



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**  
**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL**

**BRUNO ANDRÉ PUIM NUNES**

***Esofagite Eosinofílica - Uma Revisão Fisiopatológica***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR RUI VASCO QUINTAIS GRADIZ

PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO

ABRIL/2018



MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

## ***Esofagite Eosinofílica - Uma Revisão Fisiopatológica***

BRUNO ANDRÉ PUIM NUNES<sup>1</sup>

PROFESSOR DOUTOR RUI VASCO QUINTAIS GRADIZ<sup>2</sup>

PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>1</sup> [bapnunes@gmail.com](mailto:bapnunes@gmail.com)

<sup>2</sup> [rgradiz@fmed.uc.pt](mailto:rgradiz@fmed.uc.pt)

<sup>3</sup> [apinto@uc.pt](mailto:apinto@uc.pt)

ABRIL/2018

## Índice

1. Glossário de termos e abreviaturas .....	3
2. Resumo .....	6
3. Abstract.....	8
4. Introdução .....	10
5. Materiais e métodos.....	14
6. Resultados.....	16
6.1 Epidemiologia .....	16
6.2 Aspeto endoscópico.....	19
6.3 Histopatologia .....	20
6.4 Via de sensibilização .....	21
6.5 Inflamação Th2 .....	23
6.6 Disfunção de Barreira.....	28
6.7 Interligação entre a disfunção de barreira e a inflamação Th2 .....	31
6.8 Estudos genéticos .....	33
6.9 Papel dos Eosinófilos .....	38
6.10 IgE versus IgG4.....	40
6.11 TSLP e basófilos .....	42
6.12 Influência dos Mastócitos na EoE.....	43
6.13 Outros intervenientes.....	45
6.14 Tratamento da EoE.....	46
7. Discussão e conclusão .....	51
8. Agradecimentos .....	56
9. Referências bibliográficas .....	57

## 1. Glossário de termos e abreviaturas

(Por ordem alfabética)

**APC** - células apresentadoras de antígenos

**CAPN14** - calpaína-14

**CCL11** - eotaxina-1

**CCL26** - eotaxina-3

**CCR3** - recetor eosinofílico de eotaxina

**CRLF2** - citocina fator "*receptor-like*" tipo 2

**CRTH2** - molécula homóloga de recetores e quimioatrativa expressa em células Th2

**DC** - célula dendrítica

**DRGE** - doença de refluxo gastroesofágico

**DSG1** - desmogleína-1

**ECP** - proteína catiónica eosinofílica

**EDN** - neurotoxina derivada de neutrófilos

**EoE** - esofagite eosinofílica

**EoE PPI-R** - esofagite eosinofílica que responde a bloqueadores da bomba de prótons

**EPO** - peroxidase eosinofílica

**FITC** - isotiocianato de fluoresceína

**FLG** - filagrina

**GWAS** - estudos de associação genómica ampla

**IBPs** - inibidores da bomba de prótons

**ICAM-1** - molécula de adesão intercelular 1

**IgE** - imunoglobulina E

**IgG4** - imunoglobulina G4

**IgG4-RD** - doença relacionada com IgG4

**IL-1** - interleucina 1

**IL-3** - interleucina 3

**IL-4** - interleucina 4

**IL-4R $\alpha$**  - recetor comum 4 $\alpha$

**IL-5** - interleucina 5

**IL-13** - interleucina 13

**IL-15** - interleucina 15

**iNKT** - linfócitos T *Natural Killer* invariáveis

**JAK** - Janus quinase

**LRRC32** - repetição rica em leucina 32

**MBP** - proteína básica *major*

**MeSH** - *medical subject headings*

**NGS** - sequenciação de última geração

**OVA** - ovalbumina

**PCR** – reação em cadeia da polimerase

**POSTN** - periostina

**RANTES** - fator regulado na ativação, expresso e segregado em células T normais

**RCT** - estudo randomizado e controlado

**SNP** - polimorfismo de um único nucleotídeo

**ST2** - recetor IL1RL1

**STAT6** - transdutor de sinal e ativador de transcrição tipo 6

**SYNPO** - sinaptopodina

**TGF- $\alpha$**  - fator de crescimento transformador alfa

**TGF- $\beta$**  - fator de crescimento transformador beta

**TGF- $\beta$ 1** - fator de crescimento transformador  $\beta$ 1

**TNF- $\alpha$**  - fator de necrose tumoral alfa

**TSLP** - linfopoetina estromal tímica

**TSLPR** - gene codificador do recetor de TSLP

## 2. Resumo

A esofagite eosinofílica (EoE) é uma doença crónica, desencadeada por antígenos alimentares e mediada por uma resposta inflamatória Th2. A doença foi inicialmente descrita há cerca de 3 décadas, e é caracterizada clinicamente por sintomas de disfunção esofágica. Tem associação a comorbilidades atópicas e, histologicamente, existe um infiltrado eosinofílico no tecido esofágico. O conhecimento da fisiopatologia desta doença ainda está longe de estar esclarecido, no entanto têm existido grandes progressos na compreensão dos mecanismos genéticos e moleculares por detrás da mesma, possibilitando o desenvolvimento de melhores métodos de diagnóstico, de predição de risco da doença e de tratamentos mais eficazes. A revisão dos trabalhos investigacionais feitos nessa área coloca em perspetiva os achados dos vários estudos, traz ao de cima as incongruências entre os mesmos, e permite uma atualização relativamente ao mais recente conhecimento obtido na área.

A pesquisa bibliográfica foi realizada utilizando a base de dados PubMed e com a equação de pesquisa “eosinophilic esophagitis/pathology OR eosinophilic esophagitis/etiology”, aplicando os filtros de inclusão de trabalhos publicados apenas na língua portuguesa ou inglesa, entre 1 de janeiro de 2008 até ao presente e apenas artigos com *abstract* disponível. Foram ainda consultadas referências bibliográficas destes artigos e outros artigos não incluídos na pesquisa, mas com importância no conhecimento global do tema.

Apesar da grande relação entre a esofagite eosinofílica e as comorbilidades alérgicas/atópicas, não parece haver uma resposta imediata clássica mediada por imunoglobulina E (IgE) na base da fisiopatologia da EoE. A herdabilidade genética parece ser baixa e sugere que o meio ambiente partilhado deverá ser o maior responsável pelo risco de doença, tal como a exposição precoce a antígenos exógenos e a alteração do microbioma.

Existe uma resposta inflamatória Th2 exagerada a antígenos, com desregulação da expressão de moléculas quimioatratoras, como a linfopoetina estromal tímica e eotaxina-3, mas também de moléculas relacionadas com a barreira epitelial, como desmogleína, filagrina e calpaína-14. Estudos genéticos confirmaram o envolvimento e sobre-expressão de calpaína-14, da linfopoetina estromal tímica (e do seu recetor membranar) e revelaram também a implicação da via STAT6.

Em todos os estudos parece existir consenso de que, para existir EoE, é necessária uma barreira epitelial disfuncional, com expressão anormal de desmogleína e filagrina, entre outros componentes. Esta disfunção pode existir como fator despoletante inicial ou como consequência da inflamação. Há uma hipersensibilidade do epitélio, com produção exagerada de quimioatratores de basófilos e eosinófilos, na presença de interleucinas como IL-4, IL-5 e IL-13, que influenciam o recrutamento celular e a inflamação. Os eosinófilos recrutados para o tecido libertam proteínas tóxicas que contribuem para a inflamação no esófago e estimulam a produção de proteínas de matriz extracelular, levando à fibrose esofágica verificada a longo prazo. Estudos futuros devem incidir nos componentes moleculares já comprovados como sendo os mais importantes na fisiopatologia da doença, no sentido de diferenciar as desregulações iniciais e precipitantes da doença, das desregulações consequentes da doença ativa.

**Palavras-chave:** Esofagite eosinofílica; fisiopatologia; etiologia; hipersensibilidade alimentar; genética; inflamação; alérgenos.

### **3. Abstract**

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic disease, triggered by food antigens and mediated by a Th2 inflammatory response. The disease was first described about 3 decades ago and is characterized clinically by symptoms of esophageal dysfunction. EoE is also associated with atopic comorbidities and, histologically, there is an eosinophilic infiltrate in the esophageal tissue. The knowledge of this disease's pathophysiology is still far from enlightened, however great progress has been made in understanding the genetic and molecular mechanisms behind it, allowing for the development of better methods of diagnosis, prediction of disease risk and of more effective treatments. The review of the research done in this area puts the findings of the various studies in perspective, brings up the inconsistencies between them, and allows a knowledge update, regarding the latest discoveries obtained in the area.

The literature search was performed using the PubMed database and the equation of research "eosinophilic esophagitis/pathology OR eosinophilic esophagitis/ etiology", applying the inclusion filters of articles published only in Portuguese or English, between 1 of January 2008 to the present date and only articles with abstract available. Bibliographical references of those articles and other articles not included in the research, but with importance in the global knowledge of the subject, were also consulted.

Despite the great relationship between eosinophilic esophagitis and allergic/atopic comorbidities, there is no classical immediate and immunoglobulin E (IgE) mediated response as a pillar of EoE pathophysiology. Genetic heritability appears to be low and suggests that the shared environment should be the biggest factor for disease risk, which includes early exposure to exogenous antigens and a microbiome alteration.

There is an exaggerated Th2 inflammatory response to antigens, with deregulation of the expression of chemoattractant molecules, such as thymus stromal lymphopoetin and eotaxin-3, but also of epithelial barrier molecules, such as desmoglein, filaggrin, and calpain-14. Genetic studies confirmed the involvement and over-expression of calpain-14, of the thymic stromal lymphopoetin (and its membrane receptor) and revealed the implication of the STAT6 pathway.

In all studies researched, there seems to be a consensus that, to develop EoE, a dysfunctional epithelial barrier with abnormal expression of desmoglein, filaggrin and other components is required. This dysfunction may exist as an initial triggering factor or caused by the existing inflammation. There is also a hypersensitivity of the epithelium, with exaggerated production of basophil and eosinophil chemoattractants, in the presence of interleukins such as IL-4, IL-5 and IL-13, which influence cell recruitment and inflammation. Eosinophils recruited into the tissue release toxic proteins that contribute to the inflammation of the esophagus and stimulate the production of extracellular matrix proteins, leading to long-term esophageal fibrosis. Future studies should focus on the molecular components already proven to be most important in the pathophysiology of the disease, in order to differentiate the initial and precipitating deregulations of the disease from the dysregulations that are a consequence of the active disease.

**Keywords:** Eosinophilic esophagitis; physiopathology; etiology; food hypersensitivity; genetics; inflammation; allergens.

#### **4. Introdução**

A esofagite eosinofílica (EoE) é uma doença crónica, mediada por uma interação anormal imuno-antigénica, através de inflamação predominantemente Th2 (1, 2). Dá-se o diagnóstico de EoE quando temos uma amostra histológica esofágica acima de 15 eosinófilos por campo de alta ampliação (sendo este definido por uma ampliação de 400x) (3).

A EoE é desencadeada, em grande parte, por antígenos alimentares. A doença foi inicialmente descrita há cerca de 3 décadas, afeta adultos e crianças e existe uma tendência epidemiológica transversal a vários estudos que evidencia um maior número de casos masculinos do que casos femininos (4). Esta patologia é caracterizada por sintomas de disfunção esofágica e histologicamente por um infiltrado eosinofílico e mastocitário (entre outras células), recrutadas por libertação de citocinas pró-inflamatórias e quimiotáticas no tecido esofágico, após iniciação da inflamação por contacto com alérgenos exógenos (5).

Os doentes com EoE apresentam, habitualmente, bom estado geral de saúde, mas têm invariavelmente algum grau de disfagia. Aquando da ingestão de alimentos sólidos, podem também surgir sintomas agudos de disfunção motora e estenose esofágica com impactação alimentar, podendo resultar em episódios de bólus, situação que é uma emergência médica (6).

Apenas um terço dos doentes com EoE não tratada apresenta sensação de obstrução prolongada; a maioria dos doentes cria estratégias alimentares para lidar com a sintomatologia, tais como a evicção de carne e pão, mastigação lenta e auxílio da deglutição com líquidos (6). Os sintomas da EoE estão relacionados com uma disfunção esofágica e consistem maioritariamente em disfagia, impactação alimentar, dor abdominal, náuseas e vómitos (4); no entanto a semiologia é também dependente da idade, sendo mais específica nos adultos (7).

Nos bebés, a presença de EoE muitas vezes é apenas perceptível através de uma perda ponderal e por dificuldades inespecíficas na alimentação (8). Relativamente às crianças e adolescentes, estes exibem maioritariamente dor abdominal, problemas alimentares, baixo desenvolvimento estatural e ponderal, enquanto que os adultos têm queixas de disfagia, principalmente na ingestão rápida de alimentos sólidos e secos, dor torácica ocasional, e quadro de impactação espontânea alimentar, que pode incluir odinofagia e regurgitação (6). A impactação alimentar é uma emergência médica muito típica da esofagite eosinofílica, sendo apenas encontrada em doentes de outras patologias como cancro esofágico, anel de Shatzki ou estenoses pépticas e muito raramente encontrado em doenças da motilidade esofágica como o esófago quebra-nozes (9, 10), uma dismotilidade esofágica caracterizada por contrações do músculo liso do esôfago em amplitude ou duração excessiva, mas com sequência normal.

Aquando da avaliação clínica, a inspeção geral é habitualmente normal, e pode ou não estar presente eosinofilia no sangue periférico, pelo que o exame de eleição para estabelecimento de um diagnóstico definitivo é a endoscopia com biópsia esofágica (3).

A EoE está associada a fibrose da mucosa esofágica, formação de estenoses e perturbação da motilidade esofágica, embora a aparência macroscópica na endoscopia possa ser normal em cerca de 1/3 dos casos da população pediátrica (4, 11).

Uma das razões que fez com que esta doença fosse inicialmente catalogada como mediada por IgE foi a associação a comorbilidades atópicas, entre elas a asma, a rinoconjuntivite e as alergias, quer alimentares, quer a aeroalérgenos (1). Um estudo observacional prospetivo recentemente realizado em Espanha reportou a presença de eosinofilia sanguínea em 60% dos doentes, elevação da proteína catiónica eosinofílica e de IgE total em cerca de 88% e 77% dos casos, respetivamente, numa amostra populacional constituída por 35 crianças e adolescentes, de 4 a 16 anos (12).

Cerca de 70% dos doentes do estudo referido têm ou já tiveram alguma doença alérgica ou testes *Prick* positivos para algum tipo de antigénio alimentar, evidenciando a forte componente de associação de doenças do espectro atópico com a EoE (12).

A evidência científica sugere o envolvimento de uma parte ambiental e de uma parte genética no desenvolvimento da esofagite eosinofílica. Por exemplo, existem relatos de associação da EoE a doenças genéticas mendelianas como as doenças hereditárias do colagénio, nomeadamente a síndrome de Ehlers-Danlos e Marfan, com uma incidência de 1% (13). Outras patologias associadas à EoE incluem perturbações da motilidade esofágica, confirmadas por manometrias esofágicas realizadas em doentes com EoE, como por exemplo o esfago quebra-nozes, já referido, a acalásia e o espasmo esofágico difuso (14). Todavia, esta associação das doenças de motilidade esofágica com a EoE ainda não é clara. A sua presença poderia justificar-se pela existência de menor complacência devido à fibrose sub-epitelial extensa em doentes de EoE de longa data e também por uma diminuição da resposta à estimulação neuronal, consequência do processo inflamatório crónico.

O diagnóstico diferencial da EoE faz-se maioritariamente com a doença de refluxo gastroesofágico (DRGE), uma das várias patologias cujos sintomas e histologia mais se assemelham à da EoE. A esofagite eosinofílica que responde a bloqueadores da bomba de prótons (EoE PPI-R), a síndrome primária hipereosinofílica, a esofagite induzida por medicação, as doenças infecciosas do trato intestinal, a doença inflamatória intestinal e as neoplasias primárias do esfago ou metástases, são entidades a considerar (15).

