

PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

DOCUMENTO INTERSOCIETARIO AAITO/AIPO/SIMRI ASMA GRAVE: DALL'INFANZIA ALL'ETÀ ADULTA

L'epidemiologia dell'asma grave
e l'utilità di un registro

Fenotipi ed endotipi di asma grave nell'età adulta

Inquadramento diagnostico e diagnosi differenziale
nel bambino con asma grave

I fattori di rischio nell'asma grave

I biomarker nell'asma grave

Asma grave e ACOS: differenze e similitudini

Near fatal asthma: prevenzione e trattamento

Terapia dell'asma grave in età pediatrica e nuove
prospettive

Terapia dell'asma grave in età adulta e nuove
prospettive

Il bambino con asma grave diventa adulto: il problema
della Transizione



INDICE

Prefazione

Venerino Poletti Giorgio Piacentini Antonino Musarra,
Stefano Gasparini Renato Cutrera, Maria Beatrice Bilò

3

L'epidemiologia dell'asma grave e l'utilità di un registro

Franca Rusconi, Emanuela di Palmo, Renato Cutrera,
Antonio Di Marco, Gennaro D'Amato, Megon Bresciani

4

Fenotipi ed endotipi di asma grave nell'età adulta

Adriano Vaghi, Fausto De Michele

15

Inquadramento diagnostico e diagnosi differenziale nel bambino con asma grave

Valeria Caldarelli, Giorgio Piacentini

31

I fattori di rischio nell'asma grave

Roberto Battista Polillo, Megon Bresciani, Gennaro D'Amato

39

I biomarker nell'asma grave

Mark Gjemarkaj

44

Asma grave e ACOS: differenze e similitudini

Adriano Vaghi, Andrea Rossi, Gennaro D'Amato

52

Near fatal asthma: prevenzione e trattamento

Gennaro D'Amato, Raffaele Scala, Adriano Vaghi,
Maria D'Amato

70

Terapia dell'asma grave in età pediatrica e nuove prospettive

Francesca Santamaria, Silvia Montella

88

Terapia dell'asma grave in età adulta e nuove prospettive

Leonardo Antonicelli, Claudio Micheletto, Stefano
Gasparini

101

Il bambino con asma grave diventa adulto: il problema della Transizione

Renato Cutrera, Nicola Ullmann, Federica Porcaro,
Valentina Negro, Antonio Di Marco

108

Pneumologia Pediatria

Volume 18, n. 69 - marzo 2018

Direttore Responsabile

Francesca Santamaria (Napoli)

Direzione Scientifica

Stefania La Grutta (Palermo)
Nicola Ullmann (Roma)

Segreteria Scientifica

Silvia Montella (Napoli)

Comitato Editoriale

Angelo Barbato (Padova)
Filippo Bernardi (Bologna)
Alfredo Boccaccino (Misurina)
Attilio L. Boner (Verona)
Mario Canciani (Udine)
Carlo Capristo (Napoli)
Fabio Cardinale (Bari)
Salvatore Cazzato (Bologna)
Renato Cutrera (Roma)
Fernando M. de Benedictis (Ancona)
Fulvio Esposito (Napoli)
Mario La Rosa (Catania)
Massimo Landi (Torino)
Gianluigi Marseglia (Pavia)
Fabio Midulla (Roma)
Luigi Nespoli (Varese)
Giorgio L. Piacentini (Verona)
Giovanni A. Rossi (Genova)
Giancarlo Tancredi (Roma)
Marcello Verini (Chieti)

Editore

Giannini Editore
Via Cisterna dell'Olio 6b
80134 Napoli
e-mail: editore@gianninisp.it
www.gianninieditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazioni e Congressi Srl
e-mail: info@centercongressi.com
Napoli

Realizzazione Editoriale e Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli
SpA
Napoli

© Copyright 2018 by SIMRI
Finito di stampare nel mese di marzo 2018

Asma grave e ACOS: differenze e similitudini

Severe asthma and ACOS: similarities and differences

Adriano Vaghi¹, Andrea Rossi², Gennaro D'Amato³

¹ UOC Pneumologia, ASST Rhodense, Garbagnate Milanese (MI)

² Studi AIPO, Verona

³ "Climate change, biodiversity and Allergy" World Allergy Organization (WAO)

Riassunto: L'ACOS (*Asthma COPD Overlap Syndrome*) e l'asma grave sono due condizioni patologiche eterogenee, nelle quali convergono diversi fenotipi o endotipi di asma e BPCO, sotto un'unica definizione ombrello di tipo clinico-fisiopatologico. La definizione di asma grave è basata sulla persistenza di uno scarso controllo della malattia nei pazienti asmatici che assumono alte dosi di steroidi inalatori e per via sistemica, mentre l'ACOS viene generalmente definita come "condizione patologica ostruttiva bronchiale in cui si sovrappongono caratteristiche flogistiche, fisiopatologiche e cliniche dell'asma e della BPCO". Attualmente l'ACOS non può essere distinta dall'asma grave in base ad un sola prova spirometrica che evidenzia un danno ostruttivo non reversibile ($FEV_1/FVC < LLN$), poiché un pattern spirometrico ostruttivo può essere presente in entrambe le condizioni patologiche. Pertanto, una corretta diagnosi differenziale necessita di una contestualizzazione della spirometria nell'ambito della storia clinico-funzionale e della risposta alla terapia e del paziente, particolarmente agli steroidi. La presenza di enfisema, dimostrabile da una evidente compromissione della diffusione alveolo-capillare o alla TC del torace, porta ad una diagnosi di *overlap* asma-BPCO (ACOS), mentre al momento non sono disponibili per l'utilizzo clinico *marker* infiammatori che possano differenziare l'ACOS dall'asma grave. Per poter trarre conclusioni definitive sulle differenze e similitudini tra ACOS, asma e BPCO, sono necessari ulteriori studi prospettici che arruolino pazienti con ostruzione bronchiale, comunemente esclusi dagli studi relativi all'asma e alla BPCO. Questi pazienti infatti mostrano caratteristiche "non tipiche" ma, nella vita reale, sono una parte significativa dei soggetti broncostruiti.

Parole chiave: Asma, Asma grave, ACOS, BPCO, Fenotipo, Endotipo

Summary: Both ACOS (*Asthma COPD Overlap Syndrome*) and severe asthma are heterogeneous pathological conditions, in which numerous phenotypes or endotypes of asthma and COPD can be kept together, under a single clinico-pathophysiological umbrella definition. The definition of severe asthma is based on the persistence of poor disease control in asthmatic patients, who take high doses of inhaled and systemic steroids, while ACOS is generally termed as "bronchial obstructive pathological condition overlapping inflammatory, pathophysiological and clinical features typical of asthma and COPD". ACOS can't be actually differentiated from severe asthma by using a single spirometric test showing a non-reversible obstructive bronchial disease ($FEV_1/FVC < LLN$), because an obstructive spirometric pattern can be present in the two pathological conditions. Therefore, a correct differential diagnosis needs a contextualization of spirometry in consideration of the clinico-functional history and of the response to therapy, particularly to steroid. The presence of emphysema, which can be shown by impaired capillary alveolar diffusion or by chest TC, leads to an overlap diagnosis of asthma and COPD (ACOS), while currently no inflammatory markers, which may differentiate ACOS from severe asthma, are available for clinical use. In order to draw definitive conclusions about the differences and similarities among ACOS, asthma and COPD, further prospective studies, enrolling patients with bronchial obstruction, commonly excluded from asthma and COPD studies, are needed.

These patients, in fact, show "not-typical" characteristics but, in real life, they share a significant part of subjects with obstructive bronchial pathology.

Key words: Asthma, Severe asthma, ACOS, COPD, Phenotype; Endotype

INTRODUZIONE

Il confronto e la descrizione del rapporto tra asma grave e ACOS (*Asthma and COPD Overlap Syndrome*) costituiscono un argomento di grande attualità ed una sfida per la comunità pneumologica. Le criticità sono relative alla mancanza di una definizione condivisa di queste due malattie o meglio sindromi, in particolare per quanto riguarda l'ACOS.

Infatti sia l'ACOS che l'asma grave sono condizioni patologiche estremamente eterogenee in cui convergono, sotto un'unica definizione ombrello di tipo clinico-fisiopatologica, numerosi fenotipi o endotipi dell'asma e della BPCO (1-3). Al fine di effettuare un confronto che possa mettere in evidenza differenze e similarità tra ACOS e asma grave è necessario prima sintetizzare le attuali conoscenze su questa tematica in continua evoluzione.

ASMA GRAVE: ETIOPATOGENESI E FENOTIPIZZAZIONE

La definizione di asma grave è basata sulla permanenza di uno scarso controllo in pazienti asmatici che assumono elevate dosi di steroidi per via inalatoria e sistemica.

Questa descrizione operativa accomuna necessariamente numerosi fenotipi e meccanismi etiopatogenetici dell'asma grave (1). Un importante elemento distintivo che caratterizza l'asma è la presenza o meno di una flogosi di tipo Th2. Vengono pertanto individuati fenotipi di tipo Th2, in cui è presente un'aumentata produzione di citochine quali IL4, IL13, IL5 associate ad eosinofilia, e fenotipi non Th2. Studi effettuati in pazienti con asma da lieve a grave hanno dimostrato che circa il 50-70% dei soggetti presenta una flogosi di tipo Th2 (4, 5), mentre nei restanti soggetti la flogosi può essere definita in modo semplicistico di tipo non Th2 o tipo Th2 a basso grado di infiammazione. Per una più dettagliata descrizione dei diversi fenotipi dell'asma si rinvia al capitolo "*Fenotipi ed endotipi di asma grave nell'età adulta*".

