

Principali marker dell'infiammazione di tipo 2: IgE, FeNO, eosinofili

MARCO CAMINATI

Dipartimento di Medicina - Università di Verona

Secundo le linee guida GINA, un'infiammazione di tipo 2 è presente in circa il 50% dei pazienti con asma grave, evidenza confermata da numerosi studi. Nel registro belga relativo a questa patologia (Belgian Severe Asthma Registry, BSAR), il 57% dei pazienti (n=350) presentavano un'infiammazione di tipo 2, confermata da una conta elevata degli eosinofili in sangue/sputo o dal FeNO (frazione di ossido nitrico esalata) [Schleich 2014].

Anche nello studio di fase II su lebrikizumab [Corren 2011], che ha considerato 219 soggetti, il 51% dei pazienti con asma grave presentava infiammazione di tipo 2 (livelli sierici elevati di IgE o eosinofili).

Uno studio retrospettivo su 200 pazienti con asma difficile nonostante il trattamento con corticosteroidi per via inalatoria ad alte dosi ha evidenziato un'infiammazione di tipo 2 nel 71% dei casi [Jackson 2018]; la percentuale di soggetti con infiammazione di tipo 2 arrivava all'80% (n=1902) in uno studio di fase III su dupilumab [Castro 2018].

In ogni caso, livelli elevati di biomarker infiammatori si associavano a un impatto maggiore della patologia.

Vari biomarker sono stati associati all'infiammazione di tipo 2; le linee guida GINA identificano alcuni marcatori e relativi cut-off come suggestivi di patologia severa: eosinofili ematici ≥ 150 cellule/ μ l e/o un FeNO ≥ 20 ppb e/o eosinofili nello sputo $\geq 2\%$. Inoltre, una forma di asma sensibile ad allergeni, insieme alla necessità di una terapia cortisonica di mantenimento sono caratteristiche cliniche ritenute indicatori di asma grave.

*FeNO,
eosinofili e IgE
sono marcatori
suggestivi
dell'infiammazione
di tipo 2*

IL-4 guida la conversione della classe Ig isotipica degli anticorpi IgM o IgG verso IgE a livello dei linfociti B

La titolazione delle IgE totali e specifiche è fondamentale nell'approccio iniziale al paziente asmatico

L'innalzamento dei valori di FeNO, eosinofili e IgE si correla all'attività delle citochine IL-4, IL-13 e IL-5, che possono essere prodotte a seguito di una reazione immunitaria adattativa a seguito del riscontro di allergeni; l'infiammazione di tipo 2 può accompagnarsi o meno a forme di atopia clinicamente manifesta [GINA 2019].

IgE

Le immunoglobuline di classe E sono note dagli anni '70 per due principali funzioni: una fisiologica, connessa con la difesa contro i parassiti, e una patologica, legata alle reazioni di ipersensibilità di tipo I, ovvero le allergie.

Lo studio della flogosi caratteristica del fenotipo Th2-high dell'asma grave ha tuttavia portato a conoscere una valenza infiammatoria delle IgE indipendente dal contesto di una reazione allergica. Infatti, molte cellule effettrici dell'infiammazione Th2, tra cui mastociti, basofili, cellule dendritiche, esprimono il recettore di superficie **FcεR1a** che lega selettivamente le IgE, le quali possono dunque modularne l'attività.

Sulle cellule dendritiche, così come sui linfociti B, i complessi FcεR1a-IgE amplificano la funzione di presentazione antigenica, orientando la risposta immunitaria verso un'infiammazione Th2. L'interazione tra IgE e FcεR1a sugli eosinofili favorisce invece lesioni a livello di barriera epiteliale, l'ispessimento della membrana basale e, in ultima analisi, il remodeling bronchiale. A questo aspetto contribuisce anche il cross-talking tra IgE e cellule del muscolo liscio bronchiale, che pure esprimono FcεR1a.

Il ruolo patogenetico di assoluta rilevanza delle IgE totali nell'asma grave le sostanzia come target terapeutico ben oltre l'aspetto allergico; infatti, circa il 30% dei pazienti asmatici non allergici presenta elevati livelli sierici di IgE totali. Secondo alcuni studi, i soggetti affetti da asma bronchiale con un maggior numero di IgE totali presentano una funzione bronchiale peggiore, così come maggior reattività alla metacolina; tuttavia, il dato non è univoco, e il livello di IgE totali non sembra avere valenza nel monitoraggio del controllo dell'asma.

