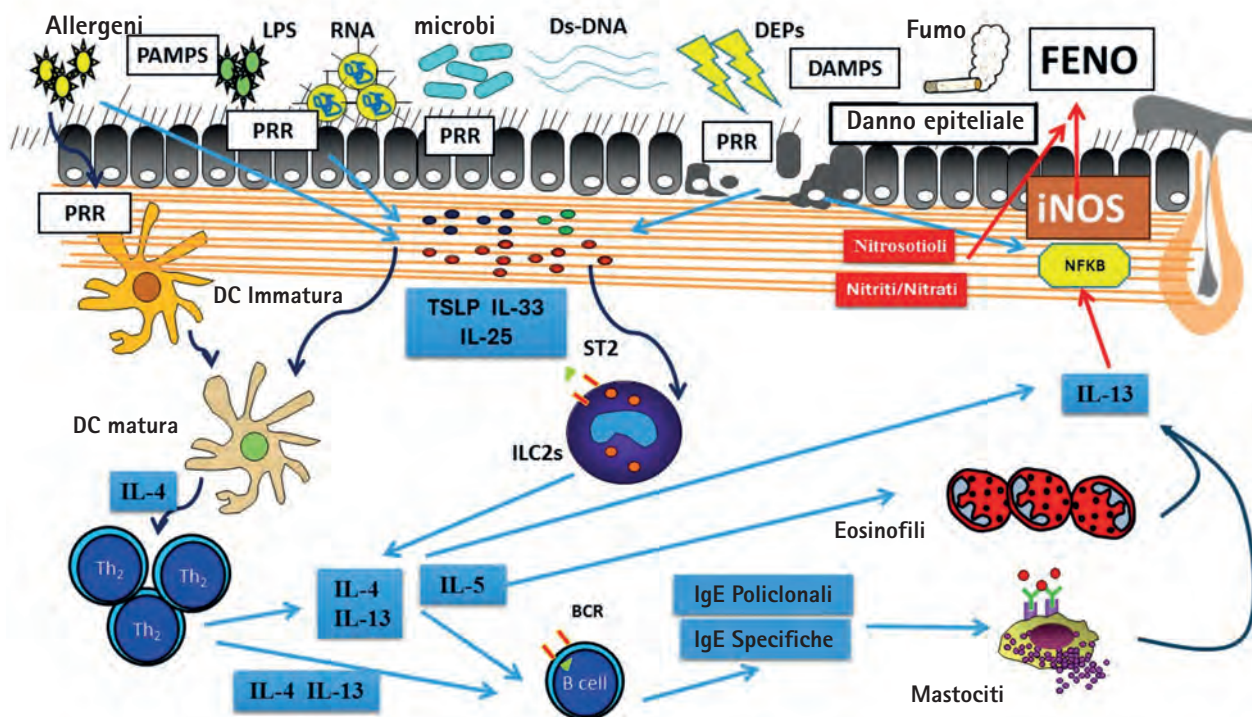
- AEC cellule epiteliali delle vie aeree;
- AHR iperreattività bronchiale;
- BAL lavaggio bronco alveolare;
- DAMPs pattern molecolari associati al danno;
- DEP particelle di gas di scarico diesel;
- FeNO ossido nitrico nell'aria esalata;
- NO ossido nitrico;
- NOS ossido nitrico sintetasi;
- iNOS ossido nitrico sintetasi inducibile;
- cNOS ossido nitrico sintetasi costitutiva;
- CRS rinosinusite cronica;
- NP polipi nasali;
- PAMPs pattern molecolari associati ai patogeni;
- PRR recettori per il riconoscimento di pattern;
- RNS specie reattive dell'azoto;
- ROS specie reattive dell'ossigeno;
- TRAP inquinamento atmosferico legato al traffico;
- TSLP linfopoietina timica stromale.

La misura del monossido di azoto nell'aria espirata (FeNO) rappresenta una metodica semplice, non invasiva e riproducibile per misurare l'infiammazione nelle vie aeree definita di tipo 2 (Type-2). Nell'asma la flogosi T2 è espressione non solo della cascata allergica classica mediata dalle IgE e dagli eosinofili, ma anche dell'attivazione dell'epitelio bronchiale, che risponde a stimoli dannosi dell'ambiente esterno, quali patogeni e inquinanti. La concentrazione del FeNO nell'asma è pertanto un indice sensibile di flogosi T2, che varia rapidamente in risposta alla terapia o all'esacerbazione della malattia. Nel tempo, l'applicazione clinica del FeNO nell'asma si è estesa, per via della sua capacità di adjuvare nella diagnosi, predire le esacerbazioni e misurare l'aderenza alla terapia. Infine, il FeNO è diventato uno strumento essenziale per caratterizzare i pazienti con asma grave e avviarli in modo appropriato a un farmaco biologico nell'ambito di una strategia di terapia personalizzata.



Figura 1

Meccanismi alla base dell'aumento del FeNO nell'infiammazione T2



dopo l'inalazione dell'allergene, essendo sostenuti dall'azione di fattori chemiotattici (8). Non solo l'IL-5, ma anche l'IL-13 è coinvolta nella regolazione delle risposte infiammatorie tardive indotte dagli allergeni, modulando anche la produzione di IgE.

È stata dimostrata anche una precoce attivazione locale delle ILC2 in grado di esprimere IL-5 o IL-13 a 24 ore dal challenge con allergene. Inoltre, l'aumento del numero di ILC2 nel BAL è correlato alle concentrazioni di IL-33, una allarmina rilasciata dall'epitelio

dopo stimolo di alcuni allergeni, per esempio l'alternaria, e in grado di promuovere l'eosinofiloipoesi reattiva nel midollo osseo IL-5 dipendente (9).

## 2.2 L'infiammazione T2 nell'asma "non allergica"

Dal 10% al 33% di tutti i pazienti affetti da asma presentano una forma non allergica (intrinseca), che ha un'insorgenza più tardiva, un decorso clinico più grave negli adulti, ed è significativamente associata a polipi nasali in combinazione spesso con l'idiosincrasia

all'aspirina (ASA) (10). Sia nel BAL che nelle biopsie bronchiali di soggetti con asma intrinseco si è trovato un aumento del numero di linfociti Th2 attivati e di eosinofili, così come di IL-5. Anche alti livelli di IgE e dei loro recettori indicano una sintesi locale di IgE anche in assenza di un allergene.

Una risposta innata T2 indipendente dalle cellule Th2 è indotta dall'esposizione all'inquinamento atmosferico, al fumo di sigaretta, alle particelle dei gas di scarico dei motori diesel, all'aspirina e all'esercizio fisico. Per effetto della sti-





molazione epiteliale le ILC2 possono produrre elevate quantità di IL-5, che spiega questa grave infiammazione eosinofila. Contribuisce a questo tipo di risposta innata la lipoxina A4, che modula l'apoptosi degli eosinofili (11).

### 2.3 La disregolazione dell'immunità di barriera epiteliale e le allarmine

Le cellule epiteliali delle vie aeree (AEC) costituiscono il principale meccanismo nel tratto respiratorio come prima linea di difesa nei confronti di vari agenti patogeni infettivi, allergeni e insulti fisici. Negli ultimi anni è emerso come l'epitelio delle vie aeree non funzioni solo come barriera fisica e passiva, ma partecipi attivamente alla modulazione delle risposte immunitarie innate e adattative (12).

Le AEC sono in grado di riconoscere delle strutture biologiche altamente conservate condivise dallo stesso tipo di microrganismi patogeni, denominate PAMPs, pattern molecolari associati ai patogeni. I PAMPs, corrispondenti a lipidi, proteine e acidi nucleici (RNA e DNA) costituiscono dei segnali di pericolo esogeni, che le AEC possono riconoscere, distinguendo tra "self" e "non-self", attraverso dei recettori specifici denominati PRR (Recettori per il Riconoscimento dei Pattern).

In risposta a microrganismi, virus respiratori, inquinanti atmosferici e agli allergeni, l'epitelio delle vie aeree rilascia le cosiddette allarmine IL-25, IL-33 e linfopoietina timica stromale (TSLP). Le allarmine sono anche molecole prodotte dall'epitelio delle vie respiratorie quando la cellula va incontro a morte e

necrosi producendo segnali di pericolo endogeni, denominati DAMPs, e riconosciuti dai PRR. Nell'asma, le allarmine sono in grado di reclutare e attivare le DC, le cellule ILC2, mastociti, eosinofili, neutrofilo e basofili, promuovendo in tal modo la produzione di citochine Th2, principalmente IL-4, IL-5 e IL-13 (14) (Figura 1).

L'interleuchina 33 (IL-33) è un'allarmina epiteliale pro-infiammatoria altamente espressa nella mucosa delle vie aeree nell'asma in risposta agli allergeni e altri antigeni. Si lega al suo recettore ST2 inducendo l'espressione di citochine Th2, principalmente IL-4, IL-5 e IL-13 dalle cellule Th2 e dalle cellule ILC2.

TSLP è secreta in quantità elevate dalle AEC in risposta alla rottura dell'epitelio da parte di allergeni, virus, particelle di estratto di diesel, microbi, favorita dall'attività sinergica di IL-4 e IL-13 con la perdita di e-caderina. TSLP si lega al suo recettore (IL-7  $\alpha/\gamma$ c-catena) espresso nelle DC e ILC2, che porta al rilascio di citochine Th2. Il TSLP di per sé altera ulteriormente la barriera delle cellule epiteliali durante l'esposizione cronica, per esempio, agli acari della polvere (15).

### 3. L'ossido nitrico come mediatore di difesa della risposta immunitaria innata

L'ossido nitrico è un gas biatomico privo di radicali considerato, fino al 1980, un inquinante ambientale presente nel fumo di sigaretta e nello smog. La produzione di quantità nanomolari di NO

da parte di cellule epiteliali e macrofagi in risposta a stimoli microbici e di danno cellulare contribuisce allo stress ossidativo nella difesa dell'ospite contro batteri, virus, funghi e parassiti e cellule tumorali (16) (tabella 1).

L'NO è prodotto dalla iNOS, la cui espressione dipende, come già visto per le cellule epiteliali, dall'attivazione del fattore di trascrizione NF- $\kappa$ B. L'espressione della iNOS nei macrofagi è indotta dall'attivazione di recettori Toll-like (TLR) ed è ulteriormente aumentata dall'IFN- $\gamma$  (17). L'iNOS catalizza la conversione dell'arginina in citrullina, rilasciando NO gassoso diffusibile. All'interno dei fagolisosomi, l'NO si combina con il H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> o con  $\cdot$ O<sub>2</sub><sup>-</sup> per produrre radicali perossinitriti ( $\cdot$ ONOO), che contribuiscono all'uccisione dei microbi. Questi ioni possono causare la nitrosilazione della tirosina (Tyr) con conseguente formazione di 3-nitrotirosina (3-NT). L'NO può anche interagire con i tioli (composti organici in cui l'atomo di ossigeno è stato sostituito da un atomo di zolfo -SH) come il glutatone o l'albumina per produrre S-nitrosotioili (RS-NO), oppure essere metabolizzato in nitrito (NO<sub>2</sub>-) o in nitrato (NO<sub>3</sub>). Sebbene i ROI e l'NO siano agenti antimicrobici efficaci, sono aspecifici e possono anche indurre danni ai tessuti dell'ospite.

#### 3.1 L'ossido nitrico dell'epitelio respiratorio: origine e ruolo fisiologico

L'ossido nitrico viene prodotto nell'epitelio respiratorio in risposta all'attivazione della NO sintetasi (NOS). Le



isoforme costitutive (cNOS, NOS-1 e NOS-3) sono espresse nelle vie aeree, e in risposta a un segnale di calcio producono piccole quantità di NO (femtomoli). A basse concentrazioni l'NO ha molti effetti fisiologici sul sistema respiratorio, che vanno da un lieve effetto di broncodilatazione e anti-broncocostrizione alla vasodilatazione polmonare e alla modulazione dello scambio di gas (18). Le azioni dirette dell'NO avvengono attraverso l'attivazione di enzimi come la guanilil-ciclastasi o all'inibizione di citocromo P-450, citocromo ossidasi e catalasi. L'NO può anche interagire direttamente con i radicali liberi inibendo la perossidazione lipidica e riducendo la generazione di lipidi pro-infiammatori. La NOS non è l'unica fonte di NO epiteliale (19). Circa il 70–90% dell'NO viene rilasciato dagli S-nitrosotioili, che sono potenti rilassanti delle vie aeree umane. L'NO presente nell'aria espirata può anche derivare dalla protonazione dei nitriti per formare acido nitroso (HNO<sub>2</sub>), che rilascia NO gassoso con l'acidificazione. Il nitrito può provenire sia dall'alimentazione sia dalla saliva, attraverso riduzione del nitrato a nitrito operata dai batteri del cavo orale.

### 3.2 L'interdipendenza tra sistema immunitario innato e adattativo

Le cellule del sistema immunitario adattativo necessitano di istruzioni da parte del sistema innato per stabilire una risposta immunitaria verso un particolare antigene. Esiste un'attivazione diretta delle DC innescata da segnali PRR che convertono le DC a riposo in poten-

ti cellule presentanti l'antigene (APC) immunogene in grado di promuovere l'espansione e la differenziazione delle cellule T naive patogeno-specifiche in cellule effettrici appropriate (20). Esiste una seconda via di attivazione indiretta delle DCs attraverso segnali infiammatori prodotti da cellule infiammatorie/residenti, a loro volta stimolate dai PAMPs. Gli epitelii, in particolare, hanno la capacità unica di condizionare le DC a riposo (21). Per esempio, TSLP e TGF- $\beta$  rilasciati dall'epitelio polmonare condizionano le DC polmonari così come il GM-CSF, l'IL-1 $\beta$ , l'IL-33, l'osteopontina e l'IL-25 possono essere prodotti dalle cellule epiteliali delle vie aeree e agire indirettamente sulle DC. Tuttavia, le DC esposte a segnali pro-infiammatori provenienti da altre cellule (neutrofili, eosinofili, AEC) mostrano un'attivazione solo parziale (maturazione) e sono scarsamente immunogene.

### 3.3 L'ossido nitrico come mediatore infiammatorio della risposta immunitaria epiteliale delle vie aeree

La terza forma di NOS è definita inducibile (iNOS o NOS-2) perché i diversi trigger che insultano l'epitelio respiratorio possono indurre la sintesi di NO. L'iNOS rilascia grandi quantità (nM) di NO proinfiammatorio diverse ore dopo l'esposizione che può continuare in modo sostenuto (ore o giorni). Molti stimoli sono in grado di indurre l'espressione di iNOS via NF- $\kappa$ B, non solo attraverso il riconoscimento dei microorganismi via TLR, ma anche sotto stimolo di citochine pro-infiammatorie, tra cui il TNF- $\alpha$ ,

l'interleuchina-1 $\beta$ , IL-4 e IL-13. L'elevata concentrazione di NO prodotto dall'epitelio potrebbe svolgere un meccanismo di difesa delle vie aeree. Questo è stato avvalorato soprattutto nelle vie aeree superiori, dove livelli molto elevati di NO nei seni paranasali potrebbero contribuire al mantenimento della sterilità di questo ambiente (22).

L'NO nell'infiammazione può essere anche coinvolto nell'iperemia, edema e ipotensione. Inoltre, l'NO può ridurre l'apoptosi delle cellule infiammatorie come gli eosinofili, riduce le molecole di adesione, sopprime l'attivazione delle cellule infiammatorie, inibisce la chemiotassi neutrofila e le risposte proliferative nei linfociti umani. Infine, l'iperproduzione di NO nelle vie aeree può svolgere anche un effetto di broncodilatazione diretto (16). Tuttavia, l'effetto dell'NO infiammatorio a livello epiteliale può essere considerato per molti versi dannoso, proprio per la sua capacità di combinarsi con specie reattive dell'ossigeno (ROS) e le specie reattive dell'azoto (RNS) come il perossinitrito, che ossidano e danneggiano il tessuto epiteliale stesso e inducono AHR. I ROS e gli RNS possono danneggiare il DNA, i lipidi, le proteine e i carboidrati e comportare un'alterazione delle funzioni cellulari e un aumento delle reazioni infiammatorie. Per esempio, il perossinitrito e l'acido perossinitroso ONOOH sono potenti citotossici e ossidanti, in grado di ossidare i tioili, nonché scindere il DNA e inattivare enzimi e altre proteine, in particolare quelli importanti per la catena respiratoria mitocondriale (18, 19).



Tabella 1

Funzioni e fonti del NO nelle vie aeree

| CELLULA  | EPITELIO                                                                             |                                                                                                                                            |                                                           | MACROFAGI                                               |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Fonte    | ENZIMATICA                                                                           |                                                                                                                                            | NON ENZIMATICA                                            | ENZIMATICA                                              |
|          | eNOS                                                                                 | iNOS                                                                                                                                       | S-nitrosoproteine<br>S-nitrosotioili<br>nitriti e nitrati | iNOS                                                    |
| Quantità | femtomoli                                                                            | nanomoli                                                                                                                                   |                                                           | nanomoli                                                |
| Stimoli  | PAMPs/PRR<br>DAMPs/PRR<br>calcio/calmodulina                                         | batteri<br>virus<br>ossidanti<br>allergeni<br>LPS<br>inquinanti (cronico)<br>citochine:<br>TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4 e IL-13     | DEP (acuto)<br>TRAP (acuto)<br>LPS (? acuto)              | PAMPs/TLR<br>IFN- $\gamma$<br>DEP                       |
| Target   | Enzimi:<br>▲ guanilato-ciclas<br>▼ citocromo P-450 citocromo<br>ossidasi<br>catalasi | DNA<br>lipidi<br>proteine<br>carboidrati                                                                                                   | ROS<br>RNS<br>S-nitrosotioili<br>nitriti e nitrati        | ROS<br>RNS<br>S-nitrosotioili<br>nitriti e nitrati      |
| Effetti  | Muscolo liscio<br>tono bronchiale<br>(broncodilatazione)                             | Muscolo liscio<br>broncodilatazione                                                                                                        |                                                           | Agente patogeno<br>lisi<br>opsonizzazione<br>fagocitosi |
|          | Endotelio<br>vasodilatazione                                                         | Endotelio<br>iperemia<br>edema<br>▼ molecole d'adesione                                                                                    |                                                           |                                                         |
|          | Capillari<br>scambio gassoso                                                         | Eosinofili<br>▼ apoptosi                                                                                                                   |                                                           |                                                         |
|          | Neuroni periferici<br>neurotrasmissione                                              | Neutrofili<br>▼ chemiotassi                                                                                                                |                                                           |                                                         |
|          | Lipidi<br>▼ perossidazione                                                           | Linfociti<br>▼ proliferazione                                                                                                              |                                                           |                                                         |
|          |                                                                                      | Epitelio<br>difesa delle vie aeree<br>sterilità<br>ossidazione<br>danno<br>iperreattività<br>citotossicità<br>▼ respirazione mitocondriale |                                                           |                                                         |



Tabella 2

Valori di FeNO di uso clinico nell'asma

| Parametro                    | FeNO (ml/s)                 | significato                                                                            |
|------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Soggetti Sani                | 10-20 ppb                   |                                                                                        |
| Eosinofilia nell'espettorato | >3%                         | >50 ppb (adulti)<br>>35 ppb (bambini)<br>Infiammazione T2<br>(o T2High)                |
|                              | <3%                         | <25 ppb (adulti)<br><20 ppb (bambini)<br>Non Infiammazione T2<br>(o T2low)             |
|                              | Da interpretare             | >25 <50 ppb (adulti)<br>>20 <35 ppb (bambini)                                          |
| Asma severa                  | ≥20 ppb                     | Infiammazione T2<br>(o T2High)                                                         |
| FEV1                         | -10%                        | +4 ppb<br>Calibro delle vie aeree                                                      |
| AHR                          |                             | >40 ppb<br>Diagnosi di asma probabile                                                  |
| AEs                          | Naive da CCS                | <25 ppb<br>Diagnosi di asma improbabile                                                |
|                              |                             | >60 ppb<br>Rischio di esacerbazione di asma                                            |
| Risposta ai CCS              | In terapia con CCS          | >28ppb<br>Rischio di esacerbazione di asma                                             |
|                              |                             | >50 ppb (adulti)<br>>35 ppb (bambini)<br>Risposta probabile                            |
|                              |                             | <25 ppb (adulti)<br><20 ppb (bambini)<br>Risposta poco probabile                       |
|                              |                             | 22 ppb<br>Riduzione o sospensione<br>degli ICS                                         |
| Risposta ai biologici        | omalizumab                  | >19,5 ppb<br>>Riduzione delle esacerbazioni                                            |
|                              |                             | >30,5ppb<br>>Miglioramento del FEV1                                                    |
|                              | dupilumab                   | ≥25 ppb<br>Eligibilità al trattamento                                                  |
|                              |                             | ≥25 ppb<br>>Riduzione delle esacerbazioni                                              |
|                              | mepolizumab<br>benralizumab | ≥50 ppb<br>>Riduzione delle esacerbazioni<br>≥50 ppb<br>>Riduzione delle esacerbazioni |

### 3.4 L'ossido nitrico come mediatore epiteliale di infiammazione T2 delle vie aeree

L'ossido nitrico di origine epiteliale rappresenta un modello di interconnessione tra il sistema immunitario innato e

quello adattativo, di fatto rappresentando una prima forma di difesa, ma anche il risultato della cascata immunitaria che richiama ulteriori cellule dell'immunità innata e condiziona la risposta adattativa attraverso la modulazione delle DCs. Ad esempio, l'esposizione allergi-

ca dell'epitelio di un soggetto asmatico porta alla produzione di citochine come IL-4 e IL-13, che a loro volta determinano l'attivazione della iNOS. Esperimenti in vitro su AEC umane hanno dimostrato che l'IL-13 è di fatto alla base dell'aumento dell'espressione di iNOS





e della conseguente produzione di NO da parte delle cellule epiteliali (23). Non solo gli allergeni, ma anche microbi, inquinanti, ossidanti e fattori stressogeni che interagiscono con l'epitelio bronchiale sono in grado di attivare la iNOS (figura 1).

