

STUDIO OSSERVAZIONALE MULTICENTRICO NAZIONALE

**“Deficit di Alfa1-Antitripsina e asma bronchiale:
Qual è il legame? – L’ipotesi polimerica
(Alpha1-antitrypsin deficiency and bronchial asthma:
Which is the link? The polymeric hypothesis)”**

Titolo abbreviato: AATD e asma bronchiale

Promotori:

**Società Italiana di Pneumologia/Italian Respiratory Society (SIP-IRS)
Società Italiana di Allergologia, Asma ed Immunologia Clinica (SIAAIC)**

Sperimentatore Principale:

Prof.ssa Laura Pini,

Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Università degli Studi di Brescia - Spedali civili di Brescia, Brescia

Steering Committee

Prof. Francesco Blasi,

Dipartimento di Scienze Biomediche, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano, Milano

Prof. Giorgio Walter Canonica,

Dipartimento di Scienze Biomediche, IRCCS Humanitas Research Hospital, Rozzano, Milano, Italia

Prof. Angelo Corsico,

Divisione di Pneumologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo - Università degli Studi di Pavia, Pavia

Prof. Pierluigi Paggiaro,

Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e Area Critica, Università di Pisa, Pisa

Prof. Giovanni Paoletti,

Personalized Medicine Asthma and Allergy Clinic, Istituto Clinico Humanitas, Rozzano, Milano

Prof. Antonio Spanevello,

Dipartimento di Medicina e Riabilitazione Cardio Respiratoria, U.O. di Pneumologia Riabilitativa, Istituti Clinici Scientifici Maugeri, IRCCS Tradate, Varese

PREMESSA

SIP/IRS – Società Italiana di Pneumologia / Italian Respiratory Society (di seguito, “**SIP-IRS**”), con sede in Milano, Via San Gregorio n. 12, codice fiscale 97134070156, partita IVA 05063021009, è un’associazione medico-scientifica che istituzionalmente fa capo all’ambito della formazione, dello studio e della divulgazione della Medicina Respiratoria.

SIAAIC – Società Italiana di Allergologia, Asma ed Immunologia Clinica (di seguito, “**SIAAIC**”), con sede in Milano, Via San Gregorio n. 12, codice fiscale 80041670482, partita IVA 12044800964, è una società scientifica fortemente radicata nel territorio nazionale con circa 1000 soci attivi operanti in strutture universitarie, ospedaliere ed ambulatori, il cui principale scopo è quello di promuovere la diffusione dell’Allergologia e Immunologia clinica come disciplina indipendente attraverso mirate azioni di formazione e promozione della conoscenza della materia.

SIP-IRS e SIAAIC, in collaborazione tra loro, risultano co-promotori a livello nazionale, dello studio osservazionale multicentrico che ha l’obiettivo di valutare la prevalenza del deficit di alfa1-antitripsina in una coorte vasta e ben selezionata di pazienti con asma severo.

Si tratta di uno studio osservazionale no profit ai sensi del D.M. 17.12.2004.

INTRODUZIONE

L'alfa1-antitripsina (AAT) è il principale inibitore delle proteasi sieriche e gioca quindi un ruolo cruciale nel proteggere il tessuto connettivo, incluso quello delle pareti bronchiali, dal danno inflitto dalle proteinasi ed in particolare dall'elastasi neutrofila (EN).

L'alfa1-antitripsina è prodotta principalmente dagli epatociti da cui diffonde nel circolo sistemico per raggiungere i tessuti dove esplica funzione protettiva, ma in quantità minore può anche essere prodotta da macrofagi, monociti e neutrofili circolanti. Recentemente è stata inoltre documentata la produzione di AAT da parte di macrofagi alveolari e Cellule Epiteliali Bronchiali (CEB) [1].

La variante allelica normale più frequente, delle oltre 100 descritte, è la M; la Z è la variante deficitaria clinicamente più rilevante, con una prevalenza in Italia di circa 1 caso ogni 3000 soggetti in omozigosi e di 1 caso ogni 32 soggetti in eterozigosi con la M [2,3]. La variante allelica Z è caratterizzata da una mutazione puntiforme (Glu342Lys) nella regione attiva della proteina, condizione che la rende prona alla polimerizzazione, nonché funzionalmente meno attiva. I polimeri di questa proteina per gran parte vengono sequestrati all'interno del Reticolo Endoplasmatico Rugoso (RER) delle cellule produttrici, danneggiando gli epatociti e favorendo quindi l'insorgenza di patologie epatiche, oltre a determinare una carenza della proteina nel circolo sistemico [4]. La carenza di AAT (AATD) nei soggetti omozigoti per l'allele Z è così severa da favorire lo sviluppo di enfisema polmonare panlobulare, in particolar modo nei fumatori, anche in età giovanile. L'AATD legata alla variante allelica Z (Z-AATD) è responsabile dell'1-2% di tutte le forme di enfisema polmonare. La carenza di AAT è stata associata anche ad altre patologie, quali ad esempio le panniculiti, l'artrite reumatoide e le vasculiti sistemiche [5,6].