RISPOSTA IMMUNITARIA ACQUISITA TH2

La risposta immunitaria acquisita Th2 viene attivata nei soggetti geneticamente predisposti a seguito della presentazione del complesso MHC (*Major Histocompatibility Complex*)-peptidi da parte delle cellule APC (*Antigen Presenting Cell*) ai linfociti *naïve* (CD4+ o T0); il complesso è riconosciuto dal TCR (*T-Cell Receptor*).

L'interazione promuove l'espressione di OX40 e del ligando CD40L da parte dei linfociti Th0 che si connette al CD40 presente sulle APC che a loro volta producono citochine che nei linfociti *naïve* stimolano la sintesi di fattori di trascrizione GATA3 e quindi la maturazione dei Th0 in linfociti Th2. I Th2 producono numerose citochine, quali IL3, IL4, IL5, IL10, IL13.

I linfociti Th2, in presenza di IL4 e IL13 e del legame CD40L-CD40 tra Th2 e linfocita B, stimolano lo *switching* isotipico e la produzione da parte dei linfociti B delle IgE specifiche.

Le IgE si fissano ai mastociti ed ai basofili e il legame tra IgE e allergene determina il rilascio di istamina, leucotrieni e PGD2 (Prostaglandina D2).

La flogosi Th2 si associa ad eosinofilia che è presente nel BAL, nella mucosa bronchiale, nell'espettorato e nel sangue periferico in quanto le citochine Th2, in particolare IL5, sono un potente promotore della produzione midollare e dell'attivazione e concentrazione polmonare degli eosinofili. Il fenotipo asmatico Th2 è quindi caratterizzato dalla presenza di atopia, elevati livelli di IgE, IgE specifiche ed eosinofilia (1, 6).

RISPOSTA IMMUNITARIA INNATA ILC2

Recentemente è stato dimostrato che l'infiammazione di tipo Th2 può essere sostenuta non solo da una risposta immunitaria acquisita (Th2), ma anche da parte di cellule infiammatorie appartenenti all'immunità innata, come le cellule linfoidi ILC (*Innate Lymphoid Cell*), i linfociti NK (*Natural Killer*) e NK invariati ed i progenitori degli eosinofili e dei basofili. Le

cellule ILC2 sono cellule linfoidi che non esprimono recettori per antigeni specifici come i TCR e possono essere attivate senza una preventiva sensibilizzazione da parte di antigeni estranei come gli allergeni (7, 8).

Le cellule linfoidi innate ILC1 producono prevalentemente interferone gamma (IFN γ) ed hanno come fattore di trascrizione T beta. Le cellule ILC2 producono IL5, IL9 e IL13 ed in minor misura IL4 e GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor*); i fattori di trascrizione sono le GATA3. Le cellule ILC3 producono prevalentemente IL22 e IL17 e i fattori di trascrizione sono le ROR (*RAR-related Orphan Receptor*)- γ t.

La risposta delle cellule linfoidi IL1 e ILC3 svolge un ruolo protettivo nei confronti delle infezioni batteriche e micotiche (ILC3), mentre le ILC2 si contrappongono alle infezioni parassitarie e giocano un ruolo anche in condizioni patologiche come le malattie allergiche e l'obesità; in questo ultimo caso assieme alle ILC3, le cellule ILC1 hanno invece un ruolo patogenetico nelle malattie autoimmuni (8). I linfociti ILC2 stimolano l'infiltrazione tissutale da parte degli eosinofili, la iperproduzione di muco e l'iperreattività bronchiale, oltre che i fenomeni di rimodellamento/riparazione bronchiale e solo in modo marginale la produzione di IgE. I linfociti ILC2 sono molto meno numerosi dei linfociti Th2, ma producono una quantità di citochine circa 10-40 volte superiore (7,8). È noto che stimoli tra loro estremamente diversi come allergeni, proteasi, virus ed inquinanti possano innescare una risposta infiammatoria di tipo Th2. L'elemento in comune tra questi stimoli è rappresentato dal danno dell'epitelio bronchiale (6); le cellule epiteliali infatti non rappresentano una barriera passiva tra ambiente esterno ed interno, ma quando vengono in contatto con agenti di danno producono numerosi mediatori e citochine, in particolare le allarmine: IL1, IL33, IL25, TSLP (*Thymic Stromal Lymphopoietin*), *heat shock protein* e acido urico. IL33, IL25 e TSLP sono in grado di stimolare i linfociti ILC2; il TSLP dopo l'interazione con il proprio recettore aumenta l'espressione del fattore di trascrizione GATA3 attraverso la fosforilazione della STAT5 agendo in modo sinergico con IL25 e IL33 (8).

Numerosi mediatori e citochine potenziano la produzione di IL5 da parte dei linfociti ILC2, come le PGD2 che stimolano il recettore CRTH2 (*Chemokine Receptor homologous molecule expressed on Th2 lymphocytes*), il leucotriene D, la IL13 ed in minor misura di IL4. Le cellule ILC2 non hanno solo un ruolo di difesa e amplificazione dell'infiammazione, ma anche di mantenimento dell'integrità della mucosa bronchiale; infatti, a seguito della produzione di IL33 da parte dell'epitelio danneggiato dai virus, le ILC2 producono l'anfiredulina che ha un effetto di rigenerazione e riparazione dell'epitelio.

RELAZIONE TRA RISPOSTA IMMUNITARIA TH2 ACQUISITA ED INNATA

L'attivazione della risposta infiammatoria Th2 innata nei soggetti geneticamente predisposti favorisce lo sviluppo della risposta immunitaria acquisita Th2 in quanto il TSLP che appartiene alla superfamiglia della IL7 stimola le cellule dendritiche a produrre il ligando OX40 che determina, in presenza di IL4 prodotta dai linfociti ILC2 e dai mastociti, la differenziazione del linfociti *naïve* CD4+ (Th0) in linfociti Th2 (6,8).

Recentemente Smith et al. (9) hanno confrontato la presenza di cellule ILC2 nei pazienti con asma lieve e asma grave cortico-dipendente. Gli Autori hanno riscontrato un aumento delle cellule ILC2 nel sangue e nell'espettorato dei pazienti con asma grave rispetto a quelli con asma lieve; le cellule ILC2 rappresentano la principale fonte delle citochine Th2.

I soggetti con asma grave che hanno una percentuale di eosinofili > 3% nell'espettorato presentano il maggior numero di cellule ILC2 nell'espettorato anche quando l'eosinofilia ematica è inferiore a 300/mL. Il lavoro dimostra che i linfociti ILC2 possono promuovere la persistenza dell'eosinofilia nei pazienti con asma grave malgrado la somministrazione di elevate dosi di steroidi orali.

Elevati livelli di TSLP e di IL33 sono stati riscontrati in pazienti cortico-dipendenti con asma grave, infatti la produzione di allarmine da parte dell'epitelio bronchiale è scarsamente responsiva

all'effetto soppressivo degli steroidi, così come la produzione di IL5 e IL13 da parte dei linfociti ILC2, in particolare quando sono stimolati in modo sinergico da TSLP e IL25 (7, 8).

Per risolvere i problemi connessi alla cortico-dipendenza sono in corso studi per valutare la possibilità di sopprimere elettivamente la produzione di allarmine con farmaci anti-TSLP e di IL5 e IL13 utilizzando bloccanti del fattore di trascrizione GATA3 o monoclonali anti IL5 e IL13 (2).

Un'aumentata produzione di IL5 può essere anche secondaria alla stimolazione diretta e aspecifica dei linfociti Th2 quindi non mediata dagli allergeni e dal TCR, ma da parte di superantigeni sia batterici, come le enterotossine dello stafilococco aureo, che micotici (aspergillo) che agiscono come potenti mitogeni (10). In questo caso è frequente anche il riscontro di un aumento delle IgE di tipo policlonale a seguito della stimolazione aspecifica dei B linfociti operata dai superantigeni. Colonizzazioni da parte dello stafilococco e dell'aspergillo sono frequenti nei soggetti con rinosinusite cronica, poliposi nasale e asma grave.

Un altro meccanismo che può provocare una eosinofilia non dipendente dalla produzione dei linfociti Th2 è conseguente alla stimolazione dei recettori delle proteasi PAR2 (*Protease Activated Receptor 2*) presenti sull'epitelio bronchiale (11).

Numerosi fonti di allergeni contengono significative quantità di proteasi come il dermatofagoide, l'alternaria e lo scarafaggio; le proteasi sono prodotte dai mastociti e dai neutrofilii.

Il distacco di una porzione del recettore PAR2 provoca l'attivazione delle proteine G, la produzione di NFkB (*Nuclear factor-κB*) e la sintesi di IL6, IL8 ed in particolare di eotassina (CCL11, CCL24, CCL26) che è una chemochina che attiva e richiama gli eosinofili nelle vie aeree. Le proteasi possono anche attivare la produzione di allarmine (TSLP e IL33) e quindi le cellule ILC2.