### 3.5 La misurazione dell'ossido nitrico nell'aria esalata (FeNO)

Nel 1991, Gustafsson e colleghi scoprirono che l'NO di origine endogena potesse essere misurato nel respiro di uomini e animali. L'aria espirata contiene quantità rilevabili di NO, nell'ordine delle parti per miliardo (ppb-1:109). I metodi più utilizzati per la misura dell'ossido nitrico nell'aria esalata (FeNO) sono la chemiluminescenza, i sensori elettrochimici e la tecnologia laser (16–19). L'NO misurato con un analizzatore a chemiluminescenza rappresenta il gold standard e utilizza la rilevazione fotometrica della reazione tra NO e ozono. L'apparecchiatura è altamente sensibile e ha un tempo di risposta molto rapido (0,5-0,7 sec). Dopo aver sciacquato la bocca, la misurazione avviene con un'inspirazione profonda di gas NO-free fino alla capacità polmonare totale e un'espirazione lenta. La chiusura del velum è obbligatoria e si ottiene utilizzando una pressione positiva di 5-20 cm H<sub>2</sub>O contro l'espirazione. Un'espirazione stabile a una portata costante di 50 mL/s per circa 10 secondi è raccomandata per raggiungere lo "steady state", e quindi un livello di concentrazione stabile nell'espirato (plateau) a cui corrisponde la misurazione (FeNO<sub>50</sub>).

Sono stati sviluppati nel tempo diversi dispositivi FeNO portatili (24) che utilizzano una tecnologia a sensori elettrochimici o infrarossi.

Gli individui sani hanno valori di FeNO (FeNO<sub>50</sub>) compresi tra 10 e 20 ppb; tuttavia, i valori dal quinto al 95° percentile di FeNO sono risultati pari a 3,5-39 ppb per i soggetti di età compresa tra 12 e 80 anni. Ci sono alcuni fattori che influenzano i livelli di FeNO come il sesso, il peso e l'altezza, la dieta (ad esempio, il caffè) o l'assunzione di farmaci come gli antinfiammatori. I fumatori attivi presentano livelli più bassi di FeNO, mentre le infezioni virali lo aumentano. Anche la spirometria potrebbe influenzare i risultati del FeNO, quindi non dovrebbe essere eseguita prima (25).

### 3.6 FeNO cut-off per l'infiammazione eosinofila in asma

L'associazione sicuramente più documentata è tra eosinofilia delle vie aeree e FeNO. Esiste una buona correlazione tra i valori di FeNO e la valutazione oggettiva dell'infiammazione eosinofila nelle biopsie bronchiali, il conteggio degli eosinofili nel BAL o nell'espettorato (S-EOS). Un FeNO <26 ppb è stato associato a una conta differenziale di S-EOS del <3%, che è il cut-off riconosciuto per parlare di eosinofilia delle vie aeree. L'ampio studio di Berry e colleghi ha riportato che FeNO<sub>50</sub> di 36 ppb aveva una sensibilità e una specificità per S-EOS superiore al 3%, rispettivamente del 78 e del 72% (26). Le linee guida ATS 2011 raccomandano

un FeNO medio di 20 ppb per i soggetti di età compresa tra 6 e 11 anni e di 25 ppb per i soggetti di età compresa tra 12 e 80 anni come marker di infiammazione eosinofila delle vie aeree meno probabile nell'asma, un FeNO medio di 35 ppb per i soggetti di età compresa tra 6 e 11 e di 50 ppb per i soggetti di età compresa tra i 12 e gli 80 anni come altamente connesso con l'infiammazione eosinofila delle vie aeree, e valori di FeNO compresi tra 25 e 50 ppb (20-35 ppb nei bambini) da interpretare con cautela in base al contesto clinico (27) (tabella 2).

### 4. Il modello a due compartimenti per la produzione di ossido nitrico: NO alveolare e bronchiale

Le linee guida raccomandano un flusso espirato di 50 mL/s per la misura del FeNO. Quando le misure di NO sono acquisite ad altre velocità di flusso più elevate il flusso di NO dalla parete delle vie aeree al lume (JawNO) e la frazione di NO in fase gassosa nella regione alveolare (CANO) possono essere calcolate. In sostanza, la misurazione dell'NO espirato a flussi diversi (es. 50, 100, 200 mL/s) consente di identificare attraverso un modello matematico che costruisce una retta di regressione tra i valori misurati ai diversi flussi, una stima della produzione bronchiale di NO (intercetta della retta) o alveolare (slope o pendenza della retta) (25). Questo tipo di misurazione, seppur limitata alla ricerca clinica, può spiegare molti fenomeni fisiopatologici legati all'asma.



### 4.1 Ossido nitrico esalato e calibro delle vie aeree

La riduzione del calibro delle vie aeree riduce i livelli di FeNO in assenza di alterazioni infiammatorie. Si tratta di un effetto meccanico ed è molto probabilmente dovuta alla diminuzione della superficie epiteliale disponibile, che ostacola la diffusione dell'NO dall'epitelio delle vie aeree nel lume. È stato proposto un fattore di correzione di +4ppb al valore misurato di FeNO per ogni riduzione del 10% al di sotto del 100% del FEV1 previsto. Inoltre, l'impatto del calibro delle vie aeree sul FeNO sembra essere diverso se sono coinvolte le vie aeree più periferiche, che determinano un tasso raddoppiato di riduzione del FeNO o quelle prossimali (28). I  $\beta_2$ -agonisti potrebbero indurre effetti divergenti sui valori di FeNO nei pazienti asmatici a causa dell'effetto che hanno sull'ostruzione delle vie aeree che si verifica a diverse profondità polmonari.

### 4.2 Ossido nitrico e vie aeree: risposte acute e croniche

Dato che il NO viene prodotto nell'epitelio respiratorio in risposta all'attivazione della NOS da parte di diversi stimoli o insulti, è stato ipotizzato un suo ruolo nel danno polmonare acuto. L'ALI (acute lung injury) è una condizione clinico/patologica grave causata dall'interruzione delle barriere endoteliali ed epiteliali del polmone e un'aumentata permeabilità capillare. Si manifesta clinicamente come un'insorgenza acuta di infiltrati polmonari bilaterali diffusi e una severa ipossiemia. Alla base c'è un'infezione, una sepsi o

un trauma, che determina l'aumento delle citochine proinfiammatorie (29). Sia nei modelli animali che negli esseri umani affetti da ALI vi è un'aumentata produzione endogena di NO dovuta a una maggiore espressione e attività della iNOS. La somministrazione sistemica di LPS è stata associata a un aumento del FeNO, ma non si è correlata alla gravità del danno polmonare.

Esistono tuttavia altre situazioni in cui il FeNO può riflettere un insulto/danno epiteliale acuto. Per esempio, l'esposizione all'inquinamento da traffico può causare in 2 ore in soggetti giovani e sani un'infiammazione acuta associata a un innalzamento del FeNO (30). Le particelle dei gas di scarico diesel (DEP) sono costituite da un nucleo di carbonio elementare e possono contribuire allo stress ossidativo. Inoltre, in risposta alle DEP, i macrofagi alveolari producono NO che può combinarsi con l'anione superossido per produrre perossinitrito. È interessante notare come gli effetti dell'inquinamento atmosferico legato al traffico (TRAP) sulle vie aeree determina un elevato livello di NO alveolare, quindi a una risposta concentrata prevalentemente nelle vie aeree distali (31). Anche l'esposizione cronica ad agenti inquinanti o irritanti può determinare l'aumento del FeNO nei bambini sia sani che nei soggetti atopici. Nei bambini l'esposizione cronica a black carbon è stata correlata al FeNO, mentre l'esposizione la mattina del campionamento è stata associata allo stress ossidativo delle vie aeree, confermando 2 meccanismi diversi nell'aumento dell'NO nell'esposizione acuta e cronica.

### 5. Ossido nitrico esalato e asma: applicazioni cliniche

L'utilità della misurazione della concentrazione di FeNO nell'asma è emersa negli ultimi 20 anni grazie alla sua funzione di marker dell'infiammazione delle vie aeree e alla tecnica di misurazione non invasiva, riproducibile e sensibile della sua misurazione. Attualmente, il FeNO è considerato un biomarcatore che nella pratica clinica può aiutare i medici nella diagnosi e nella gestione dell'asma. Inoltre, il FeNO è utilizzato nella fenotipizzazione dell'asma grave e può prevedere la risposta ai biologici (16,19,25,32).

#### 5.1 Ossido nitrico esalato e asma: diagnosi e diagnosi differenziale

Nella pratica clinica il problema della sovradiagnosi dell'asma che comporta l'assunzione di farmaci antiasmatici, anche in assenza di un test confermativo, va in parallelo con diagnosi insufficiente o errate derivate dalla scarsa disponibilità di test accessibili di routine (33).

L'infiammazione eosinofila delle vie aeree o T2, anche se riconosciuta come il principale processo che coinvolge la parete delle vie aeree causando lo sviluppo di una limitazione del flusso e aumento della AHR, non è stata di fatto considerata nel work-up diagnostico dell'asma. La misurazione del FeNO può aiutare comunque a diagnosticare l'asma negli adulti con sintomi episodici/cronici suggestivi. Il FeNO ha una capacità di predire l'AHR nei pazienti che lamentano sintomi respiratori solo nei pazienti non



in terapia steroidea. Di fatto un valore di cut-off di 40 ppb offre il miglior compromesso tra sensibilità e specificità, mentre un cut-off di 50 ppb ha un'elevata specificità (>90%) ed è di supporto alla diagnosi di asma. Un valore di FeNO <40 ppb non esclude l'asma e livelli di FeNO elevati non definiscono l'asma. D'altra parte, il FeNO <25 ppb ha un valore predittivo negativo molto elevato, essendo quindi in grado di escludere la diagnosi di asma (34) (tabella 2).

Ci sono alcune situazioni cliniche in cui la valutazione del FeNO nella diagnosi di asma può essere di grande aiuto: nei bambini con meno di 5 anni di età; persone che sono difficile da diagnosticare a causa di fattori confondenti come l'obesità, ansia; pazienti fumatori, gli anziani e le donne in gravidanza. Inoltre, la misurazione del FeNO potrebbe essere utilizzata anche per differenziare l'asma variante tosse (25, 34). I polipi nasali (NP) hanno un impatto sui pazienti asmatici in termini di controllo della malattia e rappresentano un fattore di rischio indipendente per l'asma difficile da trattare. I NP sono notoriamente responsabili di valori elevati di FeNO, anche quando non sono associati all'asma e il FeNO è significativamente più alto nei pazienti con asma grave con CRSwNP rispetto ai pazienti senza NP (35).

## 5.2 Ossido nitrico esalato e asma: controllo dei sintomi, risposta ai corticosteroidi inalatori ed esacerbazioni

L'applicazione clinica del FeNO nell'asma è progressivamente emersa dopo gli studi clinici che hanno dimostrato

l'efficacia di modulare il dosaggio di ICS guidato dai valori di FeNO sul punteggio dei sintomi, sul numero di esacerbazioni e sull'uso di farmaci di soccorso. Solo più recentemente GINA ha avvalorato, almeno nei bambini e nei giovani adulti, il trattamento dell'asma guidato da FeNO utile per una riduzione significativa del tasso di esacerbazioni (1). A oggi, tuttavia, la frequenza ottimale delle misurazioni di FeNO e la possibilità di prevedere le esacerbazioni durante la sospensione o la riduzione degli ICS non è ancora definita. Dopo la sospensione degli ICS in pazienti con asma moderata un aumento del FeNO > 60 ppb è stato in grado di prevedere, una settimana prima, la perdita di controllo dell'asma, mentre in corso di terapia con ICS un valore basale di FeNO di 28 ppb è stato in grado di prevedere le prime esacerbazioni con una probabilità del 76%.

Un'altra conseguenza è l'importanza del FeNO per identificare la reattività agli steroidi consentendo al medico di evitare un "trial di steroidi" empirico o un inutile trattamento corticosteroidico a lungo termine. Le raccomandazioni ATS affermano che per FeNO >50 ppb (>35 ppb nei bambini) è probabile una risposta ai corticosteroidi. Al contrario, il raggiungimento di un FeNO basso (22 ppb) predice la probabilità di una riduzione o sospensione degli ICS. Un FeNO basso (25 ppb, 20 ppb nei bambini) è nei pazienti sintomatici, invece, indice di poco probabile responsività ai corticosteroidi (34) (tabella 2).

## 5.3 Ossido nitrico esalato per la fenotipizzazione dell'asma

Il ruolo indiscutibile del FeNO come marcatore dell'infiammazione delle vie aeree di tipo 2 assume un significato clinico particolarmente importante nel contesto dell'asma di difficile controllo e dell'asma grave. L'asma di difficile controllo (difficult to treat) è definita come quella situazione clinica in cui il paziente non raggiunge il controllo della malattia nonostante il trattamento GINA step 4 o 5 (1). È necessario in questa situazione un periodo di ottimizzazione del trattamento, controllando e correggendo i fattori di rischio modificabili, le comorbidità e in ultimo confermare la diagnosi di asma. Uno dei fattori critici è verificare l'aderenza dei pazienti al trattamento; il FeNO ha la capacità di valutare l'aderenza in modo oggettivo, attraverso un test di soppressione (25) che valuta la diminuzione del FeNO durante cinque giorni consecutivi.

Una volta che tutti i fattori confondenti e complicanti l'asma sono stati corretti, e nonostante questo la malattia rimane non controllata fino anche all'assunzione di corticosteroidi orali (OCS) per almeno il 50% dell'anno precedente, si definisce un quadro di asma grave (SA). In questo contesto il FeNO ha raggiunto diversi utilizzi pratici.

## 6. Un aggiornamento sull'uso dell'ossido nitrico esalato nel guidare la terapia biologica dell'asma

Negli ultimi 20 anni sono stati sviluppati anticorpi monoclonali, chiamati



farmaci biologici, diretti verso i principali effettori dell'infiammazione T2 per il trattamento dell'SA. L'efficacia degli agenti T2-specifici nel ridurre il tasso di AEs e la dose giornaliera di OCS è stata dimostrata in studi clinici (36), in studi di real life (37) e nei registri (38). La misurazione del FeNO è consigliata da GINA (39) prima di iniziare un trattamento biologico diretto T2 nella SA. È stato esplorato il ruolo del FeNO come biomarcatore predittivo della risposta ai biologici o del monitoraggio clinico nei pazienti in terapia.

### 6.1 Omalizumab

L'omalizumab è un farmaco biologico diretto contro le IgE. Le esperienze di vita reale nell'uso di omalizumab arrivano a più di 5 anni, e sono spesso associate a una riduzione del FeNO, in media da 47,3 a 37,1 ppb. Livelli di FeNO >19,5 ppb possono predire una migliore risposta all'omalizumab in termini di AEs. È interessante notare che lo studio XPORT ha rivelato la capacità di un aumento dei valori di FeNO dopo la sospensione di omalizumab di predire le esacerbazioni. Un ulteriore ruolo del FeNO è quello di predire un miglioramento significativo del FEV1 nel sottogruppo di pazienti con asma allergica grave che mostrano un valore di FeNO pre-trattamento  $\geq 30,5$  ppb. L'azione inibitoria di omalizumab sul FeNO (35) nell'asma allergico grave è presa in considerazione dagli algoritmi di trattamento che, integrando diversi biomarcatori al basale, suggeriscono la scelta preferenziale di un biologico (40).

### 6.2 Strategie anti-IL-5

I farmaci biologici che hanno come bersaglio l'IL-5 (mepolizumab) o i recettori dell'IL-5 (benralizumab) riducono significativamente l'infiammazione eosinofila delle vie aeree nella SA, senza influenzare i livelli di FeNO (25,34). Questo risultato è apparentemente contraddittorio, poiché un elevato livello di FeNO  $\geq 50$  ppb è un marcatore molto probabile di infiammazione eosinofila delle vie aeree nell'asma ed è predittivo della risposta alle terapie anti-IL-5 (34) negli adulti con asma eosinofila grave (41). Inoltre, il FeNO conserva la capacità di discriminare il fenotipo infiammatorio al momento dell'esacerbazione con il trattamento con mepolizumab.

### 6.3 Dupilumab

FeNO è emerso come il biomarcatore che meglio si adatta al meccanismo d'azione di dupilumab (36,37). Esso è in grado di interagire con la subunità IL-4Ra del recettore IL-4/13 interferendo con la cascata infiammatoria T2 e inibendo l'iNOS epiteliale. Dupilumab ha fornito una rapida e significativa riduzione dose-dipendente dei livelli di FeNO già alla settimana 2 e l'effetto di dupilumab ha portato a una riduzione del 48% del FeNO dal basale entro la settimana 52, effetto raggiunto a 12 settimane. Le prime esperienze di vita reale hanno riportato una grande riduzione del FeNO a livelli normali già dopo 4 settimane di trattamento (34). La diminuzione del rischio di esacerbazioni gravi e l'entità del miglioramento del FEV1 si correlavano progressivamente con i valori basali di FeNO (< 25, 25-

50, > 50 ppb) (42). Sebbene la soglia di 25 ppb di FeNO sia accettata come un valido predittore dell'efficacia di dupilumab, uno studio che ha registrato FeNO e FEV1 durante visite multiple in 32 pazienti ha mostrato che i pazienti con il FEV1 più basso presentavano più frequentemente livelli di FeNO <25 ppb, suggerendo un'associazione con la riduzione del calibro delle vie aeree come già spiegato.

### 6.4 Tezepelumab

Tezepelumab ha come bersaglio la TSLP. Recentemente approvato per il trattamento dell'asma grave sia T2 che non T2, è efficace nel migliorare il controllo dell'asma e nel ridurre il tasso di esacerbazioni della malattia indipendentemente dai livelli dei biomarcatori T2, compreso il FeNO. Tuttavia, i pazienti con valori più elevati di FeNO sembravano mostrare i migliori benefici dal trattamento anti-TSLP (43).