Quando existe eosinofilia periférica, é importante excluir a presença da síndrome primária hipereosinofílica. Esta doença mieloproliferativa é caracterizada pela produção excessiva e idiopática de eosinófilos na medula óssea com eosinofilia periférica persistente, associada à lesão de órgãos pela libertação de mediadores eosinofílicos.

Esta síndrome é mais comum em homens do que em mulheres e tende a ocorrer entre as idades de 20 e 50 anos. Embora possa haver envolvimento de múltiplos sistemas orgânicos, o coração, o sistema nervoso central, a pele e o trato respiratório estão mais frequentemente afetados. O envolvimento do trato gastrointestinal é muito raro e poucos casos de síndrome com gastrite ou enterite foram relatados, sendo que até ao momento, o envolvimento do esôfago foi relatado apenas uma vez em todo o mundo.

De difícil distinção comparativamente à EoE é a esofagite eosinofílica que responde a bloqueadores da bomba de prótons (EoE PPI-R). Após estabelecimento de existência de EoE, com a visualização de 15 ou mais eosinófilos por campo de alta ampliação numa amostra obtida por biópsia de um segmento esofágico, é necessário a realização de uma prova com inibidores da bomba de prótons (IBPs) para descartar a hipótese de EoE PPI-R, antes do diagnóstico definitivo (3). Esta patologia, como falaremos adiante, ainda é alvo de grande discussão na comunidade científica, na medida em que certos autores referem poder ser uma fase evolutiva da EoE e outros defendem ser patologias distintas.

O prognóstico da EoE ainda é difícil de estabelecer com exatidão, devido ao curto tempo de reconhecimento da doença e da percepção dos mecanismos subjacentes. Um estudo longitudinal seguiu 30 doentes até um máximo de 11 anos, com uma média de 7.3 anos, e, apesar dos episódios esporádicos e recorrentes de disfagia, não se verificou eosinofilia sanguínea correlacionável com agudizações da doença e também não se objetivou extensão da eosinofilia tecidual a outros segmentos do trato gastrointestinal, nem anomalias/carências nutricionais ou relação com o desenvolvimento de neoplasia esofágica (16).

Este trabalho tem como objetivo a revisão da literatura científica mais recente, relacionada com fisiopatologia da esofagite eosinofílica, de forma a integrar e sistematizar toda a informação pertinente.

## 5. Materiais e métodos

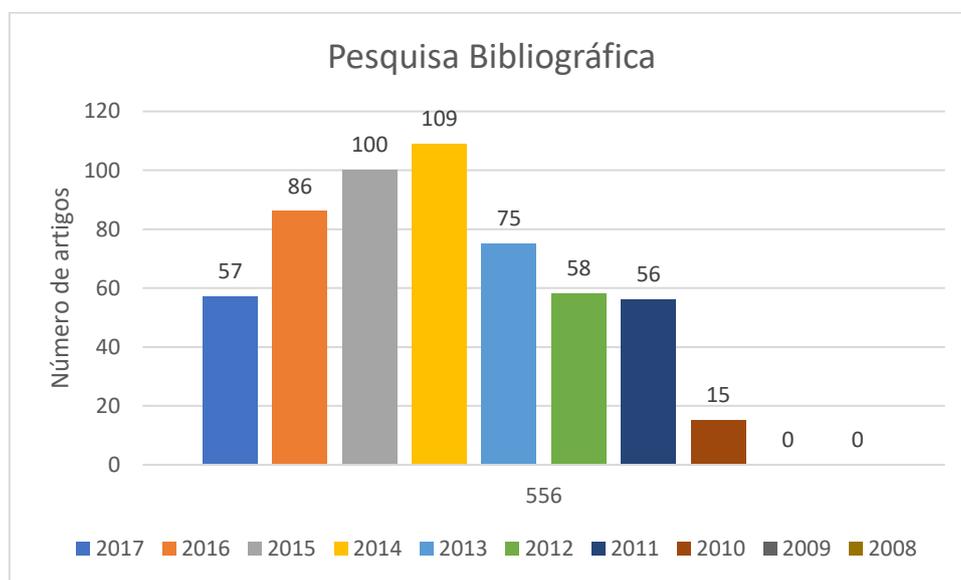
A pesquisa bibliográfica foi realizada utilizando a base de dados PubMed com a equação de pesquisa “eosinophilic esophagitis/pathology OR eosinophilic esophagitis/etiology”. Assim, os termos MeSH utilizados foram “eosinophilic esophagitis/pathology” e “eosinophilic esophagitis/etiology”, com o intuito de não excluir qualquer artigo que abordasse a fisiopatologia da esofagite eosinofílica, tendo em conta que alguns artigos apenas incluíam um dos termos na sua descrição.

À equação referida foram aplicados alguns filtros, nomeadamente a inclusão de trabalhos publicados apenas na língua portuguesa ou inglesa, entre 1 de janeiro de 2008 até ao presente, e adicionalmente foi definida a inclusão de apenas artigos com *abstract* disponível. Os filtros como a “espécie humana” e “outros animais”, tipo de artigo, entre outros, foram deixados em branco, incluindo-se na pesquisa todos os artigos possíveis.

Foram obtidos (Gráfico 1) 556 artigos na data de 10/01/2018 e, após leitura dos títulos, foram selecionados 200 possivelmente relevantes para o contexto deste trabalho e para subsequente leitura dos *abstracts*. Destes 200 artigos, apenas foram posteriormente selecionados 55, sendo que seis destes foram excluídos por indisponibilidade de texto integral, e os restantes 145 foram excluídos devido à pouca relação com o tema pretendido. Assim, a pesquisa final resultou em 49 artigos.

Embora não cumprissem os critérios de inclusão da pesquisa, foram adicionados mais 30 artigos para leitura e referência porque, aquando da análise dos artigos abrangidos na pesquisa, foi percecionada a sua importância para a contextualização e conhecimento do tema. Posteriormente, foram incluídos mais 10 artigos cuja data de publicação precedia a da pesquisa realizada, mas que também eram importantes como antecedentes investigacionais, consensos e outros, para a perceção do tema na sua globalidade.

A base bibliográfica deste trabalho consistiu então em 89 artigos.



**Gráfico 1** – Distribuição temporal do número de artigos encontrados na pesquisa realizada dentro da base de dados PubMed.

## **6. Resultados**

### **6.1 Epidemiologia**

Nas últimas duas décadas verificou-se um aumento da incidência e prevalência da EoE e acredita-se que isto se deve a uma melhoria nos métodos e critérios de diagnóstico. No entanto, o marcado aumento na incidência parece ser maior do que o explicável simplesmente pelo maior reconhecimento da doença e maior número de endoscopias realizadas (17). Por outro lado, este aumento da incidência e prevalência da EoE seria demasiado rápido para uma causa exclusivamente genética, e aponta para uma causa ambiental como a etiologia principal da EoE (5, 18). De forma que, uma explicação adicional para o aumento da incidência é o aumento concomitante de doenças atópicas que tem existido no mundo ocidental, sugerindo uma estreita relação epidemiológica entre estas doenças.

Na EoE tem-se persistentemente verificado uma maior afetação do sexo masculino, com uma incidência cerca de 3 a 4 vezes superior à verificada no sexo feminino (4); para além disto, a EoE é mais frequente em caucasianos do que noutras etnias. Embora seja uma doença rara, com cerca de 0,5 a 1 casos por 1 000 indivíduos, em todos os doentes com sintomas de disfagia submetidos a endoscopia digestiva alta, a prevalência de EoE sobe para valores de 12 a 23%; no caso dos doentes que chegam ao serviço de urgência com sintomas de impactação alimentar, a EoE é identificada em pelo menos 50% destes, revelando ser um diagnóstico a considerar nos doentes com estes sintomas (5).

A nível de distribuição geográfica, verifica-se uma maior concentração de casos em países do Ocidente, áreas urbanas e em zonas de climas mais frios, comparativamente a climas tropicais ou zonas áridas, sugerindo também uma relação entre o clima e a doença (19).

Segundo estudos recentes, a prevalência da EoE na população geral varia entre um mínimo de 4 casos por 100 000 habitantes na Holanda, até um máximo de 60 casos em 100 mil habitantes, nos Estados Unidos da América (12, 18). Isto é consistente com o verificado nos restantes países europeus, sendo que estudos realizados em Espanha e Suíça apontam para uma prevalência de 45 e 43 casos por 100 000 habitantes, respetivamente (18).

A EoE é observada em cerca de 1,8% a 2,3% de familiares, dependendo do seu grau e sexo, com maiores valores de incidência no sexo masculino; embora haja uma alta incidência de EoE em membros mais próximos da mesma família (herdabilidade familiar nuclear de cerca de 72%), provou-se que o ambiente partilhado tem, pelo menos, igual importância no desenvolvimento da doença, tendo em conta a análise de concordância entre gémeos monozigóticos e dizigóticos (20).

Este recente estudo coorte de grandes dimensões mostrou uma concordância de 58% em gémeos monozigóticos, comparada com uma concordância de 36% em gémeos dizigóticos e uma total herdabilidade genética de 99,5%; perante esta enorme taxa foram testados diferentes modelos de cálculo de herdabilidade, de forma a certificar a veracidade dos achados iniciais, e um modelo que separava a herdabilidade genética da ambiental surgiu com uma melhor taxa de adaptação à distribuição dos dados, através de teste qui-quadrado (20).

Com efeito, a herdabilidade genética total foi estimada no valor de 14,5%, – uma taxa muitíssimo menor que a encontrada inicialmente – tendo em conta o viés de ambiente partilhado, que ocorreu em 81% dos casos; assim, este estudo indica-nos que a etiologia da EoE se deve, em pequena parte, a alterações genéticas hereditárias, mas sugere que o contexto de meio ambiental partilhado deverá ser o maior responsável pelo risco de doença (20).

Dentro das contribuições ambientais partilhadas está a exposição precoce a antigénios exógenos e a alteração do microbioma. O uso de antibióticos durante a infância, nascimento por cesariana, parto pré-termo, estação do ano do nascimento, amamentação, e alterações do microbioma já foram identificados como fatores que afetam o desenvolvimento da EoE (11).

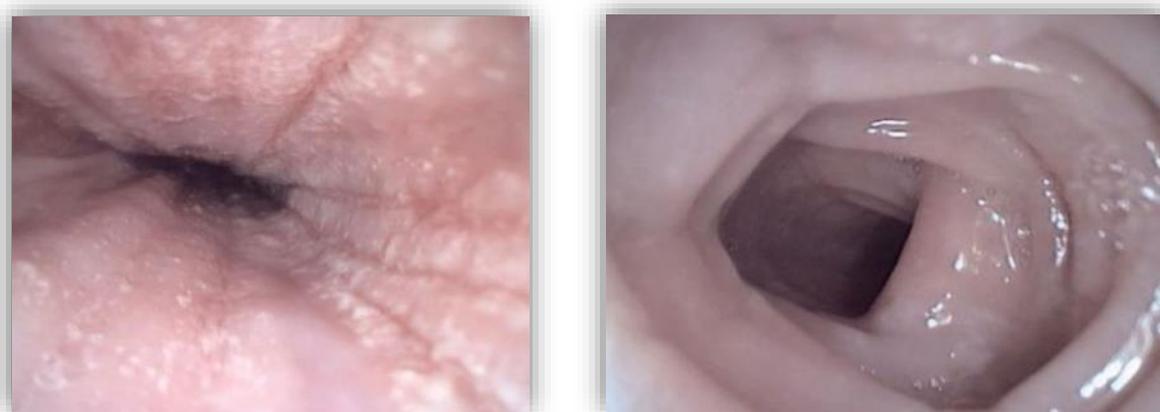
Embora ainda não se conheçam os mecanismos específicos através dos quais estas e outras exposições no início de vida modificam o risco de doença, todos eles afetam o microbioma, que influencia o desenvolvimento do sistema imunitário e o desenvolvimento de atopia – por exemplo, os produtos bacterianos estimulam a produção de citocinas como a linfopoetina estromal tímica (TSLP) e a interleucina 33 (IL-33), que induzem e ativam eosinófilos, envolvidos na EoE e nas doenças atópicas (11).

Tanto os alérgenos aéreos como os alimentares já foram implicados na fisiopatologia da esofagite eosinofílica e, considerando-os como exposição ambiental, as diferenças em práticas de cultivo, modificação genética alimentar, empacotamento, uso de antibióticos ou hormonas nos alimentos poderão ser causas a considerar de forma a justificar o aumento exponencial da incidência e prevalência (18).

## 6.2 Aspeto endoscópico

A mucosa do esófago de doentes com esofagite eosinofílica pode ter aparência normal, particularmente na população pediátrica, estimando-se que estes casos perfaçam cerca de 1/3 de todos os casos de EoE pediátrica (21), o que, por um lado, dificulta o diagnóstico da patologia mas, por outro, é demonstrativo da possibilidade de uma deteção mais precoce da doença, e consequentemente melhor prognóstico, tendo em conta que é possível aplicar tratamento antes do aparecimento das alterações fibróticas e estenóticas, de mais difícil gestão.

Certas alterações observadas na endoscopia (Figura 1) caracterizam o perfil de cronicidade, remodelação/fibrose esofágica da EoE, como mucosa pregueada, anéis ondulados (traquealização esofágica), perda de elasticidade, estrangulamentos e estenoses (2, 22). Os sulcos longitudinais, edema e nódulos/exsudatos brancos indicam um processo inflamatório de instalação aguda (14). Hirano et al reportou uma boa concordância entre o diagnóstico formal de EoE e a presença de anéis, sulcos e exsudatos, o que faz com que estas alterações sejam importantes achados a observar em doentes com suspeita de EoE, principalmente na população adulta (14).



**Figura 1** – Achados endoscópicos da EoE. Na figura da esquerda verifica-se inflamação aguda com edema, exsudato branco e sulcos. Na figura da direita constatam-se estenoses numa EoE de longo curso. Adaptado de Simon et al “Current concepts in eosinophilic esophagitis” (6).

### 6.3 Histopatologia

Estudos histológicos efetuados em doentes com EoE revelam quatro alterações de grande importância: infiltração eosinofílica difusa da mucosa ao longo de todo o esófago; hiperplasia das células basais; fibrose sub-epitelial e hipertrofia muscular (23) – Tabela 1.

A infiltração eosinofílica é facilmente reconhecida em secções de tecido, fixado em formalina e corado com hematoxilina e eosina; frequentemente, as biópsias esofágicas no momento do diagnóstico de EoE demonstram um grande número de eosinófilos intraepiteliais que podem formar abscessos, e se alinham paralelamente à superfície luminal (24).

A fibrose sub-epitelial, hiperplasia de células basais e a hipertrofia muscular, quando proeminentes, resultam nos sulcos longitudinais característicos, observados na endoscopia esofágica destes doentes (22). Observa-se também um importante aumento dos espaços intercelulares no epitélio esofágico, quando comparamos biópsias de doentes com inflamação ativa relativamente a doentes tratados e em remissão, sugerindo tratar-se de uma alteração epitelial específica de um processo inflamatório agudo (22).

Endoscopia		Histologia
<b>Alteração tecidual</b>	<b>Interpretação</b>	<b>Alteração tecidual</b>
Exsudato	Inflamação aguda	Infiltração eosinofílica
Edema	Inflamação aguda	Espaços intercelulares aumentados
Sulcos longitudinais	Inflamação aguda	Hiperplasia da zona basal
Anéis	Remodelação/fibrose	Hipertrofia muscular
Estenoses	Remodelação/fibrose	Fibrose da lâmina própria

**Tabela 1** – Principais características endoscópicas (com respetiva interpretação) e histológicas da EoE. Adaptado de Simon et al “Current concepts in eosinophilic esophagitis” (6).

