



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina DIMED

Dipartimento di Neuroscienze, Sezione di Otorinolaringoiatria

TESI DI LAUREA

RILEVANZA DEI BASOFILI EMATICI NELLA RINOSINUSITE CRONICA CON ASMA ESACERBATO DA ASPIRINA

Relatore

Prof. Gino Marioni

Correlatore

Dr. Giuseppe Brescia

Laureando

Michael Negrisolo

Matricola

1170389

Anno Accademico 2022-2023

INDICE

1. ABSTRACT	3
2. INTRODUZIONE	6
2.1 RINOSINUSITE CRONICA (CRS)	6
2.1.1 Dalla classificazione fenotipica a quella endotipica	8
2.1.2 Istologia delle CRS.....	11
2.1.3 Importanza delle cellule circolanti per la valutazione della prognosi ..	13
2.2 ASMA ESACERBATO DA ASPIRINA (AERD)	16
2.2.1 Epidemiologia	16
2.2.2 Sintomi e Diagnosi	17
2.2.3 Patogenesi	19
2.2.4 Terapia	23
2.3 BASOFILI E INFIAMMAZIONE TH2	27
2.3.1 Contributo dei basofili nell’infiammazione Th2.....	28
2.3.2 Basofili in AERD.....	29
2.3.3 Fisiopatologia comune delle vie respiratorie (Unified airway concept)	30
3. SCOPO DELLO STUDIO	33
4. MATERIALI E METODI	35
4.1 Pazienti	35
4.2 Analisi statistica	37
5. RISULTATI	38
5.1 Analisi intergruppo (AERD vs. gruppo di controllo)	39
5.2 Analisi intragruppo.....	44
6. DISCUSSIONE	48
7. CONCLUSIONI	51
8. BIBLIOGRAFIA	52

1. ABSTRACT

L'asma esacerbato da aspirina (AERD) è caratterizzato da asma eosinofilo, rinosinusite cronica con poliposi nasale (CRSwNP) e intolleranza agli inibitori della ciclossigenasi-1 (COX-1). L'interesse nello studio del ruolo delle cellule infiammatorie circolanti nella patogenesi e nel decorso della CRSwNP è in continuo aumento. I basofili, rilasciando Interleuchina-4 (IL-4), giocano un ruolo cruciale nella risposta Th2-mediata.

Lo scopo principale di questo studio è stato di investigare il ruolo del valore degli eosinofili ematici, del rapporto basofili/linfociti ematici (bBLR) e del rapporto eosinofili/basofili ematici preoperatori, come predittori di recidiva dei polipi nasali dopo ESS nei pazienti con AERD. Lo scopo secondario è stato di comparare le variabili collegate ai basofili ematici nei pazienti AERD (gruppo di studio) con quelle di un gruppo di controllo composto da 95 casi di CRSwNP non-eosinoflica all'istologia.

Il gruppo AERD ha mostrato un tasso di recidiva maggiore rispetto al gruppo di controllo ($p < 0.0001$). Il numero dei basofili ematici preoperatori e il bEBR preoperatorio erano più alti nei pazienti con AERD rispetto al gruppo di controllo ($p = 0.0364$ e $p = 0.0006$, rispettivamente).

I risultati di questo studio supportano l'ipotesi che la rimozione dei polipi possa contribuire a ridurre l'infiammazione e l'attivazione dei basofili.

Aspirin exacerbated respiratory disease (AERD) is characterized by eosinophilic asthma, chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) and intolerance to cyclooxygenase-1 inhibitors.

Interest is emerging in studying the role of circulating inflammatory cells in CRSwNP pathogenesis and course, as well as their potential use for a patient-tailored approach. By releasing IL-4, basophils play a crucial role in activating Th2-mediated response.

The main aim of this study was to firstly investigate the role of pre-operative blood basophils' values, blood basophil/lymphocyte ratio (bBLR) and blood eosinophil-to-basophil ratio (bEBR), as predictors of recurrent polyps after ESS in AERD patients. The secondary aim was to compare the blood basophil-related variables of the AERD series (study group) with those of a control group of 95 consecutive cases of histologically non-eosinophilic CRSwNP.

The AERD group showed a higher recurrence rate than the control one ($p < 0.0001$). Pre-operative blood basophil count and pre-operative bEBR were higher in AERD patients than in the control group ($p = 0.0364$ and $p = 0.0006$, respectively).

The results of this study support the hypothesis that polyps' removal may contribute to reduce inflammation and activation of basophils.

2. INTRODUZIONE

2.1 RINOSINUSITE CRONICA (CRS)

Secondo l'”*International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Rhinosinusitis*” (ICAR-RS) (1) la rinosinusite cronica (CRS - *Chronic rhinosinusitis*) è definita come un'inflammatione dei seni paranasali della durata maggiore di 12 settimane , con la combinazione di almeno 2 dei seguenti sintomi: (i) ostruzione nasale e congestione, (ii) scolo nasale anteriore o posteriore (mucopurulento), (iii) perdita o diminuzione dell'olfatto, (iv) pressione/dolore/sensazione di pienezza facciale.

La diagnosi definitiva si ottiene attraverso indagini endoscopiche o radiografiche (1,2). All'endoscopia si possono osservare polipi nasali e/o scarico mucopurulento principalmente dal meato medio, con eventuale presenza di edema o ostruzione allo stesso livello (2).

Se la durata dei sintomi è minore di 4 settimane si parla di rinosinusite acuta (ARS – *Acute rhinosinusitis*) e se questa si presenta almeno quattro volte all'anno si parla di rinosinusite acuta ricorrente (RARS - *Recurrent acute rhinosinusitis*) (1).

Si parla di riacutizzazione della rinosinusite cronica (AECRS - *Acute exacerbation of chronic rhinosinusitis*) quando si ha un peggioramento dei sintomi preesistenti, al quale segue un ritorno ai sintomi iniziali in maniera spontanea o dopo un trattamento (1).

Coniato all'inizio degli anni '90 il termine rinosinusite viene preferito, in quanto la semplice sinusite si presenta solo in rari casi senza rinite; questo è dovuto al fatto che sia dal punto di vista anatomico che fisiopatologico le due strutture sono strettamente connesse, condividendo sia vascolarizzazione che innervazione (2,3).

La CRS ha un'alta incidenza nella popolazione, si stima colpisca circa l'11% della popolazione mondiale (4) ma con variazioni tra i vari continenti; negli Stati Uniti la prevalenza è stimata tra il 2.1% e il 13.8%, in Europa tra il 6.9% e il 27.1% (5), mentre in Cina tra il 4.8 e il 9.7%. Stimare la reale prevalenza di questa

patologia risulta complicato in quanto la diagnosi si basa su sintomi soggettivi ai quali conseguono conferme oggettive (2). È sempre raccomandata la conferma attraverso indagine endoscopica e/o radiologica poiché la diagnosi solo sulla base dei sintomi potrebbe portare a una sovrastima della prevalenza (5).

L'impatto sul paziente di questa patologia è molto importante, poiché oltre ai sintomi che portano alla diagnosi della malattia, sono presenti in molti casi dei sintomi sistemici come riduzione della qualità del sonno alla quale si aggiunge anche una maggiore difficoltà di concentrazione (1,2,5).

Nonostante non vi sia una differente incidenza tra la popolazione femminile e quella maschile, è stata riscontrata una diversa distribuzione dei sintomi nei due sessi: le donne presentano maggiormente dolore facciale e cefalee ai quali sono associati punteggi peggiori nei questionari sulla qualità di vita; mentre gli uomini sono solitamente più soggetti a ostruzione nasale (6) e a recidiva dopo intervento chirurgico per rimozione dei polipi nasali (7).

Il costo sociale di questa malattia negli Stati Uniti è stato calcolato essere 8.6 miliardi di dollari all'anno. A questo va aggiunto il costo indiretto della malattia dovuto alla perdita di produttività che nel caso della CRS refrattaria alla terapia è stato stimato essere di 10,077\$ all'anno per ogni individuo affetto; questo viene calcolato sommando i giorni persi da lavoro con la ridotta performance lavorativa (5). È importante sottolineare come questo valore sia più alto rispetto ad altre patologie come l'asma severo (7,261\$) e l'emicrania cronica (5,775\$), indicando come la rinosinusite cronica, specialmente se recidiva, abbia un grosso impatto sulla qualità della vita del soggetto affetto.

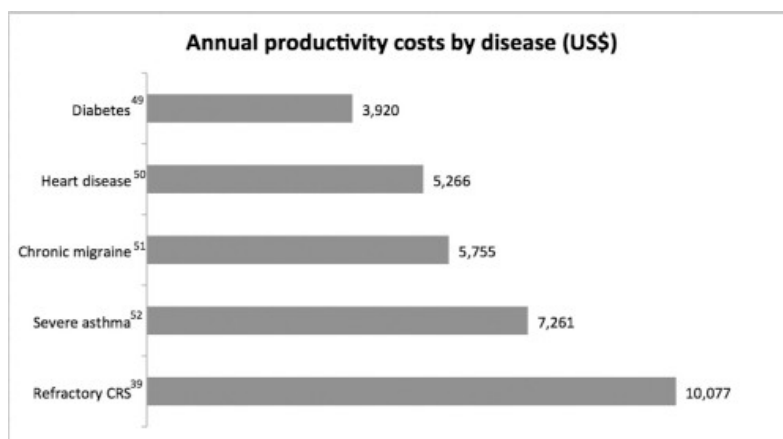


Figura 1 - Costo annuale in dollari della perdita della produttività in varie patologie croniche (5)

2.1.1 Dalla classificazione fenotipica a quella endotipica

Con fenotipo ci si riferisce alla possibilità di distinguere un organismo dagli altri in base alle sue caratteristiche cliniche mentre con endotipo si intendono le caratteristiche all'interno dello stesso individuo (2,8). La fenotipizzazione si basa quindi sull'osservazione di diverse varianti cliniche, compresi i reperti trovati all'endoscopia, la presenza di comorbidità e il momento di comparsa della patologia; mentre l'endotipizzazione si basa su marcatori immunostologici che sono implicati nella fisiopatologia della malattia (9).

Dal punto di vista clinico la CRS può essere fenotipicamente classificata in base: alla durata (acuta vs cronica), all'eventuale recidiva, alla severità (lieve vs moderata vs severa), alla risposta alla terapia, al colore del muco, alla presenza nel sangue periferico di specifiche IgE, alla presenza di eventi trigger o alla presenza di complicazioni (3).

Storicamente però, la classificazione dal punto di vista fenotipico più usata è stata in base alla presenza o meno dei polipi nasali; questo permetteva di distinguere la rinosinusite cronica senza poliposi nasale (CRSsNP - *Chronic Rhinosinusitis without Nasal Polyps*) dalla rinosinusite cronica con poliposi nasale (CRSwNP - *Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps*) (1–3). I polipi nasali rappresentano la manifestazione locale dello stadio finale dell'infiammazione cronica della mucosa del naso e dei seni paranasali. Sono protrusioni edematose della mucosa che originano più frequentemente dalla parte superiore del naso, in particolare a livello del complesso osteomeatale nella parete laterale. Presentano una superficie liscia e traslucida, possono variare di dimensioni e sono solitamente considerati una condizione bilaterale (4); il loro colore è solitamente giallastro ma in alcuni casi può essere anche bianco o rosato (10). I polipi piccoli solitamente non danno sintomi e sono un riscontro occasionale alla rinoscopia mentre quelli grandi si manifestano con sintomi che vanno dalla lieve congestione nasale con rinorrea acquosa, fino a quadri di persistente ostruzione con iposmia o anosmia. È importante per la diagnosi differenziale, che questi non sono causa di epistassi (4).

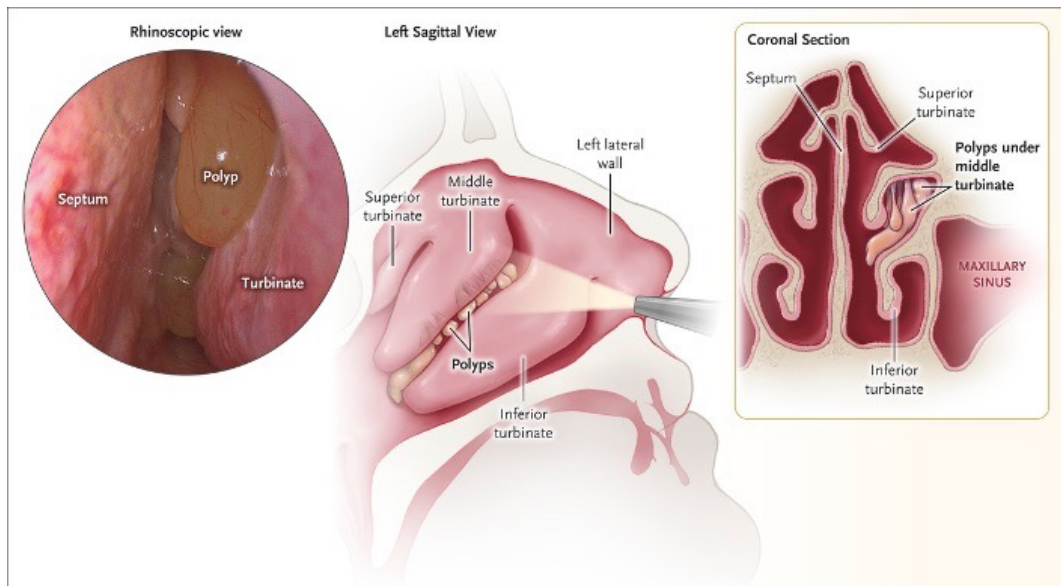


Figura 2 - Classico aspetto dei poli nasali alla rinoscopia (10)

Questa classificazione dicotomica, tuttavia, non permette di spiegare la grande varietà di manifestazioni date dalla CRS, che possono essere invece spiegate attraverso indagini istologiche e molecolari. In questo modo l'endotipizzazione permette di enfatizzare i meccanismi fisiopatologici che portano alle differenti manifestazioni cliniche (8,9).

Per l'endotipizzazione della CRS all'inizio sono state usate le caratteristiche istologiche come la presenza di neutrofili, eosinofili, fibrosi, ipertrofia ghiandolare e metaplasia endoteliale (8). Per quanto riguarda la CRSwNP sono state individuate quattro possibili classificazioni endotipiche ma che in alcuni casi possono sovrapporsi tra loro; queste si basano: sulle citochine espresse, sulla presenza di eosinofili nei polipi, sulle IgE o sui leucotrieni (9).

La classificazione attualmente più usata si basa sulle molecole prodotte dai linfociti T e dal tipo di infiammazione da essi causata suddivisi in T1, T2 e T3. L'endotipo T1 è caratterizzato dalle cellule T-helper di tipo 1 (Th1) che producono interferone- γ (IFN- γ) e dalle cellule T-citotossiche, cellule NK e cellule innate linfoidi di gruppo 1 (ILC1). L'endotipo 2 è caratterizzato dalle cellule T-helper di tipo 2 che producono interleuchina 4 (IL-4), interleuchina 5 (IL-5) e interleuchina 13 (IL-13), e da mastociti, eosinofili e cellule innate linfoidi di gruppo 2 (ILC-2). L'endotipo 3 è infine caratterizzato dalle interleuchine 17A e 17F (IL-17A e IL-17F) prodotte dalle cellule Th-17 e dalle cellule innate linfoidi di gruppo 3 (ILC-3) (3,8,9). Esiste anche

un endotipo che non presenta l'aumento dei marker specifici degli altri e per questo viene definito *T untypable* (Tun); questo potrebbe essere dovuto sia al fatto che i pazienti non presentano un aumento abbastanza importante delle citochine caratteristiche di quel tipo di infiammazione, sia potrebbe essere un endotipo non ancora conosciuto(8). Inoltre circa il 26% dei pazienti presenta le caratteristiche di più endotipi contemporaneamente, in particolare T1 associato a T3 (11).