### 6.5 Switch biologici e poliposi nasale

Il mancato raggiungimento di una buona risposta clinica con i biologici nella SA è un'osservazione non infrequente, così come l'interruzione del farmaco. La necessità di passare a un altro biologico potrebbe essere guidata dai biomarcatori. Il passaggio a mepolizumab ha causato un calo del 50% dei livelli di FeNO in un sottogruppo di pazienti non rispondenti a omalizumab. È stato ipotizzato che trattare con benralizumab i pazienti con fenotipo FeNO-alto che non rispondono a mepolizumab possa portare all'esaurimento delle cellule che





esprimono l'IL-5R, come gli eosinofili e i basofili, che sono una fonte significativa di IL-13. I pazienti con FeNO elevato ( $\geq 25$  ppb) con precedenti biologici avevano maggiori probabilità di diventare responder a dupilumab, portando a una risposta nel 76% dei pazienti (36,37).

Gli anti IgE, gli anti IL-5/IL-5R e gli anti IL-4/IL-13R sono biologici attualmente approvati e utilizzati per il trattamento di NP incontrollata nonostante un'adeguata terapia medica e un'appropriata chirurgia sinusale, e soddisfano i criteri per la presenza di un'inflammation T2 (44). Molte esperienze di trattamento dell'asma grave con comorbilità di NP hanno mostrato un miglioramento significativo dei risultati clinici sinonasali, delle immagini di tomografia computerizzata dei seni e dei punteggi endoscopici nasali (25). I livelli di FeNO rimangono invariati nonostante l'efficace trattamento dell'asma in pazienti con NP trattati con anti-IL5 e anti IL-5R, mentre dupilumab è in grado di diminuire i valori di FeNO (45).

## 7. Conclusioni: ossido nitrico e vie aeree, infiammazione T2 e non solo

La misura del monossido di azoto nell'aria espirata (FeNO) rappresenta una metodica approvata nell'uso clinico nei pazienti affetti da asma bronchiale. È un test semplice, del tutto non invasivo, riproducibile, sensibile e facile da ottenere che consente di avere informazioni sullo stato infiammatorio delle vie aeree e del compartimento alveolare. La concentrazione del FeNO nell'asma è un indice

sensibile di flogosi delle vie aeree, che varia rapidamente in risposta alla terapia anti-infiammatoria o all'esacerbazione della malattia. L'applicazione clinica della misurazione di NO nell'espriato nell'asma costituisce un importante mezzo per valutare nel tempo l'aderenza alla terapia e la sua efficacia, l'attività di malattia, la diagnosi e per predire le esacerbazioni. Il suo ruolo promettente nell'identificare a priori pazienti con asma grave maggiormente responsivi a un farmaco biologico sta trovando con-

ferma negli studi di real-life. L'attenta analisi della patogenesi dell'inflammation T2 e le strette interconnessioni tra immunità innata e adattativa aprono a nuovi campi di studio del ruolo dell'ossido nitrico delle vie aeree: la discriminazione tra grandi e piccole vie, l'effetto acuto o cronico di inquinanti o agenti infettivi e la correlazione tra FeNO e calibro delle vie aeree rappresentano solo alcuni dei nuovi elementi che in futuro andranno integrati nell'utilizzo clinico del FeNO.



## Bibliografia

1. 2023 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. <https://ginasthma.org/2023-gina-main-report/>
2. Smith H. Asthma, inflammation, eosinophils and bronchial hyperresponsiveness *Clin Exp Allergy*. 1992; 22(2):187-97.
3. Lucey R, Clerici M, Shearer GM. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases *Clin Microbiol Rev*. 1996; 9(4):532-62.
4. Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, et al. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol*. 1988; 140(12):4193-8.
5. Akdis CA, Arkwright PD, Brüggen M, et al. Type 2 immunity in the skin and lungs. *Allergy*. 2020; 75(7):1582-1605.
6. Jin J, Sunusi S, Lu H. Group 2 innate lymphoid cells (ILC2s) are important in typical type 2 immune-mediated diseases and an essential therapeutic target. *J Int Med Res*. 2022; 50(1):3000605211053156.
7. Guida G, Antonelli A. Eosinophilic Phenotype: The Lesson from Research Models to Severe Asthma- Cells of the Immune System, 2020 - intechopen.com.
8. Gauvreau GM, Watson RM, O'Byrne PM. Kinetics of allergen-induced airway eosinophilic cytokine production and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160:640-7.
9. Anderson EL, Kobayashi T, Lijima K. IL-33 mediates reactive eosinophilopoiesis in response to airborne allergen exposure. *Allergy*. 2016; 71(7): 977-988.
10. Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112:252-62.
11. Boonpiyathad T, Sözen ZC, Sa-titsuksanoa P, et al. Immunologic mechanisms in asthma. *Semin Immunol*. 2019; 46:101333.
12. Loxham M, Davies DE. Phenotypic and genetic aspects of epithelial barrier function



## Bibliografia

- ction in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 139(6):1736-1751.
13. Danyang L, Minghua W. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2021; 6:291.
14. Guida G, Riccio AM. Immune induction of airway remodeling. *Semin Immunol.* 2019; 46:101346.
15. Kim HY, Jeong D, Kim JH, et al. Innate Type-2 Cytokines: From Immune Regulation to Therapeutic Targets. *Immune Netw.* 2024; 24(1):e6.
16. Ricciardolo FLM, Sterk PJ, Gaston B, et al. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System. *Physiol.* 2004; Rev. 84: 731-765.
17. Uribe-Querol E, Rosales C. Phagocytosis: Our Current Understanding of a Universal Biological Process. *Front Immunol.* 2020; 2;11:1066.
18. Liaudet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med.* 2000; 28:N37-N52.
19. Rolla G, Bommarito L, Heffler E, et al. Exhaled nitric oxide in asthma. *It J Allergy Clin Immunol.* 2006; 16:16:141-150.
20. Joffre O, Nolte AM, Spörri R, et al. Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity. *Immunol Rev.* 2009; 227(1):234-47.
21. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8:193-204.
22. Serrano C, Valero A, Picado C. Nasal Nitric Oxide. *Arch Bronconeumol.* 2004; 40(5):222-30.
23. Chibana K, Trudeau JB, Mustovich AT, et al. IL-13 induced increases in nitrite levels are primarily driven by increases in inducible nitric oxide synthase as compared with effects on arginases in human primary bronchial epithelial cells, *Clin. Exp. Allergy.* 2008; 38(6):936-946.
24. Harnan SE, Tappenden P, Essat M, et al. Measurement of exhaled nitric oxide concentration in asthma: a systematic review and economic evaluation of NIOX MINO, NIOX VERO and NObreath. *Health Technology Assessment volume 19 issue 82 october 2015- ISSN 1366-5278.*
25. Heffler E, Carpagnano GE, Favero E, et al. Fractional Exhaled Nitric Oxide (FeNO) in the management of asthma: a position paper of the Italian Respiratory Society (SIP/IRS) and Italian Society of Allergy, Asthma and Clinical Immunology (SIAAIC). *Multi-disciplinary Respiratory Medicine.* 2020; 15:36
26. Berry MA, Shaw DE, Green RH, et al. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35:1175-9.
27. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al. An Official ATS Clinical Practice Guideline: Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FeNO) for Clinical Applications. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 184:602-15.
28. Van Muylem A, Malinovschi A, Haccuria A. Exhaled nitric oxide and its predictive power related to lung function and bronchial inflammation. *Biochemical Pharmacology.* 2020; 179:114101.
29. Johnson ER, Matthay MA. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery.* 2010; 23(4):243-252.
30. Sarnat JA, Golan R, Greenwald R, et al. Exposure to traffic pollution, acute inflammation and autonomic Response in a panel of car commuters. *Environmental Research.* 2014; 133:66-76.
31. Eckel SP, Zhang Z, Habre R, et al. Traffic-related air pollution and alveolar nitric oxide in southern California children. *Eur Respir J.* 2016; 47:1348-1356.
32. Malinovschi A, Michils A, Högman M. Exhaled nitric oxide in clinical practice. *Breathborne Biomarkers and the Human Volatilome. Chapter 5.*
33. Louis R, Satia I, Ojanguren I, et al. European Respiratory Society Guidelines for the Diagnosis of Asthma in Adults. *Eur Respir J.* 2022; 15:2101585.
34. Guida G, Bagnasco D, Carriero V, et al. Critical evaluation of asthma biomarkers in clinical practice. *Front. Med.* 2022. 9:969243.
35. Guida G, Rolla G, Badiu I, et al. Determinants of exhaled nitric oxide in chronic rhinosinusitis. *Chest.* 2010; 137(3):658-64.
36. Agache I, Beltran J, Akdis C, et al. Efficacy and safety of treatment with biologicals (benralizumab, dupilumab, mepolizumab, omalizumab and reslizumab) for severe eosinophilic asthma. A systematic review for the EAACI Guidelines - recommendations on the use of biologicals in severe asthma.



## Bibliografia

Allergy. 2020; 75(5):1023-1042.

37. Charles D, Shanley J, Temple SN, et al. Real-world efficacy of treatment with benralizumab, dupilumab, mepolizumab and reslizumab for severe asthma: A systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy*. 2022; 52(5):616-627.

38. Paoletti G, Pepys J, Casini M, et al. Biologics in severe asthma: the role of real-world evidence from registries. *Eur Respir Rev*. 2022; 31(164):210278.

39. 2023 GINA Difficult-to-treat & Severe Asthma Guide. <https://ginasthma.org/severeasthma/>

40. Brusselle GG, Koppelman GH. Biologic

Therapies for Severe Asthma. *N Engl J Med*. 2022; 13;386(2):157-171.

41. Menigoz C, Dirou S, Chambellan A, et al. Use of FeNO to predict anti-IL-5 and IL-5R biologics efficacy in a real-world cohort of adults with severe eosinophilic asthma. *J Asthma*. 2023; 60(6):1162-1170.

42. Pavord ID, Deniz Y, Corren J, et al. Baseline FeNO Independently Predicts the Dupilumab Response in Patients With Moderate-to-Severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2023; 11(4):1213-1220.e2.

43. Feist J, Lipari M, Kale-Pradhan P. Tezepelumab in the Treatment of Uncontrolled Severe Asthma. *Ann Pharmacother*. 2023;

57(1):62-70.

44. Fokkens WJ, Viskens AS, Backer V, et al. EPOS/EUFOREA update on indication and evaluation of Biologics in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps 2023. *Rhinology*. 2023; 61(3):194-202.

45. Paoletti G, Casini M, Malvezzi L, et al. Very Rapid Improvement in Extended Nitric Oxide Parameters Is Associated With Clinical and Functional Improvement in Patients With Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps Treated With Dupilumab. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2023; 33(6):457-463.



**Lofarma** 1945

PRESENT AND FUTURE JUST IN ONE BREATH





# La Farmacogenetica e la Farmacogenomica nella Terapia dell'Asma

Mario Cazzola

*Cattedra di Malattie Respiratorie,  
Dipartimento di Medicina Sperimentale,  
Università di Roma Tor Vergata*

### INTRODUZIONE

L'asma è una malattia complessa caratterizzata da infiammazione cronica delle vie aeree, iperreattività bronchiale e variabilità dei sintomi respiratori. Il pilastro dell'attuale farmacoterapia dell'asma comprende l'uso di corticosteroidi inalatori (ICS) con un incremento della dose al peggiorare della gravità e del controllo della malattia e/o l'aggiunta di altri farmaci controllori, tra cui  $\beta_2$ -agonisti a lunga durata d'azione (LABA) per via inalatoria, antagonisti muscarinici a lunga durata d'azione (LAMA) per via inalatoria e inibitori dei leucotrieni (1). Quando il controllo dell'asma non viene raggiunto è utile iniziare un corticosteroide orale o un farmaco biologico. Tuttavia, anche quando il trattamento è stato ottimizzato, la risposta farmacologica può variare notevolmente persino tra pazienti che presentano caratteristiche cliniche simili. Tale variabilità è il risultato di diverse cause, tra cui la gravità della malattia, l'aderenza al trattamento, le condizioni mediche concomitanti, l'esposizione ambientale e alle infezioni, l'età, le interazioni farmacologiche e la definizione di risposta (miglioramento

della funzione polmonare, persistenza dei sintomi o esacerbazioni). Tuttavia, sembra che un ruolo cruciale nell'induzione di questa variabilità interindividuale nella risposta ai farmaci antiasmatici sia principalmente attribuibile alle caratteristiche dei geni bersaglio o degli enzimi coinvolti nel metabolismo dei farmaci, i quali sono influenzati geneticamente. In effetti, è stato stimato che tra il 60% e l'80% della variabilità nella risposta al trattamento farmacologico sia attribuibile a fattori genetici (2).

L'idea che le varianti genetiche possano

influenzare la risposta ai farmaci risale a diversi anni fa e ha portato all'introduzione dei termini "farmacogenetica" e "farmacogenomica" per descrivere il modo in cui la genetica incide sulla reazione individuale ai farmaci (3). La farmacogenetica si focalizza sui polimorfismi di singoli geni e sul modo in cui condizionano la risposta ai farmaci, esaminando geni specifici e le loro mutazioni che possono avere un impatto sull'efficacia e sulla sicurezza delle terapie. La farmacogenomica utilizza approcci a livello del genoma intero per valutare i determinanti multi-

### SOMMARIO

#### Parole chiave

- Farmacogenetica • farmacogenomica • asma • trattamento farmacologico
- corticosteroidi inalatori •  $\beta_2$ -agonisti • antagonisti muscarinici
- inibitori dei leucotrieni • farmaci biologici • immunoterapia allergene-specifica

#### Acronimi

- SNP polimorfismo a singolo nucleotide
- ICS corticosteroidi inalatori
- LABA  $\beta_2$ -agonisti a lunga durata d'azione
- LAMA antagonisti muscarinici a lunga durata d'azione
- CysLT cisteinil-leucotrieni
- CYP superfamiglia enzimatica del citocromo P450
- AIT immunoterapia allergene-specifica
- FEV1 volume espiratorio forzato in 1 secondo





SOMMARIO

*Farmacogenetica e farmacogenomica sono campi di studio che esaminano come le variazioni genetiche influenzano la risposta ai farmaci. Nella terapia dell'asma, questi approcci mirano a personalizzare il trattamento per migliorare l'efficacia e ridurre gli effetti collaterali. Un numero crescente di loci genetici è stato associato alle risposte terapeutiche ai farmaci per l'asma, ma l'effetto individuale di un singolo polimorfismo nucleotidico (SNP) è parziale. Infatti, i cambiamenti epigenetici possono modificare gli effetti genetici in modo specifico per il tempo, l'ambiente e i tessuti, i geni interagiscono tra loro in un network e le componenti non genetiche come l'esposizione ambientale, il sesso, i nutrienti e lo stile di vita possono interagire in modo significativo con la genetica per determinare la risposta alla terapia. In teoria, le risposte ai corticosteroidi inalatori nell'asma sono influenzate da diverse varianti genetiche. Tuttavia, le repliche dei risultati farmacogenetici sono poche, e siamo ancora lontani dal poter utilizzare questi risultati nella pratica clinica per il trattamento dell'asma. Questo probabilmente perché la risposta ai corticosteroidi è troppo complessa per essere determinata principalmente da poche varianti genetiche. Gli studi farmacogenetici sui  $\beta_2$ -agonisti si sono concentrati principalmente sul gene ADRB2. Tre SNP in particolare - Gly<sup>16</sup>Arg, Gln<sup>27</sup>Glu e Thr<sup>164</sup>Ile - hanno un significato funzionale rilevante. Tuttavia, anche altre varianti genetiche meno comuni possono influenzare la risposta individuale al salbutamolo. Inoltre, gli aplotipi, che sono combinazioni di varianti nel gene ADRB2, potrebbero giocare un ruolo importante. Sono state identificate molte varianti nei geni che codificano per i recettori muscarinici, specialmente nei recettori M<sub>2</sub> e, in misura minore, nei recettori M<sub>3</sub>. Tuttavia, non esiste una prova consistente che questi polimorfismi abbiano una rilevanza farmacologica significativa. Nonostante questi studi, la riproducibilità dei risultati farmacogenetici è spesso limitata, e la risposta broncodilatatrice prevista sulla base degli SNP identificati non sempre corrisponde alla realtà clinica. Si ipotizza che la genetica del sistema immunitario possa svolgere un ruolo chiave nell'immunoterapia allergene-specifica. Esiste una solida documentazione che dimostra come l'immunoterapia sublinguale riduca efficacemente il rischio di esacerbazioni dell'asma nei pazienti allergici agli acari della polvere domestica, specialmente in quelli con una predisposizione genetica all'asma e/o con un endotipo T2 sottostante.*

genici della risposta ai farmaci, consentendo una comprensione più completa e precisa di come le variazioni genetiche influenzino l'efficacia e la sicurezza dei farmaci nei diversi individui.

Tutti i geni presentano varianti quali polimorfismi a singolo nucleotide (single-nucleotide polymorphism o SNP) e variazioni del numero di copie; tuttavia, l'identificazione di quali di queste varianti influenzino la risposta ai farmaci risulta complessa (2). Tre principali approcci sono stati sviluppati per affrontare tale problematica (2). Il primo, basato sui geni candidati, si concentra sull'analisi delle variazioni genetiche all'interno di specifici geni selezionati a priori in base alla loro funzione nota o ipotizzata rispetto a un particolare tratto o fenotipo della malattia. Il secondo approccio, senza ipotesi predefinite, coinvolge lo studio dell'intero genoma (genome-wide association study o GWAS), consentendo di esaminare simultaneamente milioni di SNP in tutto il genoma. Il terzo metodo, multiomico, offre una visione più ampia e integrativa della farmacogenomica, combinando diversi livelli di profilazione molecolare su larga scala, come trascrittomica, proteomica e metabolomica, con dati sulle varianti genetiche.

I test farmacogenetici e farmacogenomici che prevedono la sicurezza e l'efficacia dei farmaci offrono benefici significativi ai pazienti, agli operatori sanitari e all'industria, poiché supportano l'approccio della medicina personalizzata utilizzando le informazioni genetiche per guidare le decisioni terapeutiche. Tuttavia, nonostante il loro potenziale, l'uso clinico di tali test rimane limitato rispetto ad altre

specialità come l'oncologia e le malattie cardiovascolari, poiché l'applicazione della farmacogenetica e della farmacogenomica al trattamento dell'asma risulta estremamente complessa (2). Ciò è dovuto al fatto che, sebbene siano stati

identificati numerosi loci genetici correlati alla risposta ai farmaci per l'asma, l'effetto di ciascun singolo SNP è limitato a causa del coinvolgimento di più proteine (4). Inoltre, i cambiamenti epigenetici e le interazioni gene-gene e gene-ambiente





Tabella 1-a

## Polimorfismi che influenzano la risposta agli ICS

## Variazioni geniche della via dei corticosteroidi

| GENE  | SNP                                             | RISPOSTA                                                                                                                             |
|-------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CRHR1 | rs242941<br>rs1876828                           | Aumento più marcato della funzione polmonare in risposta ai corticosteroidi                                                          |
|       | rs242941                                        | Associata a un $\Delta$ FEV1 % predetto negativo rispetto agli omozigoti ed eterozigoti dell'allele maggiore                         |
| NR3C1 | ER22/23EK (rs6189 e rs6190)                     | Riduzione significativa della capacità di transattivazione del GR $\alpha$                                                           |
|       | BclI (rs41423247)                               | Un miglioramento maggiore del FEV1 a 4 ore con ICS ad alte dosi<br>Associata alla resistenza ai corticosteroidi                      |
|       | N363S (rs6195)                                  | Associata ad un aumento della sensibilità ai corticosteroidi                                                                         |
|       | TthIII (rs10052957)                             | Associata alla resistenza ai corticosteroidi                                                                                         |
| STIP1 | rs6591838<br>rs223647<br>rs6591838<br>rs1011219 | Miglioramento della funzione polmonare in risposta ai corticosteroidi, con la variazione maggiore osservata con l'rs6591838          |
| FKBP4 | rs4713916                                       | Correlata con la resistenza ai corticosteroidi almeno nella malattia di Crohn                                                        |
| DUSP1 | rs881152<br>rs34507926                          | Associata a una maggiore risposta broncodilatatrice e a un migliore controllo dell'asma nei pazienti in trattamento regolare con ICS |
| HDAC1 | rs1741981                                       | Associata in modo significativo a un minore miglioramento del FEV1 in risposta alla terapia corticosteroidica negli asmatici         |
| HDAC2 | rs58677352                                      | Nessuna relazione con le possibili alterazioni della funzione polmonare indotte dai corticosteroidi                                  |

*Da Cazzola et al. (5), modificato.*

contribuiscono a complicare ulteriormente tali associazioni (4).