MARCATORI DELL'ASMA EOSINOFILA

La novità dell'approccio metodologico trascrittomico (4,5) consiste nell'individuare il fenotipo molecolare Th2 non effettuando una misura diretta delle citochine Th2 nell'espettorato, dosaggio spesso difficile e variabile, ma dimostrando l'iperespressione di alcuni geni indotti dalla IL4/13 come la periostina (POSTN), il regolatore dei canali del cloro 1 (CLCA1) e l'inibitore della serpina (SERPINEB2). L'attivazione Th2/IL13 è associata alla flogosi eosinofila dimostrata da un aumento degli eosinofili nel sangue e nel BAL, da un aumento delle IgE e del FeNO e da un'elevata reattività bronchiale. L'approccio clinico che viene comunemente utilizzato per confermare la presenza di un asma Th2 non è quello trascrittomico, che in tal senso ne rappresenterebbe il *gold standard*, ma viene comunemente utilizzato come *gold standard* "surrogato" l'eosinofilia nell'espettorato (*imperfect gold standard*) che sicuramente è un marker più semplice da misurare, ma soggetto ad una maggior variabilità.

Nella pratica clinica anche la metodica dell'espettorato indotto è complessa e *time consuming*; pertanto si è cercato di definire dei valori dell'eosinofilia ematica di FeNO, periostina e IgE che possano predire in modo affidabile un asma eosinofilo definito dalla presenza nell'espettorato di una percentuale eosinofili maggiore del 2-3%. Non sono invece chiaramente stabiliti i valori di eosinofili nel BAL o nelle biopsie bronchiali utili a definire tale fenotipo (12).

Valori di eosinofili circolanti > 400/mm³ o FeNO > 61 ppb o di periostina > 25 ng/mL hanno un elevato valore predittivo, anche da soli, nell'individuare un paziente con una eosinofilia definita come presenza > 3% di eosinofili nell'espettorato, e quindi confermare la presenza di un fenotipo eosinofilo. Il problema si pone quando ci si trova davanti a biomarker il cui valore è lievemente aumentato, ad esempio un valore di *cut-off* di FeNO ≥ 42 ppb ha un potere predittivo solo del 74% ed una accuratezza del 78% nel predire la presenza di eosinofili nell'espettorato > 3% (13). In questo caso l'accuratezza della diagnosi aumenta se vengono considerati più marcatori che sono tra loro concordanti associati ad un quadro clinico tipico (approccio bayesiano). Valori di FeNO intermedi (12-65 ppb) in presenza di valori di eosinofili circolanti analogamente intermedi (90-400/mm³), ma in un paziente con un quadro clinico tipico, ad

esempio asma grave ad insorgenza tardiva con rinosinusite e ASA intolleranti, definiscono con elevata probabilità un fenotipo eosinofilo anche in assenza di valori dei singoli marcatori superiori al *cut-off* convenuto (14). Inoltre i valori dei marcatori sono spesso variabili, quindi una ripetuta determinazione può essere utile per confermare l'effettivo fenotipo. Per contro ripetuti valori negativi sia di FeNO che di eosinofili (FeNO < 12 ppb, eosinofili circolanti < 90 mm³) hanno un elevato potere predittivo per escludere un fenotipo eosinofilo (14).

MECCANISMI ETIOPATOGENETICI DELLA FLOGOSI BRONCHIALE NON TH2

La fenotipizzazione trascrittomico molecolare ha dimostrato che in circa il 30-50% degli asmatici non sono presenti i marcatori genici della flogosi di tipo Th2; in questi soggetti le caratteristiche della cellularità nell'espettorato dimostrano la presenza di neutrofili o di una scarsa cellularità (espettorato paucigranulocitario) (15, 16). Nell'asma neutrofila gli eosinofili sono inferiori al 2-3% ed i neutrofili maggiori del 40-76%; nelle forme paucigranulocitarie sia i neutrofili che gli eosinofili sono contemporaneamente inferiori ai suddetti valori di *cut-off*. Anche utilizzando l'analisi dei gruppi (*cluster analysis*, vedi capitolo 2) è stata confermata la presenza di un *cluster* di soggetti con asma caratterizzata da una flogosi prevalente neutrofila o mista (17, 18); solitamente si tratta di soggetti con asma grave, sintomatici con ostruzione bronchiale scarsamente reversibile. I meccanismi etiopatogenetici dell'asma neutrofila non sono ancora stati chiaramente definiti, ma numerose evidenze dimostrano il ruolo prevalente dei linfociti Th1 (CD4+ Th1) che sono caratterizzati da fattori di trascrizione T beta e dalla produzione di IFN- γ ed il cui ruolo fisiologico è quello di proteggere l'organismo dalle infezioni batteriche e virali (15, 19).

Anche gli studi di fenotipizzazione trascrittomico mettono in evidenza nei soggetti con asma grave e flogosi neutrofila l'attivazione di geni correlati con la risposta immunitaria Th1 e Th17; in particolare Kuo et al. (20) hanno individuato un *cluster* in cui sono iperespressi i geni connessi alla produzione del sistema inflammasoma (NLRP, NOD-, LRR- and pyrin domain) e a quello delle superfamiglie di IFN- γ , TNF α e DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*).

RUOLO DELL'IFN γ NELL'ASMA NON TH2

Nel BAL dei soggetti con asma grave rispetto a quelli con asma lieve-moderato il livello di IFN γ è aumentato significativamente (19). La caratterizzazione immunologica delle cellule che producono IFN γ dimostra un prevalente profilo di tipo Th1 (IFN γ + CD4+ *T cells*) ed in questi soggetti IFN γ è aumentato anche nell'espettorato. Le cause più comuni che inducono un'aumentata produzione di IFN γ sono le infezioni virali, tra cui il rinovirus è il più comune, o batteriche in particolare dovute a *Chlamydia pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* e *Staphylococcus aureus* che potrebbero far ipotizzare una connessione tra infezioni croniche e asma grave. Durante l'infezione i batteri producono una maggiore quantità di di-GMP ciclico (*cyclic diguanilate monophosphate* o c-di-GMP), secondo messaggero che stimola la produzione di biofilm, la motilità e la virulenza di diverse specie batteriche. Il di-GMP ciclico viene riconosciuto nel citosol cellulare da particolari sensori (STING) presenti a livello del reticolo ergastoplasmatico che a loro volta attivano, attraverso la via IKK e TBK1, i fattori di trascrizione per IFN γ di tipo I (IRF3: *Interferon Regulatory Factor 3*) che pertanto inducono la produzione di IFN γ da parte dei linfociti Th1 (21). Con lo stesso meccanismo i batteri possono anche attivare i linfociti Th17 che producono IL17A, IL17E, IL22, IL8 e IL6. Anche il DNA virale può essere riconosciuto dal sistema sensoriale STING (21).

Il rapporto tra aumento dell'IFN γ e l'asma grave è ancora oggetto di numerosi studi.

Nell'asma grave la *computer assisted analysis* ha consentito di descrivere una relazione inversa tra livelli di IFN γ e l'espressione epiteliale di SLPI (*Secretory Leukocyte Protease Inhibitor*) che ha l'effetto di modulare negativamente la flogosi nell'asma, di inibire la risposta immunitaria innata, il rimodellamento bronchiale, l'iperreattività bronchiale e la produzione del FeNO (19).

Nel modello animale infatti la sovraespressione di SLPI riduce i livelli di FeNO prodotto dai macrofagi e li rende refrattari allo stimolo indotto dall'LPS (22).

Nei soggetti con asma grave sono stati dimostrati bassi livelli di SLPI, verosimilmente conseguenti all'aumentata produzione di IFN γ , che contribuiscono a mantenere elevata la formazione, in gran parte corticoresistente, di FeNO (19). Infatti l'IFN γ potenzia l'attività dell'IL13 nello stimolare una sovraespressione dell'iNOS e l'aumentata produzione di NO favorisce la formazione di nitriti e di 3 Nitro-Tirosina (3NT) e quindi lo stress ossidativo (22).

L'SLPI è un potente inibitore della serina proteasi leucocitaria, della elastasi, della chimasi e della triptasi prodotte dai mastociti, mentre di contro l'IFN γ stimola l'attività dei mastociti e facilita la liberazione di tripsina (23). La riduzione dello SLPI nell'asma grave comporta un aumento, nel microambiente, delle proteasi che stimolano i recettori PAR2 (*Protease-Activated Receptor 2*) che promuovono la flogosi, l'iperreattività bronchiale e la produzione di allarmine (IL33 e TSLP) e l'attivazione dei linfociti ILC2 e quindi la presenza di una flogosi bronchiale mista neutrofila ed eosinofila.

Non sono al momento disponibili marcatori di uso clinico che possano individuare i soggetti con asma neutrofila, contrariamente a quanto si verifica per l'asma eosinofila.

A scopo di ricerca sono stati utilizzati nell'espettorato i livelli di IL8 (CXCL8 e CXCL1, CCL5) e dei relativi recettori CXCR 1-2, la mieloperossidasi (MPO), le metalloproteasi (MMP), il TNF α e nel siero i livelli della chitinasi (YKL-40); quest'ultima è prodotta dai macrofagi e dai linfociti Th17 ed è associata a flogosi sistemica, obesità, diabete, aterosclerosi e nell'asma grave correla con i livelli di IL8 nell'espettorato (12, 16).

Nella pratica clinica la modalità più semplice per identificare i soggetti con un basso grado di flogosi Th2, quindi con cellularità paucigranucocitaria o neutrofilia nell'espettorato, non è verificare la presenza di uno dei suddetti marcatori, ma l'assenza di marcatori che indicano una significativa flogosi Th2 (12, 16).

FISIOPATOLOGIA DELL'ASMA GRAVE

L'asma grave è eterogenea sia dal punto di vista clinico etio-patogenetico che fisiopatologico; sono però state descritte alcune caratteristiche fisiopatologiche che possono differenziare i pazienti con asma grave rispetto a quelli con asma lieve-moderato.