#### **6.4 Via de sensibilização**

Estudos indicam que, nos humanos, os antigénios alimentares têm um papel fulcral na EoE, tanto na iniciação da inflamação eosinofílica, como na sua manutenção; em 1995, Kelly et al. realizou um estudo no qual uma restrição alimentar a incluir apenas uma fórmula elementar hipoalérgica mostrou uma remissão parcial ou total de EoE em crianças, sugerindo o papel dos alimentos como etiologia possível (25).

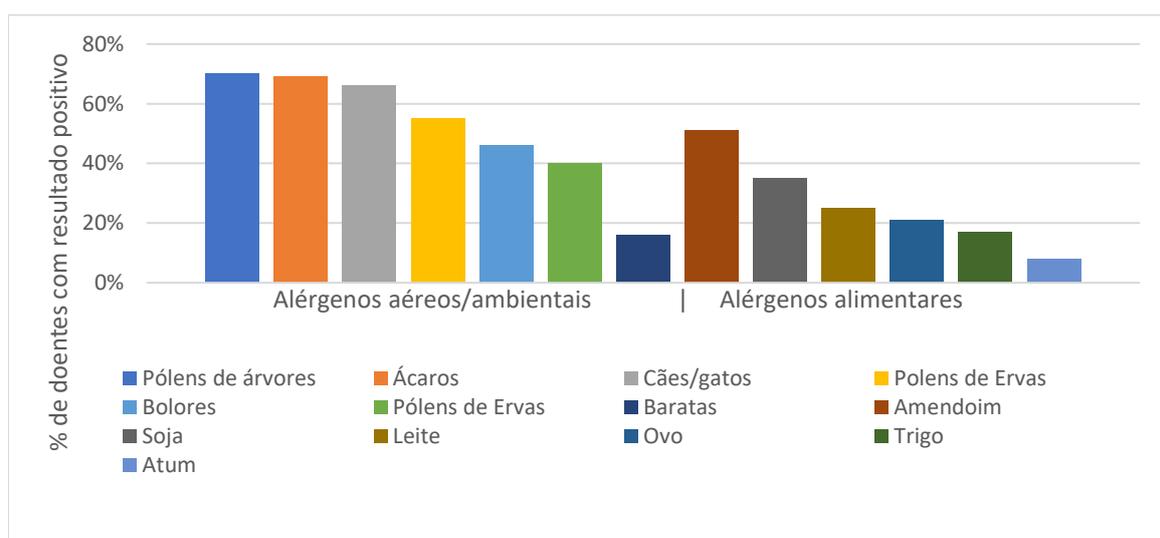
Para além dos antigénios alimentares, os antigénios aéreos têm também um papel importante quer por causalidade direta ou por correlação com a atividade da doença. Vários estudos apontam para a variação da frequência de diagnóstico da EoE consoante a estação do ano, com maior número de casos diagnosticados nos meses de Primavera ou Outono, sugerindo uma associação da doença com alergias ambientais, nomeadamente ao pólen. Um hipotético mecanismo para a EoE induzida por aeroalergénios é a deposição de pólen na orofaringe, seguida de deglutição das secreções contendo alergénios e com apresentação dos mesmos a nível do esófago (26). As comorbilidades alérgicas mais frequentes em doentes com EoE incluem poléns de várias origens (Gráfico 2), o que contribui para a validação desta teoria.

Apesar da grande relação entre a esofagite eosinofílica e as comorbilidades alérgicas/atópicas, não parece haver uma resposta imediata clássica mediada por imunoglobulina E (IgE) na base da fisiopatologia da EoE. Estudos com sensibilização antigénica em ratos deficientes em linfócitos B e IgE demonstraram que estes continuaram a manifestar EoE experimental, pondo em evidência a independência direta da esofagite eosinofílica aos mecanismos de hipersensibilidade tipo I (27, 28).

Para comprovar a fraca correlação etiológica por mecanismos de alergia clássica, o tratamento monoclonal anti-IgE com omalizumab foi demonstrado não ser eficaz na EoE num estudo randomizado com controlo (RCT) realizado por Clayton et al (29).

Embora tenha havido alguma diminuição da eosinofilia esofágica, esta não foi significativamente reduzida e os sintomas mantiveram-se inalterados (29). Neste mesmo estudo foram observados níveis muito elevados de imunoglobulina G4 (IgG4) nos doentes com EoE relativamente aos controlos, e embora não se tenha demonstrado uma relação necessariamente causal, tal observação abriu espaço a mais investigações no sentido de apurar a sua relação com a fisiopatologia da EoE (5).

Olson A.A. e colegas demonstraram que não há diferença clínica, diferença a nível sintomático ou da duração dos sintomas, severidade da doença, achados endoscópicos, resposta a tratamento e prognóstico quando comparamos doentes com EoE com hipersensibilidade a alimentos, com aqueles sem qualquer hipersensibilidade IgE (30). Isto leva a crer que o “trigger” para a doença poderá não ser, necessariamente, apenas via oral, mas também por sensibilização com aeroantígenos. Isto foi demonstrado num estudo realizado em ratinhos, no qual se induziu EoE experimental através da exposição a aeroalergénios de *Aspergillus fumigatus* via intranasal, tendo despoletado uma resposta com infiltração eosinofílica no esófago; não houve, no entanto, a mesma resposta obtida nos ratinhos aquando da inoculação alérgica somente na cavidade oral ou estômago (31).



**Gráfico 2** – Sensibilidades alérgicas (IgE) nos doentes com EoE. Adaptado de Olson et al “Role of food and aeroallergen sensitization in adult eosinophilic esophagitis (30).

## 6.5 Inflamação Th2

Os primeiros estudos a tentar ilustrar a fisiopatologia da EoE foram realizados em modelos animais e, de uma forma geral, apontavam para uma inflamação mediada por alérgenos como a causa chave para a doença (31).

Foi também testada a capacidade da mesma inflamação se verificar apenas com citocinas produzidas por linfócitos Th2 ou, alternativamente, após introdução antigénica cutânea seguida de introdução antigénica na via aérea da mesma substância (32). Este conjunto de trabalhos experimentais iniciais permitiu demonstrar que a EoE é causada por uma resposta anormal de linfócitos Th2 ao estímulo alérgico (33). Da inflamação Th2 resulta a produção de citocinas pro-inflamatórias e quimiotáticas, como por exemplo a interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5) e interleucina 13 (IL-13), moléculas que se demonstrou estarem consistentemente elevadas em doentes com esofagite eosinofílica (34).

A IL-5 promove a produção e diferenciação de eosinófilos medulares. Os eosinófilos e basófilos têm uma célula progenitora de linhagem comum mieloide (Eo/B) que na medula óssea se diferencia em eosinófilo por ação da IL-5. Estudos em ratos sem IL-5, por exemplo, têm um menor recrutamento eosinofílico e uma subsequente doença de menor gravidade, com menores modificações fibróticas no tecido esofágico (35), evidenciando relação entre a remodelação esofágica e a presença de eosinofilia. De forma a avaliar o papel dos eosinófilos foi também testada a remodelação esofágica em ratos transgênicos e deficientes em eotaxina-1 (uma potente quimoquina recrutadora de eosinófilos), tendo-se obtido uma redução significativa na espessura de colagénio no estrato basal e na lâmina própria esofágica (35) – comprovando assim a associação direta da remodelação esofágica com a presença eosinofílica, não dependente de outros mecanismos relacionados com a IL-5.

Relativamente à IL-13 pensa-se que a sua função reside na alteração da permeabilidade da barreira epitelial do trato gastrointestinal, tornando-a franqueável por células inflamatórias como eosinófilos, basófilos e mastócitos (36). De forma semelhante à IL-5, a IL-13 induz remodelação esofágica em ratos, de uma forma dependente de eosinófilos e a sua ausência resulta num menor número de alterações histológicas do tecido (37).

A IL-4 é uma molécula reguladora chave na imunidade humoral e adaptativa. A função desta citocina está intimamente relacionada à IL-13 e está associada a várias doenças alérgicas. A IL-4 induz a diferenciação de células T auxiliares naïve (células Th0) em células Th2, que, após ativação, produzem IL-4 adicional num ciclo de *feedback* positivo (38). Outros papéis biológicos incluem a estimulação da proliferação de células B e células T, indução da mudança de classe de imunoglobulinas e regulação positiva da produção de complexo de histocompatibilidade *major* de classe II, expressão de moléculas de adesão celular vascular e promoção da transmigração eosinofílica através do endotélio (39, 40).

A esofagite eosinofílica é muitas vezes comparada a doenças alérgicas clássicas e com bom motivo. Embora os processos subjacentes não sejam sobreponíveis na sua totalidade e já se tenha provado a sua independência relativamente à IgE, muitas das cascatas inflamatórias são idênticas às verificadas em outras doenças com resposta linfocítica Th2 (27, 28). De facto, o fator característico da inflamação alérgica é uma resposta epitelial do tecido inflamado às citocinas IL-4 e IL-13. A ligação destas citocinas pro-atópicas com o seu recetor comum  $4\alpha$  (IL-4R $\alpha$ ), existente em células epiteliais de múltipla origem (pele, mucosa nasal, tecido esofágico e epitélio intestinal), causa a fosforilação do transdutor de sinal e ativador de transcrição tipo 6 (STAT6) – uma proteína com papel na diferenciação linfócitos Th2, expressão de marcadores de superfície celular e mudança de classe de imunoglobulinas, que ativa vias de sinalização que culminam na clássica inflamação alérgica (41).

Da ação das vias inflamatórias Th2 resulta uma disfunção da barreira epitelial, alteração da produção e ativação do fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ), da linfopoetina estromal tímica (TSLP), eotaxina-3 (CCL26), calpaína-14 (CAPN14) e filagrina (FLG), apenas para mencionar algumas das mais estudadas (4, 42). A desregulação destas citocinas tanto poderá estar na gênese da inflamação como também poderá levar à perpetuação da mesma. A citocina TGF- $\beta$  é uma importante reguladora de várias atividades celulares e, embora ainda não se conheça todos os mecanismos nos quais atua, sabe-se que tem importância clínica em situações de inflamação, doenças autoimunes e neoplásicas.

Sabe-se também que a TSLP desempenha um papel importante na maturação das populações de células T através da ativação de células apresentadoras de antígenos e que a eotaxina-3 é uma citocina produzida pelo tecido epitelial que recruta eosinófilos (43, 44). Relativamente à função da CAPN14 e FLG, a mesma está relacionada com a integridade da barreira esofágica, no caso da CAPN14, e epidérmica, no caso da FLG (42, 45, 46).

Para além das funções de alteração direta da permeabilidade de barreira, a IL-13 tem efeito positivo na ativação da periostina, uma proteína da matriz extracelular que promove a acumulação de eosinófilos nos tecidos e baixa a expressão de FLG, afetando a barreira epitelial, causando uma exposição acrescida a antígenos e maior predisposição a EoE (47).

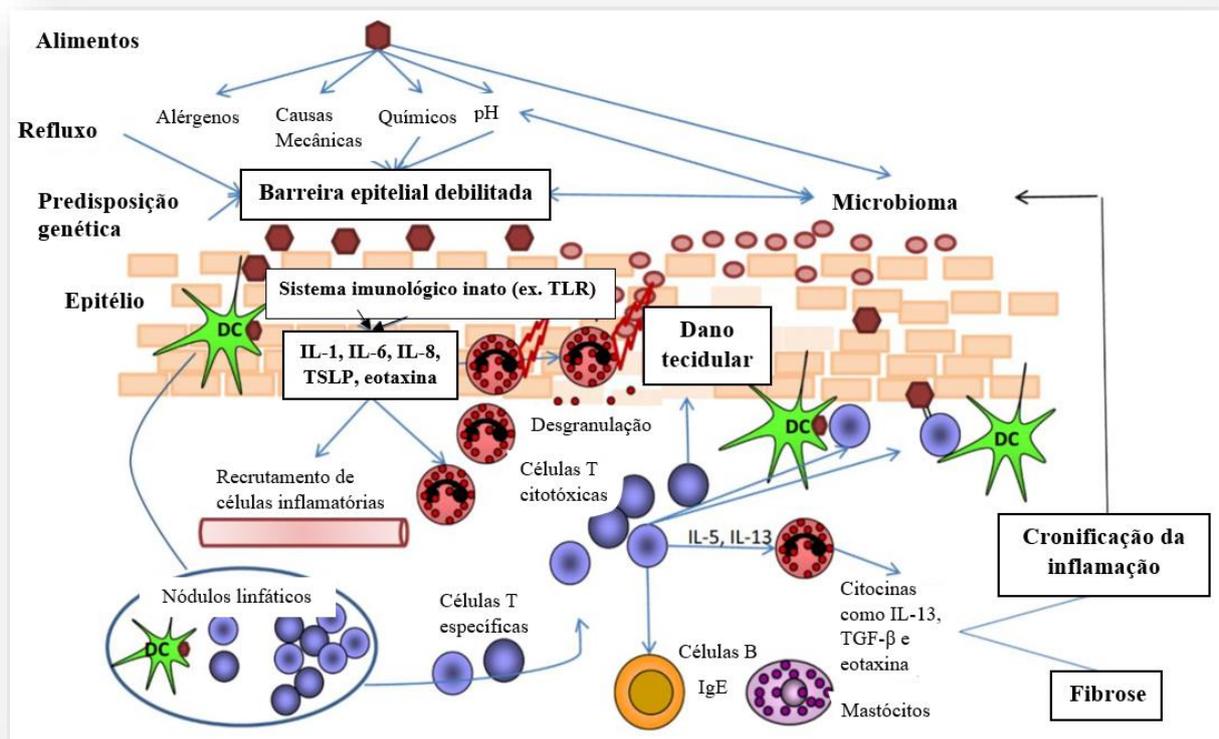
Qualquer uma das 3 interleucinas já referidas (IL-4, IL-5 e IL-13) pode causar aumento da eotaxina-3 (uma quimoquina recrutadora de eosinófilos), quer diretamente no caso da IL-5 e IL-13, quer indiretamente através da intervenção na diferenciação de células T em Th2 e consequente estimulação da libertação de eotaxina-3 (48). Estudos demonstram que a eliminação de mediadores da cascata alérgica Th2, tal como a IL-4, IL-5 ou IL-13, oferece alguma (mas não completa) proteção, verificada a nível histológico, contra o desenvolvimento de EoE experimental (49).

O modelo teórico apresentado na Figura 2 reúne as interações entre as moléculas referidas, como a TSLP, eotaxina-3 e interleucinas, tendo por base uma alteração da barreira epitelial e a inflamação Th2, como possível explicação fisiopatológica da EoE.

Um outro fator a favor da inflamação Th2 como base da fisiopatologia é a objetivação de que a existência de linfócitos T normais é crítica para esta doença, na medida em que ratos sem linfócitos B desenvolvem EoE normalmente, enquanto que aqueles sem linfócitos T já não desenvolvem esofagite eosinofílica experimental (27).

Interpretando estes dados, é possível dizer que, para ocorrer EoE, é necessária uma população normal de linfócitos T, com função mantida, e ocorrência de um estímulo excessivo, que poderá advir da deficiente barreira epitelial, após o qual existe sobreprodução e diferenciação linfocítica Th2 com conseqüente acumulação eosinofílica no tecido esofágico.

Ainda não existe muito conhecimento relativo às conseqüências da inibição da IL-4 na EoE, mas estudos acerca desta perspectiva terapêutica estão atualmente a ser realizados. Relativamente à terapêutica *versus* IL-13, os anticorpos monoclonais anti-IL13 demonstraram diminuir a eosinofilia em cerca de 60%, baixando também a produção de eotaxina-3, periostina e outros mediadores inflamatórios (50). Estes factos comprovam a relação destas moléculas com a fisiopatologia base da doença, para além da possível e importante aplicabilidade dos mesmos na prática clínica.