## 2. Fattori genetici

Sono stati individuati vari fattori genetici che esercitano un'incidenza sulle risposte ai farmaci per l'asma. Il nostro gruppo di ricerca ha già esaminato approfonditamente tali aspetti in precedenti pubbli-

cazioni (2, 5, 6), alle quali si rimanda per una bibliografia dettagliata. Anche altre dettagliate revisione della letteratura hanno riportato i dettagli delle associazioni putative di questi fattori genetici con la risposta alla terapia dell'asma (7-12) e a esse si può fare riferimento per maggiori dettagli bibliografici. Nel presente articolo ci concentriamo sulla sintesi degli

aspetti che riteniamo di maggior rilevanza o, perlomeno, di maggiore interesse per orientare ulteriori ricerche.

## 3. Corticosteroidi inalatori

Gli ICS sono un pilastro fondamentale nel trattamento dell'asma, ma le risposte dei pazienti variano ampiamente. Alcuni non traggono alcun beneficio, altri pre-



sentano gravi effetti collaterali, mentre la maggior parte si trova in una situazione intermedia. Il substrato genetico, in particolare le caratteristiche dei geni bersaglio dell'azione farmacologica o degli enzimi coinvolti nel metabolismo degli ICS, emerge come un fattore cruciale nella comprensione di questa variabilità. Gli ICS agiscono principalmente attraverso l'interazione con il recettore dei glucocorticoidi (GR), il quale è codificato dal gene NR3C1. Questa connessione attiva una serie di processi, come la transrepressione e la transattivazione, che aiutano a ridurre l'infiammazione nelle vie respiratorie. Tuttavia, la reazione agli ICS può variare considerevolmente da persona a persona, e ciò può essere influenzato da diversi fattori genetici. Si stima, infatti, che circa il 70% delle differenze osservate nella risposta agli ICS sia dovuto a variazioni genetiche.

Sono stati individuati numerosi polimorfismi genetici che sembrano influenzare la risposta al trattamento dell'asma con ICS (Tabella 1). Alcuni di questi polimorfismi, come il rs9910408 e il rs2240017 nel gene T-Box Transcription Factor 21 (TBX21), il quale codifica il T-box expressed in T cells (T-bet) che regola lo sviluppo dei linfociti T naïve, sono stati associati a miglioramenti significativi nei sintomi dell'asma e nella funzione polmonare negli adulti trattati con ICS. Al contrario, il polimorfismo rs28364072 nel gene del frammento Fc del recettore per l'IgE di tipo II (Fc fragment of IgE receptor II o FCER2), che codifica per un recettore per l'IgE a bassa affinità, sembra essere correlato a un rischio maggiore di gravi esacerba-

zioni dell'asma nonostante l'uso di ICS. Questo polimorfismo richiede spesso un aumento della dose giornaliera di ICS, poiché le mutazioni in tale gene possono compromettere la capacità di sottoregolare la via dell'IgE, che di per sé stessa è relativamente resistente alla regolazione indotta dai corticosteroidi.

Il gene CRHR1 è responsabile della codifica del recettore CRH 1 (CRHR1), al quale si lega l'ormone di rilascio della corticotropina (corticotropin-releasing hormone o CRH). Questa interazione avviene nell'ipofisi, dove il recettore CRHR1 modula il rilascio della corticotropina (ACTH). L'ACTH, a sua volta,

stimola la produzione di cortisolo e regola i livelli endogeni di corticosteroidi. Variazioni in questo gene potrebbero influenzare la risposta agli ICS tramite la regolazione dei livelli endogeni dei corticosteroidi. È ipotizzabile che varianti genetiche che determinano livelli più bassi di corticosteroidi endogeni possano favorire una migliore risposta agli ICS.

I polimorfismi del gene nuclear receptor subfamily 3 group C member 1 (NR3C1), il quale codifica per l'mRNA che produce il GR, determinano modifiche nelle strutture dei domini secondari e terziari del GR. Queste variazioni possono interferire con l'inizio della



Tabella 1-b

Polimorfismi che influenzano la risposta agli ICS

| Variazione genetica nella farmacocinetica dei corticosteroidi |                                                             |                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GENE                                                          | SNP                                                         | RISPOSTA                                                                                                                              |
| CYP3A                                                         | CYP3A4*22 (rs35599367)                                      | Associata a un significativo miglioramento dei punteggi di controllo dell'asma nei pazienti in trattamento con fluticasone propionato |
|                                                               | CYP3A5*3 (rs776746)                                         | Correlata ai punteggi di controllo dell'asma nei soggetti in trattamento con beclometasone per via inalatoria                         |
| MDR1 (ABCB1)                                                  | C1236T (rs1128503), G2677T/A (rs2032582) C3435T (rs1045642) | Possibile influenza sulla risposta iniziale agli steroidi nei bambini con sindrome nefrosica                                          |
| IPO13                                                         |                                                             | Associata a una ridotta iperreattività delle vie aeree tra i bambini con asma lieve-moderata che non utilizzano ICS a lungo termine   |

Da Cazzola et al. (5), modificato.



Tabella 1-C

## Polimorfismi che influenzano la risposta agli ICS

Altre variazioni genetiche che possono modificare l'attività dei corticosteroidi

| GENE   | SNP                     | RISPOSTA                                                                                                                            |
|--------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NR1I2  | rs3842689               | Associata a mancata risposta ai corticosteroidi                                                                                     |
| TBX21  | rs2240017               | Miglioramento dell'iperreattività bronchiale o migliore broncoprotezione durante il trattamento con ICS                             |
| GLCC1  | rs37972                 | Associata significativamente a una minore risposta alla terapia con ICS nei pazienti asmatici                                       |
| FBXL7  | rs10044254              | Associata a una migliore risposta sintomatica agli ICS solo nei bambini                                                             |
| ORMDL3 | rs2872507<br>rs72821893 | Associata con la risposta al trattamento con ICS nei soggetti atopici                                                               |
| VEGFA  | rs2146323               | Associata con la risposta alla terapia con ICS nei pazienti asmatici                                                                |
| BBS9   | rs2392165               | Associata significativamente all'uso di ICS nel trattamento del respiro sibilante e della tosse, con una migliore risposta agli ICS |
| FCER2  | T2206C<br>(rs28364072)  | Può predire una bassa risposta agli ICS nell'asma infantile                                                                         |

Da Cazzola et al. (5), modificato.

trascrizione e la stabilità dell'mRNA del GR. In linea generale, le mutazioni in NR3C1 sono associate alla resistenza ai corticosteroidi. Tali mutazioni possono compromettere la formazione dei complessi GR/corticosteroidi e ridurre la trascrizione, portando alla transrepressione dei geni che governano la sintesi proteica nell'ambito della risposta cellulare ai corticosteroidi. Questo fenomeno rappresenta un meccanismo fondamentale che contribuisce alla variazione individuale nella risposta agli ICS nel trattamento dell'asma.

Alcuni polimorfismi nel gene stress induced phosphoprotein 1 (STIP1) sono stati associati alle modifiche del volume espiratorio forzato in 1 secondo (FEV1) indotte dagli ICS. Anche se i meccanismi che contribuiscono alla variazione della risposta ai corticosteroidi sono ancora sconosciuti, si ipotizza che possano essere coinvolte interazioni con i chaperone molecolari della famiglia heat shock protein (HSP) che hanno la funzione di mantenere il GR in forma quiescente. Inoltre, polimorfismi nel gene protein kinase dual-specificity

phosphatase 1 (DUSP1) che codifica una proteina in grado di inattivare la p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) e ridurre l'espressione di citochine proinfiammatorie, sembrano influenzare la relazione tra l'uso di ICS e la risposta broncodilatatrice.

Altri geni, come il glucocorticoid-induced transcript 1 gene (GLCC1), lo histone deacetylase 1 (HDAC1), l'orosomucoid-like protein 3 (ORMDL3) e il vascular endothelial growth factor A (VEGFA) sono stati associati alla risposta agli ICS, evidenziando la complessità della risposta individuale a questi farmaci. Tuttavia, la variabilità nella risposta agli ICS potrebbe non essere interamente spiegata da varianti genetiche comuni o rare. L'uso di varianti genetiche come biomarcatori predittivi della risposta agli ICS potrebbe quindi non essere altrettanto efficace come in altre patologie.

Il metabolismo degli ICS avviene principalmente nel fegato, dove vengono convertiti in metaboliti inattivi da un gruppo di enzimi della famiglia del citocromo P450 (CYP), ovvero CYP3A4 e CYP3A5, presenti anche nell'intestino e nel polmone. Variazioni genetiche specifiche possono influenzare questo processo metabolico, modificando la risposta agli ICS. Variazioni genetiche, come l'allele rs35599367 (CYP3A422) e l'allele rs776746 (CYP3A53), riducono l'attività di CYP3A4 e CYP3A5, prolungando gli effetti antinfiammatori degli ICS nelle vie respiratorie. In tal modo essi influenzano positivamente l'efficacia dei corticosteroidi, consentendo un migliore controllo dell'asma. La P-glicoproteina 1 (P-gp), codificata



dal gene multidrug resistance 1 (MDR1 o ABCB1), espelle i corticosteroidi dalle cellule riducendo le concentrazioni intracellulari e la risposta agli ICS. Polimorfismi in MDR1, come rs1128503, rs2032582 e rs1045642, influenzano il trattamento con corticosteroidi. L'uso prolungato degli ICS può aumentare l'espressione della P-gp, riducendo così l'efficacia dei corticosteroidi sistemici, anch'essi substrati di questa glicopro-

teina. Tuttavia, la sovraespressione della P-gp è solo uno dei molti meccanismi che possono contribuire alla resistenza ai corticosteroidi nell'asma. Le variazioni nel gene importine13 (IPO13), inducibile dai corticosteroidi, influenzano la traslocazione nucleare del GR e gli effetti antinfiammatori dei corticosteroidi. Una specifica variazione genetica di IPO13 è associata a un miglioramento della reattività delle vie aeree

nei bambini con asma da lieve a moderata trattati con ICS, suggerendo una maggiore biodisponibilità dei corticosteroidi endogeni nel nucleo. Tuttavia, sono necessarie ulteriori ricerche per determinare se tali variazioni possano influenzare il dosaggio degli ICS.

4. Broncodilatatori inalatori

Si ritiene che diversi SNP influenzino la broncodilatazione, anche se molti di essi,

Tabella 2 Polimorfismi che influenzano la risposta ai β2-agonisti

| GENE  | SNP                                     | CLASSE | VARIANTE          | RISPOSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------|-----------------------------------------|--------|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ADRB2 | Gly <sup>16</sup> Arg (A46G, rs1042713) | SABA   | Arg <sup>16</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Maggiore broncodilatazione acuta;</li><li>• Risposta clinica compromessa con uso regolare dei SABA;</li><li>• Maggiore suscettibilità alla desensibilizzazione con un uso regolare.</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                           |
|       |                                         |        | Gly <sup>16</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Risposta più rapida durante le esacerbazioni acute dell'asma;</li><li>• Migliore broncodilatazione durante l'uso regolare dei SABA.</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|       |                                         | LABA   | Arg <sup>16</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Risposta terapeutica peggiore alla somministrazione regolare di salmeterolo;</li><li>• Maggiore riduzione della broncoprotezione in risposta all'uso di LABA;</li><li>• Effetto broncoprotettivo del trattamento regolare con LABA sulla broncocostrizione indotta dall'esercizio fisico in soggetti con asma non influenzato;</li><li>• Diminuzione della broncodilatazione durante il periodo di recupero dopo l'esercizio a breve termine.</li></ul> |
|       |                                         |        | Gly <sup>16</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Miglioramento della funzione delle vie aeree in Gly<sup>16</sup> simile a quello di Arg<sup>16</sup> con LABA + ICS;</li><li>• Risposta terapeutica o tolleranza alla terapia a lungo termine con formoterolo + budesonide simile a quella di Arg<sup>16</sup> e Gly<sup>16</sup>Arg.</li></ul>                                                                                                                                                         |

ITA





Tabella 2

Polimorfismi che influenzano la risposta ai  $\beta 2$ -agonisti

| GENE  | SNP                                       | CLASSE | VARIANTE          | RISPOSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------|-------------------------------------------|--------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ADRB2 | Gln <sup>27</sup> Glu (C79G, rs1042714)   | SABA   | Glu <sup>27</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Non riduce l'espressione dei <math>\beta 2</math>-AR;</li><li>• Miglioramento maggiore del PEF, anche se molti pazienti rispondono in maniera inadeguata;</li><li>• Risposta più rapida durante un episodio acuto di asma.</li></ul>                                                     |
|       |                                           |        | Gln <sup>27</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Desensibilizzazione <math>\beta 2</math>-AR significativamente maggiore, con una diminuzione della broncodilatazione da salbutamolo;</li><li>• Risposta più lenta durante un episodio di asma acuto.</li></ul>                                                                           |
|       |                                           | LABA   | Glu <sup>27</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Migliore risposta alla terapia con LABA + ICS negli asmatici di età superiore a 50 anni.</li></ul>                                                                                                                                                                                       |
|       |                                           |        | Gln <sup>27</sup> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Migliore risposta alla terapia con LABA + ICS negli asmatici di età inferiore a 50 anni.</li></ul>                                                                                                                                                                                       |
| ADRB2 | Thr <sup>164</sup> Ile (C491T, rs1800888) | SABA   |                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Minore broncodilatazione;</li><li>• Refrattarietà al salbutamolo negli asmatici gravi.</li></ul>                                                                                                                                                                                         |
|       |                                           | LABA   |                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Durata d'azione più breve per il salmeterolo;</li><li>• Più visite ambulatoriali urgenti o al pronto soccorso per esacerbazioni dell'asma;</li><li>• Associata all'ospedalizzazione per esacerbazioni dell'asma, ma non nei pazienti con asma meno grave o con più eosinofili.</li></ul> |
| ADCY9 | Ile <sup>772</sup> Met (rs2230739)        | SABA   |                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Associata alla broncodilatazione acuta nei pazienti asmatici trattati con ICS.</li></ul>                                                                                                                                                                                                 |
|       |                                           | LABA   |                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Associata alla broncodilatazione acuta in pazienti trattati per otto settimane con budesonide e formoterolo.</li></ul>                                                                                                                                                                   |
| ARG1  | rs2781659                                 | SABA   |                   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Associata alla broncodilatazione acuta.</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                        |



Tabella 2

Polimorfismi che influenzano la risposta ai  $\beta_2$ -agonisti

| GENE        | SNP                                                          | CLASSE | VARIANTE | RISPOSTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------|--------------------------------------------------------------|--------|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NOS3        | Asp <sup>298</sup> Glu (rs1799983 TT)                        | LABA   |          | • Maggiore risposta del FEV1 al trattamento con LABA + ICS.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| THRB        | rs892940                                                     | SABA   |          | • Associata alla broncodilatazione.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| SPATS2L     | rs295137 TT                                                  | SABA   |          | • Associata alla broncodilatazione.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| ADCYAP1R1   | rs34548976                                                   | SABA   |          | • Associata a una broncodilatazione ridotta.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| ADRB2       | Gly <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup>                          | SABA   |          | • Associata a una broncodilatazione ridotta rispetto ai pazienti con Arg <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup> .                                                                                                                                                                                                                                                              |
|             |                                                              | LABA   |          | • Miglioramento della broncodilatazione, minore frequenza di ricoveri e visite di emergenza e riduzione dell'uso di ICS/LABA nell'asma.                                                                                                                                                                                                                                 |
|             | Arg <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup>                          | SABA   |          | • Broncodilatazione ridotta nei pazienti con Gly <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup> e aumentata nei pazienti con Gly <sup>16</sup> Glu <sup>27</sup> ;<br>• Risposta al salbutamolo nei pazienti con Arg <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup> significativamente peggiore rispetto ai pazienti con Gly <sup>106</sup> Gln <sup>27</sup> e Gly <sup>16</sup> Glu <sup>27</sup> . |
| ADCY9 ADRB2 | Ile <sup>772</sup> Met e Arg <sup>16</sup> Gln <sup>27</sup> | LABA   |          | • Beneficio terapeutico additivo in termini di miglioramento percentuale del FEV1 dopo 8 e 12 settimane di trattamento con budesonide + formoterolo negli asmatici.                                                                                                                                                                                                     |

Da Matera et al. (6), modificato.

identificati in ampie popolazioni, hanno solo un lieve impatto sulla risposta al trattamento. Inoltre, la letteratura è ricca di dati contrastanti e si rimanda i lettori ai singoli articoli per un approfondimento su tali discordanze.

4.1  $\beta_2$ -agonisti

I  $\beta_2$ -agonisti sono efficaci broncodilata-

tori perché rilassano la muscolatura liscia delle vie aeree legandosi ai  $\beta_2$ -recettori adrenergici ( $\beta_2$ -AR) sulle cellule della muscolatura liscia delle vie aeree. Questi recettori sono accoppiati a proteine G e sono codificati dal gene ADRB2 sul cromosoma 5q31.32, un'area collegata ai fenotipi associati all'asma. Il trascritto ADRB2 include un cistrone (5' LC) che

influenza la traduzione dell'mRNA e l'espressione cellulare del ADRB2. Gli studi farmacogenetici sui  $\beta_2$ -agonisti si sono concentrati sul ADRB2, identificando diversi SNP significativi (Tabella 2). Il polimorfismo nella posizione 16 del  $\beta_2$ -AR (rs1042713), che comporta la sostituzione dell'arginina (Arg<sup>16</sup>) con la



Tabella 3

Polimorfismi che influenzano la risposta agli inibitori dei leucotrieni

| GENE    | SNP                                        | RISPOSTA                                                                                                                      |
|---------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ALOX5   | rs2115819                                  | Gli omozigoti GG hanno una migliore risposta del FEV1.                                                                        |
|         | Ripetizioni tandem del dominio legante Sp1 | Tasso di esacerbazioni più basso, migliore risposta del FEV1 e meno $\beta_2$ -agonisti al bisogno.                           |
| LTA4H   | rs2660845                                  | Migliore risposta clinica al montelukast.                                                                                     |
| SLC02B1 | rs12422149                                 | La clearance del montelukast è più elevata nei pazienti con genotipo GA e AA rispetto al genotipo GG.                         |
| CysLTR1 | 927T>C                                     | Correlata all'intolleranza all'aspirina.                                                                                      |
|         | -634C>T                                    | Associata in modo significativo al tasso di risposta farmacologica di montelukast.                                            |
| CysLTR2 | rs912277 e rs912278                        | Migliore risposta alla terapia con inibitori dei leucotrieni legato ad aumento della concentrazione di cisteinil-leucotrieni. |
| MLLT3   | rs6475448                                  | Migliore risposta al montelukast.                                                                                             |

Da et Zhao et al. (12), modificato

glicina (Gly<sup>16</sup>), influisce sulle risposte ai  $\beta_2$ -agonisti. Gli individui omozigoti per Arg<sup>16</sup> (Arg<sup>16</sup>Arg) mostrano una risposta acuta maggiore ai  $\beta_2$ -agonisti rispetto agli omozigoti per Gly<sup>16</sup> (Gly<sup>16</sup>Gly), ma i bambini omozigoti Gly<sup>16</sup>Gly rispondono più rapidamente in corso di esacerbazioni acute dell'asma.

Gli omozigoti Arg<sup>16</sup>Arg hanno una probabilità 5,3 volte maggiore di rispondere favorevolmente al salbutamolo rispetto agli omozigoti Gly<sup>16</sup>Gly, mentre gli etero-

zigoti Arg<sup>16</sup>Gly mostrano una risposta circa 2,3 volte migliore rispetto agli omozigoti Gly<sup>16</sup>Gly. Tuttavia, gli omozigoti Arg<sup>16</sup>Arg rispondono meno favorevolmente a dosi prolungate e ripetute di  $\beta_2$ -agonisti. Questo suggerisce che la terapia regolare con salbutamolo potrebbe non essere adatta per gli omozigoti Arg<sup>16</sup>Arg, che sono più soggetti alla desensibilizzazione, mentre gli omozigoti Gly<sup>16</sup>Gly potrebbero avere una ridotta espressione basale di ADRB2. Va, però, sottolineato

che studi in vitro hanno suggerito che il recettore Gly<sup>16</sup>Gly è più suscettibile alla desensibilizzazione indotta da agonisti rispetto al recettore Arg<sup>16</sup>Arg.