In particolare i soggetti con asma grave presentano un maggior grado di ostruzione, di intrappolamento d'aria (iper-insufflazione) e di iperattività bronchiale ed una riduzione del ritorno elastico (24). La caratteristica fisiopatologica più importante dell'asma grave è la presenza di un'ostruzione spesso non completamente reversibile.

Il FEV₁ è la misura di ostruzione più riproducibile ed il migliore indicatore della gravità; l'ostruzione è considerata grave quando il FEV₁ è inferiore al 60%.

Dopo la somministrazione di un broncodilatatore spesso il miglioramento dell'FVC è maggiore rispetto a quella del FEV₁ che indica una risposta di volume ed una riduzione dell'intrappolamento d'aria (25). Recenti studi dimostrano che l'intrappolamento d'aria descritto dal rapporto RV/TLC è presente nel 48% dei soggetti con asma grave scarsamente controllata (26) ed è stato dimostrato anche da studi che utilizzano la TAC del torace. I pazienti con asma grave presentano inoltre un più rapido declino della funzione respiratoria rispetto ai soggetti con asma lieve o normali ed il declino correla con l'ispessimento della parete delle vie aeree sempre valutato con la TAC del torace (27). Nell'asma grave è stata anche descritta una riduzione del ritorno elastico polmonare, spesso in assenza di anomalie della TAC o della DL_{CO} che suggerisce la presenza di enfisema pseudofisiologico. Il meccanismo di perdita del ritorno elastico è perciò sconosciuto, ma recenti esami autoptici effettuati su pazienti con asma grave hanno dimostrato la presenza di microenfisema centrolobulare (28). La perdita dell'interdipendenza tra vie aeree e parenchima può determinare un'eccessiva riduzione del calibro delle vie aeree durante il broncospasmo come si verifica nei pazienti con *near fatal asthma* (29). Il meccanismo della perdita dell'interdipendenza può essere dovuta a processi di infiammazione peribronchiale, al

rimodellamento della parete esterna bronchiolare o ad una riduzione degli attacchi alveolari (30) che provocano un disaccoppiamento tra le forze che tendono a mantenere pervio il lume delle piccole vie aeree e quelle che tendono a ridurne il calibro; come conseguenza si verifica anche la riduzione o l'assenza della risposta broncodilatatrice durante l'inspirazione profonda. Questa caratteristica limita notevolmente la possibilità dei pazienti con asma grave di difendersi dagli stimoli bronco-spasmigeni e contribuisce ad aggravare l'iperreattività bronchiale. Pertanto, l'iperreattività bronchiale nei soggetti con asma grave, oltre ad una disfunzione del tono broncomotore e ad un aumento della contrattilità del muscolo bronchiale, è conseguente alla presenza di multipli meccanismi come riduzione del FEV₁, aumento delle resistenze delle vie aeree, del volume di chiusura e dell'*air trapping* e riduzione del ritorno elastico (31).

È stato individuato un sottogruppo di pazienti con asma grave e livelli di iperreattività bronchiale particolarmente elevati; questo tipo di asma è definito *brittle asthma*.

Si tratta di soggetti atopici, giovani, con flogosi neutrofila nei quali si possono sviluppare in poche ore gravi situazioni broncostruttive (1).

Pertanto dal punto di vista fisiopatologico i pazienti con asma grave, a differenza di quelli con forme di asma lieve, sono caratterizzati sia da modificazioni della periferia bronchiale che delle piccole vie aeree. In conclusione sia i meccanismi etiopatogenetici che fisiopatologici dimostrano che l'asma grave è una condizione eterogenea in cui sono descrivibili numerosi sottotipi, alcuni dei quali presentano delle similitudini sia dal punto di vista fisiopatologico (presenza di flusso limitazione non reversibile e dell'iperinsufflazione polmonare) che patogenetico (flogosi nell'espettorato, prevalentemente neutrofilia con bassa espressione Th2) e che possono avere delle somiglianze con quelli dei pazienti affetti da BPCO o meglio da quelli affetti da ACOS. Di seguito verranno presentate le caratteristiche dell'ACOS per poter poi confrontare opportunamente asma e ACOS.

DEFINIZIONE DI ACOS

Come abbiamo precedentemente sottolineato non esiste una definizione universalmente condivisa di ACOS, per quanto negli ultimi anni siano stati pubblicati numerosissimi lavori sull'argomento (28, 32-34) e quasi tutte le linee guida ed i documenti strategici dedicano una sezione alla descrizione dell'ACOS (3, 34, 39). Nel caso del documento GINA e GOLD, come per gli altri documenti o linee guida, la definizione ed i criteri diagnostici proposti rappresentano il parere di esperti che hanno come obiettivo quello di aprire una discussione sull'argomento più che di indicare un vero e proprio *statement* basato sulle evidenze (tabella 1) (3, 32, 34-40).

Tab. 1. Criteri diagnostici.	
Autori	Definizione
Gibson et al. 2009 (34)	Compresenza di: - asma (sintomi di aumentata variabilità del flusso) - BPCO (ostruzione bronchiale non completamente reversibile)
Hardin et al. 2011 (35)	Diagnosi di BPCO e una precedente diagnosi di asma effettuata prima dei 40 anni
Soler-Cataluña et al. 2012 (36) è necessario soddisfare 2 criteri maggiori o 1 criterio maggiore e 2 criteri minori	In pazienti con FEV ₁ /FVC < LLN o < 0,7 Criteri maggiori Risposta ai broncodilatatori: > 400 mL > 15% Eosinofilia nello sputo Precedente diagnosi di asma Criteri minori Aumento delle IgE totali nel siero Precedente storia di atopia Positività al test di broncodilatazione (> 200 mL e > 12%) in almeno due occasioni

Louie et al. 2013 (37)	Asma con ostruzione parzialmente reversibile con o senza enfisema o riduzione del $DL_{CO} < 80\%$ del predetto BPCO con enfisema, ostruzione al flusso parzialmente reversibile con o senza allergie ambientali e ridotto DL_{CO}
Menezes et al. 2013 (38)	$FEV_1/FVC < 0,7$ e diagnosi medica di asma o presenza di sibili + positività al test di broncodilatazione (> 200 mL e $> 12\%$)
D'Amato et al. 2015 (3)	Condizione patologica ostruttiva bronchiale in cui si sovrappongono caratteristiche flogistiche, fisiopatologiche e cliniche dell'asma e della BPCO
GINA e GOLD Joint Project 2016 (39)	ACOS è definita come compresenza di caratteristiche clinico-fisiopatologiche dell'asma e della BPCO
Sin et al. 2016 (32) è necessario soddisfare 3 criteri maggiori ed 1 criterio minore	Criteri maggiori Pazienti di età > 40 anni con $FEV_1/FVC < LLN$ (preferibile) o $< 0,7$ Fumo di almeno 10 <i>pack/years</i> o equivalente esposizione a inquinamento ambientale (es biomasse) Documentata storia di asma prima dei 40 anni o risposta al broncodilatatore: > 400 mL $> 15\%$ Criteri minori Documentata storia di rinite allergica Positività al test di broncodilatazione (> 200 mL e $> 12\%$) in almeno due occasioni Conta degli eosinofili periferici ≥ 300 cell/uL
Cataldo et al. (40) ACOS in COPD patients è necessario soddisfare 2 criteri maggiori ed 1 criterio minore	Criteri maggiori Elevata variabilità della funzione respiratoria nel tempo, $FEV_1: > 400$ mL Positività al test di broncodilatazione (> 200 mL e $> 12\%$) in almeno due occasioni Criteri minori Storia personale o familiare di allergia o Ipersensibilità IgE mediata a 1 o più allergeni Elevati livelli di eosinofili nel espettorato o nel siero o elevati livelli di FeNO Diagnosi di asma prima dei 40 anni Variabilità dei sintomi Età compatibile con una diagnosi di asma
Cataldo et al. (40) ACOS in asthma patients è necessario soddisfare 2 criteri maggiori ed 1 criterio minore	Criteri maggiori Persistente ostruzione: $FEV_1/FVC < 0,7$ o $< LLN$ Esposizione a inquinamento ambientale o in caso di fumo o di ex fumo < 10 <i>pack/years</i> Criteri minori Mancata risposta ad un test di broncodilatazione acuta Riduzione della diffusione alveolo capillare CO (DL_{CO}) Scarsa variabilità dell'ostruzione Età che favorisce una diagnosi di BPCO (> 40 anni) Presenza di enfisema ad una TC torace

I documenti GOLD e GINA (39) propongono una serie di *checklist* di caratteristiche clinico-fisiopatologiche senza individuare precisi *cut-off* che possono essere utilizzati per offrire un indirizzo diagnostico utilizzabile nella pratica clinica quotidiana. Anche il documento AIPO propone un'ampia revisione dei dati presenti in letteratura, in particolare per quanto attiene all'epidemiologia, fisiopatologia e fenotipizzazione dell'ACOS che viene definita come "condizione patologica ostruttiva bronchiale in cui si sovrappongono caratteristiche flogistiche, fisiopatologiche e cliniche dell'asma e della BPCO". Altri documenti o *position paper* adottano un approccio più pragmatico come quello spagnolo (36) e quello del comitato ATS (32) che

propongono, al fine della diagnosi, criteri maggiori e minori. Gli Autori della gruppo ATS hanno proposto tre criteri maggiori:

- persistente limitazione del flusso, quindi $FEV_1/FVC < 0,7$ o meglio $< LLN$ in soggetti con più di 40 anni;
- una storia di fumo con un consumo di più di 10 *pack/years* o esposizione alle biomasse;
- una storia documentata di asma o una risposta broncodilatatrice > 400 mL o maggiore in soggetti senza una preventiva storia di asma e due criteri minori: (a) una storia documentata di atopia o di rinite allergica; (b) una risposta broncodilatatrice ≥ 200 mL almeno in due differenti occasioni; (c) una conta di eosinofili periferici $> 300/mm^3$.