**Figura 2** – Patogênese da EoE. A predisposição genética leva a um comprometimento da barreira quando combinada com variadas agressões como pH, agressões mecânicas, químicos e alérgenos. Há uma consequente entrada de antígenos, reconhecimento por células dendríticas (DC) e ativação do sistema imunológico inato e adaptativo, com produção e liberação de TSLP, eotaxina e interleucinas. Os eosinófilos recrutados libertam grânulos tóxicos e consequente dano celular. As células T diferenciadas e recrutadas para o tecido libertam IL-5 e IL-13 que, em conjunto com os eosinófilos, causam maior liberação de IL-13, TGF- $\beta$  e eotaxina, num *loop* inflamatório. Os linfócitos B, de classe IgE, atuam no recrutamento dos mastócitos para o local que também libertam grânulos. A atuação conjunta destas células perpetua e cronifica a inflamação, causando fibrose tecidual e alteração do microbioma da superfície epitelial, tornando-a mais suscetível a uma nova agressão.

Adaptado de Simon et al “Current concepts in eosinophilic esophagitis” (6).

## 6.6 Disfunção de Barreira

Certas moléculas constituintes da parede epitelial como a filagrina (FLG) e desmogleína-1 (DSG1), bem como proteases como a calpeína-14 (CAPN14), já foram relacionadas com a EoE, tanto num sentido de fator de risco para a génese da doença (por maior permeabilidade a antigénios), bem como consequência da desregulação imunológica, perpetuando a inflamação já existente.

Num estudo realizado por Davis BP et al, comprovou-se que a quantidade de mRNA de CAPN14 se correlacionava com a estimulação pela IL-13, sendo a única estimulada da família das calpaínas, e de uma forma paralela à estimulação da expressão de eotaxina-3 (51). Esta sobre-expressão implicou, neste estudo, uma disfunção de barreira que foi mensurada por uma menor resistência transepitelial e um maior fluxo de isotiocianato de fluoresceína (FITC) através das membranas epiteliais (51). De facto, a IL-13 está sobre-expressa na EoE e induz a perda de integridade de barreira das células epiteliais pois, para além da expressão aumentada de CAPN14, induz a perda de expressão da desmogleína-1 (DSG1) (36, 42).

A desmogleína-1 é uma glicoproteína transmembranar ligada a cálcio e é um componente essencial dos desmossomas (ou *macula adhaerens*) em células epiteliais de vertebrados, sendo que a sua disfunção afeta diretamente a função de adesão celular destas células especializadas, aumentando assim a permeabilidade do epitélio a microrganismos e antigénios.

A previamente referida diminuição da resistência transepitelial está provavelmente relacionada com a alteração da expressão de DSG1. Efetivamente, no mesmo estudo de Davis BP, foi verificada uma diminuição da banda de expressão de DSG1 em culturas epiteliais, na presença de grandes quantidades de CAPN14 (51).

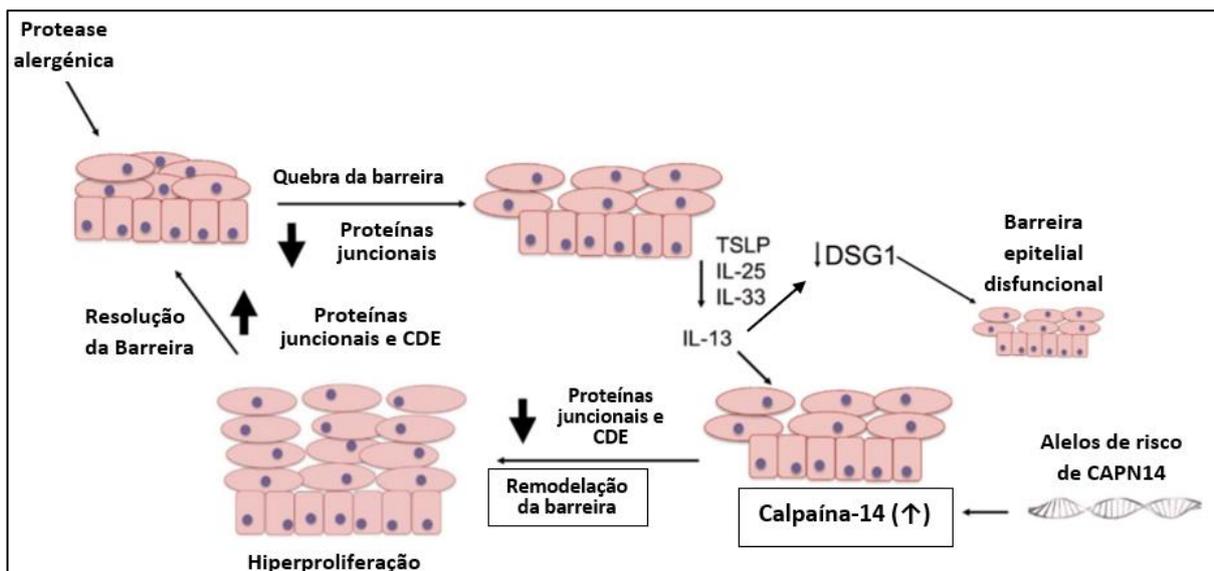
Isto leva a crer que o mecanismo de aumento de permeabilidade estará dependente de DSG1, diminuída pela maior expressão de CAPN14, e esta última provocada pela estimulação via IL-13 (Figura 3). No entanto, este efeito disruptor é parcialmente independente da estimulação por IL-13, visto que o silenciamento génico de CAPN14 (em culturas de células na presença de IL-13) levou a uma diminuição da banda imunofluorescente de DSG1, comparativamente a células *wildtype*, com expressão normal de CAPN14 (42, 51).

A CAPN14 não tem, no entanto, apenas papel patológico. O silenciamento da expressão desta molécula resultou numa dilatação dos espaços intercelulares e numa maior desordem das células basais, num ambiente de cultura rico em IL-13; isto sugere um papel chave da CAPN14 na regulação e na reparação de lesões celulares, atenuando as consequências das alterações epiteliais verificadas na EoE (51). O papel regulador e protetor da CAPN14 explica também o porquê de o alelo de risco para EoE estar associado a menor expressão de CAPN14, embora se verifique uma sobre-expressão aquando da doença ativa, suportando um modelo no qual a CAPN14 está envolvida em vários aspetos da doença, incluindo suscetibilidade, indução e reparação (11).

A deficiência em DSG1 leva a um transcrito epitelial esofágico com aumento da expressão da periostina (POSTN), uma molécula pro-inflamatória de matriz extracelular, e também a um aumento de produção de TSLP (51). Assim, temos um modelo fisiopatológico que integra um fator de risco genético correspondente ao alelo de risco CAPN14 que induz uma disfunção da barreira epitelial em relação com a diminuição de desmogleína-1 (DSG1), maior permeabilidade a antigénios e consequentemente uma maior hipersensibilidade a antigénios, com especificidade a nível de tecido esofágico, com consequente exacerbação de resposta inflamatória Th2, basofílica e eosinofílica com aumento de eotaxina-3 e TSLP, respetivamente (51).

Uma outra molécula também relacionada com a integridade de barreira é a sinaptopodina (SYNPO), uma proteína inicialmente estudada em podócitos (52). Um estudo realizado por Rochman et al. comprovou que esta molécula também faz parte do epitélio esofágico, associada à actina do citoesqueleto (52). A sua expressão está aumentada na EoE, através de indução epigenética por IL-13, numa via dependente de STAT6 (52). Em biópsias, o tratamento anti-IL-13 fez com que as quantidades de SYNPO regressassem ao normal; por outro lado, a indução experimental da expressão de SYNPO no tecido epitelial esofágico levou a um decréscimo da motilidade epitelial, menor resistência transepitelial, aumento do fluxo de FITC, e perda de diferenciação esofágica (52).

Mais do que implicados na fisiopatologia da EoE, os níveis de sinaptopodina correlacionam-se com a severidade da doença, estando aumentados de forma proporcional ao número de eosinófilos em biópsias esofágicas (52). Tal como a alteração de DSG1 e CAPN14, a alteração dos níveis de SYNPO resultam num epitélio com junções intercelulares com espaço aumentado, e resistência transepitelial diminuída, permitindo maior penetração antigénica e amplificando a resposta inflamatória.



**Figura 3** – Indução da CAPN14 pela IL-13. A estimulação da CAPN14 pela IL-13 causa uma diminuição da expressão de desmogleína-1, menor função de barreira e aumento da resposta Th2. Adaptado de Durrani et al “Recent advances in eosinophilic esophagitis” (53).

## 6.7 Interligação entre a disfunção de barreira e a inflamação Th2

A EoE habitualmente coexiste com outras doenças atópicas, nomeadamente a dermatite atópica. O compromisso da barreira dérmica, também presente em doentes com dermatite atópica, já foi sugerida em vários estudos como um possível ponto de entrada de antígenos e fonte de sensibilização alérgica, despoletando o desenvolvimento de EoE (32, 46).

Num estudo realizado por Venturelli et al. foi procurado definir os mecanismos pelos quais ocorre a sensibilização epicutânea, através da qual é induzida a EoE. Ratinhos controlo e ratinhos com barreira dérmica deficiente (mutação “*loss-of-function*” de FLG) foram sensibilizados percutaneamente com ovalbumina (OVA) ou, noutra grupo de estudo, com solução salina e seguidamente realizado “*challenge*” intranasal com OVA a ambos os grupos, com aferição através de reação em cadeia da polimerase (PCR) dos níveis esofágicos de citocinas Th2 e do recetor IL-33 (46).

A IL-33 promove a inflamação Th2 ao ativar eosinófilos, basófilos, mastócitos e os próprios linfócitos-T *helper* tipo 2 através do recetor IL1RL1 (ST2) (46, 54). Esta relação íntima entre a IL-33 e a inflamação Th2 faz da molécula um bom marcador de atividade inflamatória na EoE. Certas variantes genéticas da IL-33 e do recetor ST2 já foram associadas ao perfil genético da EoE e da dermatite atópica, sugerindo a sua intervenção na patogénese destas doenças (46).

Outros estudos indicam que a supressão imunológica ou evitamento de alérgenos causam uma melhoria dos sintomas de EoE, sugerindo que a base da doença é mediada por uma resposta imunitária anormal. Tal como já foi referido, os linfócitos Th2 expressam IL-4, IL-5 e IL-13, que atuam no recrutamento de eosinófilos para o tecido esofágico através do aceleramento da diferenciação eosinofílica na medula óssea e também na indução da produção de eotaxina no epitélio (11, 49, 55).

Embora já se tenha conhecimento da importância destas moléculas, e desta via inflamatória na EoE, as terapêuticas dirigidas, anti-IL-5 ou anti-IL-13, apenas causaram modesta melhoria sintomatológica nos doentes, evidenciando a existência de mecanismos inflamatórios adicionais (50). No estudo de Venturelli concluiu-se que a sensibilização antigénica epicutânea prévia a um “*challenge*” nasal causava aumento na infiltração esofágica de eosinófilos, maiores níveis de mRNA de IL-4, IL-5, IL-13, IL-33 e ST2, maiores níveis de CCL26 e TSLP, comparativamente aos que tinham sido expostos apenas a solução salina (46).

Ainda relativamente à predisposição a EoE por disfunção de barreira, é relevante notar que mutações com perda de função do gene da filagrina (FLG), que codifica a proteína de barreira epitelial com o mesmo nome, já foram associadas a um aumento do risco para dermatite atópica e EoE, podendo ser o elo de ligação entre as duas doenças e suportando a hipótese de sensibilização cutânea comum (56).

De forma a testar a importância da via de sinalização IL-33-ST2, foi realizada a mesma experiência de sensibilização cutânea com OVA *versus* solução salina em murinos “*knockout*” para o gene ST2 e noutro grupo com tratamento através de anticorpos anti-ST2, tendo-se obtido resultados sobreponíveis de diminuição de acumulação esofágica de eosinófilos, IL-4, IL-5, IL-13 e mRNA de eotaxina-1 (CCL11), demonstrando desta forma a promoção de EoE experimental através de mediação pelo eixo IL33-ST2 (54, 56).

Por último foram sensibilizados ratos com mutação no gene FLG, tendo-se obtido uma maior acumulação de eosinófilos no tecido esofágico, quando comparados com o grupo controlo (de exposição a soro salino), e com os modelos expostos a OVA, mas com barreira íntegra, revelando a importância da barreira cutânea e as consequências da sua interrupção (por mutação em genes de barreira ou por distúrbio mecânico) com aumento de penetração alérgica, maior acumulação eosinofílica e consequente inflamação esofágica exagerada (56).

## 6.8 Estudos genéticos

Tem existido um enorme esforço por parte de investigadores de todo o mundo na procura da etiologia da esofagite eosinofílica, o que contribuiu para a compreensão da contribuição genética na patogénese da EoE. Tais estudos basearam-se, em grande parte, em estudos genéticos de famílias, em estudos de gémeos, estudos com sequenciação genética de última geração (NGS), estudos de associação genómica ampla (GWAS), entre outros.

Uma das formas mais fidedignas para se pesquisar a possível etiologia genética da esofagite eosinofílica é realizando estudos de associação genómica ampla (GWAS). Já foram publicados três estudos deste tipo (GWAS) relativamente à EoE, destacando-se a evidência de polimorfismos em 5q22, *locus* que contém o gene que codifica a TSLP, e a sua implicação na mediação de resposta por IL-13, de que se falará com mais pormenor adiante (57).

Nestes estudos GWAS foi também verificado um aumento da expressão do gene CAPN14, expresso unicamente no tecido esofágico – podendo elucidar a especificidade tecidual da EoE (58, 59). No mais recente GWAS, foram identificadas implicações da via STAT6 (60), já previamente associada a outras doenças atópicas e autoimunes. O fator STAT6 é um participante chave na via dependente por IL-4; após ativação pela IL-4, esta molécula controla a expressão do fator de transcrição GATA3 – o fator de transcrição principal da via linfocítica Th2 (60). É precisamente na via iniciadora STAT6 que vai atuar, de forma parcial, a terapêutica com IBPs. O conhecimento da importância desta via na patologia da EoE permite uma abordagem terapêutica com inibidores específicos, sobre a qual falaremos adiante (61).

Antes da existência deste tipo de estudos, aplicados à esofagite eosinofílica, já se tinha chegado à conclusão da existência de uma repetição do perfil genético nos doentes com EoE, independentemente do género, idade, estado atópico, padrão de herança familiar ou de aparecimento esporádico da EoE, sugerindo um mecanismo de doença comum (47).

A este perfil genético característico dos doentes de EoE, resultante da análise molecular realizada por Blanchard e colegas, deu-se o nome de transcriptoma da EoE. O perfil genético (ou transcriptoma) referido continha várias centenas de genes diferencialmente expressos (“*upregulated*” ou “*downregulated*”), sendo o gene mais expresso neste perfil genético o gene da eotaxina-3, com um aumento de cerca de 53 vezes relativamente a grupos controlo (47).

Com o intuito de aprofundar o conhecimento acerca da etiologia genética da doença foi realizado um primeiro GWAS, por Rothenberg e colegas. Antes deste estudo de associação genómica não se conhecia muito da etiologia genética da EoE, tendo então sido identificado o primeiro *locus* de suscetibilidade em 5q22 (57). Para além de ter sido implicado o gene TSLP, foi verificada uma elevada expressão de um outro gene (WDR36), no entanto este gene não estava tão sobre-expresso especificamente no tecido esofágico e não estava implicado na regulação de sensibilização alérgica, ao contrário da TSLP (57).

Era necessário garantir a associação específica entre a TSLP e a EoE, excluindo a ligação comum a comorbilidades atópicas que poderiam atuar como fator de confundimento na definição da etiologia da doença. Devido à presença de inúmeras comorbilidades alérgicas em doentes com esofagite, a correlação estatística entre a TSLP e a EoE, que se podia interpretar erroneamente como etiológica, poderia simplesmente dever-se a uma sobre-expressão relacionada com as doenças alérgicas concomitantes nos doentes, independente da esofagite eosinofílica (12, 62). Com o objetivo de certificar a associação entre o gene 5q22 (TSLP) e a EoE, bem como descartar a hipótese de este estar associado às comorbilidades atópicas referidas, foi concebido um estudo realizado por Sherrill et al (62). Neste estudo foi comparado um painel genético de cerca de 738 polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP) relacionados com afeções alérgicas entre doentes alérgicos, controlos não-alérgicos e doentes com EoE (62).