Gli individui con il genotipo Arg<sup>16</sup>Arg hanno una risposta terapeutica peggiore ai LABA rispetto a quelli con il genotipo Gly<sup>16</sup>Gly, anche quando utilizzano ICS in concomitanza. Sono anche più predisposti alle esacerbazioni, soprattutto se sono bambini o giovani adulti. Tuttavia, l'aggiunta di un LABA a una dose moderata di ICS migliora la funzione delle vie aeree in modo simile per entrambi i genotipi, senza differenze clinicamente significative in altri parametri. La correlazione tra la risposta ai LABA e la variante rs1042713 è più evidente nei bambini rispetto agli adulti.

Rs1042714 è un'altra variante importante in cui la glutammina (Gln) è sostituita dall'acido glutammico (Glu) in posizione 27 del  $\beta_2$ -AR. Gli omozigoti Gln<sup>27</sup>Gln mostrano una maggiore desensibilizzazione ai  $\beta_2$ -agonisti e una ridotta risposta broncodilatatoria al salbutamolo rispetto agli omozigoti Glu<sup>27</sup>Glu che, al contrario, presentano un miglioramento maggiore del flusso espiratorio di picco (PEF) con i  $\beta_2$ -agonisti a breve durata (SABA), verosimilmente perché questa variazione migliora il legame del  $\beta_2$ -AR con i  $\beta_2$ -agonisti. Comunque, i pazienti con il genotipo eterozigote Gln<sup>27</sup>Glu manifestano generalmente un miglioramento della funzione polmonare, indotto dal salbutamolo superiore, rispetto a quello ottenibile con gli altri genotipi. Durante gli episodi acuti di asma gli individui Gln<sup>27</sup>Gln rispondono più lentamente ai  $\beta_2$ -agonisti, seguiti



dagli eterozigoti Gln<sup>27</sup>Glu, mentre gli individui Glu<sup>27</sup>Glu rispondono più rapidamente. La combinazione di LABA e basse o moderate dosi di ICS produce risultati migliori nei pazienti asmatici che hanno meno di 50 anni e presentano l'allele Gln<sup>27</sup>. Nei pazienti sopra i 50 anni, la risposta è migliore se è presente l'allele Glu<sup>27</sup>. Tuttavia, tre studi randomizzati che hanno comparato Gln<sup>27</sup>Glu, Gln<sup>27</sup>Gln e Glu<sup>27</sup>Glu non hanno trovato alcuna correlazione tra tali varianti e i risultati della funzione polmonare.

Il polimorfismo rs1593054403 nel  $\beta_2$ -AR, che sostituisce la treonina (Thr) con l'isoleucina (Ile) nella posizione 164, è meno comune rispetto agli altri due polimorfismi. Questa variazione riduce la capacità del recettore di accoppiarsi con la proteina G e diminuisce l'affinità per il ligando, rendendo il recettore meno sensibile agli agonisti. Nei pazienti con il polimorfismo rs1593054403 la risposta ai  $\beta_2$ -agonisti è ridotta e la durata d'azione del salmeterolo è più breve. Inoltre, alcuni studi suggeriscono che questo polimorfismo potrebbe ridurre l'efficacia del salbutamolo negli asmatici gravi. In uno studio osservazionale gli asmatici con il polimorfismo rs1593054403 trattati con LABA hanno avuto bisogno di più visite ambulatoriali o di pronto soccorso per esacerbazioni rispetto ai pazienti con il genotipo Thr<sup>164</sup>Thr, mentre quelli con il genotipo Thr<sup>164</sup>Ile hanno necessitato di meno visite al pronto soccorso se non trattati con LABA rispetto agli omozigoti Thr<sup>164</sup>Thr. Questa differenza è stata però osservata solo nei pazienti con asma meno grave o con alti livelli di eosinofili. Esistono molte altre varianti genetiche

non comuni, soprattutto nei geni dei trasportatori di soluti, che comprendono proteine di trasporto di membrana coinvolte nel movimento di metaboliti endogeni e degli xenobiotici. Anche i geni della via  $\beta_2$ -AR accoppiata a proteine G possono contribuire alla variabilità individuale nella risposta ai  $\beta_2$ -agonisti. Tra le varie varianti collegate alla risposta broncodilatante vanno menzionate quelle nei geni adenylyl cyclase (ADCY9), corticotrophin hormone receptor 2 (CRHR2), arginase 1 (ARG1), thyroid hormone receptor 1 (THRB) e corticotropin-releasing hormone receptor-2 (CRHR2). Infine, la variante rs34548976 nel gene adenylyl cyclase – activating polypeptide 1 receptor type 1 (ADCYAP1R1) è stata associata a una ridotta broncodilatazione causata da meccanismi neuro-ormonali che portano alla sottoregolazione del recettore  $\beta_2$ -AR nei bambini altamente stressati.

Le variazioni funzionali del recettore  $\beta_2$ -AR possono essere influenzate da una combinazione di polimorfismi piuttosto che da un singolo SNP. Uno studio ha identificato 12 aplotipi nel gene ADRB2, ma nessun singolo SNP può essere utilizzato come marcatore per questi aplotipi. I quattro aplotipi più comuni sono Arg<sup>16</sup>Gln<sup>27</sup>, Gly<sup>16</sup>Glu<sup>27</sup>, Gly<sup>16</sup>Gln<sup>27</sup> e Arg<sup>16</sup>Glu<sup>27</sup>. C'è una correlazione tra gli alleli Arg<sup>16</sup> e Gln<sup>27</sup> e la tachifilassi, mentre la co-ereditarietà di Glu<sup>27</sup> e Gly<sup>16</sup> favorisce il genotipo Gly<sup>16</sup>. Le cellule con l'aplotipo Gly<sup>16</sup>Gln<sup>27</sup> mostrano minore desensibilizzazione; tuttavia, nell'asma, tale aplotipo è associato a una modesta broncodilatazione, mentre Gly<sup>16</sup>Glu<sup>27</sup> porta a una migliore risposta. Comunque, ap-

parentemente, la risposta al salbutamolo nei pazienti con l'aplotipo Arg<sup>16</sup>Gln<sup>27</sup> è peggiore rispetto a quella nei pazienti con gli aplotipi Gly<sup>16</sup>Gln<sup>27</sup> e Gly<sup>16</sup>Glu<sup>27</sup>.

#### 4.2 Antagonisti muscarinici

Gli antagonisti dei recettori muscarinici inibiscono l'attività di questi recettori e sono una terapia efficace per indurre broncodilatazione. Numerosi polimorfismi sono stati identificati nei geni dei diversi sottotipi dei recettori muscarinici.

Il gene cholinergic receptor muscarinic 3 (CHRM3) umano, situato sul cromosoma 1q43, è il più polimorfico tra tali geni, con oltre 1100 SNP; tuttavia, non è stata trovata una prova consistente della rilevanza farmacologica di questi SNP. La variante rs6962027 nel gene CHRM2, situato sul cromosoma 7q31–35, comprende sei esoni e presenta numerosi siti di inizio della trascrizione. Questa variante comporta un cambio da timina (T) ad adenina (A) nell'ultimo esone ed è associata a una scarsa risposta all'ipratropio nei pazienti asmatici. Anche la variante rs1824024 in CHRM2 gioca un ruolo importante nel regolare le risposte del recettore, causando una notevole riduzione dell'efficacia degli antagonisti dei recettori muscarinici. Il SNP rs13247260 è stato significativamente associato alla risposta al tiotropio negli asmatici gravi.

La risposta individuale a un trattamento che ha come bersaglio un singolo tipo di recettore accoppiato a proteine G (G protein-coupled receptor o GPCR), come un antagonista dei recettori muscarinici, può essere influenzata da geni



Tabella 4

Variazioni genetiche nei geni associati alla risposta immunitaria e il loro impatto sull'asma e possibilmente sulla terapia con immunoterapia allergene-specifica (AIT).

| GENI                                 | POLIMORFISMI GENETICI              | EFFETTI SULLA RISPOSTA IMMUNITARIA                                                                                                         | IMPATTO SULL'AIT                                                                                          |
|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| HRH1                                 | Diversi polimorfismi               | Ipersensibilità aumentata agli allergeni, maggiore gravità delle reazioni allergiche.                                                      | Risposta meno efficace all'AIT.                                                                           |
| IL4                                  | C-33T, C-589T                      | Aumentata produzione di IgE specifiche per allergeni, maggiore severità dei sintomi asmatici.                                              | Risposta inferiore all'AIT.                                                                               |
| IL13                                 | C-1112T, G+2044A                   | Aumentata produzione di IgE specifiche per allergeni, maggiore severità dei sintomi asmatici.                                              | Risposta inferiore all'AIT.                                                                               |
| IL10                                 | Alti livelli di trascritti di IL10 | Modulazione della risposta immunitaria, riduzione dell'infiammazione.                                                                      | Predittiva di una buona risposta all'AIT.                                                                 |
| IGHE                                 | Diversi polimorfismi               | Livelli elevati di IgE specifiche.                                                                                                         | Un livello di IgE specifiche superiore a 10 kU/l indica una buona probabilità di efficacia dell'AIT.      |
| IGH                                  | Sequenze IGHA e IGHG               | Maggiore uniformità delle sequenze post-AIT.                                                                                               | Utilizzate per monitorare l'efficacia del trattamento.                                                    |
| TRB                                  | Sequenze del TRB                   | Maggiore diversità nelle persone allergiche rispetto alle non allergiche.                                                                  | Difficoltà nel distinguere cellule T nuove da quelle di memoria, promettenti come biomarcatori per l'AIT. |
| ORMDL3                               | SNP rs7216389                      | Alterati livelli dell'mRNA di ORMDL3, maggiore predisposizione alle esacerbazioni dell'asma.                                               | Riduzione del rischio di esacerbazioni dell'asma in pazienti omozigoti per questo SNP.                    |
| MUC5B                                | Diversi polimorfismi B             | Maggiore predisposizione all'asma allergica e aumento della severità dei sintomi respiratori.                                              | Risposta variabile all'AIT.                                                                               |
| Geni delle giunzioni strette (CDHR3) | Ridotta espressione di CDHR3       | Aumento della permeabilità delle vie aeree. Maggiore vulnerabilità agli allergeni e aumento della suscettibilità alle reazioni allergiche. | Minore efficacia dell'AIT.                                                                                |





che codificano altri recettori GPCR come i  $\beta_2$ -ARs; in particolare, le persone omozigoti per Arg<sup>16</sup> in ADRB2 possono essere più sensibili agli antagonisti dei recettori muscarinici, dimostrando un impatto epistatico dei loci ADRB2 sui geni CHRM.

### 4.3 Inibitori dei leucotrieni

Gli inibitori dei cisteinil-leucotrieni (CysLT) agiscono bloccando gli enzimi coinvolti nella formazione dei leucotrieni o il legame dei leucotrieni ai recettori CysLT1 (CysLTR1); tuttavia, la risposta dei pazienti a questi farmaci può variare a causa delle differenze nei loro geni.

In effetti, gli enzimi coinvolti nella formazione dei leucotrieni sono polimorfici, il che significa che esistono in diverse varianti genetiche (Tabella 3). Questi polimorfismi possono influenzare la quantità di leucotrieni prodotta. Le varianti nei geni che codificano gli enzimi coinvolti, come 5-LO (ALOX5), la proteina attivatrice della 5-lipossigenasi (ALOX5AP), la sintesi del LTC<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>S) e l'enzima LTA<sub>4</sub>H (LTA<sub>4</sub>H), che converte LTA<sub>4</sub> in LTB<sub>4</sub>, possono influenzare la risposta dei pazienti ai farmaci anti-leucotrieni.

Ad esempio, alcuni polimorfismi di ALOX5 possono migliorare la risposta agli antagonisti dei recettori dei leucotrieni e ridurre il rischio di esacerbazioni asmatiche. Polimorfismi di ALOX5AP sono implicati nella risposta a tali agenti farmacologici, influenzando la sensibilità ai broncodilatatori. Nel 56% dei pazienti con variante del gene LTC<sub>4</sub>S si osserva un'aumentata sintesi di CysLTs, il che suggerisce che questi pazienti po-

trebbero rispondere meglio alla terapia con anti-leucotrieni; al contrario, polimorfismi in LTA<sub>4</sub>H possono aumentare l'incidenza di attacchi di asma nonostante il trattamento con montelukast, probabilmente a causa di livelli più elevati di LTB<sub>4</sub> nel sangue.

Anche i recettori dei leucotrieni, CysLT1 e CysLT2, possono presentare variabilità genetica. Varianti di CYSLTR1 sono stati correlate all'intolleranza all'aspirina e alla necessità di utilizzare montelukast negli asmatici intolleranti all'aspirina. Tuttavia, presi isolatamente, i polimorfismi di CYSLTR1 non sembrano avere un impatto significativo sulla risposta a montelukast o zileuton. Relativamente ai polimorfismi di CYSLTR2, le varianti rs912277 e rs912278 aumentano la concentrazione di cisteinil-leucotrieni, suggerendo una migliore risposta al trattamento con inibitori dei leucotrieni.

Polimorfismi nei geni che codificano MRP1 (ABCC1) e il polipeptide trasportatore di anioni organici od OATP (solute carrier organic anion transporter family, member 2B o SLCO2B1) possono influenzare la risposta a montelukast e zileuton. La variante rs12422149 di SLCO2B1 è associata a una riduzione del 30% della concentrazione plasmatica di montelukast; al contrario, la variante rs6475448 del gene mixed-lineage leukemia translocated to chromosome 3 protein (MLLT3), è correlata con una migliore risposta al montelukast.

### 4.4 Teofillina

La teofillina è ancora utilizzata nel trattamento dell'asma, anche se il suo ruolo è più limitato rispetto al passato. Essa

è ampiamente metabolizzata nel fegato. Il processo di metabolizzazione avviene principalmente grazie a enzimi della famiglia del citocromo P450. In particolare, CYP1A è il principale responsabile della metabolizzazione della teofillina, mentre CYP2E1 svolge un ruolo minore. Essi agiscono seguendo due diversi percorsi principali: CYP1A utilizza la via della N-demetilazione, mentre CYP2E1 segue la via della 8-idrossilazione.

Variazioni genetiche in questi enzimi possono influenzare significativamente la velocità con cui la teofillina viene metabolizzata; ad esempio, il polimorfismo rs2069514 del gene CYP1A2 aumenta la velocità con cui la teofillina viene eliminata dall'organismo. Al contrario, il polimorfismo rs762551 (CYP1A2\*1F) ne rallenta il metabolismo riducendo l'attività del CYP1A2. Ciò può portare a livelli elevati di teofillina nel sangue, aumentando il rischio di effetti collaterali come nausea, vomito, mal di testa e, nei casi gravi, convulsioni e aritmie cardiache.

Sebbene il gene CYP2E1 svolga un ruolo minore, le variazioni genetiche e le interazioni con altri farmaci che influenzano la sua attività possono comunque essere clinicamente rilevanti. Infatti, alcuni di questi polimorfismi, come -1055 C>T, -1027 T>C, -807 T>C, -1566 T>A, e -1295 G>C, possono ridurre l'attività del CYP2E1, influenzando così la capacità del fegato di metabolizzare la teofillina.

### 5. Biologici

I pazienti idonei al trattamento con farmaci biologici mostrano una rispo-



sta variabile a tale terapia, ma ad oggi la causa di questa variabilità non è del tutto chiara. È plausibile che polimorfismi nei geni codificanti per citochine o i loro recettori possano influenzare la risposta terapeutica.

Omalizumab, un anticorpo monoclonale anti-IgE, è uno dei biologici la cui efficacia può essere modulata da polimorfismi genetici in vari geni coinvolti nei meccanismi d'azione. Due SNP nel gene Fc Epsilon Receptor 1A (FCER1A), rs2251746 e rs2427837, sono associati a una maggiore probabilità di rispondere positivamente a omalizumab, verosimilmente a causa di livelli più elevati di IgE totali e specifiche. La variante rs2230199 del gene Complemento 3 (C3) è stata collegata a una maggiore risposta al trattamento con omalizumab in termini di riduzione delle esacerbazioni, probabilmente per alterazioni della funzionalità del complemento. Tre varianti del recettore Fcγ – rs1801274-G, rs3219018-C e rs396991-C – sono state associate a un miglioramento della funzione polmonare. Questi SNP possono influenzare la stabilità del legame nella regione Fc e la regolazione delle risposte degli anticorpi IgG.

Per quanto riguarda il mepolizumab, un anticorpo monoclonale anti-IL-5, è stato scoperto che la variante intronica rs1021621 (A>G) nel gene transcription factor POU class 2 homeobox 1 (POU2F1) è associata a una riduzione del 20% del tasso di esacerbazioni clinicamente significative.

Alcuni super responder al benralizumab, un anticorpo monoclonale che si lega specificamente al recettore dell'IL-5

(IL-5Rα) sulla superficie degli eosinofili e delle cellule progenitrici degli eosinofili, sono stati descritti come pazienti con un'elevata espressione di geni correlati agli eosinofili nel sangue periferico. Dopo un trattamento con benralizumab questi super responder hanno mostrato riduzioni significative nell'espressione dei geni associati alle risposte infiammatorie eosinofiliiche, tra cui IL5RA. Pertanto, l'espressione di IL5RA potrebbe essere un utile biomarcatore di risposta, risultando più discriminante rispetto al conteggio degli eosinofili.

## **6. Applicazione della farmacogenomica alla immunoterapia allergene-specifica**

L'immunoterapia allergene-specifica (AIT), che nel linguaggio comune viene impropriamente chiamata vaccino antiallergico, è raccomandata per i pazienti con asma indotta da allergeni, comorbilità con rinite allergica e FEV1 in stato stabile  $\geq 70\%$  del valore previsto, ma insufficientemente controllati con ICS (1). L'evidenza generata nella vita reale indica che l'AIT può ridurre l'incidenza degli attacchi di asma, diminuire l'uso di farmaci per l'asma e rallentare la progressione della malattia.

Tuttavia, similmente alle differenze individuali nella risposta ai farmaci, l'AIT ha mostrato significative variazioni nell'entità delle risposte immunitarie tra gli individui sottoposti a tale terapia; sebbene la comprensione dei meccanismi immunologici distintivi dell'AIT nell'asma rimanga limitata, si ipotizza che diversi fattori possano influenzare

queste variazioni e la genetica del sistema immunitario svolgerebbe un ruolo chiave (13).

La farmacogenomica offre strumenti preziosi per indagare i principali fattori genetici che possono influenzare la risposta all'AIT.

Variazioni genetiche nei geni che regolano la risposta immunitaria, come quelli associati alla produzione di citochine pro-infiammatorie o all'espressione dei recettori delle cellule T, possono influenzare la capacità del sistema immunitario di tollerare gli allergeni e di rispondere in modo appropriato alla terapia (Tabella 4). Un esempio documentato riguarda il gene che codifica per il recettore dell'istamina H1 (HRH1) (14). Alcuni polimorfismi in questo gene sono stati associati a un'ipersensibilità aumentata agli allergeni e a una maggiore gravità delle reazioni allergiche nell'asma (15). I portatori di tali polimorfismi hanno una risposta meno efficace all'AIT rispetto a quelli che non presentano questa variante genetica.

Anche alcuni geni coinvolti nella regolazione dell'infiammazione delle vie aeree, come quelli che codificano per citochine, chemochine o fattori di crescita, possono influenzare la gravità dell'asma e la risposta alla terapia tramite l'AIT. I pazienti asmatici con specifici polimorfismi nel gene IL4 (C-33T e C-589T) e in quello IL13 (C-1112T e G+2044A) mostrano una produzione aumentata di IgE specifiche per gli allergeni e una maggiore severità dei sintomi asmatici (16). Inoltre, questi pazienti evidenziano una risposta inferiore all'AIT rispetto a coloro che non possiedono tali poli-



morfismi (17). Al contrario, alti livelli di trascritti di IL10 nel sangue di pazienti allergici agli acari della polvere di casa prima dell'AIT sono risultati predittivi dell'effetto della terapia (18).