La proposta ATS (32) è più restrittiva di quella della GesEPOC e SEPAR (36) perché propone che ai fini della diagnosi siano presenti tre criteri maggiori ed almeno un criterio minore; mentre il documento SEPAR (36) è più inclusivo e considera diagnostici almeno 2 criteri maggiori o 1 criterio maggiore e 2 criteri minori. Le Linee Guida spagnole dell'asma (41) propongono di porre una diagnosi di ACOS secondo dei precisi criteri. Il sospetto di ACOS è posto in soggetti con ostruzione non completamente reversibile ($FEV_1/FVC < 0,7$ post broncodilatatore) con una storia di esposizione al fumo di sigarette o di biomasse, con un'anamnesi familiare o personale suggestiva per asma e una storia clinica che inizia prima dei 40 anni.

Il primo step consiste nella somministrazione di un ciclo di prednisone per via orale per 15 giorni al termine del quale i soggetti con normalizzazione del rapporto FEV_1/FVC vengono diagnosticati come asmatici. I pazienti in cui permane una flusso limitazione ($FEV_1/FVC < 0,7$) vengono ulteriormente indagati e viene posta una diagnosi di ACOS se è presente: (a) aumento del $FEV_1 > 12\%$ dopo broncodilatatore; (b) iperreattività bronchiale ($PC20 < 0,4$ mg/mL); (c) marcatore di flogosi Th2: $FeNO > 50$ ppb, eosinofili circolanti $> 300/mm^3$ o nell'espettorato $> 3\%$ (è sufficiente un solo criterio). Il recente documento di consenso belga (40) propone criteri maggiori e minori da applicare differenzialmente ai pazienti con diagnosi principale di BPCO, in cui si ipotizza sia presente un quadro clinico di ACOS, e analogamente per l'asma.

Questa distinzione prende lo spunto da un precedente lavoro di Postma et al. (33) in cui vengono descritti due quadri "classici" o "facili" di asma e BPCO e proposte le caratteristiche dei pazienti ACOS che si associano ad una diagnosi di partenza, di BPCO o di asma (*ACOS stemming from Asthma o ACOS stemming from BPCO*). Le caratteristiche che consentono di diagnosticare l'ACOS nei pazienti con BPCO sono essenzialmente connesse alla variabilità dell'ostruzione bronchiale il cui valore di *cut-off* per il FEV_1 è maggiore di 400 mL e del 15% che non deve verificarsi necessariamente dopo la somministrazione di un broncodilatatore, ma è intesa come variabilità della funzione respiratoria nel tempo. Gli altri criteri del documento belga (40) sono connessi alla presenza di una precedente storia clinica di asma o di atopia o dei relativi marcatori flogistici.

Per quanto riguarda la presenza di ACOS nei soggetti con una diagnosi di partenza di asma ovviamente il criterio cardine è quello di un quadro ostruttivo non reversibile, una storia di fumo modesta ma presente o di un'esposizione a fumi o inquinanti ambientali associata alla presenza di lesioni anatomopatologiche tipiche della BPCO, come la presenza di segni anche minimi di enfisema alla TAC (criteri minori) o di una alterazione del DL_{co} (tabella 2) (3).

Tab. 2. Criteri diagnostici della sindrome da sovrapposizione asma-BPCO (da Barrecheuren et al. 2013, mod.).

Gibson P, Simpson J, 2009	Asma e BPCO (sintomi di un'aumentata variabilità di flusso e di incompleta reversibilità al flusso)
COPD gene, 2011	Pazienti con BPCO e una diagnosi di asma prima di 40 anni
GesEPOC, 2012 (un paziente deve soddisfare 2 criteri maggiori o 1 criterio maggiore e 2 minori)	<p><i>Criteri maggiori</i></p> <p>Risposta molto positiva al broncodilatatore (>400 ml e FEV₁ > 15%)</p> <p>Eosinofilia dello sputo</p> <p>Precedente diagnosi di asma</p> <p><i>Criteri minori</i></p> <p>Aumento delle IgE totali nel siero</p> <p>Precedente storia di atopìa</p> <p>Positività al test di broncodilatazione (>200 ml e FEV₁ > 12%) in almeno due occasioni</p>
Linee guida Repubblica Ceca, 2013 (un paziente deve soddisfare 2 criteri maggiori o 1 criterio maggiore e 2 minori)	<p><i>Criteri maggiori</i></p> <p>Test del broncodilatatore fortemente positivo (FEV₁ > 15% e > 400 ml)</p> <p>Iperreattività bronchiale</p> <p>FeNO > 45-50 ppb e/o eosinofilia da sputo ≥ 3%</p> <p>Storia di asma</p> <p><i>Criteri minori</i></p> <p>Test di positività al broncodilatatore medio (FEV₁ > 12% e > 200 ml)</p> <p>Aumento delle IgE totali</p> <p>Storia di atopìa</p>
Louie S et al., 2013	<ul style="list-style-type: none"> - Asma con un'ostruzione parzialmente reversibile con o senza enfisema o riduzione della DL_{CO} < 80% del predetto - BPCO con enfisema accompagnato da ostruzione al flusso reversibile o parzialmente reversibile, con o senza allergie ambientali o ridotta DL_{CO}
PLATINO, 2013	FEV ₁ /FVC < 0,7 e diagnosi medica di asma o sibili + positività al test del broncodilatatore (>200 ml e FEV ₁ > 12%)

La *flowchart* proposta dal *position paper* belga (40) è operativamente semplice e di facile applicabilità nella pratica clinica e sottolinea implicitamente l'eterogeneità dell'ACOS, però non offre dei criteri diagnostici unitari. Possiamo riassumere le diverse definizioni dell'ACOS presenti in letteratura, che di fatto sono influenzate dalle cosiddette ipotesi inglese ed olandese riguardo l'etio-patogenesi dell'asma e della BPCO, nei seguenti tre punti:

- asma e BPCO sono due diverse malattie e l'ACOS è costituita dai pazienti che presentano caratteristiche comuni alle due (area di sovrapposizione); questa interpretazione è quella seguita dalla maggior parte dei documenti (3, 32, 39);
- asma e BPCO sono due diverse malattie ed ogni malattia presenta dei *cluster* di pazienti che hanno una presentazione non classica, quindi viene definita l'ACOS nei pazienti con prevalente quadro clinico di asma o di BPCO;
- (c) asma e BPCO sono diverse espressioni della stessa malattia (ipotesi olandese) e nell'ambito di questa sono possibili diversi fenotipi di pazienti definibili come ACOS. Nell'articolo adotteremo la definizione al primo punto, in conformità a quelle che sono le proposte espresse dai documenti più autorevoli.

Non sono attualmente disponibili dati certi che riguardano la prevalenza dell'ACOS.

A seconda degli studi e dei criteri diagnostici utilizzati la prevalenza è compresa tra il 10 e il 50%, ma verosimilmente si attesta attorno al 20% dei pazienti con un danno ostruttivo cronico (3, 42).

Si tratta in gran parte di dati indiretti desumibili da lavori effettuati nell'ambito della popolazione generale e dei soggetti con ostruzione cronica, ma in particolare in quelli affetti da asma e BPCO che riportiamo di seguito.

Prevalenza dell'ACOS nei pazienti con diagnosi di BPCO

Nella revisione relativa all'ACOS di Gibson et al. (42) gli Autori hanno dimostrato l'esistenza di un *pattern* funzionale compatibile con ACOS in 7 lavori su 11 relativi alla BPCO analizzati con una prevalenza del 21%; frequentemente tale diagnosi è associata alla presenza di flogosi eosinofila. Alshabanat et al. (43) hanno effettuato una metanalisi di 17 studi ed hanno osservato che la prevalenza dell'ACOS, definita come coesistenza di BPCO e asma, raggiunge il 27% tra i soggetti originariamente diagnosticati come BPCO. Sebbene la casistica individuata sia abbastanza eterogenea i pazienti con ACOS sono solitamente più giovani (range 40-60 anni) e frequentemente di sesso femminile rispetto a quelli con BPCO. La principale limitazione di questi studi è che la diagnosi di asma è spesso autoriferita dal paziente come dato anamnestico senza dimostrazioni obiettive in tal senso. Al fine di rendere più oggettiva la diagnosi di ACOS Tkacowa et al. (44) hanno valutato la presenza dell'iperreattività bronchiale come *marker* dell'ACOS utilizzando i dati dello studio LHS (*Lung Health Study*) e quelli della coorte GLUCOLD. Gli Autori hanno potuto definire che il 24% dei soggetti con BPCO presenta iperreattività bronchiale definita da una $PC_{20} < 4$ mg/mL. I pazienti con ACOS così definita hanno un più rapido declino del FEV_1 ed un maggior rischio di mortalità per cause polmonari.

Per quanto l'iperreattività bronchiale sia un importante marcatore dell'asma è verosimile che nella BPCO abbia un'etiologia differente rispetto all'asma e sia dovuta a fattori di tipo meccanico come la riduzione del calibro bronchiale e la perdita della interdipendenza tra vie aeree e parenchima, mentre nell'asma è sostenuta dalla flogosi, dalla disregolazione autonoma e dal rimodellamento bronchiale e del muscolo liscio.

