

ruolo della diagnostica molecolare (CRD) nell'Immunoterapia allergene specifica (AIT)

L'allergologia è una branca piuttosto curiosa della medicina interna. Nasce dall'immunologia, quella di laboratorio, quella vera, non moltissimi anni fa. Le malattie allergiche sono il "braccio clinico" dell'immunologia, o almeno quello più noto e studiato, e questo per la clamorosa prevalenza delle malattie allergiche, che, nel mondo caratterizzato dalla "western life-style" hanno fatto parlare di una vera e propria "epidemia allergica".

In effetti, non è che la medicina interna sentisse proprio indispensabile, l'arrivo sulla scena clinica degli allergologi. Altri specialisti, cresciuti in discipline antiche e gloriose, coprono più che dignitosamente tutto il campo delle allergie.

Pneumologi, otorinolaringoiatri, dermatologi, oculisti, reumatologi, cardiologi hanno competenze specifiche che nessun allergologo può vantare, non ci sono confronti possibili. Gli esempi sono innumerevoli. Noi allergologi abbiamo molto da imparare dagli altri specialisti. Dagli pneumologi, ad esempio, impariamo la fisiopatologia respiratoria, così come non potremo mai eguagliare un otorino in una rinoscopia o un oculista nella sua diagnostica strumentale. E ancora, noi allergologi trattiamo le dermatiti e l'orticaria ma non saremo mai raffinati morfologi quanto lo sono i dermatologi. Parliamo di ipotensione e shock ma mai potremo competere con i cardiologi. Eccetera.

E tuttavia siamo qui, e, partendo dai meccanismi della risposta immune, piano piano abbiamo acquisito competenze cliniche.

C'è in effetti qualcosa che ci caratterizza e, credo io, giustifica la nostra presenza del grande affresco della medicina interna.

Proprio perché non apparteniamo ad una settorializzazione di "apparato", ecco che il nostro approccio al paziente può essere, a noi piace crederlo, più "globale". Il paziente allergico, quale che sia la sua malattia è sempre, per definizione, un paziente "atopico" cioè qualcuno che, su base genetica, ha un rapporto con l'ambiente diverso e talora minaccioso. Non a caso si parla di "marcia allergica", che pur non essendo una certezza assoluta, ci ricorda che nello stesso individuo, in fasi diverse della vita riscontriamo problemi clinici che di volta in volta coinvolgono apparati diversi.

In questo breve articolo, ripreso da una mia conversazione tenuta all'ultimo congresso della SIAIP, mi piace sottolineare una specificità tipica della pratica allergologica. Il trattamento delle malattie allergiche respiratorie con l'immunoterapia specifica, oggi riassunta nell'acronimo AIT (Allergen Immuno-Therapy).

Perché l'AIT

L'immunoterapia specifica ha diverse indicazioni, alcune consacrate dalle Linee Guida come l'allergia a veleno d'insetti, altre ancora in fase sperimentale, come quella per le allergie alimentari. Qui parliamo dell'AIT nelle allergie respiratorie, la rinite allergica e l'asma bronchiale allergico.

Non è scopo di questo articolo approfondire la patogenesi di queste malattie. Basti ricordare che, in un soggetto allergico ad un aeroallergene (derivati acaridici, pollini, muffe, epiteli animali), il contatto tra la mucosa respiratoria e la molecola responsabile (o meglio uno o più epitopi della molecola) induce una cascata di eventi che risultano in una infiammazione tissutale.