Livelli significativamente più elevati di IgE si riscontrano anche nei soggetti con determinati polimorfismi nel gene IGHE (19). Un livello di IgE specifiche superiore a 10 kU/l prima della prescrizione dell'AIT potrebbe indicare all'allergologo che l'AIT ha una buona probabilità di essere efficace (20).

Le sequenze dei trascritti IGH, ovvero particolari sequenze di DNA sono state esaminate su larga scala per individuare specifiche reazioni agli allergeni nel sangue (21). Si è scoperto che queste sequenze cambiano dopo AIT, mostrando una maggiore uniformità nelle sequenze IGHA e IGHG. Inoltre, l'analisi dei trascritti IgG in pazienti allergici al polline di loglio, prima e dopo tre anni di trattamento con immunoterapia sublinguale, ha mostrato un aumento delle sequenze IGHG2 e IGHG4. Questi cambiamenti potrebbero essere usati come indicatori per monitorare le malattie allergiche e l'efficacia dei trattamenti.

Simili ricerche sono state fatte per le sequenze del T-cell receptor beta (TRB) e hanno mostrato una maggiore diversità nelle persone allergiche rispetto ai non allergici (21). Tuttavia, poiché i geni TRB non subiscono modifiche che permetterebbero di distinguere le cellule T nuove da quelle di memoria, una chiara distinzione risulta difficile. Nonostante ciò, grazie ai progressi nella sequenziazione e nell'analisi informatica, questo metodo fa sperare nella identificazione

di biomarcatori molecolari atti a valutare il successo dell'AIT.

Un recente studio è risultato particolarmente intrigante perché ha dimostrato l'efficacia dell'immunoterapia sublinguale per allergia da acari della polvere domestica nel ridurre il rischio di esacerbazioni dell'asma in un gruppo specifico di pazienti geneticamente predisposti (22). Questi dati suggeriscono che gli individui omozigoti per il SNP rs7216389 nel gene ORMDL3, i quali sono noti per avere un rischio elevato di esacerbazioni legato a livelli alterati dell'mRNA di ORMDL3, possono trarre un beneficio clinico rilevante da tale trattamento. Questa scoperta potrebbe influenzare le strategie terapeutiche future, orientando verso un utilizzo più personalizzato della AIT basato su specifici marcatori genetici.

Infine, alcune variazioni genetiche possono impattare sulla reattività delle vie respiratorie agli allergeni e sull'entità delle risposte allergiche, modulando in tal modo indirettamente sull'efficacia dell'AIT. Ad esempio, specifici polimorfismi nel gene MUC5B sono correlati a una maggiore predisposizione all'asma allergica e a una severità aumentata dei

sintomi respiratori (23). Individui con tali variazioni genetiche manifestano un'alterata produzione di muco e una compromissione della funzione protettiva della barriera epiteliale delle vie respiratorie, il che li rende più sensibili agli allergeni e più suscettibili alle reazioni allergiche. Allo stesso modo, i geni responsabili della regolazione delle giunzioni strette tra le cellule epiteliali delle vie respiratorie, come quelli che codificano per le proteine delle giunzioni occludenti, possono influenzare l'integrità della barriera epiteliale e la permeabilità agli allergeni, anche se l'esatto contributo di questi geni ai difetti della barriera epiteliale e all'infiammazione delle vie aeree non è ancora compreso completamente (24). Polimorfismi in questi geni potrebbero compromettere la funzione protettiva delle vie respiratorie, favorendo la penetrazione degli allergeni e aumentando la suscettibilità alle reazioni allergiche. In effetti, è stato dimostrato che una ridotta espressione del gene transmembrane protein cadherin-related family member 3 (CDHR3) può determinare un aumento della permeabilità degli strati epiteliali delle vie aeree e quindi una maggiore vulnerabilità ai fattori esterni (25).



## Bibliografia

1. Cazzola M, Page CP, Matera MG, et al. *Revisiting asthma pharmacotherapy: where do we stand and where do we want to go?* *Eur Respir J.* 2023; 62(2):2300700.
2. Matera MG, Rinaldi B, Calzetta L, et al. *Pharmacogenetic and pharmacogenomic considerations of asthma treatment.* *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017; 13(11):1159-1167.
3. Relling MV, Giacomini KM. *Pharmacogenetics.* In: Brunton LL, Chabner BA, Knolmann BC, editori. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition.* The McGraw-Hill Medical,



New York, 2011, pagine 145-168.

4. Kersten ET, Koppelman GH. Pharmacogenetics of asthma: toward precision medicine. *Curr Opin Pulm Med*. 2017; 23(1):12-20.
5. Cazzola M, Rogliani P, Calzetta L, et al. Pharmacogenomic Response of Inhaled Corticosteroids for the Treatment of Asthma: Considerations for Therapy. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2020; 13:261-271.
6. Matera MG, Rogliani P, Novelli G, et al. The impact of genomic variants on patient response to inhaled bronchodilators: a comprehensive update. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2023; 19(5):285-295.
7. García-Menaya JM, Cordobés-Durán C, García-Martin E, et al. Pharmacogenetic Factors Affecting Asthma Treatment Response. Potential Implications for Drug Therapy. *Front Pharmacol*. 2019; 10:520.
8. Perez-Garcia J, Espuela-Ortiz A, Lorenzo-Diaz F, et al. Pharmacogenetics of Pediatric Asthma: Current Perspectives. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2020; 13:89-103.
9. Daya M, Ortega VE. Asthma genomics and pharmacogenomics. *Curr Opin Immunol*. 2020; 66:136-142.
10. Sordillo JE, Kelly RS, Lutz SM, et al. Pharmacogenetics of Bronchodilator Response: Future Directions. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2021; 21(12):47.
11. Li J, Qiu C. Recent advances in pharmacogenomics research of anti-asthmatic drugs: a narrative review. *Ann Transl Med*. 2022; 10(6):369.
12. Zhao Y, Zhang X, Han C, et al. Pharmacogenomics of Leukotriene Modifiers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pers Med*. 2022; 12(7):1068.
13. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy to aeroallergens. *Clin Exp Allergy*. 2011; 41(9):1235-1246.
14. Yu B, Shao Y, Zhang J, et al. Polymorphisms in human histamine receptor H4 gene are associated with atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2010; 162(5):1038-1043.
15. Hales BJ, Martin AC, Pearce LJ, et al. Anti-bacterial IgE in the antibody responses of house dust mite allergic children convalescent from asthma exacerbation. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(8):1170-1178.
16. Wang ZD, Lian D, Shen JL, et al. Association between the interleukin-4, interleukin-13 polymorphisms and asthma: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013; 40(2):1365-1376.
17. Knutsen AP, Vijay HM, Kariuki B, et al. Association of IL-4RA single nucleotide polymorphisms, HLA-DR and HLA-DQ in children with Alternaria-sensitive moderate-severe asthma. *Clin Mol Allergy*. 2010; 8:5.
18. Guéguen C, Luce S, Lombardi V, et al. IL-10 mRNA levels in whole blood cells correlate with house dust mite allergen immunotherapy efficacy. *Allergy*. 2019; 74(11):2223-2226.
19. Alcantara-Neves NM, Veiga RV, Ponte JC, et al. Dissociation between skin test reactivity and anti-aeroallergen IgE: Determinants among urban Brazilian children. *PLoS One*. 2017; 12(3):e0174089.
20. Tosca M, Silvestri M, Accogli A, et al. Serum-specific IgE and allergen immunotherapy in allergic children. *Immunotherapy*. 2014; 46(10):1160.
21. van Zelm MC, McKenzie CI, Varese N, et al. Recent developments and highlights in immune monitoring of allergen immunotherapy. *Allergy*. 2019; 74(12):2342-2354.
22. Hoof I, Bønnelykke K, Stranzl T, et al. Genetic and T2 biomarkers linked to the efficacy of HDM sublingual immunotherapy in asthma. *Thorax*. 2024; 79(4):332-339.
23. Bonser LR, Erle DJ. Airway Mucus and Asthma: The Role of MUC5AC and MUC5B. *J Clin Med*. 2017; 6(12):112.
24. Hellings PW, Steelant B. Epithelial barriers in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2020; 145(6):1499-1509.
25. Leung TF, Tang MF, Leung ASY, et al. Cadherin-related family member 3 gene impacts childhood asthma in Chinese children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020; 31(2):133-142.



## RECENSIONI

### Allergeni alimentari “nascosti” e rari in età pediatrica

Hidden and Rare Food Allergens in Pediatric Age.

Tomei L. et al.

Nutrients. 2023; 15(6):1386. doi: 10.3390/nu15061386.

Per chi soffre di allergie alimentari evitare l'allergene scatenante può rappresentare una vera sfida; infatti, l'esposizione accidentale ad allergeni nascosti sembra essere la causa di circa il 22% di tutte le reazioni allergiche alimentari (1). In questo lavoro gli autori presentano una panoramica dei principali allergeni alimentari rari e nascosti, con riferimento alle possibili fonti di esposizione e a casi in letteratura, fornendo al contempo informazioni chiave ai fini della prevenzione, valutazione del rischio, diagnosi e gestione dei soggetti con allergie alimentari (Figura 1).

Riguardo al rischio di esposizione per ingestione, attenzione va prestata a coloranti, come il carminio (E120), l'annatto (E160b), e il giallo tartrazina (E102). Vi sono poi i conservanti, in particolare solfiti (E220-228) e benzoato di sodio (E211), contenuti, oltre che negli alimenti, anche in prodotti farmaceutici e cosmetici. Vi sono poi gli addensanti, come carbossimetilcellulosa (E446) e pectine (E440); questi sembrano essere la causa di reazioni anafilattiche in pazienti sensibilizzati ad anacardi e pistacchi. Diverse spezie possono dare reazioni allergiche, spesso come effetto della sensibilizzazione ad allergeni respiratori; gli autori riportano esempi per il pepe nero, il fieno greco (un estratto vegetale dell'omonima erba, nota anche come *Trigonella (foenum-graecum)* che presenta elevata reattività crociata con le proteine di arachidi), la senape (presente anche in alcuni alimenti preconfezionati per bambini) ed erbe aromatiche, come salvia, origano e menta.

L'allergia al latte vaccino è una delle allergie più comuni nei bambini, e l'esposizione alle proteine del latte può avvenire attraverso molteplici vie; nel caso dell'ingestione, questi allergeni sono stati rilevati anche in formulazioni in polvere

per bambini a base di soia, nel vaccino di Sabin (vaccino orale anti-poliomielite), e nella maggior parte dei probiotici. I prodotti alimentari possono nascondere anche altri tipi di allergeni, ad esempio residui di antibiotici usati in agricoltura, come dimostra il caso di un bambino che ha avuto una reazione anafilattica dopo aver mangiato una torta ai mirtilli. Altri esempi riguardano cibi contaminati dal lattice dei guanti usati per la preparazione dei cibi; la cosiddetta “sindrome del pancake” (data da alimenti preparati con farina contaminata da acari); allergeni del nematode *Anisakis simplex* nei prodotti ittici, o altri allergeni insoliti, come in un caso di allergia a una proteina della buccia delle patate presente in alcune caramelle.

Tra gli allergeni vegetali vengono evidenziate le nsLTP (non-specific lipid transfer protein), che presentano elevata reattività crociata anche tra specie non affini dal punto di vista botanico; nella reazione a queste proteine giocano spesso un ruolo i cofattori (ad es. esercizio fisico, FANS, stress, etc.). Nel caso di reazioni sistemiche alla frutta, dovrebbero essere anche considerate le GRP (gibberellin-regulated proteins), presenti in frutti appartenenti a famiglie diverse, come pesca, arancia e melograno.

Nel caso di reazioni legate al consumo di carne, gli autori ricordano la sindrome alfa-gal, la pork-cat syndrome (sindrome del maiale-gatto) e la bird-egg syndrome (sindrome uccello-uovo). Inoltre, la maggior disponibilità sul mercato di prodotti esotici può portare all'esposizione a nuovi allergeni o a nuove reazioni crociate, come nei casi di reazioni anafilattiche alla carne di coccodrillo in due bambini con forte allergia al pollo e al pesce (dovute a reattività crociata tra le parvalbumine).

È importante tenere presente che il processamento dei cibi può indurre cambiamenti nel loro potenziale allergenico, ad esempio via reazione di Maillard. Esempificativo è il caso di un bambino che ha sviluppato orticaria dopo aver mangiato del caramello ottenuto dalla cottura del latte condensato, un alimento che consumava normalmente senza problemi. L'inalazione può essere un'altra via di esposizione ad allergeni alimentari rari e nascosti; casi interessanti riguardano le reazioni al lupino in polvere presente in un fertilizzante per piante, o al glutine (da farina di frumento) in un set





giocattolo per l'identificazione delle impronte digitali. Inoltre, diversi farmaci possono contenere lattosio, che potrebbe veicolare proteine del latte. Gli autori suggeriscono di controllare la scheda tecnica ministeriale (SPC) dei farmaci per individuare la presenza di uno specifico allergene alimentare a cui il paziente può essersi sensibilizzato. Altri esempi di eccipienti a cui prestare attenzione sono la lecitina di soia, presente ad esempio nella benzilpenicillina, che può essere contaminata da proteine di soia, e il mannitolo (es. nel paracetamolo per infusione). Sono noti anche rari casi di esposizione a proteine di arachidi in seguito a trasfusione di sangue.

L'esposizione ad allergeni alimentari può avvenire anche attraverso contatto diretto con la pelle e causare orticaria o altri sintomi cutanei. Le proteine del grano, ad esempio, sono presenti in svariati prodotti, dai detergenti per il viso ai giocattoli (come la pasta modellabile a base di farina di frumento), o anche il polivinilpirrolidone (PVP), che è presente in prodotti medici, articoli per la cura della persona

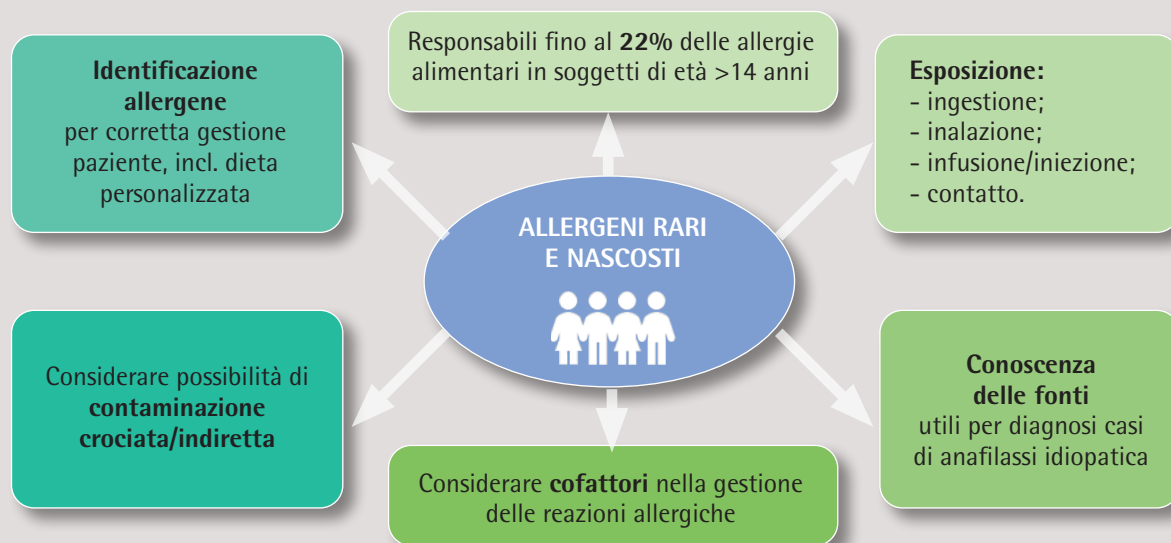
e alimenti (E1201). Va poi considerato che la penetrazione degli allergeni può essere facilitata se la barriera cutanea è alterata.

Infine, gli autori evidenziano l'importanza dei cofattori, come esercizio fisico (food-dependent exercise induced anaphylaxis), alcol, mestruazioni, stress, FANS e malattie infettive, e anche di considerare che alcune patologie, come la mastocitosi sistemica, possono avere manifestazioni cliniche simili all'anafilassi indotta da alimenti. Un serio problema nella gestione delle allergie alimentari è il rischio di contaminazione crociata (o indiretta), che avviene quando un determinato allergene passa da un alimento all'altro, ad esempio attraverso l'uso di utensili da cucina non adeguatamente lavati.

Anche se nuovi approcci terapeutici per il trattamento delle allergie alimentari sono in fase di studio (immunoterapia), ad oggi la strategia principale per gestire un'allergia alimentare consiste nell'evitare rigorosamente l'allergene. Il timore di esposizione accidentale agli allergeni alimentari porta

Figura 1

### Allergeni rari e nascosti: caratteristiche generali





spesso a una dieta monotona, non bilanciata, e genera ansia con conseguenze negative sulla qualità della vita del paziente e dei familiari. L'identificazione di un allergene raro e nascosto è un'importante sfida diagnostica nei casi in cui la causa della reazione allergica non è chiara (es. anafilassi idiopatica), ed è fondamentale per una corretta gestione del paziente, al fine di fornire consigli dietetici individuali, ridurre i rischi e migliorare la qualità di vita dei giovani pazienti con allergia alimentare e delle loro famiglie.



## Bibliografia

1. Añibarro B, Seoane FJ, Múgica MV. Involvement of hidden allergens in food allergic reactions. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2007; 17:168-172.

## Sensibilizzazione alla ciclofilina, il pan-allergene causa di misteriose allergie ai pollini nei bambini

IgE to cyclophilins in pollen-allergic children: Epidemiologic, clinical, and diagnostic relevance of a neglected panallergen

Matricardi et al. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2024; 153(6):1586-1596.e2. doi: 10.1016/j.jaci.2024.01.030

I panallergeni, come profilina, polcalcine, pathogenesis-related protein-10 (PR-10), non-specific lipid transfer protein (nsLTP), sono molecole allergeniche che presentano un'elevata reattività crociata con allergeni omologhi in specie anche distanti filogeneticamente, e possono essere associati a sensibilizzazioni multiple e comorbidità, come asma o sindrome orale allergica (OAS). Un gruppo poco studiato

di panallergeni è quello delle ciclofiline, proteine ubiquitarie e altamente conservate. Le loro proprietà allergeniche sono state riconosciute per la prima volta nel 1995 (1); oltre che nelle piante, membri allergenici di questa famiglia sono stati identificati in funghi (es. Mala s 6 da *Malassezia sympodialis*) e artropodi. Tuttavia, la loro rilevanza epidemiologica, diagnostica e clinica è in gran parte sconosciuta. Solo una ciclofilina, la proteina ricombinante rMala s 6, è inserita nei test di allergologia molecolare (ALEX2).

Questo articolo rappresenta il primo studio sistematico su prevalenza, rilevanza clinica e diagnostica delle ciclofiline su 1380 pazienti pediatrici con rinite allergica ai pollini. In questo studio è stato osservato che circa il 10% dei bambini mostrava positività a SPT (skin prick test) con estratto di polline di betulla in assenza di positività verso l'allergene principale Bet v 1 (PR-10); inoltre, solo la metà di questi pazienti presentava IgE per Bet v 2 (profilina), Bet v 4 (polcalcina), o per i determinanti di carboidrati cross-reattivi (CCD). Questo dato ha portato a proporre l'ipotesi dell'esistenza di un "panallergene X", ovvero di una molecola cross-reattiva da identificare, responsabile della positività al test cutaneo.