Endotype	Primary cytokines	Source cells	Effector cells	Immune targets	Specific clinical features	Potential clinical treatments
Tun	None	None	None	None	Undefined to date	Undefined to date
T1	IFN- γ	Th1, CTL, ILC1	NK, M1	Viruses	Undefined to date	Undefined to date
T2	IL-4, IL-5, IL-13	Th2, M2, ILC2	BAS, eos, M2	Parasites	Asthma, smell loss, NP formation	May be more responsive to corticosteroids, consider type 2 biologicals
T3	IL-17	Th17, ILC3	NEU	Bacteria, Fungi	Pus	Consider antibiotics

Figura 3 - Caratteristiche dei diversi endotipi infiammatori nella CRS e potenziali applicazioni cliniche (8)

Questa classificazione presenta anche una peculiare distribuzione geografica in quanto T2 è molto più comune in Europa e negli Stati Uniti, mentre T1 è più comune in Asia; ma è stata notata un'alta variabilità anche all'interno delle stesse regioni geografiche (3,8,12,13).

L'infiammazione di tipo 2 è sostenuta dalle cellule Th2 che secernono le citochine IL-4, IL-5 e IL-13, che sono le principali responsabili delle caratteristiche di questa infiammazione (3,8,9). IL-5 è la principale artefice del reclutamento e dell'attivazione degli eosinofili, mentre IL-4 e IL-5 promuovono lo switch di classe dei linfociti B attivati, la produzione di muco, la differenziazione dei macrofagi nel tipo M2 e il rimodellamento tissutale (8). Si ritiene infatti, che sia l'infiammazione T2 a promuovere la formazione dei polipi nasali attraverso la deposizione di fibrina, la ritenzione delle proteine plasmatiche e la formazione di edema (8). Per questo nella maggior parte dei casi la CRSwNP si considera associata a questo tipo di infiammazione. Altra forte associazione di T2 è con l'asma e l'asma esacerbato da aspirina (3,8,9,11).

Le infiammazioni di tipo 1 e 3 secondo le recenti scoperte sono collegate a particolari condizioni che portano alla loro attivazione: T1 è associata alle infezioni virali e alla citotossicità mediata dalle cellule NK; mentre T3 è associata a infezioni batteriche e attivazione del complemento (8,11). La differente base patogenetica aveva portato a pensare che T1 e T3 fossero legate solamente alla rinosinusite cronica senza poliposi nasale, ma sono stati individuati in alcuni casi alla formazione di polipi (8,12) che all'istologia sono risultati ricchi di neutrofili; questo dimostra come basare la classificazione solo sul fenotipo possa portare al mancato riconoscimento dei meccanismi alla base della patologia.

Stevens et al. nel 2019 (11) hanno indagato le correlazioni tra fenotipo e genotipo nella CRS; oltre ad aver confermato che l'infiammazione T2 è collegata alla presenza di polipi e asma, è stata osservata una forma più grave di asma nei pazienti in cui erano compresenti i marker T1 e T2. La perdita di olfatto e di gusto è osservata maggiormente nei soggetti con infiammazione T2 anche in assenza di poliposi nasale. Infine, nell'infiammazione T3 è stata trovata un'associazione con pus e scolo nasale purulento; questo supporta la tesi secondo la quale questo tipo di processo viene attivato in caso di infezioni batteriche e micotiche.

2.1.2 Istologia delle CRS

Istologicamente la differenza tra la presenza o meno della poliposi nasale si mantiene. I polipi nasali possono presentare o meno un aumento dell'infiltrato eosinofilo al quale corrispondono alcune differenze marcate all'istologia che a loro volta si riflettono nella clinica (1,2,12,14); per questo motivo attualmente si ritiene che i polipi eosinofili siano un'entità con diversa base genetica ed espressione proteica rispetto ai polipi non eosinofili (15).

I polipi eosinofili sono molto edematosi e poveri di collagene, ghiandole esocrine e TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*); a questo quadro istologico corrispondono dei polipi particolarmente traslucidi all'osservazione in rinoscopia, presentandosi più friabili e facilmente disgregabili (14). Nei Paesi occidentali per definire un polipo eosinofilo si usa come cut-off la presenza di almeno 10 eosinofili per alto campo di ingrandimento (*High Power Field* - HPF); nei Paesi asiatici, vista

anche la differente incidenza di questa malattia, il cut-off è meno specifico, infatti può variare 5 a 100 eosinofili per HPF (16).

Un maggiore infiltrato eosinofilo è stato correlato con una maggiore probabilità di rinite allergica e asma bronchiale, ed è stato confermato il suo valore prognostico. La presenza infatti di più di 10 eosinofili per alto campo di ingrandimento coincide con una maggiore probabilità di recidiva dei polipi nasali dopo la loro rimozione chirurgica (17,18).

A livello istologico si riesce a dimostrare l'attivazione degli eosinofili se si osservano degli aggregati da loro formati a livello della lamina propria, accumuli di mucina e cristalli di Charcot-Leyden (prodotti della degranolazione degli eosinofili) (17).

Altra osservazione interessante nei polipi eosinofilici è la presenza di mastociti attivati a livello sub-epiteliale e ghiandolare, ma non a livello sottomucoso (18); questa osservazione è razionale al fatto che questo tipo di polipi sono caratterizzati dall'infiammazione T2 della quale i mastociti sono importanti attori.

All'analisi molecolare dei campioni istologici dei polipi eosinofilici è stata osservata un'aumentata espressione dell'inflammasoma NLRP3 (*nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor containing pyrin domain 3*) e di caspasi 1, dimostrando un ruolo dell'immunità innata con caratteristiche autoinfiammatorie nella patogenesi di questa malattia (19).

I polipi non eosinofilici invece presentano un forte rimodellamento strutturale con aumento del collagene, reclutamento di fibroblasti e un'aumentata espressione di TGF- β , FGF (*Fibroblast Growth Factor*), PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) e VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*); tutto questo porta a una metaplasia della mucosa nasale alla quale è associata un'importante ipertrofia ghiandolare (14). In questo caso clinicamente i polipi si presentano poco edematosi e con una consistenza più densa (14). L'aumento di VEGF suggerisce che l'ipossia tissutale potrebbe essere uno dei meccanismi patologici per la formazione di questi polipi non eosinofili; l'ipossia si ritiene infatti, sia causata dall'ostruzione primaria degli osti dei seni paranasali (1,2).

Per questo un'eventuale chirurgia con liberazione degli osti occlusi può essere curativa della patologia, al contrario nei polipi eosinofili essendo il meccanismo iniziale molto probabilmente una deregolazione immunologica la semplice chirurgia non impedisce la recidiva ma è importante una contestuale terapia medica (14).

2.1.3 Importanza delle cellule circolanti per la valutazione della prognosi

Nonostante l'endotipizzazione sia stata dimostrata essere più efficace nel predire la prognosi della malattia, tale metodo è costoso e poco praticato; per questo motivo la fenotipizzazione in ambito clinico rimane ancora molto usata (18). Negli ultimi anni si è posta attenzione sulle cellule infiammatorie circolanti come indicatori della gravità della malattia e della sua prognosi dopo trattamenti medici e chirurgici.

Nel 2016 Drake et al. (20) hanno dimostrato una correlazione positiva tra il numero degli eosinofili ematici preoperatori e la gravità dei polipi nasali. Dato interessante è che andando a studiare lo stato di attivazione di queste cellule infiammatorie è stato riscontrato che esse sono in un stato di pre-attivazione in quando sono più sensibili a IL-5 (21). Questo indica la presenza di uno stato pro-infiammatorio diffuso e non solamente localizzato a livello nasale, e infatti, la quantità di eosinofili plasmatici è maggiore nei pazienti che oltre a presentare CRSwNP presentano anche altre patologie con substrato infiammatorio deregolato come allergie, asma e asma esacerbato da aspirina (AERD) (16,17,22). A questo dato si associa un maggior tasso di recidiva se i pazienti presentano queste comorbidità (15).

All'aumento degli eosinofili è stato riscontrato un contestuale aumento dei basofili (15,16,23), prevedibile visto il ruolo di queste molecole nell'attivazione degli eosinofili e il loro contributo nell'infiammazione T2 (24).

Dopo questa intuizione vari studi hanno dimostrato che maggiore è il valore degli eosinofili nel sangue maggiore è la probabilità di recidiva dei polipi dopo

intervento chirurgico (16,22,23), infatti è stato osservato che i pazienti con più del 10% di eosinofili nella loro formula leucocitaria nel sangue periferico hanno un maggior tasso di recidiva (25).

Lo stesso comportamento degli eosinofili è stato individuato nei basofili, infatti questi aumentano nei soggetti con una sintomatologia più marcata e con maggiore probabilità di recidiva, in particolare nella CRSwNP eosinofila (15), questo non stupisce in quanto basofili e eosinofili sono granulociti che lavorano in maniera sinergica, potenziando la loro attività a vicenda. Il rapporto eosinofili-basofili (bEBR) è stato ritrovato maggiormente elevato nei pazienti con CRSwNP che presentavano complicanze come: allergia, asma e AERD (26).

Nonostante non sia conosciuto un loro ruolo rilevante nell'infiammazione Th2, è stato rilevato anche un aumento dei neutrofili nel sangue dei pazienti con CRSwNP rispetto ai pazienti con CRSsNP (16).

Accertato l'aumento di queste cellule infiammatorie si è indagato se i rapporti tra i loro valori potessero avere un significato nel valutare la prognosi in questa malattia. Si sono valutati quindi il rapporto neutrofili-linfociti (NLR), eosinofili-linfociti (ELR) e basofili-linfociti (BLR).

Questi tre rapporti sono stati indagati da Brescia et al nel 2016 (27) e sono stati osservati essere più elevati nei pazienti con CRSwNP più severa e con maggiore probabilità di recidiva post-chirurgica; non è stato possibile però trovare un cut-off che permettesse di discriminare con potere statistico accettabile, una maggiore probabilità di ritorno dei polipi nasali. In questo studio è stato inoltre constatato come il BLR sia il valore più sensibile per indicare la recidiva, in quanto si riscontra elevato sia nei pazienti con CRSwNP isolata che in quelli con comorbidità come allergia e asma.

Un altro rapporto analizzato è quello tra eosinofili e basofili (EBR), le due popolazioni cellulari della formula leucocitaria più importanti nell'infiammazione T2; anche per questo valore è stato osservato una correlazione con la presenza di comorbidità e una più alta probabilità di recidiva (26).

La chirurgia dei seni paranasali con rimozione dei polipi ha dimostrato la sua efficacia anche dal punto di vista dei dati di laboratorio, in quanto nella CRSwNP eosinofila dopo la chirurgia si ha un importante calo degli eosinofili

circolanti e del ELR, con un'ulteriore diminuzione se i pazienti dopo l'operazione ricevono una terapia steroidea topica (23,28). Al contrario nella CRSwNP non eosinofila dopo l'intervento si ha una riduzione importante del NLR, questo permette di ipotizzare che i neutrofilo siano importanti per la patogenesi di questa condizione, per la quale i fattori scatenanti sono poco conosciuti (28).

2.2 ASMA ESACERBATO DA ASPIRINA (AERD)

L'asma esacerbato da aspirina (AERD - *Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease*) è una condizione infiammatoria composta dalla triade: asma eosinofilo, rinosinusite cronica con poliposi nasale (CRSwNP) ed esacerbazione dei sintomi dopo assunzione degli inibitori della ciclossigenasi di tipo 1 (COX-1). Per questo motivo negli ultimi anni si sta prediligendo il nome NERD (N-SAIDS exacerbated respiratory disease) per questa patologia; infatti, l'Accademia Europea di Allergologia e Immunologia clinica (EAACI) (29) sostiene che "N-SAIDS è un termine più inclusivo rispetto ad aspirina nel descrivere questo sottotipo di ipersensibilità ai farmaci che inibiscono la ciclossigenasi" (30). Altri termini ormai ritenuti obsoleti con cui viene chiamata questa malattia sono "asma indotto da aspirina" e "triade di Samter".

Questa patologia è stata descritta per la prima volta da Widal nel 1922 in una donna che dopo l'assunzione di aspirina ha presentato un attacco d'asma con profusa rinorrea e orticaria (31); ignari di ciò alla fine degli anni 60' Samter e Beers riproposero come nuova questa malattia, mentre il suo meccanismo patogenetico è stato chiarito da Andrew Szczekik nel 1975 (29).

2.2.1 Epidemiologia

L'asma esacerbato da aspirina una patologia rara nei bambini, e il suo esordio avviene solitamente tra i trenta e i quaranta anni con un'età media alla diagnosi di 34 anni (32); è stata riscontrata una tendenza di maggiore incidenza nel sesso femminile (33) in cui si riconosce una malattia più progressiva con maggiore uso di corticosteroidi prima della chirurgia e maggiore probabilità di recidiva (32,34).

Diversi studi hanno riportato diverse prevalenze di questa malattia, una review del 2014 (35) ha riportato una prevalenza di AERD nei pazienti asmatici tra il 2.36% e l'8.66%, e nei pazienti con rinosinusite cronica e polipi nasali tra il 2.16% e il 17.22%.

Questa variabilità è dovuta al fatto che per la diagnosi sia sufficiente solo la testimonianza del paziente di una reazione respiratoria negativa dopo l'assunzione di un farmaco antinfiammatorio non steroideo (FANS) (29) ma è stato osservato che circa il 15% dei pazienti che riportano sintomi dopo l'assunzione di FANS, quando svolgono il test con l'assunzione di aspirina non rispettano i canoni per la diagnosi (36). A rendere ancora più complicato il quadro, approssimativamente tra il 26% e il 63% dei pazienti con CRSwNP presentano asma ma non intolleranza all'aspirina (32).

Sono state svolte numerose indagini, tra cui studi di *genome wide association* (GWAS) per individuare mutazioni genetiche che predisponessero alla patologia, ma sono stati riscontrati solo polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) con un lieve aumento dell'incidenza di malattia (37). Attualmente, quindi, si ritiene che AERD non abbia una forte componente genetica; inoltre non sono stati identificati differenti profili di espressione genetica tra CRSwNP e AERD (37,38).

2.2.2 Sintomi e Diagnosi

Non sempre la classica triade e i sintomi si presentano in maniera sincrona e con la stessa intensità, questo rende ancora più complessa la diagnosi e comprendere al meglio il momento dell'insorgenza o del peggioramento dei sintomi renderebbe più semplice il trattamento (39).