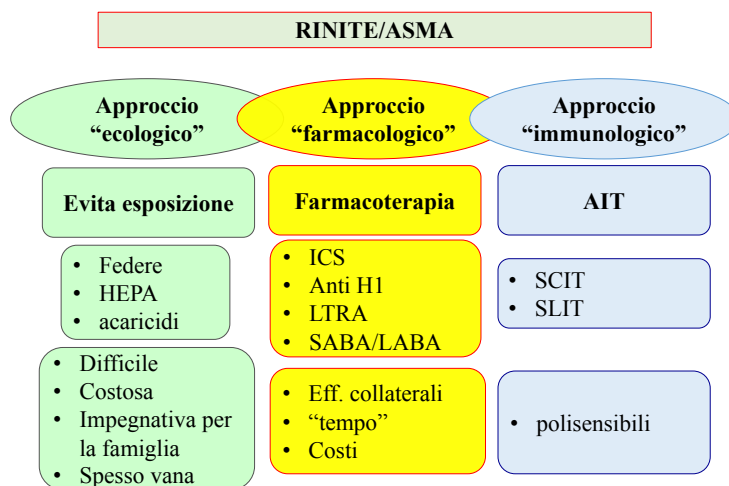
Un contatto episodico può determinare una flogosi acuta che tende a autoridursi (pur non esitando in una vera e propria *restitutio ad integrum*) mentre un contatto continuato darà origine ad una flogosi cronica e ad un sovertimento istologico irreversibile del tessuto bronchiale.

La terapia classica prevede due passaggi chiave. Il primo, ovvio, è l'allontanamento dell'allergene.

L'approccio ecologico. Qualora questo fosse possibile sarebbe senza dubbio la soluzione migliore. Zero contatto, zero flogosi. Questa è, purtroppo solo utopia. Le allergie si producono esattamente nei confronti da molecole presenti nell'ambiente quindi una terapia "ecologica" basata sull'allontanamento dell'allergene è nei fatti quasi sempre irrealizzabile. Secondo passaggio,

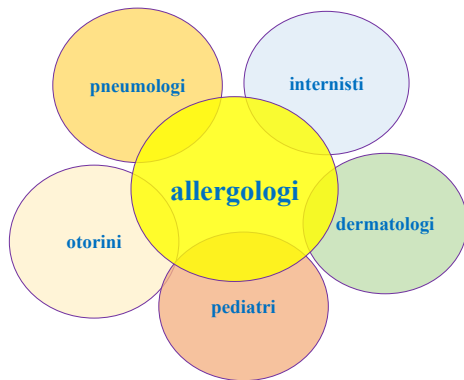
codificato da diverse linee guida internazionali, è l'**approccio farmacologico**. Le molecole che hanno un riconosciuto effetto sulla flogosi allergica, mediata essenzialmente da eosinofili e mastociti, sono gli steroidi. Abbiamo formulazioni sempre più efficaci e con un sempre migliore indice terapeutico (cioè il rapporto efficacia/sicurezza) ma, diciamocela tutta: cortisonici si usavano quaranta anni fa, cortisonici si usano oggi. Migliori, certo, ma là stiamo. Ai cortisonici si aggiungono i broncodilatatori (catecolamine), a volte trovano spazio gli antistaminici. Altre molecole, quali gli antagonisti recettoriali dei leucotrieni, hanno fatto parlare di sé anni fa ma il loro campo di applicazione è modesto. Inoltre, i farmaci antiinfiammatori sono gravati da un serio problema clinico. Se lo stimolo infiammatorio è persistente (come infatti è sempre, e se no di che staremmo parlando?) l'efficacia degli antiinfiammatori dura solo finché essi sono somministrati. Alla sospensione del farmaco riparte la flogosi. In sintesi noi non abbiamo alcuno strumento per "guarire" un allergico, possiamo solo spegnere la flogosi quando c'è. Infatti, un asmatico ben trattato, che da lunghi periodi, anche anni, non abbia più presentato crisi asmatiche non si definisce "guarito". Si parla di "asmatico in fase di buon controllo". Non è una mera distinzione semantica. Sottolinea il concetto che in qualsiasi momento si può presentare una situazione ambientale o personale per cui quell'asma, da anni sopita, si ripresenta. Talora le crisi di asma più gravi si verificano, infatti, proprio in pazienti in controllo da anni. Ma questo è un altro problema di cui, casomai, riparleremo.