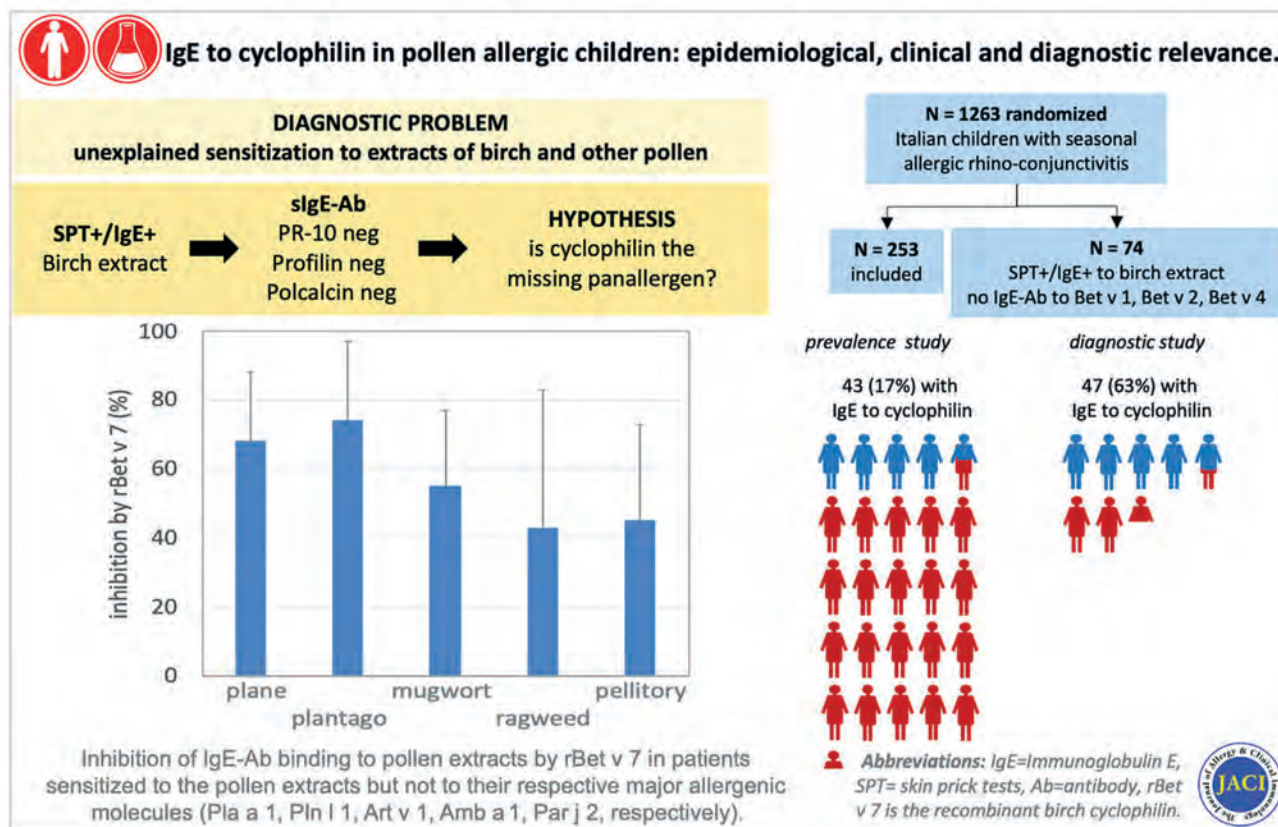
Gli autori, anche alla luce di nuovi dati di letteratura (2, 3), hanno ipotizzato che il misterioso "panallergene X" potesse essere una ciclofilina. Hanno quindi condotto numerose analisi prendendo in considerazione diversi sottogruppi della coorte (Figura 1).

Mediante studi di correlazione e saggi di inibizione della risposta IgE utilizzando la molecola Bet v 7 (ciclofilina) in forma ricombinante, gli autori hanno osservato che il 17% dei pazienti (43/253) era sensibilizzato al Bet v 7, con 14 casi in cui le IgE per Bet v 7 erano > 10 kU/L, valore un po' più basso rispetto alle profiline (22%) ma decisamente superiore a quello delle polcalcine (3%). Tra i 43 pazienti con IgE per Bet v 7, il 60% soffriva d'asma, il 42% di OAS e la prevalenza di reazioni allergiche agli alimenti era generalmente più alta rispetto ai pazienti non sensibilizzati a Bet v 7, differenza che diventava statisticamente significativa per banana, ciliegia, lenticchie e pera. Gli autori hanno poi analizzato il profilo di sensibilizzazione IgE ad altre molecole con reattività crociata implicate nell'OAS, come profilina (Phl p 12),



Figura 1

IgE verso la ciclofilina in bambini allergici al polline: rilevanza epidemiologica, clinica e diagnostica (4)



nsLTP (Pru p 3), oltre che PR-10 (Bet v 1). Solo 10 dei 43 pazienti con IgE per Bet v 7 non presentavano IgE verso le altre molecole; nessuno di loro soffriva di OAS, ma 7 avevano asma allergico. L'analisi statistica ha rivelato un'associazione tra ognuno dei 4 allergeni considerati, ma non si è evidenziata alcuna associazione tra Bet v 7 e OAS o tra Bet v 7 e asma. Gli autori hanno inoltre osservato che più del 63% dei 74 pazienti sensibilizzati all'estratto di polline di betulla, ma non agli allergeni Bet v 1 / Bet v 2 / Bet v 4, presentava IgE verso rBet v 7, supportando l'ipotesi che la ciclofilina fosse

effettivamente il "panallergene X" responsabile della positività. In aggiunta, i 26 pazienti con IgE elevate per Bet v 1 soffrivano più frequentemente di asma, OAS, dermatite atopica e sintomi allergici gastrointestinali rispetto ai pazienti senza IgE per Bet v 1 / Bet v 2 / Bet v 4. L'analisi dei casi "falsi positivi" ha mostrato un'alta correlazione tra i livelli di IgE all'estratto di polline di betulla e le IgE a Bet v 7. Infine, gli studi di correlazione e inibizione hanno mostrato una correlazione positiva tra i livelli di IgE per rBet v 7 e IgE per gli estratti di altri pollini quali olivo, platano, graminacee,



piantaggine e ambrosia, suggerendo la presenza di ciclofiline anche in questi estratti, ed evidenziando così la necessità di ulteriori studi per indagare il contenuto di ciclofiline in altre fonti allergeniche.

Gli autori concludono riconoscendo alcune limitazioni dello studio, come l'aver incluso solo bambini italiani (quindi i dati sulla prevalenza non possono essere automaticamente estesi a pazienti in zone geografiche con clima/vegetazione diversi, né agli adulti), aver considerato una sola ciclofilina (rBet v 7), non aver studiato il ruolo di ciclofiline di acari o funghi, e non aver condotto test di provocazione orale.

In conclusione, lo studio mostra che la sensibilizzazione alla ciclofilina in bambini allergici ai pollini può essere alla base di reazioni positive a estratti di polline di diverse specie, soprattutto in assenza di positività verso gli allergeni ritenuti generalmente più clinicamente rilevanti. Per tale ragione, le linee guida di diagnostica molecolare dovrebbero includere questa famiglia di panallergeni, e le IgE a ciclofiline dovrebbero essere esaminate nei pazienti allergici ai pollini e polisensibilizzati prima di prescrivere l'immunoterapia allergene-specifica.



## Bibliografia

1. Cadot P, Lejoly M, Van Hoeyveld EM, et al. Influence of the pH of the extraction medium on the composition of birch (*Betula verrucosa*) pollen extracts. *Allergy*. 1995; 50(5):431-437. doi: 10.1111/j.1398-9995.1995.tb01173.x
2. Kleine-Tebbe J, Ackermann-Simon J, Hanf G. Molecular allergy diagnosis using pollen marker allergens and pollen panallergens: Five patterns seen in multiple test reactions to pollen extracts. *Allergol Select*. 2021; 5:180-186. doi: 10.5414/ALX02238E
3. Mattsson L, Valcour A, Holmqvist M, et al. Cyclophilin - A novel cross-reactive determinant in peanut. *Clin Exp Allergy*. 2021; 51(4):620-622. doi: 10.1111/cea.13833
4. Matricardi PM, Potapova E, Panetta V, et al. IgE to cyclophilins in pollen-allergic children: Epidemiologic, clinical, and diagnostic relevance of a neglected panallergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2024; 153(6):1586-1596. doi: 10.1016/j.jaci.2024.01.030.

## Microbiota orofaringeo e sua rilevanza nei bambini asmatici

### Oral Microbiota and Pediatric Asthma Phenotype: A New Window for Biomarkers?

Ghedini E, Huang YJ. *Am J Respir Crit Care Med*. 2023; 208(2):119-121.  
doi: 10.1164/rccm.202305-0856ED

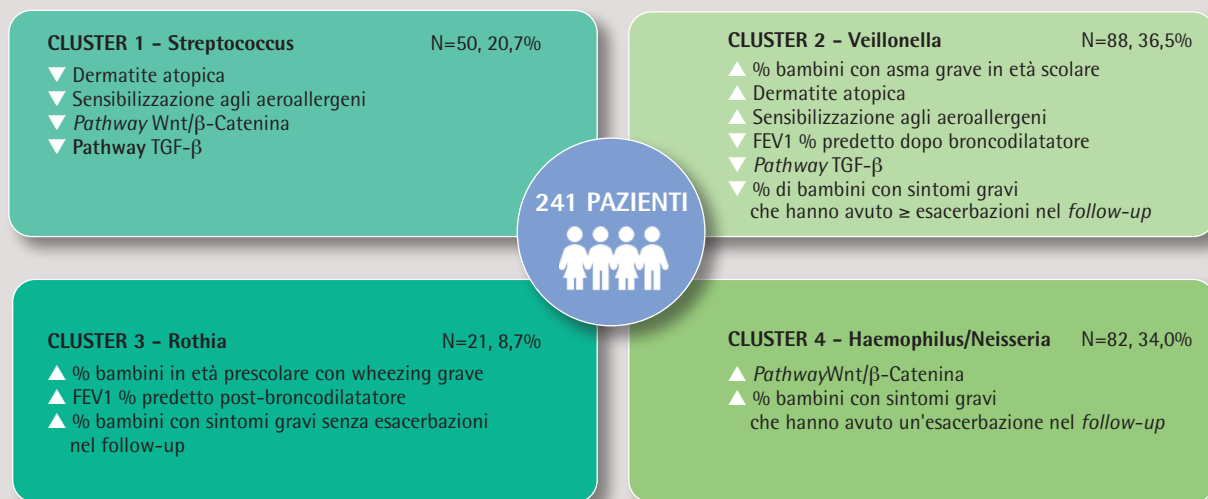
L'asma è una malattia cronica comune nei bambini, e può presentarsi con diverse manifestazioni cliniche. Anche se i meccanismi che ne sono alla base non sono del tutto chiariti, è noto che diversi sono i fattori coinvolti e interconnessi: dalla predisposizione genetica, all'atopia, ai fattori ambientali. Un numero sempre maggiore di studi suggerisce che il microbiota possa essere implicato nei rapporti tra esposizioni ambientali, sistema immunitario e fisiopatologia dell'asma. Oltre al microbiota intestinale, più studiato, anche la composizione microbica delle vie aeree sembra giocare un ruolo nello sviluppo dell'asma infantile. Tuttavia, il campionamento del microbiota delle vie aeree inferiori (es. espettorato indotto, lavaggio bronco-alveolare, biopsia endobronchiale) nei bambini è complicato e poco fattibile.

In questo editoriale gli autori presentano e discutono criticamente i dati di una ricerca scientifica (Abdel-Aziz et al.), pubblicata all'interno dello stesso numero, che ha studiato l'associazione tra microbiota orofaringeo e asma o wheezing (respiro sibilante) nei bambini in età scolare o prescolare (1). Obiettivo principale della ricerca era determinare se la caratterizzazione del microbiota orofaringeo (prelevabile con metodi non invasivi) potesse aiutare a identificare fenotipi clinicamente rilevanti nei bambini con asma o wheezing. Abdel-Aziz e colleghi hanno analizzato, nell'ambito dello studio multicentrico di coorte osservazionale U-BIOPRED (Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease Outcomes), 241 tamponi orofaringei raccolti da 125 pazienti in età scolare (6-17 anni) con asma (86 severo; 39 lieve/moderato) e 116 bambini in età prescolare (1-5 anni)



Figura 1

## Sintesi delle caratteristiche associate ai quattro cluster



con wheezing severo (N = 65) o lieve/moderato (N = 51). I campioni sono stati caratterizzati mediante sequenziamento del gene 16S rRNA, e i dati sono stati utilizzati per confrontare la composizione batterica tra i campioni ( $\beta$ -diversity). L'analisi ha permesso di classificare i bambini in quattro cluster, o gruppi, caratterizzati dalla dominanza di generi batterici diversi: *Streptococcus* nel cluster 1, *Veillonella* nel cluster 2, *Rothia* nel cluster 3, e i generi *Haemophilus* e *Neisseria* nel cluster 4. I cluster mostravano differenze significative per dermatite atopica, sensibilizzazione ai pollini di graminacee e spirometria. Tra tutti, il cluster 2 (*Veillonella*) era quello più ampio (88 pazienti) e con la più alta percentuale di pazienti di età scolare con asma grave, con dermatite atopica e con sensibilizzazione ad aeroallergeni, soprattutto polline di graminacee (Figura 1).

Inoltre, al fine di individuare eventuali vie biologiche (pathway) legate ai cluster fenotipici definiti, i ricercatori hanno analizzato i profili di espressione genica mediante microarray sul sangue periferico di 188 pazienti. L'elaborazione dei risultati ha portato a identificare due pathway che

differivano in modo significativo tra i diversi cluster: quelli della Wnt/ $\beta$ -catenina e del fattore di crescita TGF- $\beta$ . Il primo è risultato associato al cluster 4, il secondo al cluster 2. Entrambi i pathway sembrano essere coinvolti nel rimodellamento delle vie aeree nell'asma atopico. Inoltre, i bambini con asma o wheezing gravi sono stati seguiti per 12-18 mesi (follow-up), e il cluster 2 è risultato associato a una maggiore frequenza di esacerbazioni in tale periodo (Figura 1). Il raggruppamento dei bambini con asma o wheezing in base al microbiota orofaringeo ha quindi rivelato differenze nelle caratteristiche cliniche tra i gruppi, nel rischio di esacerbazioni e nelle vie trascrittomiche coinvolte nel rimodellamento delle vie aeree.

Nel loro articolo, gli autori riconoscono l'importanza delle nuove evidenze fornite dal lavoro di Abdel-Aziz et al., ma sottolineano anche alcune limitazioni dello studio (molte riconosciute anche dagli autori stessi), come la ridotta diversità della popolazione analizzata, la mancanza di informazioni sull'esposizione in utero e perinatale ad antibiotici, la possibile sottostima dell'impatto dei corticosteroidi, o il fatto che





le assegnazioni tassonomiche siano limitate al genere. Ghedin e Huang evidenziano, inoltre, la necessità di condurre ulteriori ricerche per comprendere i meccanismi con cui il microbiota può influenzare le traiettorie cliniche dell'asma, e vedono nella trascrittomica la strategia più adatta per approfondimenti meccanicistici. Tale approccio, che caratterizza l'espressione genica all'interno di campioni complessi, permette di esaminare i profili funzionali in situ, e ottenere quindi informazioni utili sul ruolo delle varie componenti presenti nel microbioma, inclusi eventuali virus.

In sintesi, l'analisi del microbiota orofaringeo può essere usata come approccio non invasivo per fenotipizzare i bambini con asma o wheezing. Ulteriori indagini sul microbiota orofaringeo possono portare a nuove conoscenze sulla fisiopatologia e, potenzialmente, a nuovi approcci diagnostici e terapeutici dell'asma.



## Bibliografia

1. Abdel-Aziz MI, Thorsen J, Hashimoto S, et al. Oropharyngeal Microbiota Clusters in Children with Asthma or Wheeze Associate with Allergy, Blood Transcriptomic Immune Pathways, and Exacerbation Risk. *Am J Respir Crit Care Med.* 2023; 208(2):142-154. doi: 10.1164/rccm.202211-2107OC

## Allergie alimentari e microbioma intestinale

Manipulating the microbiome to enhance oral tolerance in food allergy

Gonzalez-Visiedo M et al. *Cell Immunol.* 2022; 382:104633. doi: 10.1016/j.cellimm.2022.104633

Questa review fa parte di un volume speciale dedicato alla tolleranza orale (oral tolerance, OT), un processo attivo attraverso cui il sistema immunitario non risponde agli antigeni introdotti con l'alimentazione. La perdita di

OT, che porta allo sviluppo di allergie alimentari, è stata associata a diversi fattori, soprattutto ad alterazioni della funzione delle cellule T regolatorie (Treg), con squilibrio immunitario verso le risposte Th2, e alla compromissione dell'integrità della barriera intestinale. Anche il microbioma intestinale gioca un ruolo importante nell'acquisizione e nel mantenimento dell'OT; in questo lavoro gli autori presentano i dati sperimentali e clinici sull'argomento e discutono le strategie correnti mirate a indurre OT proprio attraverso interventi sul microbioma.

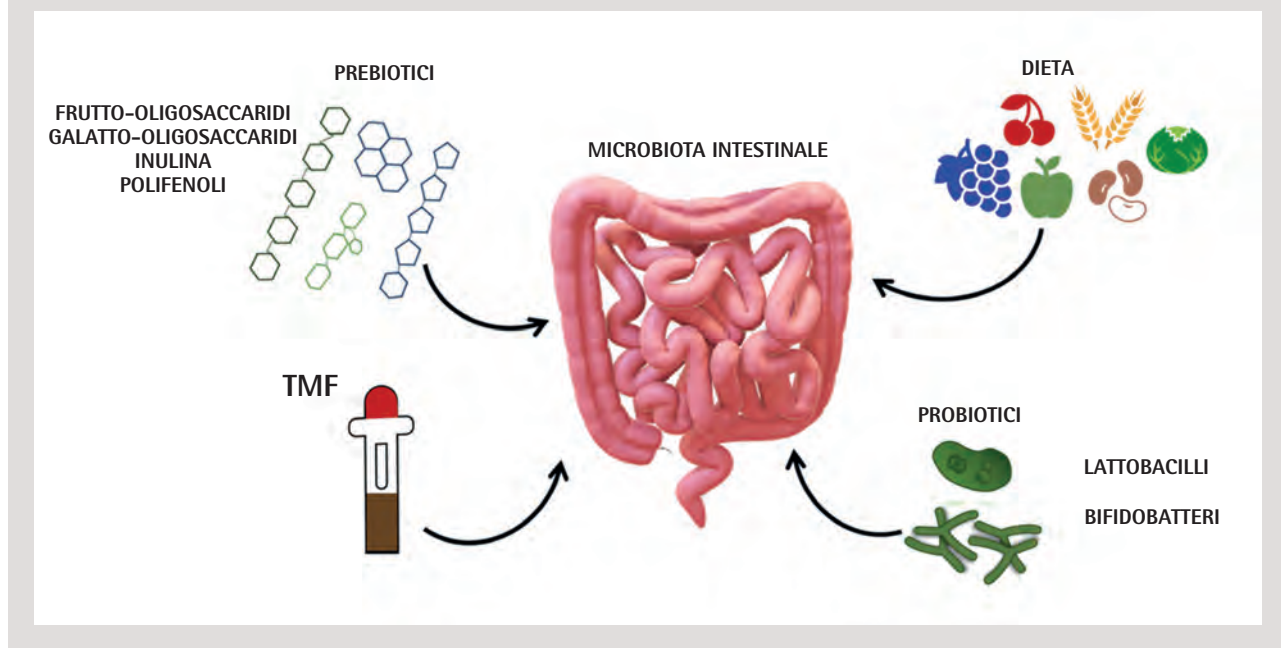
Diverse ricerche su topi germ-free (privi di microrganismi, allevati in condizioni sterili) indicano un legame tra assenza di microrganismi intestinali e mancata acquisizione di OT. Anche alterazioni nella composizione e ridotta diversità dei ceppi batterici presenti nell'intestino sono state associate a perdita di OT e sviluppo di allergie alimentari. Nel microbioma di topi allergici è stato osservato un arricchimento in batteri del genere *Citrobacter* (famiglia *Enterobacteriaceae*) e, in studi clinici su neonati, un elevato rapporto *Enterobacteriaceae/Bacteroidaceae* è stato associato a una successiva sensibilizzazione alimentare. Diversi studi clinici hanno mostrato differenze nella composizione del microbioma tra individui allergici e non allergici; in particolare, i batteri appartenenti ai *Clostridia* sono quelli più comunemente associati all'OT. Ma in che modo il microbioma interagisce con il sistema immunitario per promuovere e mantenere l'OT? Diversi sono i fattori che mediano tale interazione, tra cui gli acidi grassi a catena corta (short chain fatty acid, SCFA), prodotti dalla fermentazione delle fibre alimentari non digeribili da parte dei batteri intestinali. Gli SCFA, e in particolare il butirrato, possono agire da molecole di segnalazione, interagendo con i recettori accoppiati a specifiche proteine (GPCR; es. GPR33, GPR41, GPR43 e GPR109a) espressi in diversi tipi di cellule. Gli autori dedicano ampio spazio all'azione degli SCFA sulle diverse cellule immunitarie e schematizzano tali interazioni in Figura 1 del lavoro originale.