Negli ultimi decenni è stata ipotizzata una possibile associazione tra AATD ed asma, in particolar modo con le forme severe di tale patologia caratterizzata da una flogosi cronica delle vie aeree [7]. Molti, infatti, sono gli studi che hanno documentato nel tempo un'aumentata prevalenza dell'asma nella popolazione affetta da AATD (4-38%) così come è dimostrata un'aumentata prevalenza dell'AATD nella popolazione asmatica (5-20%) [8-11].

I dati di prevalenza, unitamente al fatto che i pazienti con asma e AATD hanno un minor controllo della patologia, un più rapido decadimento della funzione respiratoria e una prognosi peggiore rispetto a quelli senza AATD, suggeriscono che il deficit possa essere un fattore di rischio per lo

sviluppo dell'asma nonché in grado di aggravarne il quadro [12–23]. Per tutti questi motivi l'Organizzazione Mondiale della Sanità (1997), l'American Thoracic Society (2003) e l'European Respiratory Society (2017) consigliano la ricerca del deficit genetico dell'AAT nei pazienti con asma e ostruzione non completamente reversibile ed in quelli con insorgenza tardiva della patologia, entrambe caratteristiche frequentemente legate alle forme più severe di asma [24–26]. Data la grande variabilità della prevalenza che lega queste due condizioni, le linee guida GINA (Global Initiative for Asthma) invece al momento non includono la ricerca dell'AATD nella popolazione asmatica [27].

Sebbene l'associazione tra AATD e asma sia ormai documentata, il meccanismo biologico sotteso alle due condizioni non è al momento stato investigato. Tra i possibili meccanismi in grado di legare le due condizioni sono ad esempio lo squilibrio tra Elastasi/Antielastasi e l'effetto pro-infiammatorio dovuto alla carenza di quest'ultima proteina (di per sé dotata di importanti proprietà anti-infiammatorie ed immunomodulanti) [28–30].

È necessario, pertanto, implementare le nostre conoscenze cliniche sulla gravità di malattia di questa popolazione di pazienti.

RAZIONALE E SCOPO DELLO STUDIO

Questo progetto si propone di valutare il ruolo dei polimeri della variante allelica Z dell'AAT che, aumentando l'espressione di IL-8, favoriscono il richiamo dei PMN neutrofili e quindi l'instaurarsi della flogosi nel sito di produzione con conseguente accentuazione dello squilibrio tra Elastasi/Antielastasi ed attivazione della cascata infiammatoria neutrofila.

Dato che i polimeri della forma Z della proteina possono essere prodotti anche dalle cellule macrofagiche alveolari ne è ormai assodata l'implicazione nella patogenesi di enfisema panlobulare [31–40].

Pure le CEB sono in grado di sintetizzare, accumulare e secernere nelle vie aeree la forma polimerica Z favorendo l'insorgenza di flogosi neutrofila in loco per cui si può ipotizzare che l'infiammazione neutrofila delle vie aeree indotta dai polimeri della variante Z della proteina possa rappresentare il link tra le due condizioni [41]. Questo nuovo meccanismo patogenetico ipotizzato potrebbe peraltro spiegare il minor controllo della patologia, il maggior declino della funzione respiratoria e la prognosi peggiore dei pazienti asmatici con AATD rispetto a quelli senza questa deficienza genetica, dal momento che il fenotipo neutrofilo è meno suscettibile alle terapie attualmente a disposizione per la cura dell'asma che hanno come target prevalente il fenotipo biologico eosinofilo [42].

Al pari del fumo seppur con meccanismi diversi [43], la flogosi neutrofila indotta dai polimeri potrebbe determinare l'insorgenza di asma con fenotipo biologico neutrofilo oppure arricchire la flogosi eosinofila (allergica o non allergica) eventualmente già presente favorendo l'instaurarsi di un fenotipo d'asma a cellularità mista (eosinofila/neutrofila). In quest'ultimo caso l'AATD si presenterebbe come una via indipendente di danno, in grado di associare ai danni indotti dagli eosinofili quelli indotti dai neutrofili.