Ecco che siamo arrivati al punto. Abbiamo un solo strumento che, se ben utilizzato, è in grado di cambiare la storia naturale della malattia allergica respiratoria, che si tratti di rinite allergica o di asma bronchiale. Questo strumento è l'immunoterapia allergene-specifica. **L'approccio immunologico.**



In sintesi, questa terapia consiste nel somministrare al paziente, attraverso vie diverse, esattamente l'allergene cui è allergico, l'allergene maggiormente rilevante nel determinare la malattia. Storicamente la somministrazione procedeva per inoculazione sottocutanea di estratti della fonte allergenica totale, come ad esempio l'estratto di acari dermatofagoidi o di pollini. Nei decenni anche questa metodica è andata incontro a progressi molto significativi per due motivi principali. Da un lato l'affinamento della diagnostica, dall'altro lo sforzo dell'industria di produrre materiali sempre più purificati.

Perché l'AIT sia la più efficace possibile è necessario che alcuni punti siano rispettati. La diagnosi deve essere la più precisa possibile e il prodotto il migliore possibile per quel paziente. Non è un argomento semplice.



Diagnosi:

La base quotidiana della diagnostica allergologica di primo livello è il prick test cutaneo. Una piccola quota (circa 3 microlitri) di estratto viene a contatto col derma attraverso una piccola puntura (appunto un “prick”). Qualora nella cute del soggetto ci siano mastociti che esibiscano sulla membrana delle molecole di IgE che riconoscono quello specifico allergene il contatto evocherà la produzione di un pomfo, paragonabile ad una puntura di zanzara. Le stesse IgE specifiche, quelle che, se adese al mastocita, ci danno la positività al prick test, sono dosabili nel siero nella loro forma libera. Negli anni il materiale utilizzabile per la diagnostica “in vitro” ha conosciuto un notevole impulso. Oggi siamo in grado di dosare non più soltanto un estratto di fonte allergenica ma, di quell’estratto, le singole molecole. Non tutte, beninteso, ma quelle allergologicamente più rilevanti. E più tempo passa più il pannello a disposizione della diagnostica si amplia con l’ingresso di nuove molecole.

Questo ha consentito di perfezionare la diagnosi di allergia in maniera impensabile una ventina di anni fa. Prendiamo per esempio l’allergia ai pollini di graminacee. Oggi ha sempre meno senso parlare di “allergico alle graminacee”. Il polline di graminacee più studiato è il Phleum Pratense (noto anche col nome di Codolina o Coda di topo). Esso è un coacervo di molecole di cui alcune hanno un ruolo noto e preciso nella genesi della malattia allergica respiratoria (Phl p1 e Phl p5) altre hanno un ruolo in una possibile sensibilizzazione alimentare per somiglianza sterica con molecole della stessa famiglia presente in alcuni alimenti vegetali (Phl p7 e Phl p12) e altre ancora non hanno, ad oggi alcun ruolo noto in patologia umana. Ovviamente la stessa cosa vale per tutte le altre fonti allergeniche.

Ecco come cambia la diagnostica. La positività ad un prick test con estratto di graminacee mi dice che quel paziente avrà probabilmente sintomi all’inalazione del polline ma non mi dice qual è esattamente la molecola che, in quello specifico paziente, sta evocando il sintomo. La diagnostica molecolare (detta in inglese Component Resolved Diagnosis – CRD) invece supera questo *gap* e consente una diagnosi di precisione.

A cosa mi serve, si potrebbe obiettare? Alla fine, se i sintomi son quelli, la terapia sempre quella sarà! Vero. Ma conoscere la diagnosi a livello molecolare mi consente di identificare per quel paziente il più efficace prodotto di immunoterapia.

Piccola parentesi per l’**elogio del prick test**.