In particolare, gli SCFA rafforzano il fenotipo e la funzione soppressiva di cellule dendritiche e Treg, e la presenza di specie appartenenti ai *Clostridia*, in grado di produrre SCFA, sembra promuovere la differenziazione di un sottoinsieme di Treg (RORyt+ Treg) implicate nella tolleranza mucosale



Figura 1

## Principali strategie per la manipolazione del microbiota intestinale



(modificato da (1), CC BY 4.0, include icone da unwing.com). TMF = trapianto di microbioma fecale.

nell'intestino. Altri studi suggeriscono che gli SCFA agiscano anche attraverso l'inibizione delle istone deacetilasi (HDAC), determinando effetti positivi quali l'induzione di plasmacellule IL-10+ e la down-regolazione dell'espressione dei recettori specifici per le IgE (FcεRI) sui mastociti, inibendo in questo modo lo scatenamento dei sintomi allergici. Gli autori poi sottolineano che alcune cellule immunitarie, come le cellule innate linfoidi (ILC), possono, a loro volta, avere un'influenza sulla composizione del microbiota e giocare un ruolo chiave nel prevenire la disbiosi.

Gli interventi sul microbioma, che mirano proprio a correggere la disbiosi ed espandere in modo specifico i batteri con proprietà benefiche, includono modifiche della dieta e somministrazione di prebiotici e/o probiotici. Tra gli alimenti utili per arricchire il microbiota di batteri pro-tollerogenici

troviamo cibi ricchi di fibre non digeribili, come cereali integrali e crusca, che favoriscono la produzione di SCFA e l'aumento dei batteri intestinali commensali (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus*). È stato osservato che anche le proteine glicate di pisello e l'olio di pesce inducono un aumento di questi tipi di batteri. Tuttavia, a eccezione dell'olio di pesce, diete a elevato contenuto di grassi, così come diete ricche in proteine e povere di carboidrati, sembrano avere un effetto negativo sui batteri che producono SCFA. I prebiotici, tra cui oligosaccaridi e diverse fibre fermentabili, sono definiti come "substrati che vengono utilizzati selettivamente dai microrganismi ospiti e che conferiscono un beneficio alla salute" (2). I prebiotici devono quindi essere: 1. resistenti alla digestione gastrointestinale; 2. fermentabili dal microbiota; 3. in grado di stimolare la crescita/attività dei microbi inte-



stinali benefici. Studi su modelli murini hanno dimostrato l'efficacia dei prebiotici sia nell'attenuare i sintomi dell'allergia alimentare, sia come strategia preventiva durante la gestazione per indurre nelle madri un ambiente tollerogenico e un microbiota protettivo nella prole. Altro approccio utile è la somministrazione diretta di microrganismi vivi (probiotici), soprattutto lattobacilli e bifidobatteri. Studi sui topi hanno dimostrato la capacità di tali trattamenti nel modulare le risposte immunitarie e indurre OT.

Gli studi clinici su prebiotici e probiotici sono spesso indirizzati al trattamento dell'allergia al latte vaccino. Risultati positivi sono stati ottenuti somministrando a neonati una miscela di probiotici contenenti *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus casei*, o una combinazione di formule a base di caseina estesamente idrolizzata e *L. rhamnosus*. Tuttavia, sono necessari altri studi per determinare se tale terapia possa essere estesa ad altri allergeni. Ad esempio, in bambini con allergia alle arachidi, la co-somministrazione del probiotico *L. rhamnosus* e immunoterapia orale (OIT) non ha evidenziato miglioramenti significativi in termini di efficacia rispetto ai bambini trattati con solo OIT. Sono necessarie ulteriori ricerche per determinare il motivo della diversa risposta al trattamento con probiotici nei pazienti con allergie ad alimenti diversi. Infine, una strategia emergente è il trapianto di microbioma fecale (fecal microbiome transplantation, FMT) da donatore sano, i cui effetti protettivi sono stati suggeriti da studi su modelli murini. Nell'uomo, è stato

anche condotto uno studio clinico di fase I per valutare la sicurezza e l'efficacia del FMT incapsulato per via orale nel trattamento dell'allergia alle arachidi in pazienti adulti (18 - 40 anni) (3).

In conclusione, gli autori sottolineano come le evidenze acquisite da studi preclinici e clinici possano aprire la strada verso nuove indagini sulla manipolazione del microbioma, e come gli studi futuri dovranno in particolare chiarire se questa modulazione del microbioma possa essere o meno associata alla co-somministrazione di antigeni, come avviene per l'immunoterapia orale.



## Bibliografia

1. Talapko J, Vcev A, Meštrovic T, et al. Homeostasis and Dysbiosis of the Intestinal Microbiota: Comparing Hallmarks of a Healthy State with Changes in Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms*. 2022; 10(12):2405. doi: 10.3390/microorganisms10122405.
2. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(8):491-502. doi:10.1038/nrgastro.2017.75
3. *ClinicalTrials.gov* - ID NCT02960074



## Fare informazione, fare professione



A cura di Franco Frati

*Specialista in Pediatria, Allergologia e Immunologia Clinica  
Direttore Lofarma Academy*

**Siamo lieti di presentare all'interno del Notiziario Allergologico, nell'area riservata ai giovani ricercatori in allergologia della Lofarma Academy, i contributi del Dr. Richard Borrelli dell'Università di Torino e della Dr.ssa Giulia Garzi, Università La Sapienza di Roma.**

**Un caro saluto,**

**Dr. Franco Frati, Direttore Lofarma Academy**

### In questo numero:

- FeNO e rinite allergica
- Determinazione del FeNO nel monitoraggio della AIT

## FeNO e rinite allergica

**Richard Borrelli**

Università di Torino

L'ossido nitrico nell'esalato (FeNO) è un biomarcatore non invasivo utilizzato nella valutazione e gestione di patologie respiratorie quali rinite allergica e asma, la cui misurazione rappresenta un indicatore quantitativo di flogosi eosinofila nelle vie aeree.

La rinite allergica è una condizione caratterizzata da infiammazione della mucosa nasale dovuta ad attivazione di una risposta Th2 da parte di sostanze come pollini, acari della polvere, epiteli di animali e muffe; si manifesta con sintomi quali rinorrea, prurito nasale, starnuti e ostruzione nasale. L'infiammazione eosinofila è una componente centrale di questa condizione, e il FeNO può riflettere la sua presenza e severità. Già in precedenza, infatti, più studi hanno dimostrato che livelli elevati di FeNO siano correlati con l'infiammazione eosinofila nella rinite allergica (1).

La misurazione del FeNO in tali pazienti può guidare il clinico nella valutazione della risposta al trattamento con corticosteroidi intranasali; è stata dimostrata una riduzione significativa dei livelli di FeNO in risposta a una terapia antinfiammatoria topica (2).

### FeNO e asma

L'asma è una malattia infiammatoria cronica delle vie aeree, caratterizzata da ostruzione reversibile delle vie respiratorie, iperreattività bronchiale e rimodellamento dell'albero bronchiale. Sintomi tipici includono dispnea, tosse, sibilo toracico e senso di costrizione toracica. L'infiammazione eosinofila è un tratto distintivo dell'asma, e la misurazione del FeNO si è dimostrata utile per la sua valutazione.

Il FeNO, infatti, può essere considerato uno strumento efficace per monitorare l'infiammazione delle vie aeree e la risposta al trattamento con corticosteroidi inalatori; livelli



elevati di FeNO sono infatti associati a un rischio aumentato di esacerbazioni asmatiche, mentre una riduzione dei livelli registrati a seguito della terapia steroidea inalatoria correla con un miglior controllo dei sintomi.

Inoltre, l'andamento dei livelli di FeNO può predire la risposta al trattamento steroideo, facilitando l'individualizzazione della terapia.

### Vantaggi e svantaggi

Uno dei principali vantaggi del FeNO è la sua natura non invasiva e la rapidità del test, che lo rende particolarmente adatto per l'uso pediatrico e in pazienti con difficoltà a sottoporsi ad altre procedure diagnostiche.

Tuttavia, ci sono limitazioni da considerare: i livelli di FeNO possono essere influenzati da variabili come fumo, infezioni delle vie respiratorie, obesità e uso di farmaci che potrebbero alterare i risultati.

Inoltre, il FeNO non è uno strumento diagnostico per specifiche patologie, ma deve essere utilizzato in combinazione con altre valutazioni cliniche e diagnostiche.

In conclusione, il FeNO rappresenta un utile biomarcatore per la gestione della rinite allergica e dell'asma, offrendo informazioni cruciali sull'infiammazione eosinofila delle vie aeree. Nonostante alcune limitazioni, la sua facilità d'uso e la capacità di monitorare la risposta al trattamento lo rendono uno strumento prezioso nella pratica clinica.

### BIBLIOGRAFIA

1. Zhu Z, Xie Y, Guan W, et al. FeNO for detecting lower airway involvement in patients with allergic rhinitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016; 12(4): 2336-2340. doi: 10.3892/etm.2016.3616.
2. Pedroletti C, Lundahl J, Alving K, et al. Effect of nasal steroid treatment on airway inflammation determined by exhaled nitric oxide in allergic schoolchildren with perennial rhinitis and asthma. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2008; 19(3): doi: 10.1111/j.1399-3038.2007.00628.x.

## Determinazione del FeNO nel monitoraggio della AIT

Giulia Garzi

Università La Sapienza, Roma

La misurazione dell'ossido nitrico (NO), prodotto dall'ossido nitrico sintetasi (NOS) presenti nelle cellule endoteliali, epiteliali e del sistema immunitario delle vie aeree superiori e inferiori, ha suscitato negli ultimi anni l'interesse di numerosi ricercatori e medici clinici. Infatti, essendo prodotto in elevate quantità durante le condizioni di ipereosinofilia e di infiammazione di tipo 2 a opera dell'ossido nitrico sintetasi inducibile di tipo 2 (iNOS2), esso si può considerare come un marker dell'infiammazione di tipo 2. Nella gestione dell'asma, la valutazione dell'ossido nitrico come biomarcatore, misurato come ossido nitrico frazionato esalato (FeNO), è uno strumento validato e preciso da utilizzare sia nel processo diagnostico sia in quello terapeutico, come per esempio nella valutazione della risposta ai comuni farmaci o nell'eventuale prescrizione di farmaci biologici e immunoterapia specifica (AIT) (1). Seguendo lo stesso approccio, si sta tentando anche la misurazione del NO nasale (nNO) nell'iter diagnostico-terapeutico delle patologie infiammatorie delle vie aeree superiori, come per esempio nella rinite allergica, nella rinosinusite cronica e persino in una rara condizione patologica quale la discinesia ciliare primaria. Dal punto di vista dell'allergologo, il nNO potrebbe essere utile per distinguere la rinite di natura allergica da quella non allergica, in combinazione con i test allergologici. Diversi studi hanno dimostrato che i pazienti con rinite allergica presentano valori di FeNO significativamente più elevati rispetto ai soggetti sani e ai pazienti con rinite non allergica, dimostrando così l'utilità di questo test nella diagnosi differenziale. Per quanto riguarda la valutazione dell'efficacia dei vari presidi per le alte vie respiratorie, sono in corso di valutazione studi sul monitoraggio dell'infiammazione nasale anche in corso di AIT. Ad oggi sono dati che confermano che una sua ridu-





zione è associata significativamente a consensuale riduzione di altri parametri nasali, come la resistenza nasale alla rinomanometria in accordo con questionari specifici per sintomatologia rinitica, quali VAS e RQLQ.

La sua determinazione nella pratica clinica è ad oggi fonte di studio approfondito. Nel futuro, la corretta misurazione dei valori di NO nasale potrebbe aprire ottime potenzialità sia sotto il profilo della ricerca che sotto il profilo della routine clinica. Vari gruppi di ricercatori stanno valutando di interpretare quelle condizioni cliniche che ne possono alterare il valore, quali la poliposi nasale e altre patologie croniche delle alte vie aeree. Aspettando una completa certificazione anche del FeNO nasale, possiamo utilizzare il FeNO espiratorio classico nel monitoraggio dei vari presidi terapeutici di tipo anti-infiammatorio Th2 delle basse vie aeree (asma). Tra i vari principi terapeutici, di certo l'immunoterapia specifica è quello che maggiormente contraddistingue la nostra specialità. In attesa di complete

evidenze per quello che riguarda l'utilizzo del FeNO nel monitoraggio della terapia per rinite allergica, possiamo affermare al contrario che esistono certezze per quello che riguarda l'uso di tale moderna diagnostica nell'asma bronchiale di tipo Th2 in tutti i suoi aspetti: dal monitoraggio del trattamento farmacologico con moderni farmaci biologici al monitoraggio dell'efficacia della AIT.

### BIBLIOGRAFIA

1. Marcos MC, Cisneros Serrano C. What is the added value of FeNO as T2 biomarker? *Front Allergy*. 2022; 3:957106. doi: 10.3389/falgy.2022.957106.

<https://lofarma.academy> per info: [academy@lofarma.it](mailto:academy@lofarma.it)



## Lofarma Academy

*Fare informazione, fare professione*

Un progetto in continua evoluzione

Un approccio innovativo che combina teoria e pratica clinica

Un percorso di divulgazione culturale sul tema della diagnostica allergologica e dell'immunoterapia allergene-specifica (AIT)



<https://lofarma.academy>





L'immagine scelta per la cover di questo numero del Notiziario mostra un letto di frammenti di rocce (terre rare) su cui poggia uno degli oggetti tecnologici più comuni (uno smartphone), la cui produzione è vincolata all'uso delle suddette terre, o meglio, di alcune componenti ivi presenti. Che cosa sono le terre rare? Sono particolari rocce che contengono una famiglia di elementi chimici, noti anche come lantanidi, che formano un ampio gruppo di caselle della tavola periodica di Mendeleev (con numero atomico da 57 a 71), a eccezione di scandio e ittrio. In virtù delle loro straordinarie proprietà elettrochimiche, magnetiche e ottiche, svolgono un ruolo determinante in svariati settori produttivi strategici come (per citarne alcune) la tecnologia green e digitale, l'energia rinnovabile, l'elettronica, l'auto elettrica, l'aerospaziale. Tali elementi, infatti, si possono trovare all'interno degli smartphone, nei microprocessori dei computer, nei led e schermi TV al plasma, nelle batterie delle auto elettriche e nei vetri schermanti delle auto, nei sensori elettrici, nelle fibre ottiche, nei convertitori catalitici che sono alla base della produzione delle turbine eoliche e i pannelli fotovoltaici e in numerosissimi altri prodotti. Considerato il ruolo fondamentale che questi elementi rivestono in una prospettiva di transizione green e digitale, è facile immaginare che nei prossimi anni la richiesta di terre rare è destinata ad aumentare notevolmente. Pur definendosi rari,



in realtà questi elementi si trovano in abbondanza soprattutto in alcuni paesi come la Cina (con i più grandi giacimenti e che riveste un ruolo di quasi monopolio), l'Africa (in buona parte finito sotto l'influenza cinese), la Russia; uno dei problemi è quello di trovarli in una concentrazione tale da supportare economicamente la loro estrazione. Infatti, quest'ultima si basa su processo multistep che, oltre a richiedere molta energia, si accompagna a una significativa produzione di rifiuti tossici con conseguenze rilevanti dal punto di vista ambientale. È evidente che per i paesi, in particolare l'Europa, impegnati nel perseguire strategie industriali basate sulla transizione eco-

logica sarà basilare individuare tecnologie alternative che possano sopperire alla scarsa presenza delle terre rare sul territorio, e al contempo evitare di trovarsi in condizioni di dipendenza quasi totale da paesi non sempre "amici" nell'approvvigionamento delle stesse. In questo senso, le "nostre" miniere potrebbero essere rappresentate dalla nostra stessa "spazzatura", visto che in Europa, solo di smartphone, se ne gettano via ogni anno 10 milioni, e ogni smartphone contiene più di 50 diversi tipi di elementi.

Per chi volesse approfondire l'argomento segnaliamo: *"La Cina e la geopolitica dei minerali strategici"* di Sophia Kalantzakos (Bocconi Edizioni).



## ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Il **Notiziario Allergologico** è una pubblicazione quadrimestrale di aggiornamento nel campo della Allergologia e delle discipline a essa correlate, rivolta ai Medici e ai Ricercatori. Il **Notiziario Allergologico** non pubblica articoli sperimentali, ma aggiornamenti e rassegne concordati con il Direttore responsabile e gli Autori, sia per quanto riguarda i contenuti che la lunghezza. Le affermazioni e le opinioni espresse negli articoli sono quelle degli Autori e non esprimono necessariamente il parere del Direttore responsabile o della Redazione.

- I **manoscritti** per la pubblicazione devono essere inviati tramite posta elettronica a:  
**redazione@lofarma.it**  
Nei manoscritti, oltre al nome completo degli Autori, dovrà essere indicata l'affiliazione degli stessi e l'indirizzo postale dell'Autore al quale verranno inviate le bozze.
- Il **testo** dovrà essere in formato Word o analogo, senza usare programmi di impaginazione specifici.
- Le **illustrazioni**, le fotografie e le tabelle dovranno essere salvate e inviate in file separati (formati JPG, TIFF, PDF).

**Notiziario Allergologico** is a quarterly publication for updates in the field of Allergology and related disciplines, aimed at Physicians and Researchers. **Notiziario Allergologico** does not publish experimental articles, but updates and reviews agreed upon with the Editor in Chief and Authors, both in content and length. The statements and opinions expressed in the articles are those of the Authors and do not necessarily express the views of the Editor in Chief or the Editorial Staff.

- **Manuscripts** for publication should be sent by e-mail to:  
**redazione@lofarma.it**  
In manuscripts, in addition to the Authors' full name, the Authors' affiliation and the mailing address of the Author to whom the drafts will be sent must be indicated.
- The **text** should be in Word or similar format, without using specific layout programs.
- **Illustrations**, photographs and tables should be saved and sent in separate files (JPG, TIFF, PDF formats).

El **Notiziario Allergologico** es una publicación cuatrimestral de actualización en el sector de la Alergología y disciplinas afines, dirigida a Médicos e Investigadores. El **Notiziario Allergologico** no publica artículos experimentales, sino actualizaciones y revisiones concertadas con el Director editorial y los Autores, tanto en contenido como en extensión. Las afirmaciones y opiniones expresadas en los artículos son las de los Autores y no reflejan necesariamente la opinión del Director editorial o de la Redacción.

- Los **manuscritos** para la publicación deben enviarse por correo electrónico a:  
**redazione@lofarma.it**  
En los manuscritos, además del nombre completo del Autor o Autores, deberá figurar su afiliación y la dirección postal del Autor a la que se enviarán los borradores.
- El **texto** debe estar en formato Word o similar, sin utilizar programas específicos de maquetación.
- Las **ilustraciones**, las fotografías y las tablas deben guardarse y enviarse en archivos separados (formatos JPG, TIFF, PDF).

Scarica, tramite QR code,  
le istruzioni per gli autori  
in formato PDF.



ITALIANO

Download, via QR code,  
instructions for authors  
in PDF format.



ENGLISH

Descarga, mediante código QR,  
instrucciones para autores  
en formato PDF.



ESPAÑOL

# BREATHE WELL, LIVE WELL



**Lofarma** 1945

viale Cassala 40 • 20143 Milan, Italy  
[www.lofarma.it](http://www.lofarma.it)

