

Sindrome Asma Equina: esami ematologici, sierologici e soluzioni iposensibilizzanti (ASIT)

Dott.ssa Susanna Mereghetti

Parametri ematologici

Non sono molti i parametri ematologici che possono aiutare l'ippiatra nella diagnosi di questa affezione o che possono agevolarlo nel monitoraggio della terapia e nell'evoluzione della patologia. Il *gold standard* diagnostico per il corretto inquadramento dell'asma equina è infatti rappresentato dalle caratteristiche dell'esame citologico da BAL / batteriologico da TW unitamente alla sintomatologia clinica. Tuttavia si tratta di esami piuttosto invasivi che possono essere difficoltosi da eseguire in soggetti gravemente dispnoici. Per questo negli anni si sta cercando di utilizzare alcuni biomarker infiammatori ematologici come ausilio diagnostico, similmente a quello che succede per la medicina umana, anche se si tratta per ora di parametri piuttosto aspecifici.

Esame emocromocitometrico

Alcune cellule della serie bianca come eosinofili, basofili, monociti e macrofagi possono apparire aumentati nelle forme acute, anche se non in tutti i soggetti in quanto nella cronicizzazione della patologia possiamo avere invece eosinofilia o presenza di macrofagi nei tessuti periferici delle vie aeree senza aumento in circolo.

Elettroforesi delle proteine

Nelle reazioni allergiche si verifica un deciso aumento della produzione delle IgE, dimostrato da un picco elettroforetico delle gamma globuline (gammopatia policlonale), che conferma decisamente la nostra diagnosi. Con il tracciato elettroforetico possiamo prendere in esame anche l'*Aptoglobina* (picco delle globuline alpha2), un promettente marker che da studi preliminari (1) risulta abbassarsi notevolmente in caso di forme croniche con rimodellamento delle vie aeree, mentre nelle forme acute tende ad aumentare nelle prime 24 ore dal contatto con l'antigene.

Anche la *siero amiloide SA* (picco delle globuline alpha1) costituisce un parametro indicativo di infezione / infiammazione acuta, quindi indica la presenza di sovrainfezione batterica od infiammazione concomitante all'episodio allergico, con generico richiamo di neutrofili nell'albero bronchiale. Affiancando la misurazione di questo parametro alla diagnostica citologica possiamo efficacemente implementare la terapia con l'aggiunta di antibiotici o cortisonici, sia sistemici che tramite aerosol e monitorare la risposta ai farmaci: questo parametro si abbassa in meno di 12 ore se le nostre scelte terapeutiche sono corrette.

E' tuttora in corso lo studio di ulteriori biomarker rilevabili nella saliva o nell'espirato.

Test allergici sierologici

Sono disponibili presso Laboklin i test sierologici che misurano con metodica ELISA i livelli di IgE riferibili a specifici allergeni, che dimostrano l'avvenuta sensibilizzazione del soggetto (Wagner 2009). L'identificazione degli allergeni verso cui il soggetto appare sensibilizzato permette una strategia di evitamento (quando possibile) o di iposensibilizzazione, anche se il legame tra livello di immunoglobuline presenti nel siero e la sintomatologia clinica manifestata dal soggetto allergico non appare sempre lineare. La presenza di IgE in circolo è quindi necessaria, ma non sufficiente, per lo scatenarsi della sintomatologia tipica di queste patologie.

Laboklin utilizza per questi test degli anticorpi monoclonali purificati anti-IgE equine (Wagner 2003), che riducono di molto l'insorgenza di false positività dovute alla reattività verso proteine non specifiche, legando quindi solamente le IgE e non altre immunoglobuline non collegate alla manifestazione dell'allergia.

Con un primo *test di screening*, si valutano gli anticorpi IgE allergene specifici riferiti a quattro gruppi:

- acari della polvere
- pollini
- spore fungine
- insetti

Si consiglia poi di approfondire, andando a ricercare il dettaglio dei singoli allergeni

per ogni gruppo risultato positivo, in modo da poter successivamente allestire una *ASIT* o *soluzione iposensibilizzante*. Sono possibili alcuni accorpamenti nell'allestimento della soluzione per la presenza di epitopi comuni tra alcuni allergeni: una preparazione standard può comprendere fino a un massimo di 8 differenti allergeni. Nei casi di positività multiple con poche possibilità di accorpamento è indicato l'allestimento di un doppio set (che comprende quindi un massimo di 16 allergeni).

Laboklin allestisce anche soluzioni provenienti da skin test o da test sierologici effettuati da altri laboratori, disponendo degli allergeni risultati positivi all'esame, che verrà ovviamente richiesto contestualmente alla richiesta di preparazione della soluzione.

Skin Test

Il test di intradermoreazione si ottiene attraverso l'inoculazione sottocutanea di 0,1 ml di una soluzione contenente diversi allergeni in circoli cutanei di 2,5 cm di diametro, localizzati in una porzione di cute opportunamente tosata e pulita, di dimensioni 20 cm x 40 sul lato sinistro del collo. Si valuta poi successivamente la eventuale formazione di pomfi (se vi è allergia) di varia entità, originati dal rilascio di mediatori dell'infiammazione ed istamina da parte delle mast-zellen - sensibili al dato allergene - presenti nel derma. Questi pomfi sono originati dall'aumentata permeabilità vasale data dal rilascio dei molti mediatori coinvolti nella reazione allergica, vengono valutati dopo 15 / 30 minuti, dopo 4 ore, dopo 24 ore e dopo 48

ore. Le zone cutanee vengono esaminate sia visivamente che tramite palpazione secondo una scala da 0 a 4, confrontandole con i due siti di controllo positivi (circolo con inoculazione di istamina) e negativi (circolo con inoculazione di soluzione fisiologica). I soggetti affetti da asma severa tendono a mostrare reazione nei primi due controlli (30 minuti / 4 ore), mentre i soggetti affetti da asma moderata mostrano generalmente una reattività spiccata a 24/48 ore. Non appaiono esservi differenze di tempistica tra soggetti reattivi ad un maggior numero di allergeni rispetto a quelli reattivi verso un minor numero (2).