I pazienti solitamente presentano i classici sintomi della rinosinusite cronica: congestione nasale, rinorrea e iposmia. Questi si presentano solitamente secondo un pattern tipico: all'inizio si presenta un rinosinusite continuativa, seguita dall'asma e solo alla fine compare anche la reazione agli inibitori di COX-1 (33,40). Dopo l'assunzione di aspirina o di altro farmaco inibitore di COX-1 la reazione di ipersensibilità porta a: broncospasmo, rinorrea, congestione nasale, lacrimazione e in alcuni casi anche reazioni sistemiche tra cui: rossori, orticaria, crampi addominali e ipotensione (31,32,34,39,41,42); in alcuni casi sono stati riportati anche rash pruriginosi e discomfort del tratto gastrointestinale (43). Questi sintomi insorgono solitamente in un intervallo tra 30 e 180 minuti dopo l'assunzione del farmaco (43). Dall'analisi della letteratura è emerso che la minima

dose di aspirina necessaria per provocare una reazione (MPDA – *mean provocative dose of aspirin*) sia di 85,8 mg, ma può variare in base al valore di riduzione di FEV1 per cui si considera positiva la reazione (36).

Interrogando i pazienti sulla loro attività quotidiane è emerso un peggioramento dei sintomi quando essi assumevano bevande alcoliche (39) o menta, in particolare dentifrici a base di essa (44).

Nonostante la perdita di olfatto sia comune in AERD e in CRSwNP uno studio del 2016 (45) ha dimostrato come l'anosmia sia più grave nei pazienti con AERD. Infatti, i punteggi al questionario SNOT 22 (il quale valuta la qualità della vita e un punteggio più alto indica sintomi peggiori) erano più alti nei pazienti affetti da AERD (25.5 ± 12.0 punti rispetto a 21.5 ± 15.5 punti). Dopo il trattamento attraverso desensibilizzazione all'aspirina la differenza di punteggio al questionario non era significativa, come anche dopo la terapia chirurgica.

L'asma in AERD è più severo rispetto all'asma isolato infatti, le persone affette hanno il 50% di probabilità in più di avere questa patologia difficilmente controllabile con la terapia standard; hanno inoltre un rischio aumentato di attacchi asmatici severi con necessità di ricovero ospedaliero (36,40). Inoltre diversi studi hanno misurato nei pazienti con AERD una FEV1 (*Forced Expiratory Volume in the first second*) minore rispetto ai pazienti solamente asmatici (34). È importante sottolineare che tutte queste caratteristiche che rendono la patologia più aggressiva sono presenti anche senza l'assunzione di aspirina (32).

Diagnosticare questa patologia è molto importante in quanto il paziente deve essere istruito molto accuratamente riguardo quali farmaci, alcuni di uso molto comune, deve evitare e quali FANS invece può assumere per evitare reazioni che in seppur rari casi, possono essere fatali (46).

Nonostante la diagnosi avvenga solamente attraverso la raccolta della storia clinica, basandosi solo su questa si potrebbe incorrere sia sottodiagnosi che sovradiagnosi (29,47). Infatti il test di somministrazione orale risulta negativo in circa il 20% dei pazienti che lamentano sintomi dopo l'assunzione di aspirina (35). I due test principali sono la misurazione urinaria nelle 24 ore del leucotriene E₄ (LTE₄) e il test con somministrazione orale di aspirina (31,39).

Attualmente il secondo è considerato il gold standard e l'EAACI ha proposto un algoritmo diagnostico basato sulla clinica e su questo test (29,46). Se il paziente presenta una storia clinica affidabile di reazione ai FANS e la presenza di CRSwNP con o senza asma, si può fare direttamente diagnosi. Con storia affidabile di reazione ai FANS si intende se la reazione: è avvenuta più volte dopo varie assunzioni del farmaco, se è avvenuta con almeno due tipi diversi di inibitori della COX-1 o se è accaduta più volte negli ultimi 5 anni.

Se invece la storia clinica non è abbastanza solida è indicata l'esecuzione del test di somministrazione orale di aspirina; questo ha una sensibilità del 89% e una specificità del 93% (46). La procedura viene svolta in due giornate, il primo giorno si misura la FEV1 e poi si somministra un placebo con intervalli di 1.5-2h misurando FEV1 ogni mezz'ora, se il paziente ha un calo di FEV1 maggiore del 15% vi è condizione di asma instabile e quindi non è indicato procedere con la somministrazione di aspirina. Il secondo giorno dopo aver misurato nuovamente FEV1 si inizia la somministrazione di aspirina a dosi crescenti (27, 44, 117 e 312 mg, ma se il sospetto di malattia è forte si inizia dividendo la prima somministrazione in due dosi da 10 e 17 mg rispettivamente), e si osservano tutti i sintomi mostrati dal paziente; contestualmente ogni 30 minuti si misura FEV1 e se si riscontra un suo calo maggiore o uguale al 20% il test viene interrotto e considerato positivo (29,46). È importante che questa procedura venga svolta in un ambiente ospedaliero con a disposizione il materiale per la rianimazione in caso di gravi reazioni (46,47).

Il test può essere eseguito anche con l'inalazione bronchiale o nasale di acetilsalicilato di lisina (L-ASA); il secondo è utile nei pazienti che dopo l'assunzione presentano spiccati sintomi nasali (46).

2.2.3 Patogenesi

Nei pazienti con AERD vi è già alla base uno stato infiammatorio della mucosa, infatti, nelle secrezioni nasali è presente un maggior quantitativo di molecole infiammatorie come: proteina cationica eosinofila (ECP), heath shock protein 70 (HSP70), triptasi e s-IL-5R α con una contestuale diminuzione di CC16

(*Clara Cell Secretory Protein 16*), proteina con attività antinfiammatoria e antiallergica, che inibisce la fosfolipasi A2 e che viene usata come indicatore di salute dell'epitelio respiratorio (48,49).

In questa malattia il metabolismo dell'acido arachidonico è cronicamente sbilanciato e sia la via della ciclossigenasi che quella della lipossigenasi sono deregolate. Vi è una maggiore produzione di cisteinil-leucotrieni (CysLT), un aumento dell'espressione dei loro recettori nella mucosa respiratoria e dell'enzima LTC4-sintasi; vi è inoltre una diminuzione dei livelli di lipossine, di quelli della prostaglandina E2 (PGE₂) e un aumento della prostaglandina D2 (PGD₂), la quale considerata un marker di attivazione dei mastociti (29,31,39,50). La causa di questo sbilanciamento però, non è ancora stata identificata (44); le ipotesi più accreditate al momento sono: (i) un'aumentata suscettibilità della COX-1 all'inibizione da parte dei FANS, (ii) un'intrinseca riduzione della produzione di PGE₂ da parte di COX-2, (iii) un'anormale funzione dei recettori della PGE₂; queste potrebbero essere sia isolate che compresenti (39).

A causa di questa di deregolazione nei pazienti affetti da asma esacerbato da aspirina sono stati ritrovati nei fluidi nasali e nelle urine livelli più alti rispetto alla popolazione generale del leucotriene E2, metabolita stabile della via finale dei CysLT (29). Anche PGD₂ è riscontrata in quantità significativamente più alte nell'espettorato, nelle urine e nell'aria espirata (44).

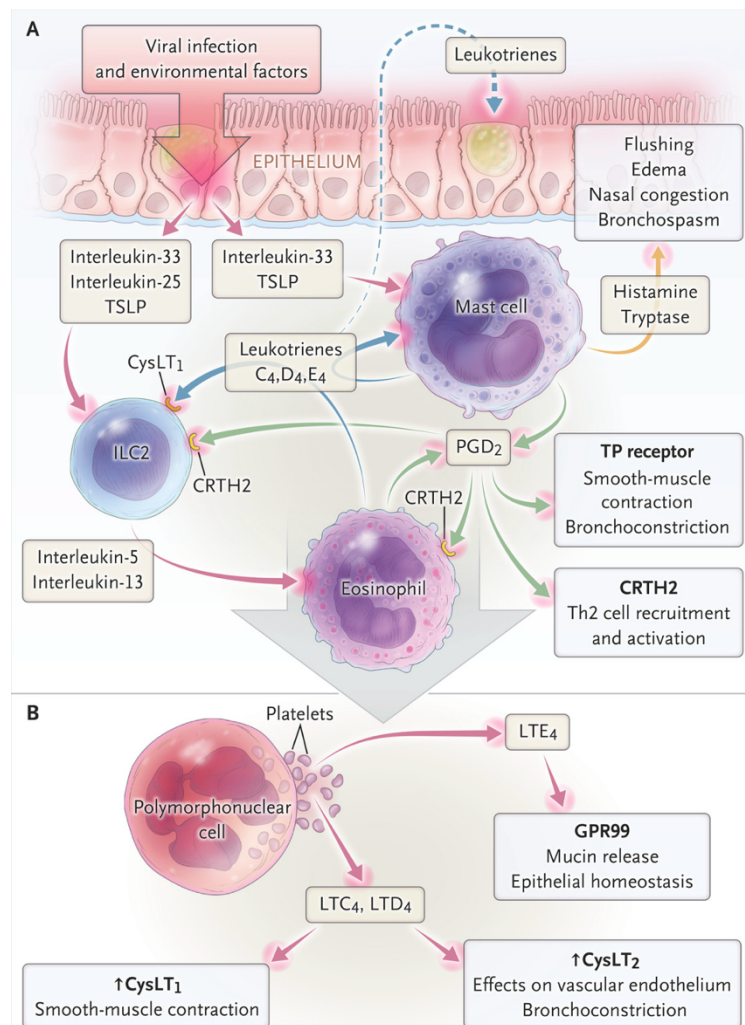


Figura 4 - Interazioni cellulari e mediatori infiammatori in AERD (31)

L'associazione della deregolazione della dell'acido arachidonico con l'assunzione di farmaci inibenti COX-1 porta ad una un'esacerbazione di questo meccanismo con una reazione di ipersensibilità non-IgE mediata che causa un massiccio rilascio di numerosi mediatori infiammatori come triptasi, cisteinil-leucotrieni (CysLT) e prostaglandina D₂ (18,31,38,41,43,44). Infatti, PGE₂ non riesce a bloccare l'inizio della cascata infiammatoria, e così i mastociti sono liberi di degranulare rilasciando: (i) ulteriore PGD₂ che richiama e attiva gli eosinofili; (ii) leucotrieni, in particolare LTC₄, LTD₄ e LTE₄ che attivano le ILC2 e con un meccanismo autocrino aumentano l'attività dei mastociti; (iii) istamina e triptasi che portano a edema, congestione nasale e broncospasmo (31).

I cisteinil-leucotrieni, prodotti sia dai mastociti che dagli eosinofili sono mediatori pro-infiammatori molto efficaci che a livello bronchiale stimolano:

broncocostrizione, richiamo e attivazione degli eosinofili, secrezione di muco e aumento della permeabilità vascolare (51). Questi inoltre inducono le cellule epiteliali a produrre IL-33, la quale a sua volta attiva i mastociti e le ILC2; queste cellule producono IL-5 e IL-9 che richiamano e attivano rispettivamente eosinofili e mastociti (50). Tutte queste interazioni ridondanti mostrano come una volta che si instaura la cascata infiammatoria ci sia un aumento esponenziale dei mediatori e un meccanismo di automantenimento del processo.

L'importanza di queste cellule è stata confermata da Estaman et. al nel 2016 (52) che con il suo team ha dimostrato come dopo il test con la somministrazione di aspirina vi fosse un calo degli eosinofili e delle ILC2 nel sangue periferico e un loro contestuale aumento a livello dei polipi nasali; la diminuzione di queste cellule era direttamente proporzionale al peggioramento della sintomatologia del paziente. Contemporaneamente è stato riscontrato un aumento di 11β -PGF $_2\alpha$ (metabolita stabile di PGD $_2$) e di LTE $_4$.

Si ritiene inoltre, che il meccanismo patogenetico sia differente dall'atopia nonostante le cellule e i mediatori interessanti siano gli stessi; questa osservazione si deduce dall'osservazione che la maggior parte degli affetti da AERD non siano atopici (40).

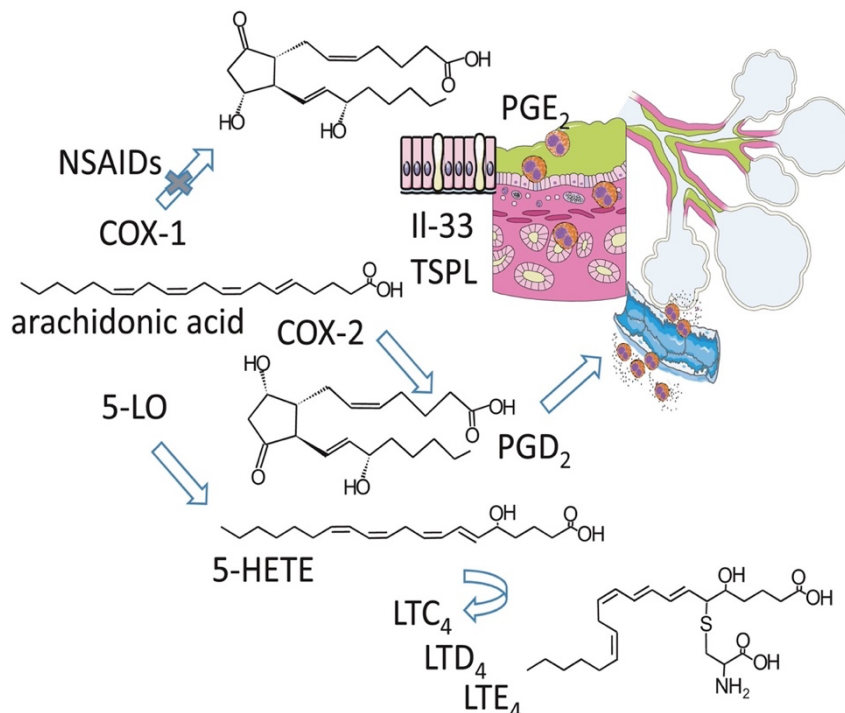


Figura 5 - Alterazioni del metabolismo dell'acido arachidonico. Il blocco di COX-1 riduce la già scarsa produzione di PGE₂ con aumento di produzione di PGD₂ e leucotrieni (29)

Nello sviluppo della malattia vi è anche un coinvolgimento delle piastrine, le quali esprimono sulla superficie alti livelli di P-selectina, molecola di adesione attraverso la quale si legano ai neutrofili portando alla produzione di LTA₄ e LTC₄ e quindi un aumento generale dei leucotrieni (43). Inoltre, è stata riscontrata una conta piastrinica più alta nei malati (41). A conferma di ciò nel sangue di questi pazienti è stato riscontrato un aumento di CD40L solubile (sCD40L), un mediatore della risposta infiammatoria rilasciato dalle piastrine attivate; il fatto che l'assunzione di aspirina nei soggetti affetti da AERD non porti a una diminuzione di questa molecola dimostra che le piastrine si presentino in uno stato alterato (49).

La mucosa delle vie respiratorie potrebbe funzionare come un tessuto linfoide terziario dove la produzione di anticorpi e lo switch di classe potrebbe essere facilitato dall'alto livello di linfociti B attivi, plasmacellule e plasmoblasti. Recentemente è stato dimostrato che il profilo anticorpale locale dei pazienti con AERD differisce da coloro con CRSwNP; infatti, in AERD vi è un maggiore aumento di IgG4 e IgE, che sono in parte prodotti dal segnale dato da IL-4 e IL-13 (50). Notevole da sottolineare è il fatto che questo aumento di anticorpi si verifica solo nei polipi e non nel sangue periferico, mostrando quindi che vi sia una produzione locale di anticorpi (43).