BIBLIOGRAFIA

1. Strnad P, McElvaney NG, Lomas DA. Alpha1-Antitrypsin Deficiency. *N Engl J* 2020; 382(15):1443-1455.
2. Blanco I, de Serres FJ, Fernandez-Bustillo E, Lara B, Miravitlles M. Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha1-antitrypsin deficiency in European countries. *Eur Respir J*. 2006; 27(1):77-84.
3. Pini L, Paoletti G, Heffler E, Tantucci C, Puggioni F; Asthma and Alpha1-Antitrypsin Research Group. Alpha1-antitrypsin deficiency and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2021 Feb 1;21(1):46-51. doi: 10.1097/ACI.0000000000000711. PMID: 33284159.
4. Greene CM, Marciniak SJ, Teckman J, et al. α 1-Antitrypsin deficiency [published correction appears in *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Oct 29;4(1):40]. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2:16051.
5. Hatipoğlu U, Stoller JK. α 1-Antitrypsin Deficiency. *Clin Chest Med*. 2016;37(3):487-504.
6. Ferrarotti I, Ottaviani S, De Silvestri A, Corsico AG. Update on α 1-antitrypsin deficiency. *Breathe (Sheff)*. 2018; 14(2):e17-e24.
7. Eden E. Asthma and COPD in alpha-1 antitrypsin deficiency. Evidence for the Dutch hypothesis. *COPD*. 2010; 7(5):366-374.
8. Larsson C. Natural history and life expectancy in severe alpha1-antitrypsin deficiency, Pi Z. *Acta Med Scand*. 1978; 204(5):345-351.
9. Tobin MJ, Cook PJ, Hutchison DC. Alpha 1 antitrypsin deficiency: the clinical and physiological features of pulmonary emphysema in subjects homozygous for Pi type Z. A survey by the British Thoracic Association. *Br J Dis Chest*. 1983; 77(1):14-27.
10. Janus ED, Phillips NT, Carrell RW. Smoking, lung function, and alpha 1-antitrypsin deficiency. *Lancet*. 1985; 1(8421):152-154.
11. Eden E, Mitchell D, Mehlman B, et al. Atopy, asthma, and emphysema in patients with severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 156(1):68-74.
12. Survival and FEV1 decline in individuals with severe deficiency of alpha1-antitrypsin. The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158(1):49-59.
13. Piitulainen E, Sveger T. Respiratory symptoms and lung function in young adults with severe alpha(1)-antitrypsin deficiency (PiZZ). *Thorax*. 2002; 57(8):705-708.
14. Eden E, Hammel J, Rouhani FN, et al. Asthma features in severe alpha1-antitrypsin deficiency: experience of the National Heart, Lung, and Blood Institute Registry. *Chest*. 2003; 123(3):765-771.
15. Eden E, Strange C, Holladay B, Xie L. Asthma and allergy in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respir Med*. 2006; 100(8):1384-1391.
16. Demeo DL, Sandhaus RA, Barker AF, et al. Determinants of airflow obstruction in severe alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax*. 2007; 62(9):806-813.
17. Kelbel T, Morris D, Walker D, Henao MP, Craig T. The Allergist's Role in Detection of Severe Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017; 5(5):1302-1306.