È verosimile però che la valutazione dell'iperreattività bronchiale possa essere utile nei soggetti con BPCO che in condizioni basali hanno una lieve ostruzione al fine di definire un sottogruppo di soggetti più corticosensibili e con un elevato declino funzionale come è stato dimostrato nello studio GLUCOLD (45); per una più approfondita analisi del ruolo dell'iperreattività bronchiale nell'ACOS si rinvia al documento AIPO.

Prevalenza dell'ACOS nei pazienti con diagnosi di asma

Nella revisione di Gibson et al. (42) gli Autori hanno dimostrato l'esistenza di un *pattern* funzionale compatibile con ACOS in circa il 20% degli studi epidemiologici che interessano l'asma. La diagnosi di ACOS non è associata ad un *pattern* flogistico specifico ed a seconda degli studi la flogosi prevalente è neutrofila, spesso nelle casistiche con soggetti più gravi, o eosinofila.

Un problema epidemiologico aperto che ha significative implicazioni con lo sviluppo di quadri clinico-funzionali compatibili con l'ACOS è relativo al fatto che circa il 25-30% dei soggetti con BPCO, in base alla presenza di una limitazione del flusso fissa e persistente definita da un valore post broncodilatatore del rapporto FEV_1/FVC inferiore all'LLN, non sono mai stati dei fumatori (46, 47). Il principale fattore di rischio per lo sviluppo di un quadro funzionale ostruttivo non reversibile compatibile con una diagnosi di BPCO tra i non fumatori è rappresentato dall'asma.

Un'anamnesi positiva per asma, autoriferita dal paziente, aumenta di 4-5 volte il rischio di presentare BPCO nel corso della vita (47). A conferma di questa osservazione lo studio di coorte CAMP (*Childhood Asthma Management Program*) ha dimostrato che a 30 anni il 75% dei bambini asmatici presenta un quadro di ostruzione non reversibile, conseguente nel 70% dei casi ad un iposviluppo polmonare (48). Il fumo è un importante fattore che determina un

accelerato declino della funzione respiratoria nella popolazione generale e nell'asma.

Il declino funzionale medio degli asmatici eccede di poco quello della popolazione normale (20-30 mL/years) ed è di circa 40 mL/years negli uomini e 28 mL/years nelle donne, ma negli asmatici fumatori aumenta a 54 mL/years negli uomini e 36 mL/years nelle donne (49).

Il declino funzionale di per sé però non rappresenta correttamente il rischio di sviluppare un quadro ostruttivo dato che anche un declino funzionale paragonabile a quello della popolazione normale in soggetti con ipo-sviluppo polmonare, come si verifica frequentemente nei bambini con asma grave, può determinare la presenza di un quadro ostruttivo non reversibile in età adulta.

James et al. (49) hanno osservato che all'età di 60 anni un asmatico ha in media un FEV₁ inferiore di 380 mL rispetto ad un controllo non asmatico sano (soggetto di riferimento).

Un soggetto sano fumatore ha in genere un FEV₁ di 190 mL inferiore a quello sano di riferimento, ma se si tratta di un asmatico fumatore il FEV₁ è di 560 mL inferiore a quello del controllo sano di riferimento. Tutti questi dati suggeriscono che gli asmatici hanno un aumentato rischio di sviluppare nel corso della vita un quadro funzionale compatibile con una diagnosi di BPCO (definita come rapporto FEV₁/FVC inferiore a LLN) attraverso due meccanismi:

- riduzione della crescita polmonare nell'infanzia;
- accelerato declino del FEV₁ durante l'età adulta.

La perdita aggiuntiva dovuta all'asma è di circa 10 mL/years che raggiunge in caso di fumo i 20-30 mL/years. Pertanto all'età di 60 anni circa 1 su 3 o 1 su 2 asmatici (30-50%) fumatori sviluppa un quadro ostruttivo non reversibile contro il 10-20% degli asmatici che non hanno mai fumato (49). Questi soggetti asmatici fumatori sono verosimilmente quelli che negli studi epidemiologici costituiscono in buona percentuale i pazienti definibili come affetti da ACOS.

PRESENTAZIONE CLINICA E PROGNOSI

La compresenza di una diagnosi di BPCO e asma (ACOS) si associa ad un aumento del rischio di riacutizzazioni, di essere frequenti riacutizzatori (il rischio aumenta dalle 2 alle 3,8 volte), di essere ospedalizzati e di morire per malattie respiratorie (35) rispetto ai pazienti con BPCO o asma isolata. Esiste comunque una certa eterogeneità tra gli studi per quanto i più ampi lavori epidemiologici confermano tale dato che è replicabile sia nei paesi di cultura occidentale che nei paesi orientali (43, 50).

Patogenesi dell'ACOS

L'asma è tradizionalmente considerato associato ad una flogosi eosinofila e la BPCO ad una flogosi neutrofila. Le attuali evidenze dimostrano che un quadro eosinofilo, neutrofilico o misto possono essere presenti sia nell'asma che nella BPCO (3).

Il *pattern* infiammatorio dell'ACOS è stato valutato in un ampio studio trasversale (51) che ha arruolato più di 4.000 pazienti con patologia bronchiale ostruttiva; la prevalenza dell'ACOS nella popolazione studiata era di circa il 9%, la flogosi è risultata di tipo eosinofilo nel 35% dei casi, neutrofilico nel 19% e misto nel 10% (gli altri non sono determinabili) (51).

Anche gli studi che hanno utilizzato un approccio non supervisionato (*cluster analysis*) hanno individuato dei gruppi di pazienti con ostruzione cronica e caratteristiche fisiopatologiche compatibili con ACOS. Nello studio di Lefaudeux et al. (52) il *cluster* definito dagli autori come formato da pazienti con ACOS è costituito da soggetti con una storia di asma ad esordio tardivo, fumatori, con ostruzione non reversibile (FEV₁ circa 50% e FEV₁/FVC 55%), eosinofilia nell'espettorato e circolante.

Nella coorte SARP invece i pazienti asmatici con ostruzione non reversibile presentavano una flogosi prevalente neutrofila o mista (17). Applicando la stessa metodologia, analisi non supervisionata e discriminante, Ghebre et al. (53) hanno confrontato le caratteristiche cliniche e infiammatorie dell'espettorato dei soggetti con BPCO (78 pazienti) e asma grave (86 pazienti).

Gli autori hanno potuto definire tre *cluster* infiammatori:

- con flogosi eosinofila e citochine di tipo Th2, in gran parte il gruppo è costituito da asmatici, ma il 5% da pazienti precedentemente diagnosticati come BPCO;
- con flogosi neutrofilia; il gruppo è costituito da pazienti definiti come ACOS, il 60% dei soggetti è stato precedentemente diagnosticato come asmatico ed il 40% come BPCO; i pazienti presentano una elevata concentrazione di citochine nell'espettorato (IL1B, IL8, IL10 e TNFa) e un'abbondante colonizzazione batterica, che era comune nei soggetti con precedente diagnosi di BPCO, ma non in quelli asmatici;
- con flogosi mista eosinofila e neutrofila; si tratta per la totalità di pazienti con una diagnosi di BPCO.

Lo studio conferma dal punto di vista biologico e non solo funzionale che esiste una significativa sovrapposizione tra asma e BPCO.

Questi lavori confermano l'eterogeneità etio-patogenetica dell'ACOS e anche della flogosi presente nell'asma e nella BPCO. Altri lavori (54) dimostrano che è presente una significativa eosinofilia nel 30-40% dei pazienti con diagnosi di BPCO che può essere associata ad un *pattern* cito-chinico di tipo Th2. Recentemente infatti Christenson et al. (55), utilizzando un approccio trascrittomico, su materiale ricavato da biopsie bronchiali di medio e piccolo calibro prelevato da pazienti con BPCO, hanno dimostrato che in circa il 30% di questi soggetti, quando comparati con i soggetti normali o fumatori senza BPCO, è aumentata l'espressione dei geni correlati con la flogosi Th2 (IL4, IL13): la periostina, il regolatore dei canali del cloro e l'inibitore della serpina che possono pertanto essere definiti come marker Th2. Gli stessi autori hanno riscontrato un analogo *pattern* trascrittomico nell'asma di tipo Th2 (4). I pazienti BPCO con elevati marcatori Th2 dimostrano una maggior reversibilità bronchiale, eosinofilia periferica ed una migliore risposta agli steroidi rispetto ai BPCO che non esprimono marcatori Th2. Nel caso della BPCO la flogosi di tipo Th2 è verosimilmente connessa all'attivazione delle cellule ILC2 (55) così come ai meccanismi che consentono la produzione di citochine Th2 (in particolare IL13 e IL5) non mediata dall'immunità acquisita, precedentemente analizzati come la presenza di superantigeni e la stimolazione recettori PAR2 (10, 11). È verosimile che i pazienti BPCO con flogosi eosinofila e *marker* Th2 costituiscano un gruppo ben definito di pazienti che possono essere ascrivibili al gruppo dei cosiddetti pazienti con ACOS. Pertanto le basi molecolari dell'ACOS potrebbero riscontrarsi in una co-espressione infiammatoria di tipo Th2 nel contesto del *network* etiopatogenetico della BPCO (28).

Non sono noti al momento i marker che possono differenziare i soggetti con ACOS da quelli con asma o BPCO. Nell'ACOS rispetto all'asma e BPCO sono stati osservati aumentati livelli nell'espettorato di chitinasi (YKL-40) che può essere regolata da IL13, IL6, IL17, NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*), mielo-perossidasi e gelatinasi.