Il **dosaggio delle IgE** totali e specifiche deve comunque rientrare nell'inquadramento iniziale di un paziente asmatico, anche grave; la presenza di IgE totali elevate, indipendentemente dalla concomitanza di IgE specifiche, orienta verso una connotazione Th2-high dell'infiam-

mazione sottostante e verso un esordio di tipo allergico della storia asmatica del paziente. Peraltro, nell'ambito della popolazione pediatrica elevati livelli di IgE totali sono considerati un fattore predittivo di sviluppo di asma. La presenza di IgE specifiche configura un fenotipo propriamente allergico, non così frequente nell'asma grave. Tutte queste informazioni sono utili al fine di una scelta terapeutica e gestionale mirata.

Un caso particolare è rappresentato dall'asma grave come epifenomeno dell'**aspergillosi broncopolmonare allergica** (ABPA). In tale condizione le IgE totali, così come gli eosinofili, sono diretta espressione dell'attività di malattia; oltre a rientrare tra i criteri diagnostici costituiscono dunque un biomarker utile per il monitoraggio.

FeNO

L'ossido nitrico (NO) è un gas prodotto da un enzima inducibile, la NO sintasi (NOS), presente nelle cellule dell'epitelio bronchiale e nei macrofagi. Sotto lo stimolo di molteplici citochine pro-infiammatorie, in particolare implicate nella genesi e amplificazione dell'infiammazione T2-high, può esserne indotta la produzione. All'interno dell'infiammazione asmatica, IL-4 e IL-13 causano una sovraregolazione di iNOS (sintetasi inducibile dell'ossido nitrico) e un conseguente aumento di produzione e rilascio di NO dalle cellule epiteliali. NO partecipa a molti processi dell'immunità innata e adattativa, contribuisce al danno tissutale, alla disreattività di membrana e al remodeling della mucosa bronchiale.

Pertanto, la frazione esalata dell'ossido nitrico bronchiale (FeNO) è utilizzata come marcatore dell'infiammazione Th2-high. La valutazione del FeNO bronchiale, tramite apposito misuratore a chemiluminescenza o dotato di sensori elettrochimici, richiede un'espirazione in un boccaglio, lenta e a flusso costante (50 ml s^{-1}), successiva a una profonda inspirazione, sempre dalla bocca.

La rilevanza e l'interpretazione dei valori di FeNO nella pratica clinica non possono prescindere dalla consapevolezza dei molteplici fattori che possono influire sulla sua produzione: fumo, sensibilizzazione ad allergeni inalanti, infezioni virali, fenomeni di broncocostrizione in atto o broncodilatazione farmacologica, nonché l'assunzione di cibi ricchi in nitrati.

Il FeNO esprime la disreattività immunitaria dell'epitelio bronchiale correlata al fenotipo infiammatorio T2-high

In particolare, le più recenti evidenze hanno dimostrato come il FeNO non vada considerato come marcatore diretto ed esclusivo di flogosi eosinofila, ma piuttosto espressione della ben più complessa disreattività immunitaria dell'epitelio bronchiale caratteristica del fenotipo infiammatorio T2-high, che riguarda l'immunità sia innata sia adattativa. Tale variabilità giustifica da un lato l'assenza di un parallelismo sistematico tra FeNO, eosinofilia ematica e nell'espettorato indotto, dall'altro l'ampio range dei valori di riferimento. Infatti, se valori di FeNO <25 ppb sono da considerarsi sicuramente normali e >50 ppb sicuramente patologici, nell'ambito dell'intervallo 25-50 ppb il significato del risultato è passibile di diverse interpretazioni in base al contesto clinico. Pur in considerazione della variabilità e delle limitazioni sopra descritte, il FeNO rappresenta un utile strumento nella gestione pratica dell'asma grave (Tab. 1). Oltre che un marcatore di infiammazione T2 funzionale alla fenotipizzazione del paziente, può predire una buona risposta alla terapia antinfiammatoria steroidea, e fornire informazioni sull'efficacia della stessa, nonché sul grado di aderenza del paziente. Secondo quanto proposto dalle linee guida NICE, elevati valori di FeNO si associano a maggior probabilità di riacutizzazione e di scarso controllo dell'asma (Tab. 2).