Un livello localmente più elevato di IgE è associato a una patologia con sintomatologia più grave e con maggiore velocità di recidiva, mentre un aumento di IgG4 sembra collegato a una maggior durata della malattia; questo è dovuto al fatto che un aumento di IgG4 sembra prevenire la riformazione di polipi, inducendo una reazione fibrotica a livello della mucosa (53).

La produzione di IgE potrebbe essere provocata anche da superantigeni derivati da batteri come *S. aureus*, e si ipotizza che anticorpi anti-enterotossina possano entrare nella cascata infiammatoria di questa patologia (38,43,44).

2.2.4 Terapia

Il trattamento di questa patologia è complesso e richiede un approccio multidisciplinare con la collaborazione di più specialisti. La base consiste in prima istanza nell'evitare l'assunzione di aspirina e di FANS (38,39,45), è importante però,

ricordare che non tutti i FANS hanno la stessa attività di inibizione della COX-1; infatti nimesulide e meloxicam inibiscono COX-1 solo ad alte concentrazioni e sono solitamente ben tollerati. Il paracetamolo può essere assunto a dosaggi inferiori a 1000mg, in quanto sono state notate delle reazioni negative a livello respiratorio per dosaggi uguali o superiori a questa dose (39). I COXIB, ovvero gli inibitori selettivi di COX-2, possono essere assunti senza problemi dai pazienti (29).

Strong COX-1 inhibitors Piroxicam, indomethacin, sulindac, tolmetin, ibuprofen, naproxen, naproxen sodium, fenoprofen, oxazoprin, mefenamic acid, flurbiprofen, diflunisal, ketoprofen, diclofenac, ketorolac, etodolac, nabumetone, and acetylsalicylic acid
Weak COX-1 inhibitors Paracetamol and salsalate
Preferential COX-2 inhibitors at low doses and weak COX-1 inhibitors at high doses Nimesulide and meloxicam
Selective COX-2 inhibitors Celecoxib, etoricoxib and parecoxib.

Figura 6 - Classificazione dei FANS secondo la loro capacità di inibire le ciclossigenasi (29)

I pazienti dovrebbero evitare i cibi contenenti salicilati naturali come: frutta secca, bacche, numerosi tipi di erbe aromatiche, spezie e come detto precedentemente le bevande alcoliche (54).

All'inizio il trattamento è sintomatico, per l'asma vengono seguite le linee guida internazionali che raccomandano l'uso della combinazione di β -agonisti inalatori sia a breve che a lunga durata d'azione, associati in caso di mancata efficacia da corticosteroidi per via inalatoria (55). Per la sintomatologia nasale si consiglia l'uso di corticosteroidi per via inalatoria e in caso di riacutizzazioni il loro uso per via orale (2,39).

Essendo AERD legata a una deregolazione della via dei leucotrieni sono stati valutati nella terapia i farmaci in grado di bloccarla. Sono stati analizzati sia gli antagonisti del recettore dei leucotrieni (montelukast e zafirlukast) che gli inibitori della sintesi di questi mediatori lipidici (zileuton), e sono stati riscontrati entrambi efficaci soprattutto per i sintomi asmatici, con un miglioramento di FEV1 (56).

Zileuton si è dimostrato più potente contro i sintomi asmatici ed efficace anche su quelli nasali (57).

Nei pazienti in cui la componente nasale della patologia è molto debilitante e non responsiva alla terapia medica (almeno 4 settimane di terapia corticosteroidica orale) vi è indicazione alla chirurgia, che consiste nella chirurgia endoscopica dei seni funzionale (FESS – *Functional Endoscopic Sinus Surgery*) (4,39,58,59). Questo porta ad una maggiore ventilazione dei seni paranasali e facilita la diffusione in tutta la cavità dei farmaci per via inalatoria (58).

Con la sola chirurgia però si ha una probabilità molto rapida di recidiva dei polipi, per questo motivo è importante eseguire la desensibilizzazione all'aspirina poco dopo l'intervento (54). Nonostante ciò vari pazienti devono ricorrere più volte nell'arco della loro vita a questo intervento (31).

La desensibilizzazione all'aspirina è una procedura atta ad aumentare la tolleranza dei pazienti verso gli inibitori di COX-1; è una procedura da eseguire sotto stretta sorveglianza medica e con i farmaci d'emergenza sempre a disposizione. Questa procedura consiste nel somministrare dosi crescenti di aspirina o ketorolac al paziente fino ad ottenere una reazione misurabile, solitamente la riduzione di FEV1; a questo punto si procede a somministrare nei giorni successivi la stessa dose fino a quando non avviene più nessuna reazione avversa. Dopo questa fase si instaura la terapia di mantenimento composta da dosi giornalieri di aspirina dai 325 fino a 650 mg (ATAD - *Aspirin therapy after desensitization*), da continuare idealmente per tutta la vita (60). Attualmente questa procedura rappresenta lo standard per il trattamento di questa patologia a 4-5 settimane dopo l'intervento chirurgico (31); non è però scevra da rischi in quanto il sanguinamento dal tratto gastrointestinale durante ATAD non è raro (29).

Per i pazienti a cui è controindicata la desensibilizzazione o ATAD non è tollerata, è stata valutato l'uso dei farmaci biologici che agiscono a livello dell'infiammazione Th2, ovvero: (i) dupilumab, antagonista del recettore di IL-4; (ii) omalizumab, inibitore di IgE e (iii) mepolizumab, inibitore di IL-5 (61–63). Questi farmaci si sono dimostrati molto efficaci sia nel trattamento dei sintomi che nella riduzione delle recidive (61,64), ma il costo molto elevato (fino a 30.000-40.000

\$US all'anno) ne limita molto l'utilizzo e sono usati solo quando tutte le altre possibilità terapeutiche non sono efficaci (39).

Altro farmaco biologico attualmente in fase di valutazione per AERD è tezepelumab, anticorpo anti-TSLP, molecola che concorre nell'attivazione della risposta infiammatori Th2 (39). Inoltre, sono in fase di sviluppo dei farmaci contro IL-25 e IL-33, citochine che prendo parte alla patogenesi di questa malattia (39).

2.3 BASOFILI E INFIAMMAZIONE TH2

Descritti per la prima volta da Paul Ehrlich nel 1879, i basofili sono la classe di granulociti meno numerosa e corrispondono a meno dell'1% delle cellule circolanti; nonostante ciò sono presenti in molte specie animali, indicando quindi un ruolo indispensabile mantenuto durante l'evoluzione (24,65). Il nome deriva dal fatto che alla colorazione con ematossilina ed eosina i granuli contenuti in queste cellule assumono una colorazione blu-violacea.

Sono stati per molto tempo una popolazione cellulare poco studiata vista la loro scarsità numerica, ma negli anni '70 la scoperta della loro abbondante presenza nell'infiltrato tissutale nell'ipersensibilità ritardata ne ha enfatizzato il ruolo nella risposta infiammatoria (66). Nei primi anni '90 è stata dimostrata la loro capacità di secernere IL-4 in quantità maggiori rispetto alle Linfociti T-helper di tipo 2 (67). Con queste scoperte è stato confermato il ruolo cruciale e non ridondante di queste cellule nei processi infiammatori, in particolare in quelli del tipo Th2.

Risiedono per la maggior parte della loro vita nel torrente circolatorio e migrano nei tessuti solo se vi è l'avvio di un processo infiammatorio in grado di rilasciare molecole che li richiamano. Sono le cellule infiammatorie con l'emivita più breve nel sangue e per questo sono costantemente prodotte dal midollo osseo (24).

Un tempo venivano considerati i precursori circolanti dei mastociti, ma questa teoria è stata definitivamente scartata, in quanto è stato dimostrato che questi due tipi di cellule originano da due linee cellulari diverse della cellula staminale ematopoietica (65). I basofili originano infatti, da un precursore comune con gli eosinofili (68).

I basofili sono molto importanti nella difesa contro le infezioni da zecche e da elminti ma se deregolati entrano nella patogenesi di numerose patologie tra le quali: rinite allergica, dermatite atopica, asma bronchiale, orticaria cronica idiopatica, reazioni allergiche ritardate, anafilassi e malattie autoimmuni (69).

2.3.1 Contributo dei basofili nell'infiammazione Th2

I basofili sono in grado di migrare dai linfonodi ai tessuti e di secernere IL-4 sotto determinati stimoli e quindi di promuovere la differenziazione dei linfociti Th2 (70); per questo attualmente si ritiene che siano tra le prime cellule a secernere IL-4. Questa citochina insieme a IL-13 porta a switch verso IgE, produzione di muco e alterazione della barriera epiteliale, fattori molto importanti per la formazione dei polipi nasali (53).

Oltre a questo, i basofili riescono ad acquisire dalle cellule dendritiche, attraverso un meccanismo di contatto cellula-cellula chiamato trogocitosi, il complesso maggiore di istocompatibilità di classe 2 (MHC-II - *Major Histocompatibility Complex*) diventando così cellule presentanti l'antigene (APC - *Antigen Presenting Cells*) (71). In questo modo i basofili sono in grado di attivare i CD4 naïve verso il tipo Th2 sia attraverso APC che con il rilascio di IL-4. È ancora dibattuto se i basofili presentino da soli molecole costimolatorie come CD80, CD86 e CD 40 o le acquisiscano per trogocitosi dalle cellule dendritiche (65).

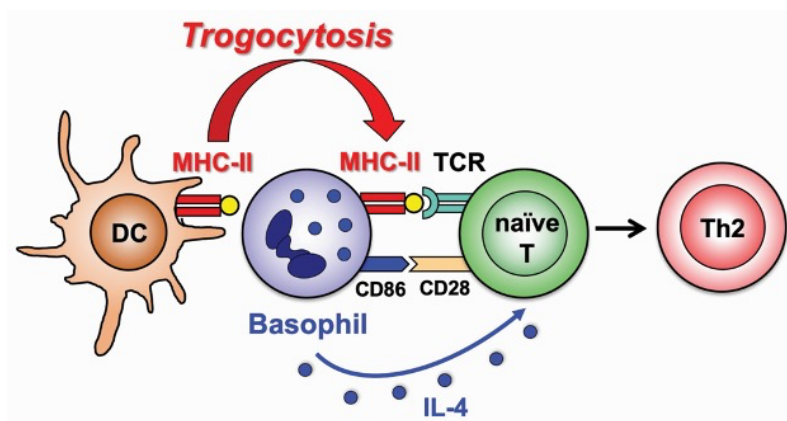


Figura 7 - Meccanismo di trogocitosi che permette ai basofili di presentare MHC-II e attivare, insieme al rilascio di IL-4, i linfociti Th2 (65)

Esprimono inoltre il recettore FcεRI ad alta affinità per le IgE (65,72–74) il quale una volta attivato porta al rilascio dei granuli contenuti a livello citoplasmatico, le IgE si configurano quindi come un importante ponte tra la risposta umorale e quella infiammatoria. La principale componente di questi granuli è l'istamina, un'ammina con attività sia infiammatoria che immunologica, in

grado di provocare vasodilatazione delle arteriole, aumento della permeabilità delle venule e broncocostrizione (69,74). I basofili, insieme ai mastociti, sono considerati la fonte principale di istamina per questo motivo un aumento suo o dei suoi metaboliti è considerato indice di attivazione di queste cellule (69).

Dopo il legame al recettore FcεRI sono in grado di rilasciare anche LTC₄, mediatore lipidico in grado di indurre contrazione del muscolo liscio, broncocostrizione e aumento della permeabilità vascolare (75).

Un ulteriore mediatore rilasciato dai basofili insieme a mastociti, macrofagi, piastrine, eosinofili, cellule endoteliali e neutrofili, è il fattore attivante piastrine (PAF). Questa molecola derivata dai fosfolipidi, oltre ad attivare e promuovere l'aggregazione delle piastrine, induce una potente vasocostrizione, la formazione di edema e l'attivazione di neutrofili, eosinofili e piastrine (65,76).

2.3.2 Basofili in AERD

Essendo l'asma esacerbato da aspirina una condizione la cui patogenesi è legata all'infiammazione Th2 è dunque evidente l'importanza dei basofili in questa malattia. Tutti i meccanismi descritti nel capitolo precedente concorrono nello sviluppo dei sintomi: (i) l'istamina provoca edema nasale con incremento delle secrezioni e ostruzione nasale; (ii) LTC₄ e istamina provocano broncocostrizione peggiorando la sintomatologia asmatica; (iii) IL-4 attiva la risposta Th2 portando a quadro di infiammazione generalizzato (44,50,53,75).

La loro rilevanza è stata confermata dal fatto che sono presenti in maggiore quantità nei polipi nasali e nel sangue periferico rispetto ai pazienti con CRSwNP (23,50,77). Sono stati riscontrati livelli significativamente elevati nelle sezioni istopatologiche post mortem dei pazienti deceduti in stato asmatico, rispetto ai pazienti asmatici morti per altre cause (78).

Nei pazienti con AERD i basofili presenti nei polipi nasali esprimono meno 2D7, un marker del contenuto di granuli, indicando quindi una maggiore degranolazione (50); la riduzione di questo marcatore è significativamente correlata all'aumento della gravità della malattia a livello dei seni e bronchiale, misurata con lo score di Lund-Mackay e la riduzione di FEV₁ (77). È stato riscontrato

inoltre che rispetto ai soggetti sani, vi è una maggiore espressione del marker di attivazione CD203c dopo lo stimolo con Anti-IgE indicando quindi uno stato di maggior attivazione. Infine, durante il test con assunzione di aspirina vi è una riduzione di basofili che esprimono CD203c nel sangue, indicando quindi un loro possibile trasferimento a livello delle vie respiratorie (79).

Il mediatore responsabile del richiamo dei basofili a livello dei polipi nasali rimane ancora incerto, in quanto classicamente la IgE sono le principali attivatrici di queste cellule ma nell'AERD non vi è una reazione di ipersensibilità IgE-mediata. A livello dei polipi nasali sono stati ritrovati alti livelli di eotassina-1, eotassina-2 ed eotassina-3, chemochine in grado di attirare i basofili ma con efficacia ridotta; altra molecola presente a livello dei polipi nasali in grado di attrarre e attivare i basofili è la linfopoiatina stromale timica (TSLP - *thymic stromal lymphopoietin*). Attualmente si sta valorizzando il ruolo di PGD2 come chemochina per i basofili, in quanto questo mediatore è notoriamente elevato nella patologia e i basofili presentano il recettore CRTH2 (*chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Tn2 cells*) (80). La somma di questi stimoli porta a una potente attivazione di questi granulociti.

Una teoria recente ma non ancora dimostrata afferma che i basofili siano reclutati allo stesso modo nella CRSwNP e in AERD ma che nella seconda condizione questi sopravvivano più a lungo grazie a diverse citochine stimolatorie (77).

I basofili sono elevati anche nel sangue dei pazienti con AERD (15,16,77), questo si ritiene essere dovuto a una maggiore produzione da parte del midollo osseo a causa dell'aumentato richiamo a livello tissutale.

2.3.3 Fisiopatologia comune delle vie respiratorie (Unified airway concept)

La teoria delle vie aeree unificate suggerisce che le vie aeree superiori, compresi orecchio medio, naso e seni paranasali, e quelle inferiori siano un'unica unità funzionale caratterizzata dagli stessi processi infiammatori (81); storicamente

le patologie dei due distretti sono state considerate come caratterizzate da eziologie differenti e curate da specialità mediche diverse. L'AERD è la dimostrazione di come questa concezione si sbagliata in quanto lo stesso meccanismo è in grado di dare sintomi a livello nasale e a livello bronchiale.