Além do esclarecimento da associação entre o gene 5q22 e a EoE, tentou-se neste estudo encontrar variantes genéticas inexploradas e relacionadas com a EoE, que estivessem significativamente sobre-expressas, comparativamente à expressão genética dos outros dois grupos. Assim, ao explorar a variação genética entre os vários grupos, foi encontrada uma interação específica de género em variantes de TSLP, bem como SNP não-sinónimas dentro do gene codificador do recetor de TSLP (TSLPR) na região pseudoautosómica Xp22.3 e Yp11.3 em doentes do sexo masculino com EoE, podendo explicar a predileção masculina observada epidemiologicamente na EoE (62).

Para além da associação entre o locus 5q22 (que contém o gene TSLP), encontrado pelo GWAS de Rothenberg e colegas, e confirmada sua associação com a EoE por Sherrill e colegas, num estudo genómico mais recente realizado por Kottyan foi encontrada uma nova associação com o *locus* 2p23 (58). Este locus contém o gene para a CAPN14, que foi encontrado com expressão aumentada na EoE, dinamicamente regulado em relação com a atividade da doença, e encontrando-se num *hotspot* epigenético que é modificado pela IL-4 e pela IL-13 (42, 58).

A calpaína-14, embora muito se desconheça acerca da sua função, sabe-se que faz parte da família das calpaínas. Estas moléculas atuam como proteases que alteram a estrutura e função dos seus substratos, incluindo reestruturação de proteínas membranares, alteração de vias transdutoras de sinais, inativação de enzimas, controlo da progressão do ciclo celular, alteração de expressão génica e indução de apoptose (51). Como previamente referido, a CAPN14 já foi associada a uma diminuição na expressão de desmogleína-1, num mecanismo parcialmente dependente de IL-13, traduzindo-se numa maior permeabilidade epitelial e maior entrada antigénica.

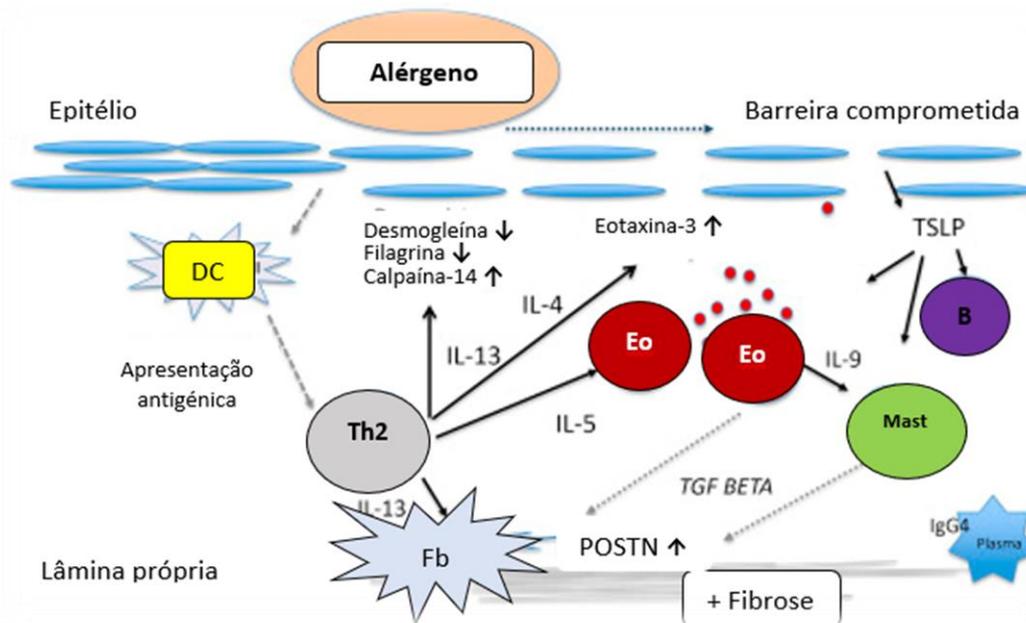
No mesmo estudo de Kottyan verificou-se também associação com outros *loci* não específicos, como o locus 11q13, local este que já tinha sido previamente associado a doenças atópicas como asma, dermatite atópica, rinite, e sensibilização a ervas gramíneas (58). No *locus* 11q13 situa-se o gene de repetição rica em leucina 32 (LRRC32), que está envolvido na expressão de TGF- $\beta$  e, como já mencionado, está implicado na patologia da EoE (58, 59).

Embora tenha sido verificado um notável aumento da expressão de genes relacionados com condições atópicas, estes apenas representam uma relativa percentagem do total de sobre-expressão génica verificada na EoE. Isto leva a crer que pelo menos parte do processo etiológico possa não estar relacionado com inflamação atópica, mas sim com outros processos ainda não totalmente esclarecidos.

Tal como previamente mencionado, já está identificada a importância do *locus* 5q22, que contém o domínio TSLP, e a sua forte relação com a EoE. De facto, TSLP é um forte mediador de respostas alérgicas Th2 e ativação basofílica (53). Esta molécula é produzida principalmente por células não hematopoiéticas tais como fibroblastos, células epiteliais e vários tipos de células estromais (43, 57). Relacionada com a TSLP está a citocina fator “*receptor-like*” tipo 2 (CRLF2).

Num estudo de genes candidatos, foi descoberta uma variante génica – 2p23 – associada a um maior risco de EoE em homens (11). Crê-se que a proteína expressa por este *locus* atua como recetor de TSLP e, para além de se poder integrar no modelo explicativo de EoE por inflamação Th2, poderá ser a causa da EoE ser mais frequente no género masculino (62).

O autor M. E. Rothenberg propõe um modelo de explicação e integração fisiopatológica com dois passos. Este modelo inicia-se com um fator de risco genético em 5q22 (TSLP), que leva a uma sensibilização alérgica induzida pelo aumento de TSLP, através da sua ação recrutadora de eosinófilos e basófilos, e através do seu papel na maturação das populações de células T. Este modelo também sugere que, ao fator de risco referido, terá de estar também associado o alelo de risco em 2p23 (CAPN14), que leva a uma ativação e sobre-expressão de CAPN14 que, no caso de desregulação, leva à diminuição de DSG1 e outros componentes epiteliais, com perda da integridade da barreira esofágica e maior entrada de antígenos, resultando numa desregulação dupla e desenvolvimento de EoE (11) – Figura 4.



**Figura 4** – Modelo fisiopatológico da EoE. Após entrada do antígeno no tecido esofágico, há libertação de TSLP a partir do epitélio, com consequente ativação de basófilos e células dendríticas (DC), que induzem à ativação de células Th2. As células Th2 libertam IL-13 que aumenta a expressão de eotaxina-3, CAPN14 e POSTN, e diminui a expressão de DSG1 e FLG. Níveis aumentados de eotaxina-3 e POSTN recrutam eosinófilos que causam toxicidade celular através dos grânulos libertados, causam fibrose e propagam o ciclo inflamatório. Abreviaturas: Mast: mastócito; Fb: fibroblasto; Eo: eosinófilo; B: basófilo.

Adaptado de Clayton et al “Eosinophilic Esophagitis: Pathophysiology and Definition” (63).

## 6.9 Papel dos Eosinófilos

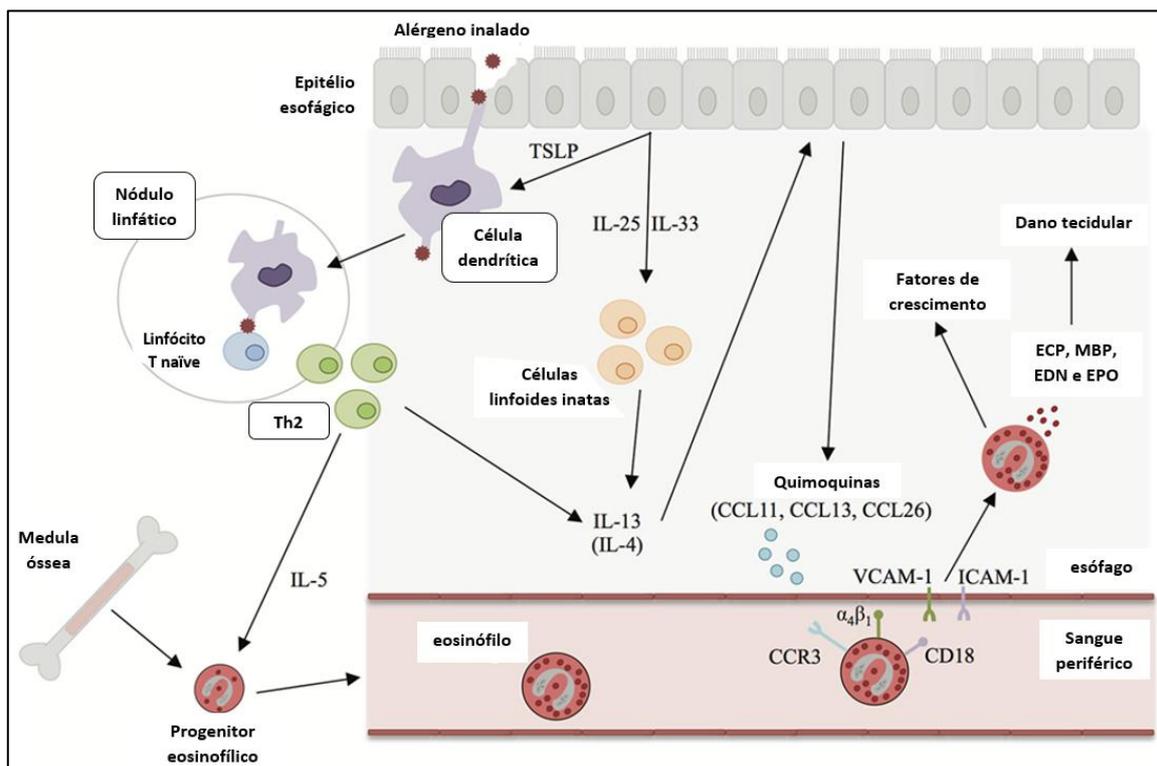
Os eosinófilos são as células imunológicas mais características da EoE. Estes granulócitos são recrutados para o tecido esofágico através da eotaxina-3 e outras moléculas quimiotáticas como a molécula homóloga de receptores e quimioatrativa expressa em células Th2 (CRTH2), o recetor eosinofílico de eotaxina (CCR3) e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) (64) – Figura 5. A ICAM-1 é conhecida pela sua importância na estabilização das interações intercelulares e na facilitação da migração transendotelial de leucócitos, enquanto que os ligandos da via CRTH2 estimulam a migração de leucócitos ativados, nomeadamente eosinófilos, basófilos e células Th2, na mediação de respostas alérgicas (44, 64).

Tal como previamente referido, a resposta inicial a antígenos é mediada com libertação de IL-13. Esta molécula vai recrutar eosinófilos pela libertação de eotaxina-3, cujo gene CCL26 é o gene mais expresso (“*upregulated*”) no esófago de doentes com EoE (47). Estudos indicam que a expressão de CCL26 está aumentada em cerca de 279 vezes após estimulação com IL-13 e que ratinhos sem recetor de eotaxina (CCR3) ficavam protegidos de desenvolver EoE experimental (1). Quando ativados no esófago, os eosinófilos libertam grânulos proteicos como a proteína básica major (MBP), neurotoxina (EDN), proteína catiónica eosinofílica (ECP) e peroxidase eosinofílica (EPO) (1, 65) – Figura 5. Para além de precipitar a inflamação e da sua ação direta citotóxica sobre o epitélio esofágico, a libertação destas proteínas aumenta a atividade do músculo liso e causa a desgranulação de mastócitos e basófilos (5).

Os eosinófilos ativados têm uma expressão de citocinas diferente dos circulantes. Os eosinófilos ativados vão produzir citocinas como IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), fator de crescimento transformador alfa (TGF $\alpha$ ), TGF $\beta$ , fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), “fator regulado na ativação, expresso e segregado em células T normais” (RANTES) e eotaxina (65).

Esta panóplia de expressão de citocinas condiciona um ciclo inflamatório no qual a eotaxina convoca eosinófilos que, aquando da sua ativação, vão produzir IL-13, a qual, por sua vez, também estimula a produção de eotaxina e condiciona um maior recrutamento eosinofílico.

Como referido, há libertação do fator de crescimento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) por parte dos eosinófilos ativados, que desencadeia uma proliferação epitelial, transformação epitélio-mesenquimatosa, deposição de colagénio e fibrose do esófago (66). Nos humanos, o TGF- $\beta$  é produzido pelos eosinófilos e mastócitos e, embora essencial no tecido normal (para a cicatrização de feridas e reparação tecidual), é responsável por grande parte das complicações fibroestenóticas da EoE a longo prazo, tendo em conta o aumento da sua atividade devido à inflamação constante (64, 67).



**Figura 5** – O papel dos eosinófilos nas doenças eosinofílicas. A lesão das células epiteliais leva à produção de IL-25, IL-33 e TSLP, que promovem a diferenciação de células Th2 e produção de IL-4, IL-5 e IL-13. A IL-5 é a principal responsável pela produção medular de eosinófilos. A IL-13 induz a secreção de quimiocinas (como a CCL26), a partir de células epiteliais, que recruta eosinófilos. Os eosinófilos, quando ativados, causam dano tecidual através da secreção de grânulos, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. Adaptado de Doran et al “Interleukin-13 in asthma and other eosinophilic disorders” (68).

## 6.10 IgE versus IgG4

A presença de eosinófilos, mastócitos, IL-5, IL-13, alta quantidade de IgE sérica e a associação com atopia, sugere que a EoE seja uma alergia mediada por IgE (3).

Através de um estudo prospetivo, randomizado e controlado (*versus* placebo), foram estudados indivíduos com EoE aos quais foram administrados anticorpos anti-IgE (omalizumab) durante 16 semanas, para testar a associação com esta imunoglobulina (29). Neste estudo, os indivíduos testados com omalizumab (anti-IgE) não tiveram remissão dos sintomas e a quantidade de eosinófilos tecidulares não diminuiu significativamente, mesmo com a depleção total de IgE após o tratamento (29).

Em adição a esta ineficácia do tratamento com anti-IgE, verificou-se que a quantidade de IgG4 estava aumentada cerca de 45 vezes em indivíduos com EoE, comparativamente a biópsias homólogas em indivíduos saudáveis (29, 69). Além da diferença em quantidade, os plasmócitos IgG4 perfaziam quase 100% dos plasmócitos encontrados nas lâminas de tecido esofágico dos indivíduos com EoE e encontravam-se especificamente e maioritariamente na lâmina própria profunda, que também apresentava fibrose extensa (29).

Relativamente à IgG4 sérica, foi verificado um aumento de 1.9 vezes, comparativamente aos controlos – aumento este que é pouco significativo, tendo em conta que as doenças comprovadamente relacionadas com IgG4 têm valores sérios muitíssimo maiores (29, 70). Em relação à reatividade específica destas imunoglobulinas IgG4, foi verificada positividade para os 4 alimentos que estão normalmente associadas a esta doença: leite, trigo, ovos e frutos de casca rija (29). No entanto, embora haja alta associação estatística entre a EoE e os antigénios IgG4 contra os alimentos “trigger” mais frequentemente associadas à doença, a utilização de anticorpos séricos para encontrar a alergia alimentar que estaria envolvida no despoletar da doença, como referido, é de pouca especificidade e não prediz causa-efeito (71).