La sola NGAL è in grado di differenziare ACOS dall'asma e BPCO (56, 57). Il FeNO è stato riconosciuto come marker di flogosi eosinofila ed è stato proposto come test utile a differenziare la BPCO dall'ACOS. Valori di *cut-off* > 22,5 ppb sono in grado di predire ACOS con una sensibilità del 70% ed una specificità del 75% nell'ambito dei soggetti con BPCO (58).

CONFRONTO TRA ACOS E ASMA GRAVE: DIFFERENZE E SIMILITUDINI

Nei paragrafi precedenti abbiamo descritto la clinica ed i meccanismi infiammatori e fisiopatologici dell'asma grave e dell'ACOS da cui emerge una estrema eterogeneità per cui un confronto tra ACOS ed asma grave, stante le notevoli possibili sovrapposizioni, è necessariamente semplificato. La diagnosi differenziale tra ACOS e asma lieve-moderato è semplice e basata su differenti caratteristiche cliniche e funzionali. Dal punto di vista clinico i pazienti con ACOS hanno solitamente un'età superiore ai 40 anni, presentano frequenti riacutizzazioni, necessitano spesso di un ricovero ospedaliero ed hanno un significativo rischio di mortalità; inoltre dal punto di vista funzionale sono caratterizzati da un danno ostruttivo non reversibile (35, 43, 50).

I pazienti con asma lieve-moderato sono caratterizzati da sintomi ben controllati dalla terapia e la funzione respiratoria, nei periodi di asintomaticità, è normale o comunque quando è presente un quadro ostruttivo questo è solitamente completamente reversibile dopo broncodilatatore o dopo opportuna terapia in caso di riacutizzazioni. Più complessa è la diagnosi differenziale dell'ACOS con l'asma grave. Le differenze cliniche sono però evidenti quando ci si trova di fronte a particolari presentazioni cliniche dell'asma grave come la *brittle asthma* che è caratterizzata da età giovanile ed esordio della sintomatologia nell'infanzia, amplissime variazioni della funzione respiratoria e della sintomatologia e da un grado estremamente elevato di iperreattività bronchiale (1).

Il paziente asmatico grave corticodipendente spesso può mantenere una funzione respiratoria ai limiti della normalità in terapia steroidea massimale che peggiora rapidamente dopo sospensione della stessa; inoltre nell'asma grave, contrariamente all'ACOS, la storia di fumo può essere spesso completamente assente. Di fatto l'ACOS non è differenziabile dall'asma grave in base ad un sola prova spirometrica che evidenzia un danno ostruttivo non reversibile ($FEV_1/FVC < LLN$).

Una diagnosi differenziale corretta pertanto necessita di una contestualizzazione della spirometria nell'ambito della storia clinico-funzionale e della risposta alla terapia e del paziente.

In particolare orienta verso una diagnosi di sovrapposizione tra asma e BPCO (ACOS) la presenza, non tanto di una patologia a carico delle piccole vie aeree, ma quella di enfisema dimostrabile con la TAC e che comporti nel contempo una significativa, anche se modesta, riduzione della diffusione alveolo capillare ($D_{L_{CO}}$).

Ovviamente rientrano nella descrizione di ACOS i soggetti con una storia di asma, fumatori o esposti a fumi delle biomasse (59) in cui è presente un enfisema centro-lobulare dimostrabile alla TAC del torace e una evidente compromissione della diffusione alveolo-capillare.

Non sono al momento descritti marcatori infiammatori per uso clinico che possano differenziare l'ACOS dalla asma grave (57). Sia nell'ACOS che nell'asma grave è stata descritta nell'espettorato una prevalenza eosinofila, neutrofila o mista (52-54), così come un aumento del FeNO e della chitina (YKL-40) (56-58) e la sola NGAL è in grado di differenziare ACOS da asma e BPCO.

Sia nell'asma che nell'ACOS può essere presente un'infiammazione di tipo Th2 che nell'ACOS è verosimilmente, in particolare nei soggetti con una storia clinica di BPCO, associata ad un'attivazione dei linfociti ILC2 (55), mentre nell'asma grave è più frequente una cooperazione tra linfociti ILC2 e Th2, ma sia nell'ACOS che nell'asma grave la flogosi neutrofila può sovrapporsi a quella eosinofila in relazione allo sbilanciamento tra $IFN\gamma$ e SLPI ed a seguito dell'effetto del fumo (2). Il fumo infatti può modulare profondamente la risposta immunitaria sopprimendo la risposta ILC2 indotta dal danno epiteliale. In questo caso le allarmine, ed in particolare la IL33, possono favorire l'attivazione dei linfociti Th1, che sono anch'essi sensibili alla IL33 rilasciata dall'epitelio. Il fumo pertanto favorisce la produzione di $IFN\gamma$, IL12 e citochine Th1 (60). L'eterogeneità dei meccanismi etio-patogenetici infiammatori presenti nell'ACOS, così come nell'asma grave, sottolineano la molteplicità dei possibili sotto-fenotipi che possono essere ricompresi in queste due cosiddette definizioni ombrello. Reddel (61) ha infatti descritto diverse storie naturali di pazienti che possono presentare in età adulta un quadro clinico funzionale compatibile con ACOS. Recentemente Agusti et al. (62) hanno sottolineato l'importanza di concentrare l'attenzione dei clinici non tanto sulla tassonomia delle malattie o nella ricerca di fenotipi specifici, che rappresentano comunque delle macrocategorizzazioni, ma sull'efficacia e la risposta alla terapia. Quindi i singoli pazienti dovranno essere valutati in relazione alle loro "caratteristiche trattabili"; in questo senso i corticosteroidi inalatori sono la terapia di prima scelta sia per l'asma eosinofila che per la bronchite eosinofila, con flogosi di tipo Th2, indipendentemente dalla classificazione originaria in asma, BPCO o ACOS. Ovviamente un approccio di questo tipo implica un approfondito studio di ogni paziente dal punto di vista anamnestico, dei marcatori, della fisiopatologia e dell'*imaging*.

In conclusione dalla revisione della letteratura più recente e del documento AIPO sono desumibili i seguenti punti:

l'ACOS include tutti i pazienti che presentano manifestazioni cliniche dell'asma e della BPCO anche se si tratta di un gruppo eterogeneo di pazienti necessariamente individuabili principalmente per alcune caratteristiche fisiopatologiche non congruenti con l'asma e la BPCO secondo la definizione "classica" delle due patologie;

l'ACOS probabilmente comprende diversi fenotipi e potenziali endotipi che hanno differenti meccanismi etiopatogenetici e genetici che potranno meglio essere definiti a seguito di una nuova revisione tassonomica delle patologie ostruttive (63);

l'obiettivo primario di questo approccio è quello di fornire al momento attuale una definizione operativa utile per individuare un gruppo di pazienti che potrebbe avvantaggiarsi di un approccio clinico differente rispetto alla BPCO "classica" e all'asma "classica".

Come sottolineato però dal documento AIPO, per poter trarre conclusioni definitive sono necessari ulteriori lavori prospettici che arruolino i pazienti broncostruiti che vengono comunemente esclusi dagli studi relativi all'asma e BPCO perché presentano delle caratteristiche "non tipiche" e che sono nella vita reale più del 70% dei soggetti broncostruiti (64); pertanto sia questa revisione che il suddetto documento devono considerarsi necessariamente dei "work in progress".

BIBLIOGRAFIA

- (1) Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, et al. *International ERS/ ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma*. Eur Respir J 2014; 43: 343-373.
- (2) Ray A, Raundhal M, Oriss T, et al. *Current concepts of severe asthma*. J Clin Invest 2016; 126: 2394-2403.
- (3) D'Amato G, Vaghi A, Di Marco F, et al. *Sindrome da sovrapposizione Asma-BPCO. Work in progress*. Rass Patol App Respir 2015; 6: S2-S24.
- (4) Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, et al. *T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma*. Am J Respir Crit Care Med 2009; 180: 388-395.
- (5) Peters MC, Mekonnen ZK, Yuan S, et al. *Measures of gene expression in sputum cells can identify TH2-high and TH2-low subtypes of asthma*. J Allergy Clin Immunol 2014; 133: 388-394.
- (6) Lambrecht B, Hammad H. *The immunology of asthma*. Nat Immun 2015; 16: 45-56.
- (7) Vercelli D, Gozdz J, von Mutius E. *Innate lymphoid cells in asthma: when innate immunity comes in a Th2 flavor*. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2014, 14: 29-34.
- (8) Lloyd CM, Saglani S. *Epithelial cytokines and pulmonary allergic inflammation*. Curr Opin Immunol 2015;34: 52-58.
- (9) Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M, et al. *Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia*. J Allergy Clin Immunol 2016; 137: 75-86.
- (10) Barnes PJ. *Intrinsic asthma: not so different from allergic asthma but driven by superantigens?* Clin Exp Allergy 2009;39:1145-51.
- (11) Barrios VE, Jarosinski MA, Wright CD. *Proteinase-activated receptor-2 mediates hyperresponsiveness in isolated guinea pig bronchi*. Biochem Pharmacol 2003; 66: 519-525.
- (12) Aleman F, Lim HF, Nair P. *Eosinophilic endotype of asthma*. Immunol Allergy Clin North Am 2016; 36: 559-568.
- (13) Wagener AH, de Nijs B, Lutter R, et al. *External validation of blood eosinophils, FeNO and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma*. Thorax 2015; 70: 115-120.
- (14) Coumou H, Bel EH. *Improving the diagnosis of eosinophilic asthma*. Expert Rev Respir Med 2016;10: 1093-1103.