Ho detto che la base della diagnostica allergologica ancora oggi consiste nel buon vecchio prick test. Si tratta, è vero, di un test piuttosto rozzo, spesso fastidioso per il paziente (pomfi sparsi per le braccia, prurito intenso...). Gli estratti non hanno avuto la stessa evoluzione dei loro cugini della diagnostica “in vitro” e sono spesso ancora un oggetto sconosciuto. In altri termini sappiamo che un certo estratto proviene da una fonte allergenica e che, più o meno, conterrà tutte le molecole della fonte nativa. Ma sappiamo poco di più. Certo, non sono gli stessi estratti di quarant’anni fa, sono più purificati, ma siamo lontani dalla perfezione. Tuttavia, l’essere un test “in vivo” ha numerosi

vantaggi. Tanto per cominciare, salvo errori di distrazione dell'operatore, una positività non lascia dubbi, almeno sulla sensibilizzazione. Che poi una sensibilizzazione abbia un ruolo nella clinica è altro argomento e riguarda, comunque, anche la diagnostica in vitro. I sacerdoti del dosaggio sierico delle IgE specifiche guardano con sufficienza chi ancora esegue prick test, un test ritenuto medievale. Eppure, il riscontro della presenza in circolo di IgE non è, a mio parere, un succedaneo del prick test di pari valore. Basta guardare al meccanismo immunopatogeno che ne è alla base. Perché il contatto cute-allergene evochi un pomfo certamente è indispensabile la presenza di IgE specifiche adese alla membrana dei mastociti cutanei, come già detto. Tuttavia questa presenza, pur indispensabile non è il solo parametro da considerare. L'immunologia classica ci insegna che esistono molti altri fattori in gioco. L'avidità del frammento Fab dell'anticorpo per l'epitopo della molecola, la densità recettoriale delle IgE sul mastocita, la realisability del mastocita, cioè la sua capacità di rilasciare immediatamente l'istamina preformata, la conformazione del recettore mastocitario per il frammento Fc delle IgE. Insomma, può il semplice riscontro nel siero di IgE specifiche essere equivalente ad un così complesso meccanismo in cui, oltre alle IgE, tanti altri attori sono causa? Francamente ne dubito. Purtroppo i tempi corrono velocemente verso la scomparsa del prick test. Probabilmente gli allergologi della prossima generazione non sapranno neanche di cosa si tratta. Le normative dell'EMA, riprese ovviamente dall'AIFA, stanno penalizzando la produzione di estratti per prick test a vantaggio dei prodotti per diagnostica in vitro. C'è del marcio in Danimarca (cioè negli Istituti Regolatori Europei)? Non lo so, non posso saperlo e francamente neanche mi interessa. Noto il fenomeno con disappunto, ecco tutto.

Torniamo al ruolo della CRD nell'AIT.

Uno studio molto interessante del gruppo iPAN italiano ha dimostrato che alcune decine di pazienti allergici alle graminacee, tutti cioè positivi al prick test per estratto di graminacee, se esaminati a livello molecolare mostravano profili di sensibilizzazione assolutamente diversi e imprevedibili. Questo ha una evidente ricaduta in termini di probabile efficacia dell'immunoterapia. E' molto probabile che l'efficacia della immunoterapia stessa sia tanto maggiore quanto più la composizione molecolare dell'estratto utilizzato si sovrapponga al profilo di sensibilizzazione. Uno studio successivo, condotto su allergologi, ha mostrato come la prescrizione di immunoterapia cambi significativamente alla luce della CRD.