18. Gramegna A, Aliberti S, Confalonieri M, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency as a common treatable mechanism in chronic respiratory disorders and for conditions different from pulmonary emphysema? A commentary on the new European Respiratory Society statement. *Multidiscip Respir Med*. 2018; 13:39.
19. Alpha 1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ*. 1997; 75(5):397-415.
20. Miravittles M, Vilà S, Torrella M, et al. Influence of deficient alpha1-anti-trypsin phenotypes on clinical characteristics and severity of asthma in adults. *Respir Med*. 2002; 96(3):186-192.
21. Von Ehrenstein OS, Maier EM, Weiland SK, et al. Alpha1 antitrypsin and the prevalence and severity of asthma. *Arch Dis Child*. 2004; 89(3):230-231.
22. Van Veen IH, ten Brinke A, van der Linden AC, Rabe KF, Bel EH. Deficient alpha-1-antitrypsin phenotypes and persistent airflow limitation in severe asthma. *Respir Med*. 2006; 100(9):1534-1539.
23. Eden E, Holbrook JT, Brantly ML, Turino GM, Wise RA. Prevalence of alpha-1 antitrypsin deficiency in poorly controlled asthma--results from the ALA-ACRC low-dose theophylline trial. *J Asthma*. 2007; 44(8):605-608.
24. Dowson LJ, Guest PJ, Stockley RA. Longitudinal changes in physiological, radiological, and health status measurements in alpha(1)-antitrypsin deficiency and factors associated with decline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164(10 Pt 1):1805-1809.
25. American Thoracic Society; European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168(7):818-900.
26. Miravittles M, Dirksen A, Ferrarotti I, et al. European Respiratory Society statement: diagnosis and treatment of pulmonary disease in α 1-antitrypsin deficiency. *Eur Respir J*. 2017; 50(5):1700610. Published 2017 Nov 30.
27. Global Initiative for Asthma. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2020*
28. Mauad T, Silva LF, Santos MA, et al. Abnormal alveolar attachments with decreased elastic fiber content in distal lung in fatal asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(8):857-862.
29. Nihlberg K, Andersson-Sjöland A, Tufvesson E, Erjefält JS, Bjermer L, Westergren-Thorsson G. Altered matrix production in the distal airways of individuals with asthma. *Thorax*. 2010; 65(8):670-676.
30. Pham DN, Chu HW, Martin RJ, Kraft M. Increased matrix metalloproteinase-9 with elastolysis in nocturnal asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003; 90(1):72-78.
31. Cosio MG, Bazzan E, Rigobello C, et al. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency: Beyond the Protease/Antiprotease Paradigm. *Ann Am Thorac Soc*. 2016; 13 Suppl 4:S305-S310.
32. Bergin DA, Hurley K, McElvaney NG, Reeves EP. Alpha-1 antitrypsin: a potent anti-inflammatory and potential novel therapeutic agent. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2012; 60(2):81-97.

33. Elliott PR, Bilton D, Lomas DA. Lung polymers in Z alpha1-antitrypsin deficiency-related emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998; 18(5):670-674.
34. Parmar JS, Mahadeva R, Reed BJ, et al. Polymers of alpha(1)-antitrypsin are chemotactic for human neutrophils: a new paradigm for the pathogenesis of emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 26(6):723-730.
35. Mahadeva R, Atkinson C, Li Z, et al. Polymers of Z alpha1-antitrypsin co-localize with neutrophils in emphysematous alveoli and are chemotactic in vivo. *Am J Pathol.* 2005; 166(2):377-386.
36. Lomas DA. Does Protease-Antiprotease Imbalance Explain Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *Ann Am Thorac Soc.* 2016; 13 Suppl 2:S130-S137.
37. Laurell C-B, Eriksson SA (1963) The electrophoretic alpha1-globulin pattern of serum in alpha1-antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 15:132–140
38. Gadek JE, Fells GA, Zimmerman RL, Rennard SI, Crystal RG. Antielastases of the human alveolar structures. Implications for the protease-antiprotease theory of emphysema. *J Clin Invest.* 1981; 68(4):889-898.
39. Lomas DA, Evans DL, Stone SR, Chang WS, Carrell RW. Effect of the Z mutation on the physical and inhibitory properties of alpha 1-antitrypsin. *Biochemistry.* 1993; 32(2):500-508.
40. Ogushi F, Fells GA, Hubbard RC, Straus SD, Crystal RG. Z-type alpha 1-antitrypsin is less competent than M1-type alpha 1-antitrypsin as an inhibitor of neutrophil elastase. *J Clin Invest.* 1987;80(5):1366-1374.
41. Pini L, Tiberio L, Venkatesan N, et al. The role of bronchial epithelial cells in the pathogenesis of COPD in Z-alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respir Res.* 2014; 15(1):112. Published 2014 Sep 14.
42. Lomas DA, Hurst JR, Gooptu B. Update on alpha-1 antitrypsin deficiency: New therapies. *J Hepatol.* 2016; 65(2):413-424.
43. Polosa R, Thomson NC. Smoking and asthma: dangerous liaisons. *Eur Respir J.* 2013; 41(3):716-726.
44. Senna G, Guerriero M, Paggiaro PL, Blasi F, Caminati M, Heffler E, Latorre M, Canonica GW; SANI. SANI-Severe Asthma Network in Italy: a way forward to monitor severe asthma. *Clin Mol Allergy.* 2017 Apr 10;15:9. doi: 10.1186/s12948-017-0065.
45. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap) – A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support, *J Biomed Inform.* 2009 Apr; 42(2):377-81.
46. Harris PA, Taylor R, Minor BL, Elliott V, Fernandez M, O’Neal L, McLeod L, Delacqua G, Delacqua F, Kirby J, Duda SN. REDCap Consortium, The REDCap consortium: Building an international community of software partners, *J Biomed Inform.* 2019 May 9 [doi: 10.1016/j.jbi.2019.103208].
47. Paggiaro P, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanović R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl.* 2002 Sep;37: 3s-8s.