A falha do omalizumab (terapêutica anti-IgE), a abundância de IgG4 tecidual e os anticorpos IgG4 séricos contra os alimentos “*trigger*” mais comuns, são forte evidência de que, apesar da frequente presença de mastócitos transportadores de IgE, e de grânulos extracelulares, a esofagite eosinofílica é uma alergia não mediada por IgE mas sim mediada por IgG4 ou, pelo menos, que existe uma forte componente IgG4 e não uma doença alérgica clássica, mediada unicamente por IgE como se esperava que fosse o caso (72).

A IgG4 participa na resposta imunitária contra infecções parasitárias e dessensibilização alérgica, entre outros processos (73). À resposta por IgE segue-se uma resposta mediada por IgG4 que se presume bloquear a ativação mastocitária, impedindo a continuação da resposta por IgE (29). A doença relacionada com IgG4 (IgG4-RD) é uma doença inflamatória crónica caracterizada por uma infiltração de linfócitos e plasmócitos secretores de IgG4 nos tecidos, com vários graus de fibrose tecidual, e com resposta favorável a corticosteroides orais. Um aumento nos plasmócitos intestinais IgG4 está associado a processos como pancreatite autoimune, doenças inflamatórias intestinais e *sprue* colagenoso (29).

A distribuição difusa da fibrose na lâmina própria, característico da EoE, reduz a distensibilidade esofágica e correlaciona-se com a impactação alimentar. No entanto, a maioria dos casos de EoE responde bem a corticoterapia, está associada à atopia, possui infiltrados eosinofílicos, plasmócitos celulares IgG4, depósitos granulares IgG4, fibrose e predominância de casos masculinos, todos estes factos também comuns às IgG4-RD (70). No entanto, e ao contrário das IgG4-RD, existe um aumento mínimo da IgG4 sérica na EoE e, histologicamente, a fibrose verificada na EoE não é estoriforme (tipo “tapete entrelaçado”, característico das IgG4-RD), é também menos localizada e existe ausência de flebite obliterativa (uma forma de flebite em que a inflamação resulta no encerramento permanente do vaso) (74). Estes factos indicam que a EoE é uma doença não totalmente dependente de IgG4 e traduzem um papel limitado desta imunoglobulina na fisiopatologia da EoE.

## 6.11 TSLP e basófilos

A linfopoetina estromal tímica (TSLP) foi recentemente implicada como elemento chave no desenvolvimento e manutenção da esofagite eosinofílica em modelos murinos. Este fator aumenta o número de basófilos no tecido esofágico, como demonstrado por Siracusa e colegas (43). Um estudo recente demonstrou que, tanto a TSLP, como os basófilos, são necessários para precipitar o fenótipo característico da EoE pois quando, em modelos experimentais, se retira a componente basofílica há uma melhoria da histologia da doença (28).

A TSLP leva a um aumento de hematopoiese de basófilos, podendo a produção destes ser estimulada exclusivamente por TSLP ou ser devida a outros mecanismos. Nos casos verificados de esofagite eosinofílica, os basófilos infiltrados no tecido possuíam o recetor membranar de TSLP, o que indica que a sua produção foi induzida por esta molécula (28).

Existem alelos de risco de TSLP que se correlacionam com a EoE. Vários estudos genéticos verificaram um aumento da expressão de TSLP e do mRNA de TSLP em tecidos esofágicos de doentes com EoE (57, 59). Além disto, estudos em ratinhos com alelos TSLP de risco demonstraram o desenvolvimento de uma doença semelhante à esofagite eosinofílica, em modelos experimentais (4).

Para além dos alelos de risco da TSLP em si, como já referi, a existência de uma variante no gene que codifica a citocina fator “*receptor-like*” tipo 2 (CRLF2) poderá ser a razão pela qual existe uma predileção da EoE pelo sexo masculino (62). Assim, uma alteração da expressão de TSLP ou do seu recetor (CRLF2/TSLPR) leva a uma resposta inflamatória exacerbada, com indução de expressão de IL-5, IL-13 e IL-15, a antigénios, que poderão ter sido apresentados ao organismo por via aérea, alimentar ou dérmica (4).

## 6.12 Influência dos Mastócitos na EoE

O número de mastócitos é elevado nos doentes afetados por EoE, comparativamente a controlos saudáveis ou a pessoas afetadas com DRGE (75).

Os mastócitos são providos de uma grande quantidade de citocinas, mediadores autacóides e proteases, entre outros. Estas moléculas são libertadas em resposta a estímulos imunológicos mediados por IgE, assim como a estímulos não imunológicos. (76). A capacidade de produção destas moléculas e a localização dos mastócitos nos tecidos reforça a teoria de estarem ligados à remodelação tecidual da EoE e aos sintomas de disfagia e impactação alimentar (14, 77). Existe, inclusive, na EoE uma “*upregulation*” de genes relacionados com os mastócitos, como o gene de carboxipeptidase A3, triptase e recetor histamínico.

Niranjan e colegas testaram a possibilidade de a esofagite eosinofílica ser iniciada e/ou promovida pela acumulação de mastócitos através de experiências de indução de esofagite eosinofílica experimental em vários grupos de ratinhos “*wild-type*”, ratinhos deficientes em mastócitos e em ratinhos deficientes na produção de mastócitos, mas com reconstituição exógena (mastócitos produzidos em terceiros e transferidos, adotivamente, para ratinhos deficientes em mastócitos) (78). Uma das conclusões deste estudo foi de que o recrutamento de mastócitos para o esófago era independente da IL-5, contrariamente à acumulação de eosinófilos no tecido esofágico (31). A independência da do recrutamento mastocitário pode reforçar a hipótese de existirem 2 vias inflamatórias na patogénese da EoE (78).

Independentemente da existência de dois mecanismos inflamatórios diferentes, aparenta existir algum tipo de comunicação entre estes tipos celulares, tendo em conta que os mastócitos localizam-se na lâmina própria, perto dos eosinófilos, numa distribuição tecidual congruente (11).

Não se conhece a razão desta proximidade, mas talvez se prenda com o facto de existir libertação de eotaxina-1, uma citocina recrutadora de eosinófilos produzida pelos mastócitos e semelhante à eotaxina-3.

Um outro facto relevante na posição tecidual dos mastócitos, é a sua acumulação na muscular da mucosa e, em menor grau, na camada muscular lisa. Os mastócitos são capazes de produção de TGF- $\beta$ , que aliada à sua localização, contribui para os efeitos de remodelação esofágica, alteração esta que é inexistente em EoE experimentais desprovidas de mastócitos (11, 76, 77). Para além desta molécula, os mastócitos libertam histamina, triptase e quimase que causam a contração e hipertrofia do músculo liso e contribuem para a dismotilidade presente em muitos dos doentes nas fases mais tardias da doença (5, 77, 79). Esta acumulação mastocitária, e consequente hiperplasia muscular, poderá ser responsável pela indução de disfunções peristálticas, existentes em doentes com EoE avançada, nos quais há remodelação esofágica mais grave (14, 79).

O papel dos mastócitos na EoE está relacionado, em parte, com a presença da MBP no tecido esofágico, produzida pelos eosinófilos ativados, os quais são quimiotaticamente atraídos ao tecido esofágico pela eotaxina-3 – sendo esta última libertada pelo próprio tecido esofágico, que é inicialmente despoletado pela IL-13 (libertada pela inflamação Th2) (80). Assim, temos um modelo global com uma cascata de mecanismos de ativação de diferentes componentes do sistema imunitário humano, iniciada por uma resposta pelos linfócitos Th2 a um estímulo, e acabando em alterações histológicas de fibrose pela atividade mastocitária.

### 6.13 Outros intervenientes

Também são intervenientes na fisiopatologia da EoE os linfócitos T *Natural Killer* invariáveis (iNKT), tendo em conta que certos componentes da cascata iNKT estão elevados nos doentes com EoE, evidenciando uma maior suscetibilidade alérgica, e modelos murinos sem componentes da via iNKT não têm desenvolvimento de EoE (81).

As células epiteliais esofágicas, embora vítimas do processo inflamatório, também têm uma ação importante na patogénia da EoE, uma vez que produzem eotaxina-3, que tem ação pró-inflamatória, como já dissemos, e estão implicadas na disfunção da barreira epitelial (5), a qual predispõe à entrada de antígenos e é um processo iniciador fulcral para o desenvolvimento da EoE (36, 52). As alterações na barreira epitelial incluem disfunção da *zonula occludens*, *zonula adherens* e desmossomas (33). O epitélio esofágico possui também células dendríticas residentes que atuam como células apresentadoras de antígenos (APC), fazendo a ligação entre a imunidade inata e adaptativa.

Como já foi referido, certas exposições no início da vida poderão também estar associadas a um aumento da predisposição, tais como o uso de antibióticos no primeiro ano de vida, amamentação materna e alergia à penicilina (20, 82). Outras possíveis alterações ambientais podem estar associadas com o aumento da EoE na população. Há, por exemplo, uma associação entre o aumento da prevalência da EoE e a diminuição da prevalência de *Helicobacter pylori*, alteração que já foi associada a doenças atópicas (18).

Num estudo de 2015 realizado por Harris e colegas, foi verificada uma maior carga bacteriana em doentes com EoE e nos afetados por DRGE, relativamente a controlos saudáveis; nos doentes com EoE foi verificada uma carga bacteriana aumentada de bactérias do género *Haemophilus*, que era independente do estado de eosinofilia e do tratamento da doença (83).

## 6.14 Tratamento da EoE

O tratamento baseia-se essencialmente em diminuir a inflamação inerente ao esófago e deve ter como objetivo a remissão dos sintomas, controlo da inflamação, melhoria da qualidade de vida, prevenção de complicações crónicas como a remodelação histológica e transformação fibrótica do tecido, para além da prevenção de crises agudas como a impactação alimentar.

O tratamento baseia-se na utilização de inibidores da bomba de prótons, corticosteroides inalados e, quando na ausência de resposta aos medicamentos de primeira linha, dietas de restrição, corticosteroides tópicos deglutidos, dilatação mecânica ou medicamentos biológicos (2). O tratamento com medicamentos biológicos como o omalizumab (anti-IgE), mepolizumab e reslizumab, ambos anticorpos anti-IL-5, teve resultado parcial na melhoria histológica e clínica, sendo medicamentos ainda reservados a estudos clínicos (29, 50, 52). Metade dos doentes com eosinofilia esofágica respondem ao tratamento com IBPs, a nível de melhoria clínica, e 60% dos doentes obtêm remissão histológica (6).

Há mais de 20 anos observou-se que a instituição de uma dieta elementar, composta por uma mistura de aminoácidos essenciais com aminoácidos não essenciais, gordura e açúcares, levava a remissão significativa em termos clínicos e histopatológicos, no entanto com recorrência sintomática após a reintrodução de certas proteínas alimentares (25).

Embora a dieta restritiva e a eliminação de certos tipos de alimentos tenham resultados terapêuticos interessantes, a impraticabilidade destas dietas, a recorrência de sintomas em caso de reintrodução, e o consumo de tempo e dinheiro na sua execução, fazem com que, em casos severos e refratários ao tratamento de primeira linha, esta abordagem seja melhor sucedida quando se centra nos alimentos mais frequentemente associados a alergias como produtos lácteos, ovos, trigo, frutos de casca rija, soja e marisco/peixe (84).

Um estudo prospetivo em doentes adultos com diagnóstico de EoE confirmou o facto de que a dieta de eliminação de 6 alimentos frequentemente associadas a alergia alimentar melhora significativamente os sintomas e as alterações histológicas (71, 85). Estes alimentos incluem produtos lácteos, ovos, trigo, frutos de casca rija, soja e marisco/peixe. Por outro lado, a reintrodução destes esteve frequentemente associada a recorrência de EoE, principalmente com o trigo em 60% dos casos e com o leite em 50% dos casos (84).

A hipersensibilidade mediada por IgE a alimentos não distingue em nenhum aspeto os doentes com EoE, para além da maior probabilidade de comorbilidades atópicas, tendo em conta que só se encontrounexo de causalidade em 13% dos testes *Prick* realizados (23). Devido a este facto, a decisão de eliminação de alimentos não pode ser baseada em testes de especificidade IgE ou testes *Prick*, tendo em conta o baixo valor preditivo dos alimentos provocadores de episódios agudos com agravamento de EoE (30).

Para além destas formas de tratamento, os inibidores da bomba de prótons (IBPs) desde cedo mostraram grande eficácia na EoE, tanto que fizeram com que inicialmente se tenha dividido a doença em EoE que responde a IBPs e em EoE propriamente dita.

Assim, considera-se um doente com EoE que responde a IBPs como aquele com sintomas “DRGE-like”, mas cujas biópsias esofágicas têm mais de 15 eosinófilos por campo de alta ampliação; todavia, alguns estudos têm vindo a dissipar a linha que separa estas duas versões da doença, sugerindo que sejam fases diferentes de evolução da mesma entidade e não duas patologias distintas (11).

Tal com a esofagite eosinofílica, a doença de refluxo gastroesofágico (DRGE) também pode estar associada a um padrão histológico com infiltração eosinofílica no esófago. Por este motivo, estava inicialmente estabelecido que uma resposta clínica e/ou histológica aos IBPs era considerada suficiente para o diagnóstico de DRGE (6).

Um estudo investigacional em doentes com infiltração eosinofílica comprovou a resposta à terapêutica com IBPs e demonstrou que cerca de 75% obtiveram uma remissão dos sintomas; destes últimos, 66% exibiam um perfil histológico de DRGE (infiltração eosinofílica com um número inferior a 35 eosinófilos por campo de alta ampliação), sinais de refluxo em endoscopia ou diagnóstico de refluxo após manometria esofágica com valores de pH abaixo de 4.0 (6, 86). No mesmo estudo, cerca de 33% dos doentes com remissão de sintomas mostrava um perfil típico de EoE (acima de 35 eosinófilos por campo de alta ampliação, sintomas típicos de EoE ou endoscopia concordante) (86). Embora o diagnóstico de EoE exija apenas um valor acima de 15 eosinófilos por campo de alta ampliação, neste estudo optou-se pelo limiar de 35 eosinófilos por forma a evitarem-se casos com eosinofilia “*borderline*” entre EoE e DRGE.

A análise do transcriptoma mostrou que existe efetivamente uma resolução da inflamação alérgica Th2 quando há redução da eosinofilia esofágica à terapêutica com IBPs (87). Como foi referido, inúmeros estudos têm vindo a sugerir que a EoE e a EoE PPI-R são fases evolutivas da mesma doença. Devido à controvérsia na comunidade científica, na definição das patologias como entidades diferentes ou como *continuum* evolutivo, foi recentemente realizado um estudo internacional no qual foi relatado a inexistência de diferenças a nível de clínica, endoscopia, histologia, tipo inflamatório e expressão génica, entre as duas condições (88).

Os IBPs atuam na EoE, não pelo bloqueio irreversível da bomba de prótons nas células parietais gástricas, mas por bloqueio do fator STAT6 e, conseqüentemente, a interrupção da via JAK-STAT mediada pela IL-13, reduzindo, dessa forma, a produção de eotaxina-3, com efeito terminal anti eosinofílico (48), representando um tratamento eficaz em alguns casos de EoE. Uma outra explicação para a redução da infiltração eosinofílica é que os IBPs restauram a integridade da mucosa (erosões e úlceras) e, assim, diminuem a maior facilidade de transporte e entrada de proteínas antigénicas no tecido esofágico (11).

Tanto a EoE, a EoE PPI-R e a DRGE, respondem a IBPs, portanto mesmo em casos de diagnóstico errado, a doença base (dentro do espectro habitual dos diagnósticos diferenciais) beneficiará do tratamento. Assim, os IBPs têm sido recomendados como a terapêutica de 1ª linha com uma posologia de 1 a 2 doses, uma a duas vezes por dia, durante 8-12 semanas (3).