*Valori di FeNO
elevati sono indice
di scarso controllo
dell'asma*

Nell'ambito delle terapie biologiche, attualmente disponibili o in fase avanzata di iter sperimentale, alti livelli di FeNO sono considerati fattori predittivi di buona risposta a omalizumab e tezepelumab. Più controversi i dati relativi a FeNO e mepolizumab, mentre non sono disponibili consistenti evidenze su FeNO e benralizumab. Al contrario, nel caso di dupilumab elevati livelli di FeNO rientrano in scheda tecnica tra i criteri di scelta del farmaco.

Eosinofili

La funzione fisiologica dei granulociti eosinofili è essenzialmente legata alla risposta antiparassitaria del sistema immunitario. Centrale è la loro rilevanza nella patogenesi di molteplici malattie allergiche e immuno-mediate, caratterizzate da flogosi T2-high. Sotto stimolazione di varie citochine, in particolare le interleuchine (IL)-3, 4, 5, 13 e il GM-CSF (*granulocyte macrophage-colony stimulating factor*) proprie di quel pattern infiammatorio, e in grado di attivare non solo le cellule adulte ma anche l'eosinofiloipoesi midollare, contribuiscono in modo sostanziale al mantenimento e

Livelli di FeNO	Principali quadri clinici
Elevati	asma con infiammazione Th2-high
	bronchite eosinofila
	sindrome delle apnee notturne
	atopia
	rinite allergica
	BPCO con fenotipo eosinofilo
	infezione virale
Normali/ridotti	asma neutrofilico / Th2-low
	fibrosi cistica
	fase iniziale di risposta allergica
	infezione virale
	tabagismo

Tabella 1. Principali quadri clinici associati a valori elevati o normali/ridotti di FeNO

	Infiammazione eosinofila delle vie aeree	Risposta a steroide inalatorio	In paziente con sintomi asmatici	In paziente senza sintomi asmatici
FeNO <25 ppb	Poco probabile	Poco probabile	Valutare diagnosi alternative	Aderenza ottimale a steroide inalatorio Valutare <i>step down</i>
FeNO 25-50 ppb	Possibile (da valutare nel contesto clinico)	Possibile (da valutare nel contesto clinico)	Aderenza non ottimale o dosaggio terapeutico inadeguato Possibile steroido-resistenza Esposizione allergenica	Aderenza ottimale e adeguato dosaggio terapeutico Proseguire monitoraggio del FeNO
FeNO >50 ppb	Probabile	Probabile	Aderenza non ottimale o dosaggio terapeutico inadeguato Rivedere tecnica inalatoria Possibile steroido-resistenza Esposizione allergenica Aumentato rischio di riacutizzazioni	Aderenza non ottimale o dosaggio terapeutico inadeguato Rivedere tecnica inalatoria

Tabella 2. Sintesi dei principali criteri interpretativi del FeNO

L'eosinofilia nel sangue periferico è il principale marcatore di infiammazione Th2-high e di asma difficile da trattare

all'amplificazione della flogosi, nonché al danno tissutale. I grandi granuli citoplasmatici degli eosinofili contengono infatti molteplici mediatori pro-infiammatori, citotossici e lesivi per i tessuti, tra cui la proteina basica maggiore 1 e 2 (MBP1 e MBP2), la proteina cationica eosinofila (ECP), la perossidasi eosinofila (EPO), le neurotossine.

Gli eosinofili attivati sono in grado di interagire con la matrice extracellulare, in particolare la fibronectina, e di promuovere la loro stessa sopravvivenza tramite la secrezione autocrina di IL-3, IL-5, GM-CSF. Possono inoltre produrre TGF- β , fattore chiave nel processo di remodeling bronchiale attraverso l'induzione dell'ispessimento della membrana basale.

In considerazione della loro rilevanza patogenetica, gli eosinofili sono attualmente il marcatore più accurato dell'infiammazione Th2-high, in particolare nel contesto dell'asma bronchiale.