Circa il 78% dei pazienti con asma presentano sintomi nasali e 84% di quelli con asma severo presentano delle alterazioni a livello nasale visibile con la TC; inoltre, la prevalenza dell'asma nei pazienti con CRS varia dal 45% al 65% nei pazienti che presentano polipi mentre è circa del 18% in quelli che non li presentano (1,40,82).

Diversi studi hanno dimostrato come la presenza di asma possa impattare sulla severità della patologia a livello delle alte vie respiratorie, anche nei pazienti che tollerano l'aspirina; infatti, i pazienti che presentano sia asma che poliposi nasale hanno all'indagine radiologica un'evidenza di maggiore infiammazione e vanno incontro a chirurgia più volte rispetto ai pazienti non asmatici (83,84).

Allo stesso modo la FEV1 dei pazienti asmatici con CRSwNP è maggiormente ridotta durante l'attacco d'asma rispetto ai pazienti che non presentano rinosinusite cronica (85). In generale i pazienti con più di una patologia a livello del tratto respiratorio necessitano di un trattamento maggiore a livello farmacologico e sono sottoposti maggiormente a interventi chirurgici in questi distretti (34).

Il rimodellamento tissutale che avviene nella CRS è stato riscontrato come molto simile a quello che avviene a livello della mucosa bronchiale nei pazienti con asma; a livello microscopico infatti, erano praticamente indistinguibili: l'edema della mucosa, l'ipertrofia delle ghiandole sottomucose, la deposizione di collagene, l'ispessimento della membrana basale e la fibrosi sottoepiteliale a livello della lamina reticolare (86). È stato dimostrato che l'estensione dell'infiammazione eosinofila e lo spessore della membrana basale nella mucosa dei pazienti asmatica sono maggiori in quelli che presentano anche una rinosinusite cronica (87).

La correlazione fisiopatologica permette di ipotizzare che il trattamento di una condizione permetta di migliorare anche quella coesistente; infatti la chirurgia endoscopica dei seni paranasali migliora la condizione asmatica, riducendo il numero di attacchi, il rischio di ospedalizzazione e il bisogno di ricorrere all'uso di

corticosteroidi (88). La terapia chirurgica effettuata al momento opportuno e non ritardata è in grado di prevenire il possibile sviluppo di asma da parte del paziente (89).

3. SCOPO DELLO STUDIO

L'asma esacerbato da aspirina è una condizione infiammatoria che consiste nell'associazione di asma eosinofilo, rinosinusite cronica con poliposi nasale e reazione respiratoria agli inibitori della ciclossigenasi-1. La prevalenza di AERD tra i pazienti con CRSwNP varia dal 8.7% al 26% (31,33–35,42). Rispetto agli asmatici, i pazienti con AERD possono essere caratterizzati da asma grave secondo la definizione dell'*American Thoracic Society/European Respiratory Society* (la quale include pazienti con asma refrattario e quelli in cui il trattamento delle comorbidità, come la malattia dei seni paranasali, rimane incompleta) (34,47,55), e da una CRSwNP più aggressiva, ovvero con maggiore probabilità di recidiva dopo l'intervento chirurgico (33,34,90).

L'analisi istologica classica permette di indentificare le principali cellule infiammatorie (come eosinofili e neutrofili) associate alla recidiva di CRSwNP (17,91–93). Recentemente si è posta l'attenzione sul valore del prelievo ematico e nel dosaggio delle cellule infiammatorie per far luce sulla fisiopatologia di CRSwNP e per predire il decorso della malattia. Utilizzando metodi minimamente invasivi (come il prelievo di sangue), parametri citologici convenzionali potrebbero rendere più facile: (i) fornire ai pazienti informazioni appropriate prima e dopo l'operazione; (ii) adottare protocolli di follow-up razionale; e (iii) somministrare una terapia medica post-operatoria dedicata ai pazienti con un maggiore rischio di recidiva (16,91,94,95). È stata riportata un'associazione diretta tra il tasso di recidiva di CRSwNP e il numero di eosinofili e basofili ematici. Nel 2017 il nostro gruppo di ricerca clinica ha preliminarmente cercato di: (i) indentificare i più adeguati cut-off con significato prognostico, di eosinofili e basofili ematici preoperatori (sia in valore assoluto che percentuale) in caso di CRSwNP refrattaria dopo la chirurgia; e (ii) distinguere questi cut-off prognostici di recidiva nei pazienti con CRSwNP eosinofila istologicamente diagnosticata rispetto quella non eosinofila (15).

Nel 2004, Hartnell et al. (96) hanno studiato il meccanismo di reclutamento dei basofili dal sangue ai tessuti in estratti di polipi nasali umani. Dato il crescente interesse nel ruolo dei basofili nella CRSwNP, è stato studiato il valore prognostico

del rapporto basofili/linfociti ematici in una ampia casistica di CRSwNP; il bBLR (blood basophil/lymphocyte ratio) era significativamente più alto nei pazienti in cui la malattia recidivava rispetto a quelli in cui questo non avveniva (27). Nel 2017, è stato svolto uno studio retrospettivo su 334 pazienti con CRSwNP, con il quale si è voluto confrontare il rapporto eosinofili/basofili ematici pre-operatori in diversi endotipi rispetto ai controlli (69 casi) (26). Il bEBR medio era significativamente più alto nel gruppo con CRSwNP rispetto ai controlli nei quali non vi era nessuna evidenza di disordini infiammatori nasali, paranasali o sistemici. Inoltre, il bEBR era significativamente maggiore nel sottogruppo di CRSwNP con allergia, asma e AERD.

Attualmente non si conoscono biomarcatori in grado di predire efficacemente la recidiva dei polipi nasali nei pazienti sottoposti a ESS. Lo scopo principale di questo studio è stato di studiare il ruolo di basofili, bBLR e bEBR ematici, come predittori di recidiva di poliposi rinosinusale dopo ESS nei pazienti con AERD. Lo scopo secondario è stato di comparare queste variabili legate ai basofili dei pazienti AERD (gruppo di studio) con quelli di un gruppo di controllo composto da 95 casi di CRSwNP non-eosinofila all'istologia.

4. MATERIALI E METODI

4.1 Pazienti

Questo studio retrospettivo è stato condotto in accordo con i principi della Dichiarazione di Helsinki. Tutti i pazienti hanno firmato un dettagliato consenso informato e hanno dato il loro permesso scritto alla pubblicazione dei dati clinici in forma anonima. I dati sono stati esaminati in accordo con le leggi italiane sulla privacy e i dati sensibili, e con il regolamento interno della sezione di Otorinolaringoiatria dell'Università di Padova. Inoltre, tutti i pazienti arruolati hanno firmato un modulo nel quale hanno dato il consenso a "l'uso dei loro dati clinici per la ricerca nei campi medici, biomedici ed epidemiologici, anche in vista di essere richiamati in futuro per follow-up se necessario".

Lo studio ha analizzato retrospettivamente un gruppo di 39 adulti sottoposti a chirurgia per CRSwNP con AERD presso la Sezione di Otorinolaringoiatria dell'Università di Padova dal 2009 al 2022. Il gruppo di controllo invece, era composto da 95 pazienti con CRSwNP istologicamente non-eosinofila che erano stati sottoposti a chirurgia dalla stessa equipe nel medesimo periodo. I criteri di esclusione dallo studio sono stati: mancanza di dati sui basofili preoperatori, diagnosi di malattia infiammatoria sistemica o malattia autoimmune, condizione infettiva acuta o cronica oltre la rinosinusite; presenza di una neoplasia; disturbi ematologici; storia di uso cronico di corticosteroidi sistemici; malattia renale cronica. I pazienti nei quali la CRSwNP aveva già recidivato prima del prelievo ematico postoperatorio, sono stati esclusi in quanto la loro condizione poteva avere influenzato il loro valori di eosinofili, basofili e linfociti.

Le informazioni sulla sensibilità all'acido acetilsalicilico o ad altri antinfiammatori non steroidei (FANS) sono state ricavate dalla storia clinica, registrata negli archivi elettronici dell'Ospedale Universitario di Padova (Galileo). Il numero e le percentuali delle cellule infiammatorie circolanti preoperatorie sono stati ottenuti per ogni paziente. Le analisi laboratoristiche necessarie sono state svolte almeno tre mesi dopo l'interruzione di corticosteroidi orali e almeno un

mese dopo l'interruzione di quelli per via topica nasale; i campioni sono stati processati tutti dallo stesso laboratorio (Servizio di Medicina di Laboratorio, Ospedale dell'Università di Padova), certificato secondo lo standard ISO 15189. Sono state determinate le IgE totali e specifiche per *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae*, polline di betulla, parietaria, erbe miste, peli di cane e gatto, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus* e ambrosia comune. La diagnosi di asma è stata confermata in accordo con la definizione del *Global Initiative on Asthma* (97). Il processo di reclutamento è riassunto nella Figura 8.

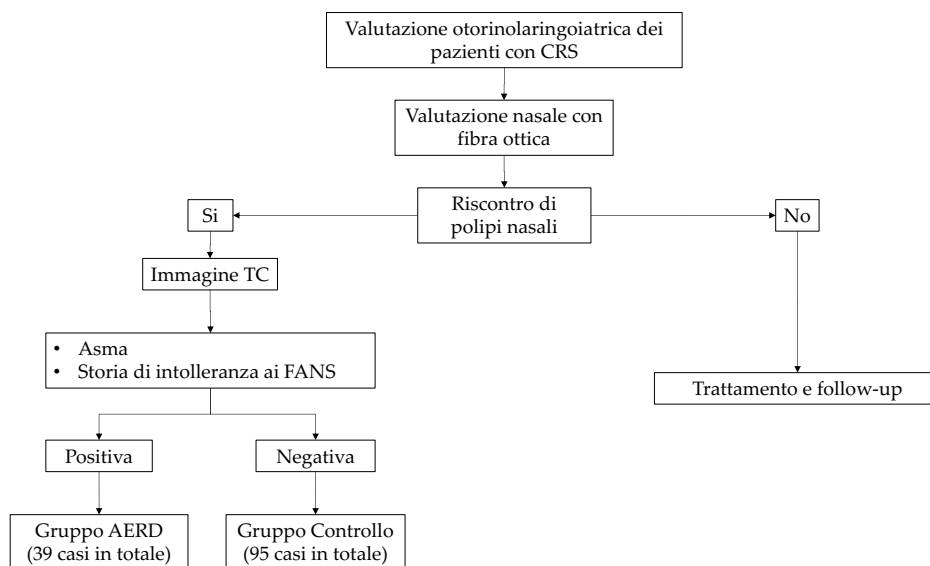


Figura 8 - Processo di reclutamento dei pazienti con CRS arruolati nello studio.

Dopo ESS, i campioni di tessuto sono stati colorati con ematossilina ed eosina per determinare il numero di eosinofili, esaminando 5 campi ad alto ingrandimento (HPF) selezionati per ogni campione e riportando il numero medio di eosinofili. L'istotipo eosinofilo corrisponde a un punteggio medio di ≥ 10 eosinofili/HPF (7). I pazienti con un conteggio medio di eosinofili < 10 sono stati considerati istologicamente non-eosinofili (gruppo di controllo di questo studio).

Tutti i pazienti sono stati trattati dopo l'intervento con irrigazioni nasali con soluzione salina isotonica due volte al giorno (20ml per irrigazione), steroidi nasali (fluticasone furoato 110 μg al giorno [55 μg per narice], o mometasone furoato 200 μg al giorno [100 μg per narice]). È stata prescritta un'adeguata terapia per i

pazienti asmatici e allergici. Il follow up è stato eseguito anche mediante videorinoscopia con endoscopi rigidi a 0° o 30°, a 3, 6 e 12 mesi dopo ESS, e successivamente annualmente.

Dal punto di vista laboratoristico, per tutti i pazienti considerati nello studio, sono stati raccolti ed archiviati i dati riguardanti le seguenti variabili pre- e postoperatorie: numero dei basofili ematici (cellule x 10⁹/L), percentuale dei basofili ematici, bBLR e bEBR.

4.2 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita con SAS 9.4 per Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). I risultati sono riportati come mediana e range per le variabili quantitative e come numero e percentuale per le variabili categoriche.

L'intervallo libero da recidiva è stato misurato dal momento dell'ESS alla recidiva, o all'ultimo follow-up per i pazienti censurati.

Il ruolo prognostico per l'intervallo libero da malattia di ciascuna variabile correlata ai basofili ematici, sia per il gruppo AERD che per i controlli, è stata ottenuta con la regressione di Cox univariata. Per verificare la proporzionalità delle covariate quantitative è stato utilizzato il grafico dei residui cumulativi di Martingale contro i valori del test di covariata e di Kolmogorov basato su un campione di 1000 modelli residui simulati. I risultati sono stati espressi come *p-value* e *hazard-ratio* (HR) con un intervallo di confidenza (CI) del 95%.

Il gruppo AERD è stato confrontato con i controlli con il test di Mann-Whitney per le variabili quantitative dopo aver controllato la normalità con il test di Shapiro-Wilk e il *Q-Q plot*. Il test Chi-quadro è stato applicato per le variabili categoriche.

Un *p-value* < 0.05 è stato considerato indicativo di significatività statistica.

5. RISULTATI

Un totale di 39 pazienti con AERD (19 femmine e 20 maschi, con un'età media di 52.7 anni, range 26-81 anni) e 95 casi di controllo con CRSwNP non-eosinofila (37 femmine e 58 maschi, con età media di 51.4 anni, range 24- 80 anni) sono stati arruolati nello studio.

5.1 Analisi intergruppo (AERD vs. gruppo di controllo)

Il tasso di ricorrenza della CRWNP dopo ESS era significativamente più alto nel gruppo AERD rispetto a quello di controllo, con un HR calcolato di 5.473 (95% CI 2.753-10.881) (Tabella 1).

	Recidiva		P Value	HR (95% CI)
	No (N = 100)	Si (N = 34)		
Gruppo				
N Mancanti	0	0		
Gruppo di controllo	81 (81.0%)	14 (41.2%)	<.0001	1
Gruppo AERD	19 (19.0%)	20 (58.8%)		5.473 (2.753; 10.881)

N = numero di casi, HR = hazard ratio, CI = intervallo di confidenza.

Tabella 1 - Gruppo AERD vs controllo: analisi della recidiva di CRSwNP.

Analizzando il numero dei basofili ematici preoperatori, la mediana dei valori del gruppo AERD era significativamente maggiore del gruppo di controllo (0.03 [range 0.01 – 0.11] vs 0.03 [0.01 152 – 0.08] cellule $\times 10^9/L$, rispettivamente; p -value 0.0364) (Figura 9).