Tanto os corticoides tópicos como os sistêmicos são utilizados como tratamento inicial em casos de EoE ativa com exacerbação, assim como em terapêutica de manutenção (7). O tipo de administração e a dose a ser aplicada dependem da severidade da doença, da disponibilidade de cada uma das formas e da praticabilidade da via de administração, do ponto de vista do doente (3). As formas tópicas são preferidas às sistêmicas pela existência de menores efeitos adversos. Dentro das formas tópicas podem ser utilizados aerossóis ou pastas engolidas contendo corticosteroides como budesonida ou fluticasona, com uma boa aderência ao esófago, e conseqüente alta eficácia terapêutica (6). Têm sido usados períodos de tratamento com duração entre as 2 e as 12 semanas, com inibição prolongada da inflamação, e redução do risco de episódios de emergência como as impatações alimentares (10).

A dilatação mecânica por via endoscópica é um recurso de última medida em doentes com resposta inadequada à terapêutica medicamentosa ou dietética, e com grande alteração da qualidade de vida pelo estreitamento esofágico. Há melhoria sintomática temporária, mas sem efeito na inflamação, e com inevitável necessidade de reintervenção (6).

Embora muitos estudos e tratamentos se centrem no epitélio, a EoE é uma doença transmural, em que existe infiltração das camadas subepiteliais. De facto, uma das maiores complicações da EoE é a fibrose, que não é reversível com as terapêuticas atuais. Num estudo de 2016, Cheng E et al., ao desenvolverem linhas celulares de fibroblastos esofágicos imortalizados, elucidaram os efeitos das citocinas Th2 nos mesmos fibroblastos, no sentido de explorarem o potencial terapêutico de fármacos direcionados à atividade fibroblástica (61).

Contrariamente ao previamente verificado em células esofágicas epiteliais, Cheng e colegas mostraram que os IBPs (nomeadamente o omeprazol) não bloqueiam a expressão de eotaxina-3 pelos fibroblastos, ação esta induzida pelas citocinas Th2 (61). Por outro lado, os inibidores da Janus quinase (JAK)-STAT6, como a leflunomida e ruxolitinibe, utilizadas habitualmente na artrite reumatoide e mielofibrose, respetivamente, conseguem tratar a inflamação epitelial e a fibrose sub-epitelial na EoE, através de uma inibição mais completa da produção de eotaxina-3 (61).

Embora a eotaxina-3 não seja diretamente fibrogénica, consegue, através da sua atividade quimiotática, conduzir os eosinófilos até à lâmina própria e estes, após ativação, produzem uma panóplia de citocinas, incluindo o fator de crescimento transformante  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) e a MBP, que são altamente fibrogénicos (67).

Diversas abordagens com anticorpos monoclonais têm sido experimentadas na EoE, tendo como base o conhecimento adquirido acerca da fisiopatologia da doença. Embora haja já demonstração de uma elevada produção de TNF- $\alpha$  no epitélio esofágico da EoE, do papel quimiotático da IL-5 relativamente aos eosinófilos e a sua estreita relação com a patologia da EoE, e da sensibilização IgE a alérgenos alimentares verificada na maioria dos doentes, as terapêuticas dirigidas a estes componentes imunológicos (anti-TNF- $\alpha$ , anti-IL-5 e anti-IgE) não produziram qualquer benefício a nível de redução da inflamação ou melhoria clínica (6). Relativamente às componentes IL-4 e IL-13, espera-se a realização de estudos com grandes amostras populacionais de forma a testar a aplicabilidade do seu bloqueio na clínica; no entanto, um estudo piloto com 23 doentes já demonstrou que o tratamento com anticorpo anti-IL-13 foi mais eficaz que o tratamento com placebo (50). Um estudo randomizado e controlado mais recente, realizado por Dellon e colegas, mostrou melhoria nas características histológicas e endoscópicas, numa amostra de 90 doentes tratados, em comparação com placebo, ao utilizar um novo anticorpo monoclonal anti-IL-13 (RPC4046) (89).

## 7. Discussão e conclusão

Na EoE, os eosinófilos recrutados para o tecido esofágico libertam proteínas granulares tóxicas que, embora sejam muito importantes na função imunológica, têm o efeito colateral de perpetuação da resposta inflamatória no esófago. Os eosinófilos também estimulam a produção de proteínas da matriz extracelular de forma inapropriada, colaborando para a fibrose esofágica verificada na fase crónica da EoE (6).

O infiltrado inflamatório e padrão de citocinas encontrado em biópsias de doentes com EoE indicam uma reação T-helper2 (Th2) como a base imunológica da doença. Para além dos eosinófilos já descritos, células T com expressão de IL-5, linfócitos B, mastócitos com IgE de superfície, e células dendríticas, têm sido encontrados persistentemente em biópsias esofágicas destes doentes (55). A nível de citocinas, para além da IL-5, encontram-se altas quantidades de TNF- $\alpha$ , eotaxina-1, eotaxina-3 e TSLP, produzidos pelas próprias células epiteliais, tendo como consequência uma amplificação da resposta imunológica Th2 (45).

Uma barreira epitelial disfuncional parece desempenhar um fator importante na patogénese da doença, tendo sido reportados inúmeros casos de doentes com expressão anormal de desmogleína-1, calpaína-14 e filagrina, entre outros componentes (36).

No seguimento destas descobertas, é sugerida a seguinte explicação fisiopatológica, para o desenvolvimento da EoE: uma barreira epitelial disfuncional facilita a entrada de microrganismos e alérgenos, que são posteriormente reconhecidos pelas células epiteliais, induzindo nestas a libertação de citocinas, como a TSLP, que vão iniciar e amplificar a resposta inflamatória Th2 (6).

Inicialmente pensava-se, como anteriormente mencionado, que a EoE pudesse ter como base uma resposta alérgica imediata do tipo I, devido ao grande rácio de sensibilização a alérgenos alimentares e resposta clínica a dietas de eliminação e/ou hipoalérgicas.

Assim, acreditava-se que as IgE contra alérgenos alimentares pudessem ter um papel chave na doença. No entanto, a determinação de IgE específicas e testes Prick cutâneos mostraram pouca relação da doença com os antígenos provocadores de clínica e, para além disso, dietas com eliminação dos alimentos contendo alérgenos identificados em testes Prick obtiveram baixa melhoria do quadro sintomatológico. A administração de anticorpo monoclonal anti-IgE também não obteve resultados clínicos favoráveis em doentes adultos e pediátricos de EoE (29).

Recentes estudos têm dado novas perspetivas desta doença, demonstrando uma interligação entre fatores de risco genéticos, fatores de risco ambientais, sensibilização alérgica e vias inflamatórias específicas ao tecido esofágico, que levam à patogénese da EoE (53).

Um outro modelo explicativo possível para a EoE tem o início do ciclo inflamatório causado pelas moléculas com propriedades proteolíticas, produzidas e libertadas pelos eosinófilos ativados. Após recrutamento eosinofílico, através da eotaxina-3, ocorre a produção e libertação de ECP (proteína catiónica eosinofílica), que faz com que as membranas celulares do epitélio esofágico se tornem porosas, e há libertação de MBP (proteína major básica), que aumenta a reatividade vagal muscarínica M2, e desencadeia a desgranulação basofílica e mastocitária (4). Estas alterações tecidulares tornam-se mais significativas ao associarem-se ao facto de certas componentes da barreira celular, como a FLG e a DSG1, estarem alteradas na EoE (36), o que implica uma maior facilidade de entrada de antígenos e bactérias, com ativação de vários mecanismos imunitários, incluindo a produção de TSLP e IL-33 os quais, por sua vez, levam a uma produção de IL-5 e IL-13 pelos linfócitos Th2, causando uma resposta alérgica cíclica e exacerbada a todo e qualquer contacto que exista com as mucosas e com a epiderme (11).

A descoberta da associação entre a calpaína-14 e a EoE foi fundamental pois devido à sua sobre-expressão ocorrer exclusivamente no esófago, providencia uma possível explicação à especificidade tecidual da EoE. Tal como demonstrado por Kottyan et al, a expressão de CAPN14 é regulada positivamente pelas interleucinas 4 e 13 (IL-4 e IL-13) e essa mesma expressão pode ser relacionada com a atividade da doença, podendo ser posteriormente utilizada como marcador na clínica (58).

A relação entre as interleucinas IL-4 e IL-13 e a expressão de CAPN14 pode também ser explorada a nível de tratamento com o desenvolvimento de terapêutica monoclonal. Desta forma, o esforço realizado nos estudos GWAS e noutros estudos investigacionais, com o intuito de melhorar o conhecimento da fisiopatologia da EoE, não só leva a uma maior compreensão da doença como um todo, mas também auxilia à criação de ferramentas mais eficazes de diagnóstico e permite avanços no tratamento, com terapêuticas mais dirigidas e eficazes.

Através do recrutamento e ativação por IgE, os mastócitos são recrutados para o esófago e têm um papel importante na EoE. Um estudo por Lomazi et al. demonstrou a capacidade da deteção de triptase mastocitária por imunohistoquímica, o que veio aumentar a capacidade e fidelidade de diferenciar a esofagite eosinofílica da DRGE (80).

As alterações no genoma e transcriptoma podem predispor, em idade adulta ou em situação de vida precoce, a que os alérgenos e condições ambientais tenham um efeito mais potente no organismo (5). Isto leva a que, conseqüentemente, existam alterações moleculares que resultam num padrão histológico característico que, em última instância, é evidenciado pelas queixas do doente, que chega ao contacto médico com a esperança de uma terapêutica curativa ou pelo menos atenuadora dos sintomas que alteram a sua qualidade de vida. Assim, é necessário ter uma visão holística da cascata de mecanismos que levam ao aparecimento da doença de forma a poder identificar, excluir, diagnosticar, paliar ou curar.

É necessária mais pesquisa acerca da fisiopatologia da EoE em casos pediátricos, de casos adultos com pouca evolução, em EoE que responde a IBPs e nos casos resistentes a corticoterapia, de forma a aferir se o papel das IgG4 é transversal a estes subtipos. Uma característica essencial a distinguir no caso dos avanços científicos relativamente à fisiopatologia é a necessidade de constante atualização, visto que tem havido imensa pesquisa. Devido a tecnologias de última geração como estudos de associação genómica, estudos de epigenética, e estudos moleculares, por exemplo, avançou-se mais no conhecimento desta doença em 20 anos, do que em 100 anos, comparativamente a outras doenças melhor descritas.

A utilização de IBPs, através do bloqueio da via STAT6, tem obtido resultados e é, juntamente com a corticoterapia inalada, o tratamento de eleição. No entanto, muitos doentes não têm resposta a estes compostos, pelo que os estudos em curso, com fármacos monoclonais contra as interleucinas mais importantes da EoE, podem vir a alterar estes casos renitentes.

Num futuro próximo será necessário caracterizar melhor os vários subtipos de EoE, a nível clínico e histológico, com critérios de diagnóstico específicos e padronizados. Há, também necessidade de definir a ligação entre a variação fenotípica da EoE e a predominância das várias vias inflamatórias, no sentido de individualizar a terapêutica a cada subtipo de EoE. Também no sentido de melhorar o tratamento, é necessário o estabelecimento de *guidelines* para o correto diagnóstico diferencial entre a EoE, a DRGE e a EoE PPI-R, baseadas em estudos que demonstrem as diferenças, a nível genético e fisiopatológico, destas doenças.

Embora já se tenha uma ideia a médio prazo de quais são as intercorrências expectáveis na EoE, não se tendo, até agora, encontrado correlação com neoplasias gastrointestinais ou outras, são ainda necessários mais estudos, com maiores amostras e diferentes populações em estudo, e com mais tempo de “*follow-up*”, para que seja possível o estabelecimento de um prognóstico mais fidedigno e um melhor entendimento da EoE a longo prazo.

A endoscopia tem sido essencial para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo e para monitorização do tratamento, mas é necessária a pesquisa de métodos de diagnóstico não-invasivos, bem como de biomarcadores, essenciais à monitorização da doença. É também necessário averiguar os benefícios possíveis do desenvolvimento de tecnologias genómicas, como por exemplo a criação de perfis de transcriptoma específicos de EoE, que permitam compreender melhor os mecanismos moleculares e vias de sinalização que controlam a fisiopatologia desta doença.

Relativamente às variadas causas etiológicas e influenciadores da doença, é importante um maior estudo das exposições ocorridas no início de vida, como as condições de parto, amamentação, fármacos e de outras alterações ambientais como a preparação dos alimentos. Ainda dentro da etiologia ambiental, outro assunto a averiguar inclui as alterações do microbioma esofágico, relativamente ao número de bactérias, e prevalência de espécies específicas, e de que forma, se de todo, influenciam o aparecimento e/ou curso da doença.

No que diz respeito à alimentação e às várias intolerâncias alimentares verificadas nestes doentes, é necessário aprofundar o conhecimento dos mecanismos subjacentes, das vias inflamatórias implicadas, das possibilidades de diagnóstico no que diz respeito aos alimentos e respetivos antigénios responsáveis pelas agudizações da doença e emergências associadas.

Por último, e em relação ao tratamento, é necessário e urgente saber mais acerca dos efeitos produzidos pela medicação atual, qual o efeito a nível imunológico e as repercussões a nível histológico e sintomatológico, para além da adequação ao subtipo de EoE subjacente. Os efeitos dos tratamentos atuais como os corticosteroides são amplos e inespecíficos, sendo necessários tratamentos mais específicos, como os fármacos biológicos já referidos, com uma intervenção-alvo em mecanismos particulares patológicos, com maior eficácia global, menores efeitos secundários e praticabilidade de aplicação na clínica.

## **8. Agradecimentos**

Ao meu Orientador, Professor Doutor Rui Vasco Quintais Gradiz, expresso o meu agradecimento, em primeiro lugar por me ter aceite, e a este tema, para orientação no contexto de Trabalho Final de Mestrado Integrado em Medicina, pela dedicação, paciência, disponibilidade e auxílio na realização deste trabalho. Sem a sua ajuda este trabalho não teria sido possível.

À minha coorientadora, Professora Doutora Anabela Mota Pinto, um agradecimento pela disponibilidade, no sentido de orientação no tema, resolução dos problemas, pelo tempo despendido na articulação deste trabalho e pela sua dedicação.

Aos meus Pais e família, o maior agradecimento pelo auxílio a todos os níveis na minha vida e pelo seu apoio incansável, em especial no meu percurso académico, na Universidade dos Açores e Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Aos meus amigos, um agradecimento especial por todo o apoio, companheirismo e confiança ao longo de todos estes anos.

## 9. Referências bibliográficas

1. Blanchard C, Rothenberg ME. Basic pathogenesis of eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am*. 2008;18(1):133-43; x.
2. Aceves SS. Eosinophilic esophagitis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(1):145-59.
3. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, et al. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(1):3-20 e6; quiz 1-2.
4. Davis BP, Rothenberg ME. Mechanisms of Disease of Eosinophilic Esophagitis. *Annu Rev Pathol*. 2016;11:365-93.
5. Runge TM, Dellon ES. Do We Know What Causes Eosinophilic Esophagitis? A Mechanistic Update. *Curr Gastroenterol Rep*. 2015;17(9):33.
6. Simon D, Straumann A, Schoepfer AM, Simon HU. Current concepts in eosinophilic esophagitis. *Allergo J Int*. 2017;26(7):258-66.
7. Straumann A, Aceves SS, Blanchard C, Collins MH, Furuta GT, Hirano I, et al. Pediatric and adult eosinophilic esophagitis: similarities and differences. *Allergy*. 2012;67(4):477-90.
8. Cianferoni A, Spergel JM, Muir A. Recent advances in the pathological understanding of eosinophilic esophagitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;9(12):1501-10.
9. Kerlin P, Jones D, Remedios M, Campbell C. Prevalence of eosinophilic esophagitis in adults with food bolus obstruction of the esophagus. *J Clin Gastroenterol*. 2007;41(4):356-61.
10. Kuchen T, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Bussmann C, Vavricka S, et al. Swallowed topical corticosteroids reduce the risk for long-lasting bolus impactions in eosinophilic esophagitis. *Allergy*. 2014;69(9):1248-54.