Il range di normalità degli eosinofili è tuttora controverso. Nel contesto dell'asma severo, valori di eosinofili ematici >300 /microlitro sono considerati elevati. Per quanto riguarda l'espettorato indotto, una eosinofilia >2 o $>3\%$, a seconda del riferimento, è considerata suggestiva di infiammazione eosinofila. Sebbene sia stata descritta una certa correlazione tra livello degli eosinofili nel sangue e nell'espettorato indotto, l'eosinofilia ematica non sembra essere sistematicamente in parallelo con quella tissutale. Tale osservazione potrebbe fornire una spiegazione a quei casi in cui l'abbassamento degli eosinofili ematici non coincide con un effettivo miglioramento clinico.

In ogni caso, al momento, l'eosinofilia nel sangue periferico è considerato il principale marcatore di infiammazione Th2-high nonché di gravità e di difficile controllo dell'asma. Pazienti con eosinofili ≥ 400 cell/ μ l hanno un rischio più elevato di riacutizzazioni e accessi ospedalieri non programmati, così come in generale una funzione polmonare più compromessa.

Nell'ambito della terapia biologica dell'asma grave, le evidenze emerse dai trial clinici e da *post-hoc analysis* suggeriscono l'eosinofilia come requisito di prescrizione dei farmaci anti-IL-5, mepolizumab, e anti-recettore dell'IL-5, benralizumab, e come fattore predittivo di buona risposta clinica. Anche se non direttamente indirizzato agli eosinofili come target terapeutico, analoghe osser-

vazioni sono state riportate per omalizumab (anti-IgE). Alcuni dati emersi da studi di *real-life* ridimensionano il ruolo degli eosinofili, evidenziando una scarsa correlazione tra livello basale di eosinofilia ematica e l’entità della risposta clinica a mepolizumab; inoltre, la riduzione degli eosinofili periferici non sempre corre in parallelo con un maggior controllo dell’asma sotto terapia con mepolizumab. Analogamente, sempre secondo dati di *real-life*, la risposta a omalizumab sembra essere indipendente dall’eosinofilia ematica pre-inizio terapia. Una possibile spiegazione può risiedere nella complessità e molteplicità delle vie di attivazione dell’infiammazione eosinofila che possono sfuggire al blocco di una singola interleuchina, o attivarsi in risposta al blocco stesso; inoltre, foci di eosinofiloipoesi possono trovarsi anche a livello tissutale ed essere solo parzialmente modulati dalla terapia biologica.

L’efficacia di dupilumab (anti-recettore per IL-4 e IL-13) nell’asma a fenotipo T2-high, in presenza di una eosinofilia basale modesta (≥ 150 cells/ μ L), suggerisce come l’eosinofilo non sia il solo attore e potenzialmente bersaglio nel contesto di quel pattern infiammatorio (Tab. 3).

Nome	Bersaglio	Criteri prescrittivi	Fattori prognostici di risposta alla terapia	Indicazioni per il trattamento anche di altre patologie
Omalizumab	IgE circolanti	Sensibilizzazione ad allergeni perenni IgE sieriche 30-1500 UI/ml	Asma a insorgenza precoce Asma indotta da allergeni	Orticaria cronica spontanea
Mepolizumab	IL-5 circolante	Eosinofili ematici >150 cell/ μ l e nell’ultimo anno >300 cell/ μ l	Asma a insorgenza tardiva Poliposi nasale	
Benralizumab	Recettore cellulare di IL-5	Eosinofili ematici >300 cell/ μ l	Asma a insorgenza tardiva Poliposi nasale	
Dupilumab	Recettore cellulare di IL-4/13	Eosinofili ematici ≥ 150 cell/ μ l e/o FeNO >25 ppb e/o se necessita della terapia di mantenimento con OCS (indicazione EMA, in valutazione criteri di rimborsabilità da parte di AIFA)	Asma di tipo 2 a insorgenza precoce o tardiva Poliposi nasale	Poliposi nasale Dermatite atopica