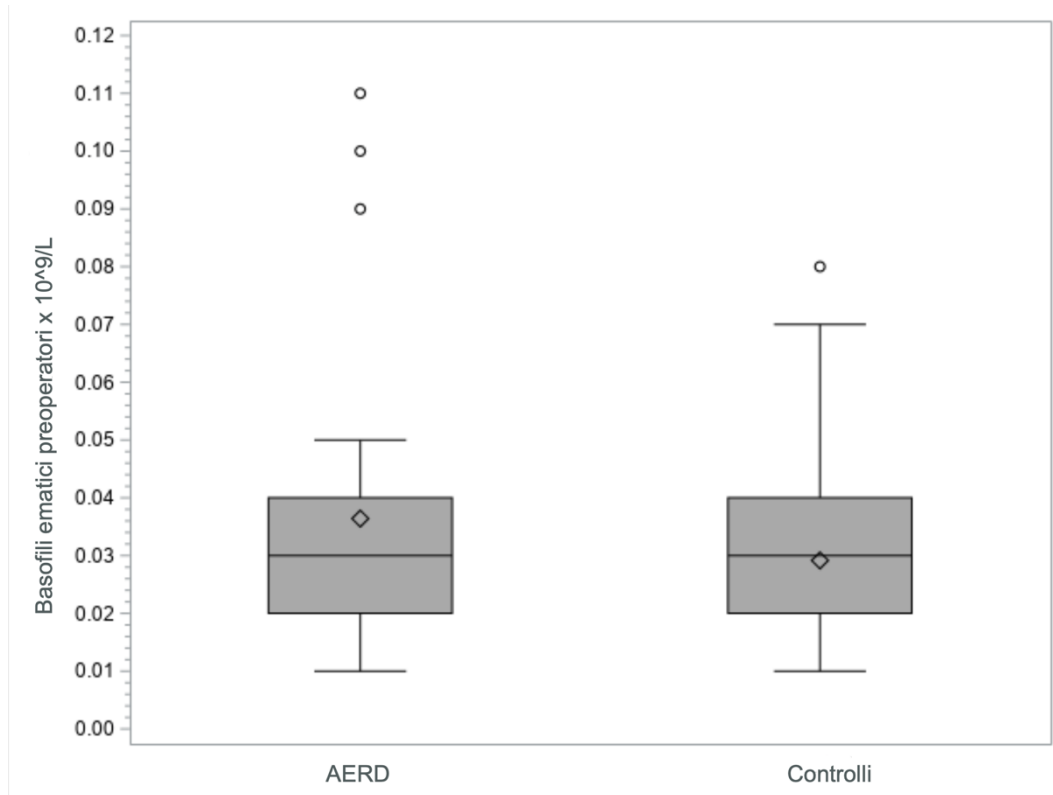


Figura 9 - Rappresentazione mediante box-plot del numero di basofili ematici preoperatori. La cima e il fondo di ogni box indicano l'intervallo interquartile; la linea che divide i box rappresenta la mediana; il diamante rappresenta la media; i whiskers che si estendono da ogni box coprono i dati compresi o uguali a 1.5 volte l'intervallo interquartile; i cerchi rappresentano i valori eccezionali.

Considerando le stesse variabili nel postoperatorio, non era presente una differenza significativa tra i due gruppi (p -value 0.4931).

Inoltre, la mediana del rapporto eosinofili/basofili preoperatorio era significativamente più alta nel gruppo AERD che in quello di controllo (11.75 [range 0.00 – 49.00] vs 7.00 [range 0.57 – 29.00], rispettivamente; p-value 0.0006). (Figura 10).

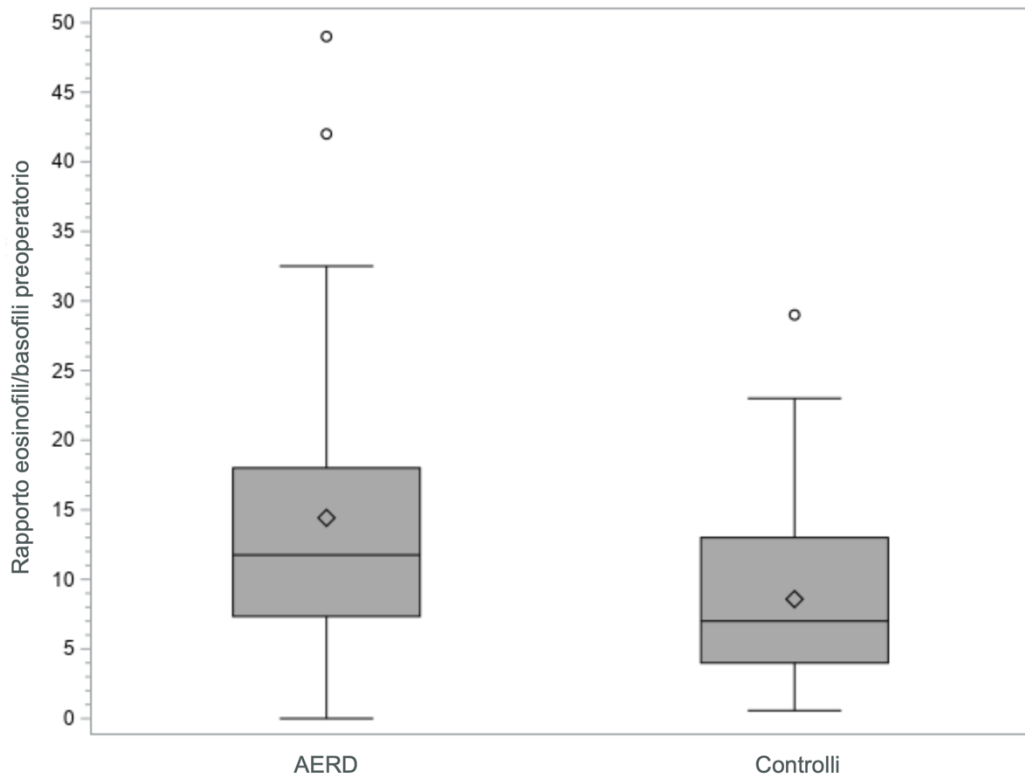


Figura 10 - Rappresentazione box-plot del rapporto eosinofili/basofili preoperatorio. La cima e il fondo di ogni box indicano l'intervallo interquartile; la linea che divide i box rappresenta la mediana; il diamante rappresenta la media; i whiskers che si estendono da ogni box coprono i dati compresi o uguali a 1.5 volte l'intervallo interquartile; i cerchi rappresentano i valori eccezionali.

Anche in questo caso, questa variabile correlata ai basofili non era significativamente differente nelle due coorti dopo la chirurgia (p-value 0.6607).

La tabella 2 riporta in dettaglio i risultati dell'analisi intergruppo (AERD vs gruppo di controllo).

	Gruppi		P Value
	AERD (N = 39)	Controlli (N = 95)	
Sesso			
N Mancanti	0	0	0.2976
Maschi	20 (51.3%)	58 (61.1%)	
Femmine	19 (48.7%)	37 (38.9%)	
Età			
N Mancanti	0	0	
Media (SD)	52.7 (13.7)	51.4 (15.5)	
Mediana (Range)	50.0 (26.0 – 81.0)	52.0 (24.0 – 80.0)	0.6842
Numero di basofili preoperatori (cellule × 10⁹/L)			
N Mancanti	0	0	
Media (SD)	0.04 (0.02)	0.03 (0.02)	
Mediana (Range)	0.03 (0.01 – 0.11)	0.03 (0.01 – 0.08)	0.0364
Percentuale dei basofili preoperatori			
N Mancanti	0	0	
Media (SD)	0.57 (0.40)	0.45 (0.28)	
Mediana (Range)	0.50 (0.10 – 1.90)	0.40 (0.10 – 1.50)	0.0640
Rapporto basofili/linfociti preoperatorio			
N Mancanti	3	20	
Media (SD)	0.02 (0.02)	0.02 (0.01)	
Mediana (Range)	0.02 (0.00 – 0.10)	0.01 (0.00 – 0.07)	0.1322
Numero di basofili postoperatori (cellule × 10⁹/L)			
N Mancanti	15	0	
Media (SD)	0.06 (0.09)	0.03 (0.02)	
Mediana (Range)	0.03 (0.00 – 0.40)	0.03 (0.00 – 0.11)	0.4931
Percentuale dei basofili postoperatori			
N Mancanti	15	0	
Media (SD)	0.83 (1.33)	0.46 (0.31)	
Mediana (Range)	0.40 (0.00 – 6.50)	0.40 (0.00 – 1.90)	0.4301
Rapporto basofili/linfociti postoperatorio			
N Mancanti	19	20	
Media (SD)	0.04 (0.09)	0.02 (0.01)	
Mediana (Range)	0.01 (0.01 – 0.39)	0.01 (0.00 – 0.07)	0.4061

	Gruppi		P Value
	AERD (N = 39)	Controlli (N = 95)	
Rapporto eosinofili/basofili preoperatorio			
N Mancanti	0	0	
Media (SD)	14.41 (10.61)	8.57 (6.07)	
Mediana (Range)	11.75 (0.00 – 49.00)	7.00 (0.57 – 29.00)	0.0006
Rapporto eosinofili/basofili postoperatorio			
N Mancanti	16	1	
Media (SD)	8.75 (7.41)	13.21 (33.31)	
Mediana (Range)	8.20 (0.00 – 28.00)	7.00 (0.50 – 316.67)	0.6607

Tabella 2 - Confronto delle variabili laboratoristiche tra AERD e controlli. N = numero di casi, SD = deviazione standard.

5.2 Analisi intragruppo

Considerando il gruppo AERD non state trovate differenze significative confrontando le variabili collegate ai basofili tra i pazienti in cui la patologia recidivava dopo ESS rispetto a quelli in cui questo non avveniva (Tabella 3).

	Recidiva		P Value	HR (95% CI)
	No (N = 19)	Yes (N = 20)		
Sesso				
N Mancanti	00 (00.0%)	00 (00.0%)		
Maschi	11 (57.9%)	09 (45.0%)	0.5093	1
Femmine	08 (42.1%)	11 (55.0%)		1.346 (0.557 ; 3.251)
Età				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	56.21 (12.52)	49.35 (14.19)	0.2768	0.982 (0.950 ; 1.015)
Mediana (Range)	52.00 (39.00 – 81.00)	47.50 (26.00 – 75.00)		
Numero di basofili preoperatori (cellule × 10⁹/L)				
N Mancanti	19 (0)	0		
Media (SD)	0.03 (0.02)	0.04 (0.02)	0.6817	39.568 (0.000 ; 1.7004x10 ⁹)
Mediana (Range)	0.03 (0.01 – 0.10)	0.04 (0.01 – 0.11)		
Percentuale dei basofili preoperatori				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	0.49 (0.29)	0.66 (0.48)	0.6398	1.259 (0.480 ; 3.304)
Mediana (Range)	0.50 (0.10 – 1.50)	0.55 (0.20 – 1.90)		
Rapporto basofili/linfociti preoperatorio				
N Mancanti	2	1		
Media (SD)	0.02 (0.01)	0.03 (0.02)	0.6469	55.564 (0.000 ; 1.6246x10 ⁹)
Mediana (Range)	0.02 (0.00 – 0.03)	0.02 (0.00 – 0.10)		

	Recidiva		P Value	HR (95% CI)
	No (N = 19)	Yes (N = 20)		
Numero di basofili postoperatori (cellule × 10⁹/L)				
N Mancanti	7	8		
Media (SD)	0.05 (0.05)	0.07 (0.11)	0.8425	0.575 (0.002 ; 135.804)
Mediana (Range)	0.03 (0.00 – 0.20)	0.03 (0.01 – 0.40)		
Percentuale dei basofili postoperatori				
N Mancanti	7	8		
Media (SD)	0.45 (0.25)	1.20 (1.83)	0.4250	1.137 (0.829 ; 1.561)
Mediana (Range)	0.45 (0.00 – 0.90)	0.40 (0.10 – 6.50)		
Rapporto basofili/linfociti postoperatorio				
N Mancanti	10	9		
Media (SD)	0.02 (0.01)	0.06 (0.11)	0.9205	1.299 (0.008 ; 221.911)
Mediana (Range)	0.01 (0.01 – 0.03)	0.02 (0.01 – 0.39)		
Rapporto eosinofili/basofili preoperatorio				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	15.12 (9.41)	13.74 (11.85)	0.8419	0.996 (0.953 ; 1.040)
Mediana (Range)	12.75 (2.40 – 32.50)	10.78 (0.00 – 49.00)		
Rapporto eosinofili/basofili postoperatorio				
N Mancanti	8	8		
Media (SD)	9.36 (8.30)	8.20 (6.82)	0.3505	0.967 (0.900 ; 1.038)
Mediana (Range)	8.20 (0.20 – 28.00)	8.75 (0.00 – 18.00)		

Tabella 3 – Analisi dell'evento recidiva di CRSwNP All'interno del Gruppo AERD. N = numero di casi, HR = hazard ratio, CI = intervallo di confidenza, SD = deviazione standard.

Inoltre, nel gruppo di controllo con CRSwNP non-eosinofila, le variabili relative ai basofili pre- e postoperatori sono risultate non predittive del tasso di recidiva dei polipi nasali (Tabella 4).

	Recidiva		P Value	HR (95% CI)
	No (N = 81)	Si (N = 14)		
Sesso				
N Mancanti	0	0		
Maschi	47 (58.0%)	11 (78.6%)		1
Femmine	34 (42.0%)	03 (21.4%)	0.1161	0.353 (0.097 ; 1.293)
Età				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	52.36 (15.20)	45.86 (16.47)	0.1445	0.973 (0.939 ; 1.009)
Mediana (Range)	55.00 (25.00 – 80.00)	43.50 (24.00 – 75.00)		
Numero di basofili preoperatori (cellule × 10⁹/L)				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	0.03 (0.02)	0.03 (0.02)	0.7505	84.067 (0.000 ; 6.133 x10 ¹³)
Mediana (Range)	0.03 (0.01 – 0.08)	0.02 (0.01 – 0.07)		
Percentuale dei basofili preoperatori				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	0.45 (0.26)	0.47 (0.38)	0.8598	1.172 (0.201 ; 6.850)
Mediana (Range)	0.40 (0.10 – 1.50)	0.30 (0.10 – 1.30)		
Rapporto basofili/linfociti preoperatorio				
N Mancanti	19	1		
Media (SD)	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.7319	1620.023 (0.000 ; 3.696 x10 ²¹)
Mediana (Range)	0.01 (0.00 – 0.07)	0.02 (0.01 – 0.04)		
Numero di basofili postoperatori (cellule × 10⁹/L)				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	0.03 (0.02)	0.03 (0.01)	0.6936	0.005 (0.000 ; 1.8669 x10 ⁹)
Mediana (Range)	0.03 (0.00 – 0.11)	0.03 (0.01 – 0.06)		

	Recidiva		P Value	HR (95% CI)
	No (N = 81)	Si (N = 14)		
Percentuale dei basofili postoperatori				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	0.47 (0.32)	0.44 (0.19)	0.6521	0.672 (0.119 ; 3.785)
Mediana (Range)	0.40 (0.00 – 1.90)	0.40 (0.20 – 0.80)		
Rapporto basofili/linfociti postoperatorio				
N Mancanti	19	1		
Media (SD)	0.02 (0.01)	0.02 (0.01)	0.7757	0.002 (0.000 ; 1.229x10 ¹⁶)
Mediana (Range)	0.01 (0.00 – 0.07)	0.02 (0.01 – 0.03)		
Rapporto eosinofili/basofili preoperatorio				
N Mancanti	0	0		
Media (SD)	8.44 (6.05)	9.36 (6.38)	0.6218	1.021 (0.940 ; 1.108)
Mediana (Range)	7.00 (0.57 – 29.00)	7.11 (1.00 – 23.00)		
Rapporto eosinofili/basofili postoperatorio				
N Missing	1	0		
Media (SD)	13.55 (36.03)	11.31 (6.46)	0.9939	1.000 (0.977 ; 1.023)
Mediana (Range)	6.71 (0.50 – 316.67)	11.00 (0.50 – 21.50)		

Tabella 4 - Analisi dell'evento recidiva di CRSwNP all'interno del gruppo di controllo. N = numero di casi, HR = hazard ratio, CI = intervallo di confidenza, SD = deviazione standard.