11. Rothenberg ME. Molecular, genetic, and cellular bases for treating eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1143-57.
12. Gomez Torrijos E, Sanchez Miranda P, Donado Palencia P, Castro Jimenez A, Rodriguez Sanchez J, Mendez Diaz Y, et al. Eosinophilic Esophagitis: Demographic, Clinical, Endoscopic, Histologic, and Atopic Characteristics of Children and Teenagers in a Region in Central Spain. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2017;27(2):104-10.
13. Abonia JP, Wen T, Stucke EM, Grotjan T, Griffith MS, Kemme KA, et al. High prevalence of eosinophilic esophagitis in patients with inherited connective tissue disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):378-86.
14. Hirano I, Moy N, Heckman MG, Thomas CS, Gonsalves N, Achem SR. Endoscopic assessment of the oesophageal features of eosinophilic oesophagitis: validation of a novel classification and grading system. *Gut*. 2013;62(4):489-95.
15. Gonsalves N, Policarpio-Nicolas M, Zhang Q, Rao MS, Hirano I. Histopathologic variability and endoscopic correlates in adults with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc*. 2006;64(3):313-9.
16. Straumann A, Spichtin HP, Grize L, Bucher KA, Beglinger C, Simon HU. Natural history of primary eosinophilic esophagitis: a follow-up of 30 adult patients for up to 11.5 years. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1660-9.
17. Hruz P, Straumann A, Bussmann C, Heer P, Simon HU, Zwahlen M, et al. Escalating incidence of eosinophilic esophagitis: a 20-year prospective, population-based study in Olten County, Switzerland. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(6):1349-50 e5.
18. Dellon ES. Epidemiology of eosinophilic esophagitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2014;43(2):201-18.
19. Hurrell JM, Genta RM, Dellon ES. Prevalence of esophageal eosinophilia varies by climate zone in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(5):698-706.

20. Alexander ES, Martin LJ, Collins MH, Kottyan LC, Sucharew H, He H, et al. Twin and family studies reveal strong environmental and weaker genetic cues explaining heritability of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(5):1084-92.e1.
21. Blatman KH, Ditto AM. Chapter 26: Eosinophilic esophagitis. *Allergy Asthma Proc.* 2012;33 Suppl 1:88-90.
22. Straumann A, Spichtin HP, Bucher KA, Heer P, Simon HU. Eosinophilic esophagitis: red on microscopy, white on endoscopy. *Digestion.* 2004;70(2):109-16.
23. Guarino MP, Cicala M, Behar J. Eosinophilic esophagitis: New insights in pathogenesis and therapy. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2016;7(1):66-77.
24. Collins MH. Histopathology of eosinophilic esophagitis. *Dig Dis.* 2014;32(1-2):68-73.
25. Kelly KJ, Lazenby AJ, Rowe PC, Yardley JH, Perman JA, Sampson HA. Eosinophilic esophagitis attributed to gastroesophageal reflux: improvement with an amino acid-based formula. *Gastroenterology.* 1995;109(5):1503-12.
26. Fogg MI, Ruchelli E, Spergel JM. Pollen and eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112(4):796-7.
27. Mishra A, Schlotman J, Wang M, Rothenberg ME. Critical role for adaptive T cell immunity in experimental eosinophilic esophagitis in mice. *J Leukoc Biol.* 2007;81(4):916-24.
28. Noti M, Wojno ED, Kim BS, Siracusa MC, Giacomini PR, Nair MG, et al. Thymic stromal lymphopoietin-elicited basophil responses promote eosinophilic esophagitis. *Nat Med.* 2013;19(8):1005-13.
29. Clayton F, Fang JC, Gleich GJ, Lucendo AJ, Olalla JM, Vinson LA, et al. Eosinophilic esophagitis in adults is associated with IgG4 and not mediated by IgE. *Gastroenterology.* 2014;147(3):602-9.

30. Olson AA, Evans MD, Johansson MW, Kim CH, Manthei DM, Gaumnitz EA, et al. Role of food and aeroallergen sensitization in eosinophilic esophagitis in adults. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2016;117(4):387-93 e2.
31. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME. An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J Clin Invest.* 2001;107(1):83-90.
32. Akei HS, Mishra A, Blanchard C, Rothenberg ME. Epicutaneous antigen exposure primes for experimental eosinophilic esophagitis in mice. *Gastroenterology.* 2005;129(3):985-94.
33. Dellon ES. The pathogenesis of eosinophilic esophagitis: beyond the eosinophil. *Dig Dis Sci.* 2013;58(6):1445-8.
34. Blanchard C, Mingler MK, Vicario M, Abonia JP, Wu YY, Lu TX, et al. IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(6):1292-300.
35. Mishra A, Wang M, Pemmaraju VR, Collins MH, Fulkerson PC, Abonia JP, et al. Esophageal remodeling develops as a consequence of tissue specific IL-5-induced eosinophilia. *Gastroenterology.* 2008;134(1):204-14.
36. Sherrill JD, Kc K, Wu D, Djukic Z, Caldwell JM, Stucke EM, et al. Desmoglein-1 regulates esophageal epithelial barrier function and immune responses in eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunol.* 2014;7(3):718-29.
37. Zuo L, Fulkerson PC, Finkelman FD, Mingler M, Fischetti CA, Blanchard C, et al. IL-13 induces esophageal remodeling and gene expression by an eosinophil-independent, IL-13R alpha 2-inhibited pathway. *J Immunol.* 2010;185(1):660-9.
38. Gour N, Wills-Karp M. IL-4 and IL-13 signaling in allergic airway disease. *Cytokine.* 2015;75(1):68-78.

39. Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R. A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol.* 2008;9(3):310-8.
40. . !!! INVALID CITATION !!! [].
41. Zimmermann N, Mishra A, King NE, Fulkerson PC, Doepker MP, Nikolaidis NM, et al. Transcript signatures in experimental asthma: identification of STAT6-dependent and -independent pathways. *J Immunol.* 2004;172(3):1815-24.
42. Litosh VA, Rochman M, Rymer JK, Porollo A, Kottyan LC, Rothenberg ME. Calpain-14 and its association with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;139(6):1762-71.e7.
43. Siracusa MC, Saenz SA, Hill DA, Kim BS, Headley MB, Doering TA, et al. TSLP promotes interleukin-3-independent basophil haematopoiesis and type 2 inflammation. *Nature.* 2011;477(7363):229-33.
44. Bullock JZ, Villanueva JM, Blanchard C, Filipovich AH, Putnam PE, Collins MH, et al. Interplay of adaptive th2 immunity with eotaxin-3/c-C chemokine receptor 3 in eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45(1):22-31.
45. Simon D, Radonjic-Hösli S, Straumann A, Yousefi S, Simon HU. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation. *Allergy.* 2015;70(4):443-52.
46. Venturelli N, Lexmond WS, Ohsaki A, Nurko S, Karasuyama H, Fiebiger E, et al. Allergic skin sensitization promotes eosinophilic esophagitis through the IL-33-basophil axis in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(5):1367-80.e5.
47. Blanchard C, Wang N, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, et al. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest.* 2006;116(2):536-47.

48. Zhang X, Cheng E, Huo X, Yu C, Zhang Q, Pham TH, et al. Omeprazole blocks STAT6 binding to the eotaxin-3 promoter in eosinophilic esophagitis cells. *PLoS One*. 2012;7(11):e50037.
49. Mishra A, Rothenberg ME. Intratracheal IL-13 induces eosinophilic esophagitis by an IL-5, eotaxin-1, and STAT6-dependent mechanism. *Gastroenterology*. 2003;125(5):1419-27.
50. Rothenberg ME, Wen T, Greenberg A, Alpan O, Enav B, Hirano I, et al. Intravenous anti-IL-13 mAb QAX576 for the treatment of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(2):500-7.
51. Davis BP, Stucke EM, Khorki ME, Litosh VA, Rymer JK, Rochman M, et al. Eosinophilic esophagitis-linked calpain 14 is an IL-13-induced protease that mediates esophageal epithelial barrier impairment. *JCI Insight*. 2016;1(4):e86355.
52. Rochman M, Travers J, Abonia JP, Caldwell JM, Rothenberg ME. Synaptopodin is upregulated by IL-13 in eosinophilic esophagitis and regulates esophageal epithelial cell motility and barrier integrity. *JCI Insight*. 2017;2(20).
53. Durrani S, Rothenberg M. Recent advances in eosinophilic esophagitis. *F1000Res*. 2017;6:1775.
54. Blanchard C, Stucke EM, Rodriguez-Jimenez B, Burwinkel K, Collins MH, Ahrens A, et al. A striking local esophageal cytokine expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(1):208-17, 17.e1-7.
55. Straumann A, Bauer M, Fischer B, Blaser K, Simon HU. Idiopathic eosinophilic esophagitis is associated with a T(H)2-type allergic inflammatory response. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(6):954-61.
56. Blanchard C, Stucke EM, Burwinkel K, Caldwell JM, Collins MH, Ahrens A, et al. Coordinate interaction between IL-13 and epithelial differentiation cluster genes in eosinophilic esophagitis. *J Immunol*. 2010;184(7):4033-41.

57. Rothenberg ME, Spergel JM, Sherrill JD, Annaiah K, Martin LJ, Cianferoni A, et al. Common variants at 5q22 associate with pediatric eosinophilic esophagitis. *Nat Genet.* 2010;42(4):289-91.
58. Kottyan LC, Davis BP, Sherrill JD, Liu K, Rochman M, Kaufman K, et al. Genome-wide association analysis of eosinophilic esophagitis provides insight into the tissue specificity of this allergic disease. *Nat Genet.* 2014;46(8):895-900.
59. Kottyan LC, Rothenberg ME. Genetics of eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunol.* 2017;10(3):580-8.
60. Sleiman PM, Wang ML, Cianferoni A, Aceves S, Gonsalves N, Nadeau K, et al. GWAS identifies four novel eosinophilic esophagitis loci. *Nat Commun.* 2014;5:5593.
61. Cheng E, Zhang X, Wilson KS, Wang DH, Park JY, Huo X, et al. JAK-STAT6 Pathway Inhibitors Block Eotaxin-3 Secretion by Epithelial Cells and Fibroblasts from Esophageal Eosinophilia Patients: Promising Agents to Improve Inflammation and Prevent Fibrosis in EoE. *PLoS One.* 2016;11(6):e0157376.
62. Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, et al. Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(1):160-5 e3.
63. Clayton F, Peterson K. Eosinophilic Esophagitis: Pathophysiology and Definition. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2018;28(1):1-14.
64. Lucendo AJ. Cellular and molecular immunological mechanisms in eosinophilic esophagitis: an updated overview of their clinical implications. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;8(6):669-85.
65. Abonia JP, Rothenberg ME. Eosinophilic esophagitis: rapidly advancing insights. *Annu Rev Med.* 2012;63:421-34.

66. Aceves SS, Newbury RO, Dohil R, Bastian JF, Broide DH. Esophageal remodeling in pediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(1):206-12.
67. Cheng E, Souza RF, Spechler SJ. Tissue remodeling in eosinophilic esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;303(11):G1175-87.
68. Doran E, Cai F, Holweg CTJ, Wong K, Brumm J, Arron JR. Interleukin-13 in Asthma and Other Eosinophilic Disorders. *Front Med (Lausanne).* 2017;4:139.
69. Aalberse RC, Platts-Mills TA, Rispens T. The Developmental History of IgE and IgG4 Antibodies in Relation to Atopy, Eosinophilic Esophagitis, and the Modified TH2 Response. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(6):45.
70. Deshpande V, Zen Y, Chan JK, Yi EE, Sato Y, Yoshino T, et al. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. *Mod Pathol.* 2012;25(9):1181-92.
71. Gonsalves N, Yang GY, Doerfler B, Ritz S, Ditto AM, Hirano I. Elimination diet effectively treats eosinophilic esophagitis in adults; food reintroduction identifies causative factors. *Gastroenterology.* 2012;142(7):1451-9 e1; quiz e14-5.
72. Simon D, Cianferoni A, Spergel JM, Aceves S, Holbreich M, Venter C, et al. Eosinophilic esophagitis is characterized by a non-IgE-mediated food hypersensitivity. *Allergy.* 2016;71(5):611-20.
73. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(1):18-27; quiz 8-9.
74. Zukerberg L, Mahadevan K, Selig M, Deshpande V. Oesophageal intrasquamous IgG4 deposits: an adjunctive marker to distinguish eosinophilic oesophagitis from reflux oesophagitis. *Histopathology.* 2016;68(7):968-76.
75. Dellon ES, Chen X, Miller CR, Fritchie KJ, Rubinas TC, Woosley JT, et al. Tryptase staining of mast cells may differentiate eosinophilic esophagitis from gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(2):264-71.

76. Abonia JP, Blanchard C, Butz BB, Rainey HF, Collins MH, Stringer K, et al. Involvement of mast cells in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(1):140-9.
77. Aceves SS, Chen D, Newbury RO, Dohil R, Bastian JF, Broide DH. Mast cells infiltrate the esophageal smooth muscle in patients with eosinophilic esophagitis, express TGF- $\beta$ 1, and increase esophageal smooth muscle contraction. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(6):1198-204.e4.
78. Niranjana R, Mavi P, Rayapudi M, Dynda S, Mishra A. Pathogenic role of mast cells in experimental eosinophilic esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013;304(12):G1087-94.
79. Aceves SS. Remodeling and fibrosis in chronic eosinophil inflammation. *Dig Dis.* 2014;32(1-2):15-21.
80. Lomazi EA, Brandalise NA, Servidoni M, Cardoso SR, Meirelles LR. Mast Cells Distinguish Eosinophilic Esophagitis in Pediatric Patients. *Arq Gastroenterol.* 2017;54(3):192-6.
81. Rajavelu P, Rayapudi M, Moffitt M, Mishra A. Significance of para-esophageal lymph nodes in food or aeroallergen-induced iNKT cell-mediated experimental eosinophilic esophagitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;302(7):G645-54.
82. Jensen ET, Kappelman MD, Kim HP, Ringel-Kulka T, Dellon ES. Early life exposures as risk factors for pediatric eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57(1):67-71.
83. Harris JK, Fang R, Wagner BD, Choe HN, Kelly CJ, Schroeder S, et al. Esophageal microbiome in eosinophilic esophagitis. *PLoS One.* 2015;10(5):e0128346.

84. Molina-Infante J, Arias A, Barrio J, Rodríguez-Sánchez J, Sanchez-Cazalilla M, Lucendo AJ. Four-food group elimination diet for adult eosinophilic esophagitis: A prospective multicenter study. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(5):1093-9.e1.
85. Lucendo AJ, Arias Á, González-Cervera J, Yagüe-Compadre JL, Guagnozzi D, Angueira T, et al. Empiric 6-food elimination diet induced and maintained prolonged remission in patients with adult eosinophilic esophagitis: a prospective study on the food cause of the disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(3):797-804.
86. Dohil R, Newbury RO, Aceves S. Transient PPI responsive esophageal eosinophilia may be a clinical sub-phenotype of pediatric eosinophilic esophagitis. *Dig Dis Sci*. 2012;57(5):1413-9.
87. Wen T, Dellon ES, Moawad FJ, Furuta GT, Aceves SS, Rothenberg ME. Transcriptome analysis of proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia reveals proton pump inhibitor-reversible allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):187-97.
88. Molina-Infante J, Bredenoord AJ, Cheng E, Dellon ES, Furuta GT, Gupta SK, et al. Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia: an entity challenging current diagnostic criteria for eosinophilic oesophagitis. *Gut*. 2016;65(3):524-31.
89. Lipowska AM, Kavitt RT. Current Diagnostic and Treatment Strategies for Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2017;13(9):527-35.