- (15) Samitas K, Zervas E, Gaga M. *T2-low asthma: current approach to diagnosis and therapy*. *Curr Opin Pulm Med* 2017; 23: 48-55.
- (16) Panettieri R. *Neutrophilic and pauciimmune phenotypes in severe asthma*. *Immunol Allergy Clin North Am* 2016; 36: 569-579.
- (17) Moore WC, Hastie AT, Li X, et al. *Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis*. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133: 1557-1563.
- (18) Hinks TS, Brown T, Lau LC, et al. *Multidimensional endotyping in patients with severe asthma reveals inflammatory heterogeneity in matrix metalloproteinases and chitinase 3-like protein 1*. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138: 61-75.
- (19) Raundhal M, Morse C, Khare A, et al. *High IFN- γ and low SLPI mark severe asthma in mice and humans*. *J Clin Invest* 2015; 125: 3037-3050.
- (20) Kuo CHS, Pavlidis S, Loza M, et al. *T-helper cell type 2 (Th2) and non-Th2 molecular phenotypes of asthma using sputum transcriptomics in U-BIOPRED*. *Eur Respir J* 2017; 49: 1602135.
- (21) Burdette DL, Monroe KL, Sothelo-Troha K, et al. *STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP*. *Nature* 2011; 478: 515-518.
- (22) Zabieglo K, Majewski P, Majchrzak-Goreka M, et al. *The inhibitory effect of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) on formation of neutrophil extracellular traps*. *J Leukoc Biol* 2015; 98: 99-106.
- (23) Yu M, Eckart M, Galli S. *Identification of an IFN- γ /mast cell axis in a mouse model of chronic asthma*. *J Clin Invest* 2011; 121: 3133-143.
- (24) O'Toole J, Mikulic L, Kaminsky DA. *Epidemiology and pulmonary physiology of severe asthma*. *Immunol Allergy Clin North Am* 2016; 36: 425-438.
- (25) Sorkness R, Bleecker E, Busse W. *Lung function in adults with stable but severe asthma: air trapping and incomplete reversal of obstruction with bronchodilation*. *J Appl Physiol* 2008; 104: 394-403.
- (26) Lutchen K, Jensen A, Atileh H. *Airway constriction pattern is a central component of asthma severity. The role of deep inspirations*. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 207-215.
- (27) Witt C, Sheshadri A, Carstrom L, et al. *Longitudinal changes in airway remodeling and air trapping in severe asthma*. *Acad Radiol* 2014; 21: 986-993.
- (28) Gelb F, Christensonb SA, Nadel JA. *Understanding the pathophysiology of the asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome*. *Curr Opin Pulm Med* 2016, 22: 100-105.
- (29) Gelb A, Schein A, Nussbaum E. *Risk factors for near-fatal asthma*. *Chest* 2004; 126: 1138-1146.
- (30) Mauad T, Silva L, Santos M. *Abnormal alveolar attachments with decreased elastic fiber content in distal lung in fatal asthma*. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:857-862.
- (31) Porsbjerg C, Rasmussen L, Nolte H. *Association of airway hyperresponsiveness with reduced quality of life in patients with moderate to severe asthma*. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 98: 44-50.
- (32) Sin DD, Miravitlles M, Mannino DM, et al. *What is asthma-COPD overlap syndrome? Towards a consensus definition from a round table discussion*. *Eur Respir J* 2016; 48: 664-673.
- (33) Postma DS, Rabe K. *The asthma-COPD overlap syndrome*. *N Engl J Med* 2015; 373: 1241-1249.
- (34) Gibson PG, Simpson JL. *The overlap syndrome of asthma and COPD: what are its features and how important is it?* *Thorax* 2009; 64: 728-735.
- (35) Hardin M, Silverman EK, Barr RG, et al. *The clinical features of the overlap between COPD and asthma*. *Respir Res* 2011; 12: 127.
- (36) Soler-CataluñaJJ, Cosío B, Izquierdo JL. *Consensus document on the overlap phenotype COPD-asthma in COPD*. *Arch Bronconeumol* 2012; 48 :331-337.
- (37) Louie S, Zeki A, Schivo M, et al. *The asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome: pharmacotherapeutic considerations*. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2013; 6: 197-219.
- (38) Menezes AM, Montes de Oca M, Pérez-Padilla R, et al. *Increased risk of exacerbation and hospitalization in subjects with an overlap phenotype: COPD-asthma*. *Chest* 2014; 145: 297-304.

- (39) GINA and GOLD Joint Project. *2015 Diagnosis of Diseases of Chronic Airflow Limitation: Asthma, COPD, and Asthma-COPD Overlap Syndrome (ACOS)*. Available from <http://ginasthma.org/asthma-copd-and-asthma-copd-overlap-syndrome-acos>.
- (40) Cataldo D, Corhay IL, Derom E, et al. *A Belgian survey on the diagnosis of asthma–COPD overlap syndrome*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017; 12: 601-613.
- (41) GEMA 4.0. *Guía Española para el manejo del asma. 2015*. Available at <http://www.gemasma.com>.
- (42) Gibson PG, McDonald VM. *Asthma-COPD overlap 2015: now we are six*. *Thorax* 2015; 70: 683-691.
- (43) Alshabanat A, Zafari Z, Albanyan O, et al. *Asthma and COPD overlap syndrome (ACOS): a systematic review and meta analysis*. *PLoS One* 2015;10: doi: 10.1371/journal.pone.0136065. eCollection 2015.
- (44) Tkacova R, Dai DL, Vonk JM, et al. *Airway hyperresponsiveness in chronic obstructive pulmonary disease: a marker of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome?* *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138: 1571-1579.
- (45) Lapperre TS, Snoeck-Stroband JB, Gosman MM, et al. *Effect of fluticasone with and without salmeterol on pulmonary outcomes in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized trial*. *Ann Intern Med* 2009; 151: 517-527.
- (46) Tan WC, Sin DD, Bourbeau J, et al. *Characteristics of COPD in never-smokers and ever-smokers in the general population: results from the Can-COLD study*. *Thorax* 2015; 70: 822-829.
- (47) Thomsen M, Nordestgaard BG, Vestbo J, Lange P. *Characteristics and outcomes of chronic obstructive pulmonary disease in never smokers in Denmark: a prospective population study*. *Lancet Respir Med* 2013; 1: 543-550.
- (48) McGeachie MJ, Yates KP, Zhou X, et al. *Patterns of growth and decline in lung function in persistent childhood asthma*. *N Engl J Med* 2016; 374: 1842-1852.
- (49) James AL, Palmer LJ, Kicic E, et al. *Decline in lung function in the Busselton Health Study: the effects of asthma and cigarette smoking*. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 109-114.
- (50) Nielsen M, Barnes CB, Ulrik CS. *Clinical characteristics of the asthma-COPD overlap syndrome: a systematic review*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015; 10: 1443-1454.
- (51) D’silva L, Hassan N, Wang HY, et al. *Heterogeneity of bronchitis in airway diseases in tertiary care clinical practice*. *Can Respir J* 2011; 18: 144-148.
- (52) Lefaudeux D, De Meulder B, Loza, M, et al.; U-BIOPRED Study Group. *U-BIOPRED clinical adult asthma clusters linked to a subset of sputum omics*. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 1797-1807.
- (53) Ghebre M, Bafadhel M, Desai D, et al. *Biological clustering supports both “Dutch” and “British” hypotheses of asthma and chronic obstructive pulmonary disease*. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 63-72.
- (54) Singh D, Kolsum U, Brightling CE, et al. *Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics*. *Eur Respir J* 2014; 44: 1697-1700.
- (55) Christenson SA, Steiling K, van den Berge M, et al. *Asthma-COPD overlap: clinical relevance of genomic signatures of type 2 inflammation in chronic obstructive pulmonary disease*. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 191: 758-766.
- (56) Gao J, Iwamoto H, Koskela J, et al. *Characterization of sputum biomarkers for asthma-COPD overlap syndrome*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2016; 11: 2457-2465.
- (57) Iwamoto H, Gao J, Koskela J, et al. *Differences in plasma and sputum biomarkers between COPD and COPD-asthma overlap*. *Eur Respir J* 2014; 43: 421-429.
- (58) Chen FJ, Huang XY, Liu YL, et al. *Importance of fractional exhaled nitric oxide in the differentiation of asthma-COPD overlap syndrome, asthma, and COPD*. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2016;11: 2385-2390.
- (59) Camp PG, Ramirez-Venegas A, Sansores RH, et al. *COPD phenotypes in biomass smoke- versus tobacco smoke-exposed Mexican women*. *Eur Respir J* 2014; 43: 725-734.

- (60) Kearley J, Silver JS, Sanden C, et al. *Cigarette smoke silences innate lymphoid cell function and facilitates an exacerbated type I interleukin-33-dependent response to infection.* Immunity 2015;42: 566-579.
- (61) Reddel HK. *Treatment of overlapping asthma–chronic obstructive pulmonary disease: Can guidelines contribute in an evidence-free zone?* J Allergy Clin Immunol 2015; 136: 546-552.
- (62) Agusti A, Bel E, Thomas M, et al. *Treatable traits: toward precision medicine of chronic airway diseases.* Eur Respir J 2016; 47: 410-419.
- (63) Vanfleteren LE, Kocks JW, Stone IS, et al. *Moving from the Oslerian paradigm to the post-genomic era: are asthma and COPD outdated terms?* Thorax 2014; 69: 72-79.
- (64) Price D, Brusselle G, Roche N, et al. *Real-world research and its importance in respiratory medicine.* Breathe 2015; 11:26-38.