6. DISCUSSIONE

Si sta manifestando certamente un crescente interesse nello studio del ruolo fisiopatologico dei basofili nella CRSwNP (65,72,98). I basofili sono i granulociti più rari, ma recenti studi hanno dimostrato che hanno un ruolo cruciale e non ridondante nel sistema immunitario. Queste cellule rilasciano IL-4, sia sotto stimolo delle IgE che senza di esse, in risposta a una grande varietà di stimoli. È ampiamente accettato che IL-4 abbia un ruolo importante nel promuovere la differenziazione delle cellule T CD4+ naïve in cellule Th2. IL-4 prodotta dai basofili aumenta l'espressione di IL-5, IL-13 IL-33 e interferone- γ da parte delle cellule innate linfoidi di tipo 2, portando all'accumulo di eosinofili (9,15,23,61,99–101).

È stato evidenziato i basofili possono promuovere la differenziazione Th2, o l'attivazione delle cellule Th2, quando sono esposte ad apteni e antigeni proteici. È importante sottolineare che i basofili sono anche in grado di promuovere la differenziazione Th2 in presenza delle cellule dendritiche (74). Le cellule Treg umane non sopprimono ma bensì attivano i basofili e promuovono la risposta Th2 attraverso dei meccanismi IL-3 e STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5) dipendenti (102,103). Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per comprendere in modo completo la funzione dei basofili e il loro ruolo nella risposta immunitaria.

I pazienti con CRSwNP che presentano un'inflammatione di tipo Th2 hanno spesso una patologia più severa e con maggior probabilità di recidiva. Quando la CRSwNP presenta come comorbidità l'asma, è presente una più severa sintomatologia a livello sinusale, una ridotta qualità di vita ed è più difficile da gestire sia dal punto di vista medico che da quello chirurgico. L'AERD si configura come un endotipo di questa combinazione; infatti, gli individui con questa patologia tendono ad avere una forma più grave di malattia e sono più resistenti al trattamento (33). L'AERD è caratterizzato da alti livelli delle cellule dell'immunità innata di tipo 2 come mastociti, eosinofili e basofili, con un significativo aumento dei mediatori tipici di questa infiammazione come le interleuchine 4, 5 e 13 e le eotassine 1 e 3 (32,53,104,105). In accordo con questo studio, la recidiva dopo chirurgia si è verificata in maniera significativamente più frequente nei pazienti con

AERD rispetto ai controlli. Questo dato evidenzia come, nel primo gruppo, la patologia abbia un decorso più sfavorevole.

Riguardo i pazienti con AERD, i basofili sono risultati maggiormente attivati all'interno dei polipi (79,91). La procedura di ESS permette la rimozione dei polipi e della mucosa polipoide, del tessuto infiammatorio, e la riduzione del carico di antigeni che attivano l'infiammazione (106). In accordo con il meccanismo biologico sopracitato, alla chirurgia endoscopica dei seni paranasali potrebbe corrispondere una riduzione del numero di eosinofili ematici nella CRSwNP (28). In questo studio, il valore dei basofili ematici preoperatori e il bEBR si sono rivelati significativamente più elevati nei pazienti con AERD rispetto ai controlli con CRSwNP istologicamente non eosinofila. Dopo ESS, questi due valori non erano più significativamente differenti tra i due gruppi; questo risultato potrebbe essere spiegato da una riduzione del carico infiammatorio dovuto alla rimozione dei polipi ma anche al numero ridotto di casi disponibili. Nessun'altra differenza riguardo i valori ematici è emersa dalle analisi intergruppo e intragruppo, sia nei valori preoperatori che postoperatori. Inoltre, nel gruppo AERD è stata riscontrata una grande differenza interindividuale nel numero di basofili ematici preoperatori. Questo dato potrebbe essere dovuto al fatto che l'infiammazione di tipo Th2 può essere attivata da numerosi mediatori (74), quindi i basofili potrebbero essere elevati solo in alcuni casi. Ulteriori studi con coorti più ampie sono necessari per dare una spiegazione chiara a questo dato.

L'interleuchina 4 prodotta dai basofili aumenta l'espressione di IL-5, IL-9 e IL-13 da parte delle cellule innate linfoidi di tipo 2, e anche della chemochina CCL11 (meglio conosciuta come proteina chemotattica degli eosinofili, o eotassina-1), portando a un accumulo di eosinofili (73,107). Le nuove classi di farmaci biologici in grado di bloccare la produzione o l'azione delle citochine Th2 correlate (IL-4, IL-5, IL-13) stanno portando a un importante progresso verso una nuova strategia terapeutica nella CRSwNP e i suoi endotipi (105). La risposta a questi farmaci biologici, prescritti esclusivamente per la poliposi legata a Th2, potrebbe essere monitorata in base alla clinica, ma anche misurando il numero di eosinofili e basofili ematici (108). In accordo con i risultati di questo studio, non è stata notata alcuna differenza nei basofili ematici postoperatori nei due gruppi, mentre la

differenza era significativa nel preoperatorio. Questo potrebbe supportare l'ipotesi di un possibile ruolo della chirurgia nella riduzione del carico infiammatorio, anche se non era nello scopo di questo studio. Inoltre, un possibile ruolo sinergico della chirurgia abbinata alla terapia biologica dovrebbe essere investigato in studi futuri.

Le principali debolezze di questo studio sono legate al suo disegno retrospettivo e al limitato numero di pazienti, in particolare a quelli con la disponibilità dei dati laboratoristici postoperatori. Il principale punto di forza è legato all'omogeneità intra-gruppo dei pazienti in quanto: (i) le analisi istopatologiche sono state eseguite da un gruppo di patologi esperti nel distretto testa-collo, (ii) l'ESS è stata svolta dalla stesso gruppo di chirurghi, (iii) il follow-up endoscopico postoperatorio è stato eseguito dallo stesso gruppo; (iv) la recidiva di eCRSwNP è sempre stata confermata endoscopicamente; e, ultimo ma non per importanza (v) tutti gli esami ematici sono stati svolti dalla stesso laboratorio per un lungo tempo di follow-up postoperatorio.

7. CONCLUSIONI

Prima della procedura chirurgica, nei pazienti con CRSwNP, il numero di basofili ematici e il bEBR erano significativamente più alti nei pazienti affetti da AERD rispetto a quelli che non lo erano. AERD era associato a una maggior rischio di recidiva dei polipi nasali. In tutti pazienti con CRSwNP, la rimozione dei polipi attraverso la chirurgia endoscopica dei seni paranasali potrebbe contribuire alla riduzione dell'infiammazione e dell'attivazione di basofili ed eosinofili. Lo stesso risultato si ottiene con la terapia biologica. Un possibile effetto sinergico della chirurgia con la terapia biologica dovrebbe essere ulteriormente studiato.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Orlandi RR, Kingdom TT, Smith TL, Bleier B, DeConde A, Luong AU, et al. International consensus statement on allergy and rhinology: rhinosinusitis 2021. *International Forum of Allergy & Rhinology*. 2021;11(3):213–739.
2. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern R, Reitsma S, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020. *Rhinology*. 20 febbraio 2020;58(Suppl S29):1–464.
3. Akdis CA, Bachert C, Cingi C, Dykewicz MS, Hellings PW, Naclerio RM, et al. Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: A PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. giugno 2013;131(6):1479–90.
4. Watkinson JC, Clark RW. *Scott-Brown's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. 8th edition. Vol. 1. CRC Press Taylor & Francis Group; 2018.
5. DeConde AS, Soler ZM. Chronic rhinosinusitis: Epidemiology and burden of disease. *Am J Rhinol Allergy*. 2016;30(2):134–9.
6. Stevens WW, Peters AT, Suh L, Norton JE, Kern RC, Conley DB, et al. A retrospective, cross-sectional study reveals that women with CRSwNP have more severe disease than men. *Immun Inflamm Dis*. marzo 2015;3(1):14–22.
7. Brescia G, Contro G, Ruaro A, Barion U, Frigo AC, Sfriso P, et al. Sex and age-related differences in chronic rhinosinusitis with nasal polyps electing ESS. *Am J Otolaryngol*. 2022;43(2):103342.
8. Kato A, Peters AT, Stevens WW, Schleimer RP, Tan BK, Kern RC. Endotypes

- of chronic rhinosinusitis: Relationships to disease phenotypes, pathogenesis, clinical findings, and treatment approaches. *Allergy*. marzo 2022;77(3):812–26.
9. Dennis SK, Lam K, Luong A. A Review of Classification Schemes for Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis Endotypes. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. ottobre 2016;1(5):130–4.
 10. Hopkins C. Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *New England Journal of Medicine*. 4 luglio 2019;381(1):55–63.
 11. Stevens WW, Peters AT, Tan BK, Klingler AI, Poposki JA, Hulse KE, et al. Associations Between Inflammatory Endotypes and Clinical Presentations in Chronic Rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(8):2812-2820.e3.
 12. Kim DW, Cho SH. Emerging Endotypes of Chronic Rhinosinusitis and Its Application to Precision Medicine. *Allergy Asthma Immunol Res*. luglio 2017;9(4):299–306.
 13. Robinson D, Humbert M, Buhl R, Cruz AA, Inoue H, Korom S, et al. Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. *Clin Exp Allergy*. febbraio 2017;47(2):161–75.
 14. Payne SC, Early SB, Huyett P, Han JK, Borish L, Steinke JW. Evidence for distinct histologic profile of nasal polyps with and without eosinophilia. *Laryngoscope*. ottobre 2011;121(10):2262–7.
 15. Brescia G, Barion U, Zanotti C, Giacomelli L, Martini A, Marioni G. The prognostic role of serum eosinophil and basophil levels in sinonasal polyposis. *Int Forum Allergy Rhinol*. marzo 2017;7(3):261–7.

16. Brescia G, Sfriso P, Marioni G. Role of blood inflammatory cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Acta Otolaryngol.* gennaio 2019;139(1):48–51.
17. Brescia G, Alessandrini L, Parrino D, Franz L, Barion U, Marioni G. Emerging Contribution of Histopathology to Our Understanding of Chronic Rhinosinusitis Endotypes: Tissue Eosinophil Count and Aggregates. *Am J Rhinol Allergy.* gennaio 2020;34(1):122–6.
18. Radabaugh JP, Han JK, Moebus RG, Somers E, Lam K. Analysis of Histopathological Endotyping for Chronic Rhinosinusitis Phenotypes Based on Comorbid Asthma and Allergic Rhinitis. *American journal of rhinology & allergy.* settembre 2019;33(5).
19. Lin H, Li Z, Lin D, Zheng C, Zhang W. Role of NLRP3 Inflammasome in Eosinophilic and Non-eosinophilic Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Inflammation.* dicembre 2016;39(6):2045–52.
20. Drake VE, Rafaels N, Kim J. Peripheral blood eosinophilia correlates with hyperplastic nasal polyp growth. *Int Forum Allergy Rhinol.* settembre 2016;6(9):926–34.
21. Dupuch V, Tridon A, Ughetto S, Walrand S, Bonnet B, Dubray C, et al. Activation state of circulating eosinophils in nasal polyposis. *Int Forum Allergy Rhinol.* maggio 2018;8(5):584–91.
22. Brescia G, Parrino D, Zanotti C, Tealdo G, Barion U, Sfriso P, et al. Blood Eosinophil and Basophil Values Before and After Surgery for Eosinophilic-type Sinonasal Polyps. *Am J Rhinol&Allergy.* maggio 2018;32(3):194–201.
23. Brescia G, Contro G, Giacomelli L, Barion U, Frigo AC, Marioni G. Blood

- Eosinophilic and Basophilic Trends in Recurring and Non-Recurring Eosinophilic Rhinosinusitis With Nasal Polyps. *Am J Rhinol Allergy*. maggio 2021;35(3):296–301.
24. Karasuyama H, Miyake K, Yoshikawa S, Yamanishi Y. Multifaceted roles of basophils in health and disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. agosto 2018;142(2):370–80.
25. Tokunaga T, Sakashita M, Haruna T, Asaka D, Takeno S, Ikeda H, et al. Novel scoring system and algorithm for classifying chronic rhinosinusitis: the JESREC Study. *Allergy*. agosto 2015;70(8):995–1003.
26. Brescia G, Barion U, Zanotti C, Cinetto F, Giacomelli L, Martini A, et al. Blood eosinophil-to-basophil ratio in patients with sinonasal polyps: Does it have a clinical role? *Ann Allergy Asthma Immunol*. settembre 2017;119(3):223–6.
27. Brescia G, Pedruzzi B, Barion U, Cinetto F, Giacomelli L, Martini A, et al. Are neutrophil-, eosinophil-, and basophil-to-lymphocyte ratios useful markers for pinpointing patients at higher risk of recurrent sinonasal polyps? *Am J Otolaryngol*. 2016;37(4):339–45.
28. Brescia G, Barion U, Zanotti C, Parrino D, Marioni G. Pre- and postoperative blood neutrophil-to-lymphocyte and eosinophil-to-lymphocyte ratios in patients with sinonasal polyps: A preliminary investigation. *Allergy Asthma Proc*. 1 settembre 2017;38(5):64–9.
29. Kowalski ML, Agache I, Bavbek S, Bakirtas A, Blanca M, Bochenek G, et al. Diagnosis and management of NSAID-Exacerbated Respiratory Disease (NERD) - an EAACI position paper. *Allergy*. gennaio 2019;74(1):28–39.
30. Kowalski ML, Asero R, Bavbek S, Blanca M, Blanca-Lopez N, Bochenek G, et

- al. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. ottobre 2013;68(10):1219–32.
31. White AA, Stevenson DD. Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *New England Journal of Medicine*. 13 settembre 2018;379(11):1060–70.
32. Stevens WW, Schleimer RP. Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease as an Endotype of Chronic Rhinosinusitis. *Immunol Allergy Clin North Am*. novembre 2016;36(4):669–80.
33. Laidlaw TM, Mullol J, Woessner KM, Amin N, Mannent LP. Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps and Asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. marzo 2021;9(3):1133–41.
34. Stevens WW, Peters AT, Hirsch AG, Nordberg CM, Schwartz BS, Mercer DG, et al. Clinical Characteristics of Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps, Asthma, and Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(4):1061-1070.e3.
35. Rajan JP, Wineinger NE, Stevenson DD, White AA. Prevalence of aspirin-exacerbated respiratory disease among asthmatic patients: A meta-analysis of the literature. *J Allergy Clin Immunol*. marzo 2015;135(3):676-681.e1.
36. Morales DR, Guthrie B, Lipworth BJ, Jackson C, Donnan PT, Santiago VH. NSAID-exacerbated respiratory disease: a meta-analysis evaluating prevalence, mean provocative dose of aspirin and increased asthma morbidity. *Allergy*. luglio 2015;70(7):828–35.
37. Park SM, Park JS, Park HS, Park CS. Unraveling the genetic basis of aspirin hypersensitivity in asthma beyond arachidonate pathways. *Allergy Asthma*

Immunol Res. settembre 2013;5(5):258–76.

38. Sakalar EG, Muluk NB, Kar M, Cingi C. Aspirin-exacerbated respiratory disease and current treatment modalities. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* marzo 2017;274(3):1291–300.
39. Douglas JE, Bosso JV. What's New in the Diagnosis and Treatment of Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease: A Brief Review. *Am J Rhinol&Allergy.* marzo 2023;37(2):198–206.
40. Dunn NM, Katial RK. Chronic Rhinosinusitis and Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* agosto 2016;36(3):503–14.
41. Hybar H, Saki N, Maleknia M, Moghaddasi M, Bordbar A, Naghavi M. Aspirin exacerbated respiratory disease (AERD): molecular and cellular diagnostic & prognostic approaches. *Mol Biol Rep.* marzo 2021;48(3):2703–11.
42. Walters BK, Hagan JB, Divekar RD, Willson TJ, Stokken JK, Pinheiro-Neto CD, et al. Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease and the Unified Airway: A Contemporary Review. *Otolaryngologic Clinics of North America.* 1 febbraio 2023;56(1):107–24.
43. Lyly A, Laidlaw TM, Lundberg M. Pathomechanisms of AERD—Recent Advances. *Front Allergy.* 10 settembre 2021;2:734733.
44. Taniguchi M, Mitsui C, Hayashi H, Ono E, Kajiwara K, Mita H, et al. Aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD): Current understanding of AERD. *Allergology International.* luglio 2019;68(3):289–95.
45. Gudziol V, Michel M, Sonnefeld C, Koschel D, Hummel T. Olfaction and

- sinonasal symptoms in patients with CRSwNP and AERD and without AERD: a cross-sectional and longitudinal study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* marzo 2017;274(3):1487–93.
46. Nizankowska-Mogilnicka E, Bochenek G, Mastalerz L, Świerczyńska M, Picado C, Scadding G, et al. EAACI/GA2LEN guideline: aspirin provocation tests for diagnosis of aspirin hypersensitivity. *Allergy.* ottobre 2007;62(10):1111–8.
47. Mascia K, Borish L, Patrie J, Hunt J, Phillips CD, Steinke JW. Chronic hyperplastic eosinophilic sinusitis as a predictor of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology.* 1 giugno 2005;94(6):652–7.
48. Perić A, Gaćeša D, Cvetković G, Vojvodić D. Inflammatory mediators in nasal secretions of patients with nasal polyposis with and without aspirin sensitivity. *Immunity Inflamm & Disease.* febbraio 2023;11(2).
49. Pezato R, Świerczyńska-Krępa M, Nizankowska-Mogilnicka E, Holtappels G, De Ruyck N, Sanak M, et al. Systemic expression of inflammatory mediators in patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps with and without Aspirin Exacerbated Respiratory Disease. *Cytokine.* gennaio 2016;77:157–67.
50. Badrani JH, Doherty TA. Cellular interactions in aspirin-exacerbated respiratory disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 1 febbraio 2021;21(1):65–70.
51. Kanaoka Y, Boyce JA. Cysteinyl leukotrienes and their receptors; emerging concepts. *Allergy Asthma Immunol Res.* luglio 2014;6(4):288–95.
52. Eastman JJ, Cavagnero KJ, Deconde AS, Kim AS, Karta MR, Broide DH, et al.

Group 2 innate lymphoid cells are recruited to the nasal mucosa in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. luglio 2017;140(1):101-108.e3.

53. Sehanobish E, Asad M, Jerschow E. New concepts for the pathogenesis and management of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 1 febbraio 2022;22(1):42–8.
54. Levy JM, Rudmik L, Peters AT, Wise SK, Rotenberg BW, Smith TL. Contemporary management of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis in aspirin-exacerbated respiratory disease: an evidence-based review with recommendations. *Int Forum Allergy Rhinol*. dicembre 2016;6(12):1273–83.
55. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J*. febbraio 2014;43(2):343–73.
56. Lee DKC, Haggart K, Robb FM, Lipworth BJ. Montelukast protects against nasal lysine-aspirin challenge in patients with aspirin-induced asthma. *Eur Respir J*. agosto 2004;24(2):226–30.
57. Ta V, White AA. Survey-Defined Patient Experiences With Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(5):711–8.
58. Adelman J, McLean C, Shaigany K, Krouse JH. The Role of Surgery in Management of Samter’s Triad: A Systematic Review. *Otolaryngol Head Neck Surg*. agosto 2016;155(2):220–37.
59. Kane KJ. The early history and development of functional endoscopic sinus surgery. *The Journal of Laryngology & Otology*. gennaio 2020;134(1):8–13.

60. Świerczyńska-Krępa M, Sanak M, Bochenek G, Stręk P, Ćmiel A, Gielicz A, et al. Aspirin desensitization in patients with aspirin-induced and aspirin-tolerant asthma: A double-blind study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. ottobre 2014;134(4):883–90.
61. Peters MC, Wenzel SE. Intersection of biology and therapeutics: type 2 targeted therapeutics for adult asthma. *Lancet*. 1 febbraio 2020;395(10221):371–83.
62. Licari A, Castagnoli R, De Filippo M, Foiadelli T, Tosca MA, Marseglia GL, et al. Current and emerging biologic therapies for allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2 giugno 2020;20(6):609–19.
63. Bachert C, Han JK, Desrosiers M, Hellings PW, Amin N, Lee SE, et al. Efficacy and safety of dupilumab in patients with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps (LIBERTY NP SINUS-24 and LIBERTY NP SINUS-52): results from two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase 3 trials. *The Lancet*. novembre 2019;394(10209):1638–50.
64. Laidlaw TM, Mullol J, Fan C, Zhang D, Amin N, Khan A, et al. Dupilumab improves nasal polyp burden and asthma control in patients with CRSwNP and AERD. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. settembre 2019;7(7):2462-2465.e1.
65. Karasuyama H, Shibata S, Yoshikawa S, Miyake K. Basophils, a neglected minority in the immune system, have come into the limelight at last. *Int Immunol*. 25 novembre 2021;33(12):809–13.
66. Katz SI. Recruitment of basophils in delayed hypersensitivity reactions. *J Invest Dermatol*. luglio 1978;71(1):70–5.

67. Piccinni MP, Macchia D, Parronchi P, Giudizi MG, Bani D, Alterini R, et al. Human bone marrow non-B, non-T cells produce interleukin 4 in response to cross-linkage of Fc epsilon and Fc gamma receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 ottobre 1991;88(19):8656–60.
68. Görgens A, Radtke S, Möllmann M, Cross M, Dürig J, Horn PA, et al. Revision of the human hematopoietic tree: granulocyte subtypes derive from distinct hematopoietic lineages. *Cell Rep*. 30 maggio 2013;3(5):1539–52.
69. Kabashima K, Nakashima C, Nonomura Y, Otsuka A, Cardamone C, Parente R, et al. Biomarkers for evaluation of mast cell and basophil activation. *Immunol Rev*. marzo 2018;282(1):114–20.
70. Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R. A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol*. marzo 2008;9(3):310–8.
71. Miyake K, Shiozawa N, Nagao T, Yoshikawa S, Yamanishi Y, Karasuyama H. Trogocytosis of peptide-MHC class II complexes from dendritic cells confers antigen-presenting ability on basophils. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 31 gennaio 2017;114(5):1111–6.
72. Miyake K, Ito J, Karasuyama H. Role of Basophils in a Broad Spectrum of Disorders. *Front Immunol*. 2022;13:902494.
73. Otsuka A, Nonomura Y, Kabashima K. Roles of basophils and mast cells in cutaneous inflammation. *Semin Immunopathol*. settembre 2016;38(5):563–70.
74. Otsuka A, Kabashima K. Contribution of Basophils to Cutaneous Immune Reactions and Th2-Mediated Allergic Responses. *Front Immunol*.

2015;6:393.

75. Schroeder JT. Basophils: emerging roles in the pathogenesis of allergic disease. *Immunol Rev.* luglio 2011;242(1):144–60.
76. Vadas P, Perelman B, Liss G. Platelet-activating factor, histamine, and tryptase levels in human anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.* gennaio 2013;131(1):144–9.
77. Stevens WW, Staudacher AG, Hulse KE, Poposki JA, Kato A, Carter RG, et al. Studies of the role of basophils in aspirin-exacerbated respiratory disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol.* agosto 2021;148(2):439-449.e5.
78. Kepley CL, McFeeley PJ, Oliver JM, Lipscomb MF. Immunohistochemical detection of human basophils in postmortem cases of fatal asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 settembre 2001;164(6):1053–8.
79. Chihiru M, Keiichi K, Emiko O, Kentaro W, Hiroaki H, Y K, et al. Analysis of basophil activation in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *The Journal of allergy and clinical immunology.* ottobre 2017;140(4).
80. Cahill KN, Bensko JC, Boyce JA, Laidlaw TM. Prostaglandin D₂: a dominant mediator of aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* gennaio 2015;135(1):245–52.
81. Stachler RJ. Comorbidities of asthma and the unified airway. *International forum of allergy & rhinology.* settembre 2015;5 Suppl 1.
82. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, Hastan D, Tomassen P, Keil T, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. *Allergy.* gennaio 2012;67(1):91–8.

83. Pearlman AN, Chandra RK, Chang D, Conley DB, Tripathi-Peters A, Grammer LC, et al. Relationships between severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis, asthma, and atopy. *Am J Rhinol Allergy*. 2009;23(2):145–8.
84. Lin DC, Chandra RK, Tan BK, Zirkle W, Conley DB, Grammer LC, et al. Association between severity of asthma and degree of chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25(4):205–8.
85. Mascia K, Haselkorn T, Deniz YM, Miller DP, Bleecker ER, Borish L, et al. Aspirin sensitivity and severity of asthma: evidence for irreversible airway obstruction in patients with severe or difficult-to-treat asthma. *J Allergy Clin Immunol*. novembre 2005;116(5):970–5.
86. Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Gaffey TA, Tarara JE, et al. Features of airway remodeling and eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis: is the histopathology similar to asthma? *J Allergy Clin Immunol*. novembre 2003;112(5):877–82.
87. Chanez P, Vignola AM, Vic P, Guddo F, Bonsignore G, Godard P, et al. Comparison between nasal and bronchial inflammation in asthmatic and control subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. febbraio 1999;159(2):588–95.
88. Campbell AP, Phillips KM, Hoehle LP, Gaudin RA, Caradonna DS, Gray ST, et al. Association between Asthma and Chronic Rhinosinusitis Severity in the Context of Asthma Control. *Otolaryngol Head Neck Surg*. febbraio 2018;158(2):386–90.
89. Benninger MS, Sindwani R, Holy CE, Hopkins C. Impact of medically recalcitrant chronic rhinosinusitis on incidence of asthma. *Int Forum Allergy Rhinol*. febbraio 2016;6(2):124–9.

90. Young J, Frenkiel S, Tewfik MA, Mouadeb DA. Long-term outcome analysis of endoscopic sinus surgery for chronic sinusitis. *Am J Rhinol.* 2007;21(6):743–7.
91. Gevaert P, Han JK, Smith SG, Sousa AR, Howarth PH, Yancey SW, et al. The roles of eosinophils and interleukin-5 in the pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Int Forum Allergy Rhinol.* novembre 2022;12(11):1413–23.
92. Li X, Wang Z, Chang L, Chen X, Yang L, Lai X, et al. $\gamma\delta$ T cells contribute to type 2 inflammatory profiles in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin Sci (Lond).* 29 novembre 2019;133(22):2301–15.
93. Zhang F, Xu Z, He X, Sun Y, Zhao C, Zhang J. Increased B Cell-Activating Factor Expression Is Associated with Postoperative Recurrence of Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Mediators Inflamm.* 2022;2022:7338692.
94. Bai J, Huang JH, Price CPE, Schauer JM, Suh LA, Harmon R, et al. Prognostic factors for polyp recurrence in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 1 agosto 2022;150(2):352-361.e7.
95. Guo M, Alasousi F, Okpaleke C, Habib AR, Javer A. Prognosis of Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps Using Preoperative Eosinophil/Basophil Levels and Treatment Compliance. *Am J Rhinol Allergy.* settembre 2018;32(5):440–6.
96. Hartnell A, Heinemann A, Conroy DM, Wait R, Sturm GJ, Caversaccio M, et al. Identification of selective basophil chemoattractants in human nasal polyps as insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor-2. *J Immunol.* 15 novembre 2004;173(10):6448–57.

97. Horak F, Doberer D, Eber E, Horak E, Pohl W, Riedler J, et al. Diagnosis and management of asthma - Statement on the 2015 GINA Guidelines. *Wien Klin Wochenschr.* agosto 2016;128(15–16):541–54.
98. Karasuyama H, Mukai K, Obata K, Tsujimura Y, Wada T. Nonredundant roles of basophils in immunity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:45–69.
99. Mahdavinia M, Carter RG, Ocampo CJ, Stevens W, Kato A, Tan BK, et al. Basophils are elevated in nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis without aspirin sensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* giugno 2014;133(6):1759–63.
100. Kagoya R, Kondo K, Baba S, Toma-Hirano M, Nishijima H, Suzukawa K, et al. Correlation of basophil infiltration in nasal polyps with the severity of chronic rhinosinusitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* gennaio 2015;114(1):30–5.
101. Li Z, Zeng M, Deng Y, Zhao J, Zhou X, Trudeau JB, et al. 15-Lipoxygenase 1 in nasal polyps promotes CCL26/eotaxin 3 expression through extracellular signal-regulated kinase activation. *J Allergy Clin Immunol.* novembre 2019;144(5):1228-1241.e9.
102. Das M, Stephen-Victor E, Bayry J. Regulatory T cells do not suppress rather activate human basophils by IL-3 and STAT5-dependent mechanisms. *Oncoimmunology.* 5 giugno 2020;9(1):1773193.
103. Ellis AK, Tenn MW. Advances in rhinitis: Models and mechanisms. *Ann Allergy Asthma Immunol.* luglio 2018;121(1):61–4.
104. Stevens WW, Ocampo CJ, Berdnikovs S, Sakashita M, Mahdavinia M, Suh L, et al. Cytokines in Chronic Rhinosinusitis. Role in Eosinophilia and

- Aspirin-exacerbated Respiratory Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 settembre 2015;192(6):682–94.
105. Schleimer RP. Immunopathogenesis of Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyposis. *Annu Rev Pathol.* 24 gennaio 2017;12:331–57.
106. Hamada K, Oishi K, Chikumoto A, Murakawa K, Ohteru Y, Matsuda K, et al. Impact of sinus surgery on type 2 airway and systemic inflammation in asthma. *J Asthma.* giugno 2021;58(6):750–8.
107. Chu HH, Kobayashi Y, Bui DV, Yun Y, Nguyen LM, Mitani A, et al. CCL4 Regulates Eosinophil Activation in Eosinophilic Airway Inflammation. *Int J Mol Sci.* 18 dicembre 2022;23(24):16149.
108. Brescia G, Alessandrini L, Zanotti C, Parrino D, Tealdo G, Torsello M, et al. Histopathological and hematological changes in recurrent nasal polyposis. *Int Forum Allergy Rhinol.* luglio 2019;9(7):813–20.