Si tratta di un test attendibile che valuta anche la componente cellulosa-mediata dell'allergia e non solo la produzione di IgE e pertanto potrebbe rilevare delle positività in soggetti con scarsa produzione di immunoglobuline, che potrebbero avere esiti negativi con i normali test sierologici. Purtroppo si tratta di un test poco pratico per l'esecuzione in campo e richiede materiale particolare (allergeni solubili purificati) e personale adeguatamente formato per la lettura tutt'altro che semplice delle lesioni cutanee, specialmente per alcuni soggetti caratterizzati da una spiccata reattività dermale. Una volta rilevati gli allergeni che danno reazione, possiamo allestire l'immunoterapia più adatta al paziente, come normalmente viene fatto dopo i test sierologici, se gli allergeni richiesti risultano disponibili.

Soluzioni iposensibilizzanti

Ma con quale meccanismo agisce la soluzione iposensibilizzante o ASIT?

Il concetto di base è rappresentato dalla somministrazione continuativa per via sottocutanea di una soluzione contenente gli allergeni a cui il soggetto si è dimostrato allergico, in dosi sempre maggiori, ad intervalli sempre più dilatati, con l'intento di modulare (abbassandola) la produzione di IgE, nel tentativo di alleviare i sintomi. Questo effetto si ottiene con un cosiddetto *shift antigenico* che tende a ridurre l'attività dei linfociti Th2 (produttori di IgE) promuovendo invece l'attività dei linfociti Th1 helper e T regolatori, che agiscono modulando e smorzando la componente cellulare dell'allergia, e privilegiando la produzione di IgG, che competono per gli stessi recettori delle IgE, senza promuovere però il rilascio di istamina, la degranolazione delle mast-zellen e dei basofili (3).

Si tratta di una terapia a lungo termine molto ben tollerata, priva degli effetti collaterali tipici dell'utilizzo cronico di molecole come corticosteroidi, antistaminici e broncodilatatori, che agiscono principalmente sulla sintomatologia in fase acuta, ma che non sono privi di effetti collaterali e con l'utilizzo cronico tendono a perdere di efficacia. Da notare che l'utilizzo contemporaneo di una ASIT e di cortisonici andrebbe evitato in quanto questi ultimi vanno a contrastare l'azione immunomodulatoria espletata dalla soluzione iposensibilizzante stessa.

Una volta raggiunto un primo livello di tolleranza, si agisce dilatando nel tempo le somministrazioni: si parte infatti da inoculazioni sottocutanee di quantità crescenti di una prima soluzione meno concentrata di allergeni (flacone con tappo rosso) ogni 7 giorni, per poi passare ad una somministrazione ogni 14 giorni. In seguito si passa ad una soluzione più concentrata, (flacone tappo verde) somministrata anch'essa in piccole quantità all'inizio ogni 14 giorni, per poi arrivare in ultimo ad una singola somministrazione di una quantità fissa di soluzione (1 ml) ogni 28 giorni. In fase iniziale è possibile in alcuni casi un aggravamento della sintomatologia, dato che si attua una stimolazione cronica del sistema immunitario: in questi casi si riduce la quantità di soluzione e/o si dilatano i tempi di somministrazione finché la situazione si stabilizza. Se i sintomi riprendono ad aggravarsi nel corso degli anni una volta iniziata la terapia, è indicato ripetere gli esami allergologici in quanto potrebbero essersi modificate nel frattempo le positività agli allergeni in corso di terapia. Questo meccanismo di tolleranza rimane attivo fintanto che la terapia viene seguita, quindi a vita. Le nostre preparazioni non contengono alluminio come adiuvante pertanto non sussistono controindicazioni ad un utilizzo per lungo tempo. La tabella chiara e dettagliata sulle modalità delle somministrazioni è fornita assieme alla soluzione.

Questa terapia viene efficacemente utilizzata in medicina umana da anni. In veterinaria la maggior parte della letteratura sulle ASIT riguarda l'utilizzo nei piccoli animali. In medicina equina il loro uso è recente, tuttavia i dati disponibili indicano una buona efficacia per il controllo della sintomatologia: dai nostri follow-up emerge un controllo dei sintomi già nei primi 2/3 mesi di utilizzo nel 30% dei pazienti, che aumenta fino al 50% entro i 6 mesi, fino ad arrivare ad una media del 75–80% dopo 2–3 anni di utilizzo regolare, sia per le allergie respiratorie che per le dermatiti allergiche. E' importante la massima regolarità e precisione nel protocollo delle somministrazioni, che non vanno dilatate od interrotte se il soggetto appare asintomatico.

Approfondimenti

1. Lavoie-Lamoureux, A.; Leclere, M.; Lemos, K.; Wagner, B.; Lavoie, J.P. Markers of Systemic Inflammation in Horses with Heaves. *J. Vet. Intern. Med.* **2012**, *26*, 1419–1426.
2. Chiara Maria Lo Feudo, Luca Stucchi, Elena Alberti, Bianca Conturba, Enrica Zucca, Francesco Ferrucci. Intradermal Testing Results in Horses Affected by Mild-Moderate and Severe Equine Asthma.
3. Immunotherapy: readdressing the balance between TH2 and TH1 cells. *Clin. Exp. Allergy*, *27* (1997), pp. 981–985.