Profile APCS code	profile's binary code (8 molecules): cut-off 0.35 kU/L	rPH p1	rPH p2	rPH p4	rPH p5	rPH p6	rPH p7	rPH p11	rPH p12	types. mod.	n	%	cum. %
128	10000000	●								1	36	20,8	21
248	11111000	●	●							5	21	12,1	33
160	10100000	●	●	●						2	10	5,8	39
184	10111000	●	●	●	●					4	8	4,6	43
186	10111010	●	●	●	●	●				5	8	4,6	48
251	11111011	●	●	●	●	●	●	●		7	8	4,6	53
192	11000000	●	●							2	7	4,0	57
216	11011000	●	●	●	●					4	7	4,0	61
249	11111001	●	●	●	●	●				6	7	4,0	65
250	11111010	●	●	●	●	●	●	●		6	7	4,0	69
32	10000000	●								1	5	2,9	72
224	11100000	●	●							3	5	2,9	75
152	10011000	●	●	●	●					3	4	2,3	77
185	10111001	●	●	●	●	●				5	4	2,3	79
208	11010000	●	●	●	●					3	3	1,7	81
218	11011010	●	●	●	●	●				5	3	1,7	83
48	11000000	●	●	●	●					2	2	1,2	84
64	10000000	●								1	2	1,2	85
144	10010000	●	●							2	2	1,2	86
162	10100010	●	●	●	●					3	2	1,2	87
187	10111011	●	●	●	●	●	●	●		6	2	1,2	88
193	11000001	●	●							3	2	1,2	90
217	11011001	●	●	●	●	●				5	2	1,2	91
225	11100001	●	●	●	●	●	●	●		4	2	1,2	92
16	10000000	●								1	1	0,6	92
34	10001000	●	●							2	1	0,6	93
58	11101010	●	●	●	●	●	●	●		4	1	0,6	94
96	11000000	●	●							2	1	0,6	94
129	10000001	●	●							2	1	0,6	95
130	10000010	●	●							2	1	0,6	95
132	10000100	●	●	●						2	1	0,6	96
156	10011100	●	●	●	●	●				4	1	0,6	97
188	10111100	●	●	●	●	●	●			5	1	0,6	97
194	11000010	●	●	●	●					3	1	0,6	98
232	11101000	●	●	●	●	●				4	1	0,6	98
240	11110000	●	●	●	●	●	●			4	1	0,6	99
254	11111110	●	●	●	●	●	●	●		7	1	0,6	99
255	11111111	●	●	●	●	●	●	●	●	8	1	0,6	100
0	0									0	3	1,7	

La terapia deve essere precisa. Al momento attuale la parola "precisa" ha ancora due possibili significati. Alcuni prodotti in commercio continuano a contenere l'estratto totale ma sono "titolati"

per l'allergene maggiore. Nel caso dell'ALK Abellò l'estratto di solo Phleum è titolato a concentrazione nota, quindi, per il Phl p1. Nel caso della Stallergenes il prodotto è una miscela di 5 graminacee titolata sull'allergene maggiore di tutte e 5. In entrambi i casi i prodotti sono stati registrati e sono in vendita in farmacia con piano terapeutico.

Una nuova frontiera è stata aperta dall'azienda spagnola Roxall che invece ha messo in commercio due prodotti purificati a livello molecolare. Uno per l'allergia all'Alternaria, in cui invece della solita miscela è presente esclusivamente l'allergene maggiore puro, cioè l'Alt a1. L'altro per il cipresso (Cup a 1)

E' ovvio che solo il tempo potrà dare conferma di quello che oggi sembra un traguardo sempre più vicino e cioè di riuscire a ritagliare per ogni singolo paziente un trattamento desensibilizzante che sia lo specchio fedele della sua allergia a livello molecolare.

“Remember: Allergology is Immunotherapy”

bibliografia

Tripodi S et al, 2012, J Allergy Clin Immunol. Molecular profiles of IgE to Phleum pratense in children with grass pollen allergy: Implications for specific immunotherapy

Tabar AI et al, 2019 J Allergy Clin Immunol. Double-blind, randomized, placebo-controlled trial of allergen-specific immunotherapy with the major allergen Alt a 1.

Stringari G et al, 2014, J Allergy Clin Immunol. The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever