



Medicina de precisão na asma

Precision medicine in asthma

Atualpa Pereira dos Reis¹, José Augusto Nogueira Machado²

RESUMO

O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão atual de uma medicina de precisão personalizada e dirigida para fenótipos e endótipos de asma. As fontes de dados incluíram artigos originais, revisões e publicações indexadas nos bancos de dados PubMed, MEDLINE, LILACS, SciELO e publicadas *on line* nos últimos 20 anos. Os resultados mostram que a asma tem sido considerada uma doença única por anos, e que estudos mais recentes cada vez mais focam na sua heterogeneidade. Esta heterogeneidade resulta em que a asma contém múltiplos fenótipos ou grupos de características consistentes. Um endótipo é um subtipo desta doença, definido por um distinto mecanismo fisiopatológico, e é associado a um biomarcador. Múltiplos modificadores da resposta imune estão sendo avaliados na asma denominada T2 alta, bloqueando as interleucinas IL-5, IL-13, imunoglobulina E e outras vias. Assim, muitas destas terapias visando a asma T2 alta têm demonstrado melhor eficácia quando certos biomarcadores estão elevados, especialmente os eosinófilos. Já o tipo de asma T2 baixo, que não apresenta biomarcadores precisos, é geralmente diagnosticada pela ausência de biomarcadores para T2 alta. Estes pacientes tendem a ter mais resistência a tratamento com esteroides e o desenvolvimento de novas terapias são muito menos apreciáveis do que as com o tipo T2 alto. As conclusões são que a disponibilidade de agentes bioterapêuticos dirigidos especificamente a IgE, IL-5 e IL-13 é uma excitante evolução da medicina molecular. Contudo, estes agentes bioterapêuticos somente são efetivos quando dirigidos a fenótipos específicos de asma.

Descritores: Asma, diagnóstico, terapêutica, medicina de precisão.

ABSTRACT

The objective of this study was to conduct an updated review of the role of personalized phenotype-endotype driven precision medicine in asthma. Sources of data included original articles, reviews and other publications indexed in PubMed, MEDLINE, LILACS, and SciELO and published online over the last 20 years. The results showed that asthma has been considered as a single disease for years, and more recent studies have increasingly focused on its heterogeneity. This heterogeneity has promoted the concept that asthma consists of multiple phenotypes or consistent groupings of characteristics. An endotype is a subtype of a condition, defined by a distinct pathophysiological mechanism and linked to a biomarker. Several immune response modifiers have been evaluated in T2-high asthma geared at blocking interleukins IL-5, IL-13, immunoglobulin E, and other pathways. Thus, many of the T2-high asthma therapies available have shown improved effectiveness when certain biomarkers are elevated, especially eosinophils. Conversely, T2-low asthma does not currently have any readily available point-of-care biomarkers, and therefore is often diagnosed based on the absence of T2-high biomarkers. These patients tend to present greater resistance to steroids, and the development of therapies has lagged behind that observed for T2-high asthma. In conclusion, the availability of biotherapeutic agents specifically targeted at IgE, IL-5, and IL-13 is an exciting vindication of molecular medicine. However, these biotherapeutic agents are only effective when targeted at specific asthma phenotypes.

Keywords: Asthma, diagnosis, treatment, precision medicine.

Introdução

As atuais terapias para asma não se aplicam a todos os tipos de asma já descritos. Alguns pacientes respondem a um determinado tipo de tratamento, enquanto outros não, e alguns falham a responder

a todos os tipos de tratamento disponíveis. Ausência de respostas ao tratamento pode estar ligada a fatores ambientais ou falta de aderência por parte do paciente. Médicos e investigadores têm focalizado

1. MD, PhD. Professor de Pós-Graduação em Alergia e Imunologia. Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, MG, Brasil.

2. MD, PhD. Professor de Pós-Graduação do Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, MG. Coordenador do Curso de Pós-Graduação do Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte, MG, Brasil.

Submetido em: 25/07/2017, aceito em: 03/10/2017.

Arq Asma Alerg Imunol. 2017;1(4):349-56.

suas pesquisas na determinação das características individuais que permitam personalizar o manejo da asma. Tais características incluem preditores fenotípicos, como idade, raça, índice de massa corporal e sexo¹. Ensaio endotípicos têm usado biomarcadores para direcionar a terapia para a asma. Biomarcadores celulares e solúveis, como os eosinófilos circulantes, são referenciados para prever resposta favorável ao uso de corticosteroides inalados (CI). São também usados na terapia com a anti-interleucina 5 (anti-IL-5), assim como a titulação de óxido nítrico exalado para monitorar a terapia com CI, e a periostina ou dipeptidil peptidase 4 para acompanhar a terapia com anti-IL-13². Embora estes ensaios fenotípicos e endotípicos se apresentem como uma promessa real para aumentar a resposta terapêutica na asma, a medicina tem investido em estudos farmacogenômicos que permitam personalizar o tratamento, isto é, tratamento baseado em genótipos específicos³.

Nos últimos 20 anos, estudos com determinantes genéticos avaliando a resposta ao tratamento, especialmente aqueles focados no polimorfismo do receptor beta-2 e resposta aos beta-agonistas⁴ e aqueles focados no polimorfismo dos genes das vias dos leucotrienes e dos corticosteroides, têm sido realizados. Contudo, em nenhum destes foi pesquisado o papel da ascendência genética na resposta à terapia ou a influência do meio ambiente nestas respostas (epigenética).

Medicina de precisão representa uma moderna maneira de focar as doenças alérgicas, e pode ser definida como um modelo estrutural capaz de customizar o tratamento ao melhor possível, com base nas características genéticas, fenotípicas e endotípicas de cada paciente, e capazes de orientar as decisões médicas, práticas clínicas e tratamento modelados especificamente para cada um deles. A medicina de precisão engloba atitudes preditivas e preventivas no manejo do paciente⁵.

Medicina de precisão em asma

A heterogeneidade da asma em relação as características do paciente (fenótipos), os mecanismos patogênicos subjacentes (endótipos), e a resposta terapêutica necessitam uma melhor compreensão para um melhor manejo da doença⁶⁻⁹.

Um fenótipo é definido como uma característica do paciente que resulta da interação da carga genética com influências ambientais. Os exemplos incluem

asma de início precoce e asma relacionada com obesidade. Contudo, os esforços atuais são para identificar endótipos de asma.

Um endótipo é geralmente definido como uma integração de um processo patológico com as características clínicas da doença. A fenotipagem começou a se mover para a endotipagem quando foi observado que somente uma parte da asma clínica estava associada a um processo imunológico do padrão de resposta Th2. O fenótipo molecular Th2 (eosinofílico) está presente em mais de 60% das asmas dos adultos, desde leve a grave, mas este modelo molecular pode não estar presente em outros tipos de asmas, como também não está presente na asma induzida por exercício. Pacientes com este padrão molecular fenotípico Th2 apresentam uma grande variedade de sensibilidade aos corticosteroides inalados (CI), confirmando uma heterogeneidade mesmo dentro do fenótipo molecular. Biomarcadores, incluindo eosinófilos no sangue circulante, periostina e óxido nítrico exalado (NO), podem ser utilizados para identificar este fenótipo Th2. De fato, a utilização destes biomarcadores aumenta a possibilidade de identificar respondedores às terapias que focam os elementos deste padrão e melhorar os efeitos desejados. Por exemplo, fenótipos moleculares (e eventualmente algum endótipo) deste padrão responderão melhor ao tratamento dirigido para IL-4 ou IL-13¹⁰, enquanto outro grupo responderá melhor à terapia dirigida a IL-5. Alguns estudos que associam estas terapias moleculares dirigidas para características específicas, patofisiologia e biomarcadores irão, em última análise, identificar os endótipos de asma¹¹⁻¹³.

Um outro largo espectro de fenótipos de asma inclui pacientes que não exibem uma inflamação de padrão Th2. Este padrão de asmáticos chamado de “não Th2” geralmente são definidos pela ausência de biomarcadores associados ao padrão Th2 de asma, e consiste em um grupo de asmáticos associados a obesidade, asma neutrofílica, asma pangranulocítica e asma associada ao fumo, todos geralmente pouco responsivos aos CI. Estes pacientes são em geral menos graves, mas com mais exacerbações. Embora existam poucos estudos deste tipo de asmáticos, os mecanismos neurogênicos, estresse oxidativo e sistema imune adaptivo, certamente, estão envolvidos. Estudos futuros que possam integrar achados clínicos e moleculares, especialmente se dirigidos a uma intervenção específica, certamente ajudarão nossa capacidade de definir os fenótipos e os endótipos de asma^{14,15}.

Endótipo padrão T2 em asma

Geralmente uma resposta imune T2 básica é a que ocorre na asma atópica envolvendo células Th2, células B2, células do sistema inato (ILC 2), células *natural killer* (NK) secretando IL-4, basófilos, células epiteliais secretando linfopoetina estrosômica tímica (TSLP), eosinófilos, mastócitos e suas principais citocinas, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-25, IL-31, IL-33¹⁶. Ambas as respostas imunes, inata e adquirida, contribuem para o endótipo Th2. Como há o envolvimento de diversas células, além dos linfócitos auxiliares, neste perfil de resposta imune, alguns autores preferem utilizar a denominação T2 (de tipo 2), e não Th2. Além disto, este endótipo é modulado pelas células inflamatórias Th1 e Th17 e por mecanismos não alérgicos, tais como os fatores ambientais, estresse psicossocial, ativação de vias metabólicas, e disfunção de barreira epitelial¹⁷⁻²¹.

Existem diversos subendotipos na resposta imune padrão T2, tais como o com nível alto de IL-5, nível alto de IL-13 ou nível alto de IgE, e a preponderância de cada um deles difere nas respostas alérgicas²². Na asma, este padrão endótipo T2 está relacionado à resposta terapêutica ao uso dos CI^{12,23}, e também a exacerbações^{24,25}. A asma “aspirínica” é também um subendótipo particular, na qual uma via metabólica hiperativa modula a resposta do padrão T2²⁶. Assim, endótipos com resposta padrão T2 podem ser identificados, e os pacientes serem tratados com foco em IL-5, IL-13 ou nas vias ligadas à IgE. Eosinófilos e IgE são biomarcadores de doença alérgica, e outros têm surgido como de valor, incluindo a periostina e o óxido nítrico exalado. Os níveis de IgEs específicas identificam os desencadeadores da doença; os eosinófilos no escarro, os eosinófilos no sangue circulante e o número de neutrófilos podem identificar pacientes sensíveis aos CI e também aqueles susceptíveis a terapias anti-IL-4, IL-5 e IL-13²⁷⁻²⁹. Óxido nítrico exalado é produzido pelo epitélio brônquico em resposta à IL-4 e IL-13³⁰, pode ser medido como uma fração do exalado brônquico e é considerado um biomarcador para inflamação eosinofílica das vias aéreas, sensibilidade aos CI, e também como diagnóstico desta inflamação³¹⁻³⁵.

A periostina é uma proteína extracelular secretada pelas células epiteliais e fibroblastos dos pulmões e que também é induzida pela IL-4 e pela IL-13³⁶. O nível de periostina está elevado na cultura de células nasais e epiteliais brônquicas isoladas de crianças asmáticas, e também no soro destes pacientes, e podem prever a eficácia de tratamento anti IgE³⁷⁻⁴⁰.

Endótipo padrão Não T2 em asma

Asma não eosinofílica é um fenótipo bem caracterizado em asma. Estudos de grandes populações identificaram uma inflamação neutrofílica conforme achados no escarro induzido, e descreveram um padrão distinto de pacientes com asma moderada a grave⁴¹. Dois mecanismos são postulados para a inflamação neutrofílica: 1 - desregulação da resposta imune inata, incluindo anormalidades intrínsecas dos neutrófilos; 2 - ativação da via dependente de IL-17⁴²⁻⁴⁶. Em adição, resposta imune do padrão Th1 pode contribuir para a gravidade da asma, e altos títulos de interferon gama (INF- γ) no escarro de pacientes asmáticos estão associados à asma grave^{47,48}.

Diversos fatores, tais como fatores metabólicos ou epigenéticos, podem funcionar como moduladores deste padrão de resposta imune e levar à remodelamento extenso. Uma ligação entre inflamação neutrofílica e resposta imune Th17 já foi bastante estabelecida em modelos de asma em camundongos, onde foi documentada a interligação de hiper-reatividade e remodelamento^{49,50}. Uma forte correlação entre IL-17 e neutrófilos foi estabelecida no escarro induzido e no sangue periférico, estando IL-17 correlacionada com remodelamento, hiper-reatividade, gravidade de asma e inflamação⁵¹⁻⁵⁴. As células TH17 são resistentes à apoptose induzidas pelos corticosteroides e supressão de citocinas, explicando, em parte, a resistência ao tratamento por estes esteroides na asma, e esta é uma das características da asma neutrofílica⁵⁵.

Epigenética e medicina de precisão em asma

A diferenciação de células T imaturas (*naive*) ou Th0 no sentido de adquirir um perfil Th1 ou Th2 depende de fatores genéticos e epigenéticos. A formação de células com perfil Th1 envolve a metilação de genes entre as regiões que codificam a expressão de IL-4 e IL-13 no cromossoma 5q21. Isto ocorre em conjunção com a acetilação de histonas⁵⁶. Metilação e acetilação levam à predominância de diferenciação de células no sentido de formar células com perfil Th1. O aumento de Th1 promove uma queda no processo de diferenciação à Th2, induzindo a um desequilíbrio Th1/Th2, favorável à formação de células com perfil Th1. Neste processo, a ativação do fator de transcrição Tbet controla o locus gênico promotor da expressão de IFN- γ e promove o deslocamento das deacetilases complexadas às histonas, impedindo a ação do grupo enzimático das acetiltransferases que

inibem a expressão de IFN- γ ^{57,58}. Acrescente-se que a demetilação das regiões gênicas que controla a síntese de IL-13 e IL-4 induz a ativação dos fatores de transcrição STAT6 e GATA3, o que facilita a diferenciação de Th0 para Th2⁵⁹⁻⁶⁰.

Faz-se necessário também considerar que o desenvolvimento e a função das células T reguladoras (Treg) é mediado predominantemente por FOXP3. Diversos estudos mostram que este fator de transcrição é influenciado por mecanismos epigenéticos. Um mecanismo estimulador é a metilação de FOXP3 nas células T CD4+CD25 e nas células T CD4+, mas ocorre desmetilação no caso das células T reguladoras naturais⁶¹. Ao inibir as deacetilases das histonas, ocorre o aumento da expressão de FOXP3, e foi também sugerido que o nível de acetilação das histonas do locus FOXP3 tem importante papel no desenvolvimento de células T reguladoras⁶². Sugere-se que a acetilação de histonas pode estar envolvida na diferenciação de células T para Th17⁶³. Estes mecanismos afetam além das células T, os mastócitos que podem sofrer regulação epigenética no locus IL-4/IL-13⁶⁴. Um estudo com pacientes asmáticos demonstrou que existe um desequilíbrio dado pelo aumento de células TCD4+ IL-17+ e células Th2 com concomitante diminuição no número de células com fenótipo CD4+FOXP3TGF β ⁶⁵. Além destes mecanismos, sabe-se também que o microRNA 21 (miRNA) é considerado um biomarcador para inflamações alérgicas, porque o seu nível está elevado em crianças com asma ou esofagite eosinofílica⁶⁶. Uma lista de 10 miRNAs, incluindo o miRNA-638, estão associados com asma em crianças de 6 a 18 anos de idade e podem distinguir aqueles com asma grave e com exacerbações mais intensas⁶⁷.

Implicações terapêuticas

Os corticosteroides podem ser considerados a terapia mais efetiva em asma, e é recomendação central nos consensos sobre asma. A sua eficácia reflete em grande parte a sua capacidade de induzir apoptose de eosinófilos, mas podem, paradoxalmente, piorar a asma em pacientes que não têm o fenótipo eosinofílico^{68,69}. Mais recentemente, um estudo foi capaz de distinguir duas populações de pacientes com asma – T2 alto e T2 baixo⁷⁰. Nesta população de T2 alto havia elevados níveis de IL-5 e IL-13, elevados níveis de IgEs e aumento de eosinófilos no lavado bronco-alveolar. Em contraste, no grupo T2 baixo as células do lavado bronco-alveolar eram pan-

granulocíticas e com baixo número de eosinófilos. A implicação é de que os CI administrados a uma larga população de asmáticos não serão efetivos em mais ou menos um terço dos pacientes, e podem até ser prejudiciais, como demonstram as medidas do volume expiratório forçado em 1 segundo (VEF₁). Existem vários biomarcadores que podem prever a pouca resposta aos CI, e até um endótipo de resposta aos CI foi recentemente descrito⁷¹⁻⁷⁷.

Novas drogas estão sendo testadas e denominadas de drogas imunobiológicas para tratamento antialérgico, embora muitas delas ainda não estejam aprovadas para uso clínico de rotina. A primeira delas e aprovada pelas agências de saúde para uso na prática clínica é o omalizumabe, um anticorpo IgG1 monoclonal humanizado dirigido para IgE e usado para asma grave e urticária crônica. O omalizumabe se liga à IgE na região C ϵ 3, que é o domínio responsável pela ligação aos receptores Fc ϵ RI e Fc ϵ RII existentes na membrana dos basófilos e dos mastócitos, e impede a degranulação destas células e liberação de mediadores da reação inflamatória⁷⁸. Diversos estudos mostram a eficácia e segurança de omalizumabe na redução do efeito dos alérgenos nas vias aéreas, um melhor controle dos sintomas da asma e uma redução do número de exacerbações⁷⁹⁻⁸¹. Outros estudos mostram ainda benefícios em crianças asmáticas alérgicas e redução da dose de corticosteroide sistêmico em pacientes com doença refratária⁸². Em breve, dois outros produtos com base em anticorpo anti-IgE monoclonal estarão no mercado: quilizumabe e ligelizumabe^{83,84}.

Outra terapia específica é a baseada no bloqueio da ação da IL-5, que é importante para evitar o crescimento e migração dos eosinófilos para a inflamação das vias aéreas. Existem duas estratégias de bloquear os efeitos da IL-5. A primeira inclui dois anticorpos monoclonais específicos que se ligam a IL-5, mepolizumabe e reslizumabe. A segunda estratégia envolve outro anticorpo monoclonal específico que se liga ao receptor da IL-5, benralizumabe. O seu efeito resulta em aumento da citotoxicidade dependente de anticorpos, levando à apoptose de eosinófilos e basófilos⁸⁵. Os primeiros ensaios com o mepolizumabe mostraram pouca eficácia em reduzir os sintomas de asma ou aumento da função pulmonar⁸⁶. Contudo, com a seleção de pacientes apresentando altas percentagens de eosinófilos no sangue ou no escarro induzido, foi demonstrado uma redução nas exacerbações, diminuição das contagens de eosinófilos e redução no uso de corticosteroides sistêmicos,

mostrando que a droga era efetiva na terapia de pacientes asmáticos^{87,88}. Com o reslizumabe, outra droga bloqueadora das vias da IL-5, vários ensaios documentaram a sua eficácia e segurança para o uso em asmáticos com hipereosinofilia, e demonstraram um melhor controle da doença, principalmente em relação às taxas de exacerbação⁸⁹. O benralizumabe, um antagonista que se liga aos receptores da IL-5, também demonstrou efeito em diminuir os eosinófilos do sangue e das vias aéreas, e foi capaz de diminuir as taxas de exacerbação e melhora no VEF₁ dos pacientes asmáticos com altas percentagens de eosinófilos no pré-tratamento⁹⁰⁻⁹².

Ainda, uma outra terapia para bloquear a IL-13 poderia ser uma boa estratégia de tratar pacientes com asma, já que a IL-13 leva à hiper-reatividade brônquica, produção de muco e aumento de IgE. O anticorpo monoclonal específico para IL-13, o lebrikizumabe, demonstrou ser efetivo em aumentar o VEF₁ dos pacientes asmáticos, porém somente nos mais graves⁹³. Outro anticorpo anti-IL-13, o tralokinumabe, quando utilizado em asmáticos não controlados e de asma moderada a grave, conseguiu aumentar o VEF₁ e diminuir as taxas de exacerbações nestes pacientes^{94,95}.

Uma outra estratégia é bloquear a IL-4, e o anticorpo monoclonal específico dupilumabe, completamente humanizado, é capaz de se ligar a cadeia alfa comum dos receptores de IL-4 e IL-13. Foi estudado em asmáticos com asma moderada a grave e sintomas não controlados com doses médias ou altas de CI e beta 2-agonista de ação prolongada, sendo que alguns estudos demonstraram eficácia em melhorar a função pulmonar, reduzir taxas de exacerbações e outros parâmetros clínicos^{99,97}. O anticorpo foi avaliado em dois estudos com pacientes asmáticos de moderado a grave que utilizaram injeções subcutâneas e também administração por nebulização, obtendo resultados favoráveis de melhora do VEF₁^{98,99}.

Conclusões

Os CI embora sejam o padrão ouro para tratamento de asma, segundo os Consensos Brasileiro e Internacionais, não são efetivos em mais ou menos um terço dos pacientes. Com a heterogeneidade desta doença, possuindo diversos fenótipos e endótipos, a bioterapia visando os agentes mediadores da resposta imune, tais como IgE, IL-5, IL-13, poderia ser uma medicina molecular personalizada de sucesso. Até o momento os resultados dos ensaios sugerem que a

opção de bloquear o padrão T2 da resposta imune é das melhores opções de tratamento, principalmente pela facilidade de usar biomarcadores específicos. A caracterização de endótipos e os conhecimentos da epigenética levam a uma promessa de que a asma poderia ser tratada de uma maneira mais precisa.

Referências

1. Dunn RM, Lehman E, Chinchilli VM, Martin RJ, Boushey HA, Israel E, et al. Impact of age and gender on response to asthma therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192:551-8.
2. Zissler UM, Esser-von Bieren J, Jakwerth CA, Chaker AM, Schmidt-Weber CB. Current and future biomarkers in allergic asthma. *Allergy*. 2015;71:475-94.
3. Dunn R, Wechsler ME. Anti-interleukin therapy in asthma. *Clin Pharmacol Ther*. 2015;97:55-65.
4. Wechsler ME, Kunselman SJ, Chinchilli VM, Bleecker E, Boushey HA, Calhoun WJ, et al. Effect of beta2-adrenergic receptor polymorphism on response to long acting beta2 agonist in asthma (LARGE trial): a genotype-stratified, randomized, placebo-controlled, crossover trial. *Lancet*. 2009;374:1754-64.
5. Jameson JL, Longo DL. Precision medicine – personalized, problematic, and promising. *N Engl J Med*. 2015;372:2229-34.
6. Agache I, Akdis C, Jutel M, Virchow JC. Untangling asthma phenotypes and endotypes. *Allergy*. 2012;67:835-46.
7. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18:716-25.
8. Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma – present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol*. 2015;15:57-65.
9. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol*. 2015;16:45-56.
10. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18:716-25.
11. Agache I, Akdis CA. Endotypes of allergic diseases and asthma: an important step in building blocks for the future of precision medicine. *Allergology International*. 2016;65:243-52.
12. Muraro A, Lemanske RF Jr, Hellings PW, Akdis CA, Bieber T, Casale TB, et al. Precision medicine in patients with allergic diseases: Airway diseases and atopic dermatitis – PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology 2016. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:1347-58.
13. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nature Medicine*. 2012;18:716-25.
14. Stokes JR, Casale TB. Characterization of asthma endotypes: implications for therapy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;117:121-5.
15. Steiling K, Christenson SA. Targeting 'types: Precision Medicine in Pulmonary Disease- Editorial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191:1093-105.
16. Akdis CA. The underlying mechanisms in allergy (overview). *EAACI Global Atlas of Allergy*. Disponível em: <http://www.eaaci.org/resources/scientific-output/globalatlas-of-allergy.html>.
17. Dougherty RH, Sidhu SS, Raman K, Solon M, Solberg OD, Caughey GH, et al. Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in T(H)2-high asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:1046-53.
18. Irvin C, Zafar I, Good J, Rollins D, Christianson C, Gorska MM, et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134:1175-86.

19. Steinke JW, Liu L, Huyett P, Negri J, Payne SC, Borish L. Prominent role of IFN- γ in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:856-65.
20. Marijse GS, Seys SF, Schelpe A-S, Dilissen E, Goeminne P, Dupont LJ, et al. Obese individuals with asthma preferentially have a high IL-5/IL-17A/IL-25 sputum inflammatory pattern. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189:1284-5.
21. Hammad H, Lambrecht BN. Barrier epithelial cells and the control of type 2 immunity. *Immunity.* 2015;43:29-40.
22. Agache I, Sugita K, Morita H, Akdis M, Akdis CA. The complex type 2 endotype in allergy and asthma: from laboratory to bedside. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015;15:29.
23. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax.* 2002;57:875-9.
24. Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, Gupta S, Monteiro W, Sousa A, et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med.* 2009;360:973-84.
25. Nair P, Pizzichini MM, Kjarsgaard M, Inman MD, Efthimiadis A, Pizzichini E, et al. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med.* 2009;360:985-93.
26. 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.* 2015;135:676-81.
27. Bel EH, Wenzel SE, Thompson PJ, Prazma CM, Keene ON, Yancey SW, et al. Oral glucocorticoid-sparing effect of mepolizumab in eosinophilic asthma. *N Engl J Med.* 2014;371:1189-97.
28. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemiere C, Pizzichini E, et al. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J.* 2006;27:483-94.
29. Pavord ID, Korn S, Howarth P, Bleecker ER, Buhl R, Keene ON, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2012;380:651-9.
30. Guo FH, Uetani K, Haque SJ, Williams BR, Dweik RA, Thunnissen FB, et al. Interferon gamma and interleukin 4 stimulate prolonged expression of inducible nitric oxide synthase in human airway epithelium through synthesis of soluble mediators. *J Clin Invest.* 1997;100:829-38.
31. Hanania NA, Wenzel S, Rosen K, Hsieh HJ, Mosesova S, Choy DF, et al. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:804-11.
32. Modena BD, Tedrow JR, Milosevic J, Bleecker ER, Meyers DA, Wu W, et al. Gene expression in relation to exhaled nitric oxide identifies novel asthma phenotypes with unique biomolecular pathways. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190:1363-72.
33. Smith AD, Cowan JO, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, Jackson P, et al. Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:473-8.
34. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, Spector S, Sher L, Skobieranda F, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. *N Engl J Med.* 2013;368:2455-66.
35. Gogate S, Katial R. Pediatric biomarkers in asthma: exhaled nitric oxide, sputum eosinophils and leukotriene E4. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2008;8:154-7.
36. Takayama G, Arima K, Kanaji T, Toda S, Tanaka H, Shoji S, et al. Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:98-104.
37. Conway SJ, Izuhara K, Kudo Y, Litvin J, Markwald R, Ouyang G, et al. The role of periostin in tissue remodeling across health and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71:1279-88.
38. Konradsen JR, Skantz E, Nordlund B, Lidegran M, James A, Ono J, et al. Predicting asthma morbidity in children using proposed markers of Th2-type inflammation. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015;26:772-9.
39. Song JS, You JS, Jeong SI, Yang S, Hwang IT, Im YG, et al. Serum periostin levels correlate with airway hyper-responsiveness to methacholine and mannitol in children with asthma. *Allergy.* 2015;70:674-81.
40. Kanemitsu Y, Matsumoto H, Izuhara K, Tohda Y, Kita H, Horiguchi T, et al. Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:305.
41. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181:315-23.
42. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax.* 2002;57:875-9.
43. Pene J, Chevalier S, Preisser L, Venereau E, Guilleux M-H, Ghannam S, et al. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated Th17 lymphocytes. *J Immunol.* 2008;180:7423-30.
44. Simpson JL, Gibson PG, Yang IA, Upham J, James A, Reynolds PN, et al. Impaired macrophage phagocytosis in non-eosinophilic asthma. *Clin Exp Allergy.* 2013;43:29-35.
45. Baines KJ, Simpson JL, Wood LG, Scott RJ, Fibbens NL, Powell H, et al. Sputum gene expression signature of 6 biomarkers discriminates asthma inflammatory phenotypes. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:997-1007.
46. Raedler D, Ballenberger N, Klucker E, Beck A, Otto R, Prazeres da Costa O, et al. Identification of novel immune phenotypes for allergic and nonallergic childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135:81-91.
47. Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Overbergh L, Dupont LJ, Ceuppens JL, et al. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax.* 2006;61:202-8.
48. Raundhal M, Morse C, Khare A, Oriss TB, Milosevic J, Trudeau J, et al. High IFN- γ and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. *J Clin Invest.* 2015;125:3037-50.
49. Wilson RH, Whitehead GS, Nakano H, Free ME, Kolls JK, Cook DN. Allergic sensitization through the airway primes Th17-dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180:720-30.
50. Zhao J, Lloyd CM, Noble A. Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling. *Mucosal Immunol.* 2013;6:335-46.
51. Bullens DM, Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Hellings PW, Dupont LJ, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res.* 2006;7:135.
52. Agache I, Ciobanu C, Agache C, Anghel M. Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respir Med.* 2010;104:1131-7.
53. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:430-8.
54. Chien JW, Lin CY, Yang KD, Lin CH, Kao JK, Tsai YG. Increased IL-17A secreting CD41 T cells, serum IL-17 levels and exhaled nitric oxide are correlated with childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy.* 2013;43:1018-26.
55. Gupta A, Dimeloe S, Richards DF, Chambers ES, Black C, Urry Z, et al. Defective IL-10 expression and in vitro steroid-induced IL-17A in paediatric severe therapy-resistant asthma. *Thorax.* 2014;69:508-15.

56. Avni O, Lee D, Macian F, Szabo SJ, Glimcher LH, Rao A. TH cell differentiation is accompanied by dynamic changes in histone acetylation of cytokine genes. *Nat Immunol.* 2002;3:643-51.
57. Chen GY, Osada H, Santamaria-Babi LF, Reiji K. Interaction of GATA-3/T-bet transcription factors regulates expression of sialyl Lewis X homing receptors on Th1/Th2 lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103:16894-9.
58. Jones B, Chen J. Inhibition of IFN-gamma transcription by site specific methylation during T helper cell development. *EMBO J.* 2006;25:2443-52.
59. Lee DU, Agarwal S, Rao A. Th2 lineage commitment and efficient IL-4 production involves extended demethylation of the IL-4 gene. *Immunity.* 2002;16:649-60.
60. Ansel KM, Djuretic I, Tanasa B, Rao A. Regulation of Th2 differentiation and Il4 locus accessibility. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:607-56.
61. Lal G, Zhang N, van der Touw W, Ding Y, Ju W, Bottinger EP, et al. Epigenetic regulation of Foxp3 expression in regulatory T cells by DNA methylation. *J Immunol.* 2009;182:259-73.
62. Tao R, de Zoeten EF, Ozkaynak E, Chen C, Wang L, Porrett PM, et al. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat Med.* 2007;13:1299-307.
63. Akimzhanov AM, Yang XO, Dong C. Chromatin remodeling of interleukin-17 (IL-17)-IL-17F cytokine gene locus during inflammatory helper T cell differentiation. *J Biol Chem.* 2007;282:5969-72.
64. Ansel KM, Lee DU, Rao A. An epigenetic view of helper T cell differentiation. *Nat Immunol.* 2003;4:616-23.
65. Barczyk A, Pierzchala, Caramori G, Wiederkiewicz, Kaminski M, Barnes PJ, et al. Decreased percentage of CD4+FOXP3+TGF+ and increase of CD4+IL-17+ in bronchoalveolar lavage of asthmatics. *J Inflamm.* 2014;11:22.
66. Sawant DV, Yao W, Wright Z, Sawyers C, Tepper RS, Gupta SK, et al. Serum MicroRNA-21 as a biomarker for allergic inflammatory disease in children. *Microna.* 2015;4:36-40.
67. Midyat L, Gulen F, Karaca E, Ozkinay F, Tanac R, Demir E, et al. MicroRNA expression profiling in children with different asthma phenotypes. *Pediatr Pulmonol.* 2016; 51:582-7.
68. Brown HM. Treatment of chronic asthma with prednisolone; significance of eosinophils in the sputum. *Lancet.* 1958;2:1245-7.
69. Cowan DC, Cowan JO, Palmay R, Williamson A, Taylor DR. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax.* 2010;65:384-90.
70. Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, et al. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;180:388-95.
71. Li L-B, Leung DYM, Goleva E. Activated p38 MAPK in peripheral blood monocytes of steroid resistant asthmatics. *PLoS One.* 2015;10:e0141909.
72. Xiao C, Biagini Myers JM, Ji H, Metz K, Martin LJ, Lindsey M, et al. Vanin-1 expression and methylation discriminate pediatric asthma corticosteroid treatment response. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:923-33.
73. Irvin C, Zafar I, Good J, Rollins D, Christianson C, Gorska MM, et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134:1175-86.
74. Lipworth BJ. Biomarkers to predict inhaled corticosteroid response. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:515.
75. Goleva E, Jackson LP, Harris JK, Robertson CE, Sutherland ER, Hall CF, et al. The effects of airway microbiome on corticosteroid responsiveness in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188:1193-201.
76. Clemmer GL, Wu AC, Rosner B, McGeachie MJ, Litonjua AA, Tantisira KG, et al. Measuring the corticosteroid responsiveness endophenotype in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:274-81.
77. Baird B, Shopes RJ, Oi VT, Erickson J, Kane P, Holowka D. Interaction of IgE with its high-affinity receptor. Structural basis and requirements for effective cross-linking. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1989;88:23-8.
78. Hams E, Armstrong ME, Barlow JL, Saunders SP, Schwartz C, Cooke G, et al. IL-25 and type 2 innate lymphoid cells induce pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111:367-72.
79. Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, Fowler-Taylor A, Cioppa GD, et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:184-90.
80. Sorkness CA, Wildfire JJ, Calatroni A, Mitchell HE, Busse WW, O'Connor GT, et al. Reassessment of omalizumab-dosing strategies and pharmacodynamics in inner-city children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013;1:163-71.
81. Busse WW, Morgan WJ, Gergen PJ, Mitchell HE, Gern JE, Liu AH, et al. Randomized trial of omalizumab (anti-IgE) for asthma in inner-city children. *N Engl J Med.* 2011;364:1005-15.
82. Rodrigo GJ, Neffen H, Castro-Rodriguez JA. Efficacy and safety of subcutaneous omalizumab vs placebo as add-on therapy to corticosteroids for children and adults with asthma: a systematic review. *Chest.* 2011;139:28-35.
83. Arm JP, Bottoli I, Skerjanec A, Floch D, Groenewegen A, Maahs S, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of QGE031 (ligelizumab), a novel high-affinity anti-IgE antibody, in atopic subjects. *Clin Exp Allergy.* 2014;44:1371-85.
84. Gauvreau GM, Harris JM, Boulet LP, Scheerens H, Fitzgerald JM, Putnam WS, et al. Targeting membrane-expressed IgE B cell receptor with an antibody to the M1 prime epitope reduces IgE production. *Sci Transl Med.* 2014;6:243-85.
85. Nowak RM, Parker JM, Silverman RA, et al. A randomized trial of benralizumab, an anti interleukin 5 receptor a monoclonal antibody, after acute asthma. *Am J Emerg Med.* 2015;33:14-20.
86. O'Byrne PM, Inman MD, Parameswaran K. The trials and tribulations of IL-5, eosinophils, and allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;108:503-8.
87. Bel EH, Wenzel SE, Thompson PJ, Prazma CM, Keene ON, Yancey SW, et al. Oral glucocorticoid-sparing effect of mepolizumab in eosinophilic asthma. *N Engl J Med.* 2014;371:1189-97.
88. Pavord ID, Korn S, Howarth P, Bleeker ER, Buhl R, Keene ON, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2012;380:651-9.
89. Castro M, Zangrilli J, Wechsler ME, Bateman ED, Brusselle GG, Bardin P, et al. Reslizumab for inadequately controlled asthma with elevated blood eosinophil counts: results from two multicentre, parallel, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials. *Lancet Respir Med.* 2015;3:355-66.
90. Castro M, Wenzel SE, Bleeker ER, Pizzichini E, Kuna P, Busse WW, et al. Benralizumab, an anti-interleukin 5 receptor alpha monoclonal antibody, versus placebo for uncontrolled eosinophilic asthma: a phase 2b randomised dose-ranging study. *Lancet Respir Med.* 2014;2:879-90.
91. Kolbeck R, Kozhich A, Koike M, Peng L, Andersson CK, Damschroder MM, et al. MEDI-563, a humanized anti-IL-5 receptor alpha mAb with enhanced antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity function. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:1344-53.
92. Varricchi G, Bagnasco D, Borriello F, Heffler E, Canonica GW. IL-5 pathway inhibition in the treatment of eosinophilic respiratory disorders: evidence and unmet needs. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2016;16:186-200.
93. Hanania NA, Noonan M, Corren J, et al. Lebrikizumab in moderate-to-severe asthma: pooled data from two randomised placebo-controlled studies. *Thorax.* 2015;70:748-56.
94. Piper E, Brightling C, Niven R, et al. A phase II placebo controlled study of tralokinumab in moderate-to-severe asthma. *Eur Respir J.* 2013;41:330-8.

95. Brightling CE, Chanez P, Leigh R, et al. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med.* 2015;3:692-701.
96. Wenzel S, Ford L, Pearlman D, et al. Dupilumab in persistent asthma with elevated eosinophil levels. *N Engl J Med.* 2013;368:2455-66.
97. Positive phase 2b data for treatment of asthma with dupilumab. Disponível em: <http://www.rtmagazine.com/2015/05/positive-phase-2b-data-asthma-dupilumab/>. Acessado em 21/05/2015.
98. Wenzel S, Wilbraham D, Fuller R, Getz EB, Longphre M. Effect of an interleukin-4 variant on late phase asthmatic response to allergen challenge in asthmatic patients: results of two phase 2a studies. *Lancet.* 2007;370:1422-31.
99. Slager RE, Otulana BA, Hawkins GA, et al. IL-4 receptor polymorphisms predict reduction in asthma exacerbations during response to an antiIL-4 receptor a antagonist. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130:516-22.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Correspondência:
Ataualpa P. Reis
E-mail ataualpapeis@gmail.com