Tabella 3. Eosinofili e altri marcatori utili nella scelta dei farmaci biologici

KEY POINTS

- La complessità dei meccanismi sottostanti all'infiammazione T2-high, in particolare nel contesto dell'asma grave, richiede un approccio multidimensionale che non può esaurirsi nella valutazione di un solo marcatore, benché di per sé espressione diretta di quel pattern infiammatorio. Lo studio di tale complessità, e di tutte le sue implicazioni cliniche, deve essere parte del percorso di identificazione del paziente candidabile a terapia biologica, e di selezione del trattamento biologico più adeguato.
- Al momento non esistono marcatori univocamente predittivi di risposta a un determinato biologico; dunque, un'attenta valutazione dell'intero quadro clinico del paziente, comprese le sue comorbidità e le modalità di esordio della patologia, continuano a rivestire un ruolo di primaria rilevanza.
- Secondo le attuali evidenze, non un singolo biomarcatore, ma piuttosto un pannello di più parametri, intersecati con le caratteristiche cliniche del paziente, implementeranno nella pratica clinica la cosiddetta medicina di precisione.

Bibliografia essenziale

- American Thoracic Society & European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:912-30.
- Arnold RJ, Massanari M, Lee T, et al. A review of the utility and cost effectiveness of monitoring fractional exhaled nitric oxide (FeNO) in asthma management. *Manag Care* 2018;27:34-41.
- Busse WW. Biological treatments for severe asthma: A major advance in asthma care. *Allergol Int* 2019;68:158-66.
- Caminati M, Bagnasco D, Rosenwasser L, et al. Biologics for the treatments of allergic conditions: Severe asthma. *Immunol Allergy Clin N Am*, in press.
- Caminati M, Pham DL, Bagnasco D, et al. Type 2 immunity in asthma. *World Allergy Organ J* 2018;11(1):13.
- Caminati M, Polk B, Rosenwasser LJ. What have recent advances in therapy taught us about severe asthma disease mechanisms? *Expert Rev Clin Immunol* 2019;15(11):1145-53.
- Caminati M, Vianello A, Chieco Bianchi F, et al; NEONET Study Group. Relevance of Th2 markers in the assessment and therapeutic management of severe allergic asthma: a real life perspective. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2020;30(1):35-41.
- Castro M, Corren J, Pavord ID, et al. Dupilumab efficacy and safety in moderate-to-severe uncontrolled asthma. *N Engl J Med* 2018;378(26):2486-96.
- Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2011;365:1088-98.
- de Abreu FC, da Silva Júnior JLR, Rabahi MF. The fraction exhaled nitric oxide as a biomarker of asthma control. *Biomark Insights* 2019;14:1177271919826550.
- 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.
- Froidure A, Mouthuy J, Durham SR, et al. Asthma phenotypes and IgE responses. *Eur Respir J* 2016;47:304-19.
- Global Initiative for Asthma (GINA). 2019 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2019. <https://ginasthma.org/gina-reports/>. (Ultimo accesso: 25 novembre 2019).
- Jackson DJ, Aljamil N, Roxas C, et al. The 'T2-low' asthma phenotype: could it just be T2-high asthma treated with corticosteroids? *Thorax* 2018;73(Suppl 4):A124-5. P48.
- Kaur R, Chupp G. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144(1):1-12.
- Medrek SK, Parulekar AD, Hanania NA. Predictive biomarkers for asthma therapy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2017;17(10):69.
- Pavlidis S, Takahashi K, Ng Kee Kwong F, et al. "T2-high" in severe asthma related to blood eosinophil, exhaled nitric oxide and serum periostin. *Eur Respir J* 2019;53(1):1800938.
- Rath N, Raje N, Rosenwasser L. Immunoglobulin E as a biomarker in asthma. *Immunol Allergy Clin N Am* 2018;38:587-97.
- Riaz N, Wolden SL, Gelblum DY, et al. Eosinophils in mucosal immune responses. *Mucosal Immunol* 2016;118(24):6072-8.
- Ricciardolo, FLM, Sorbello V, Ciprandi G. FeNO as biomarker for asthma phenotyping and management. *Allergy Asthma Proc* 2015;36(1):e1-8.
- Schleich F, Brusselle G, Louis R, et al. Heterogeneity of phenotypes in severe asthmatics. The Belgian Severe Asthma Registry (BSAR). *Respir Med* 2014;108(12):1723-32.