



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE D  
**COIMBRA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARIA INÊS ESTEVES NASCIMENTO

***ESOFAGITE EOSINOFÍLICA: FISIOPATOLOGIA E IMPLICAÇÕES  
CLÍNICAS***

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:  
PROFESSOR DOUTOR RUI VASCO QUINTAIS GRADIZ  
PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO

ABRIL/2023

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU  
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DO MESTRADO INTEGRADO  
EM MEDICINA

**Esofagite Eosinofílica: Fisiopatologia e Implicações Clínicas**

Eosinophilic Esophagitis: Physiopathology and Clinical Implications

Artigo de Revisão Narrativa

Área científica de Fisiopatologia

Autores:

Maria Inês Esteves Nascimento<sup>1</sup>,

Rui Vasco Quintais Gradiz<sup>1</sup>,

Anabela Mota Pinto<sup>1</sup>

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

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Polo III – Polo das Ciências da Saúde

Azinhaga de Santa Comba, Cela

3004-548 Coimbra

**Contacto do autor:** maria\_ines\_nascimento@hotmail.com

Abril/2023

## Índice

Abreviaturas e acrónimos .....	4
Resumo .....	6
Abstract .....	8
Introdução .....	10
Metodologia.....	12
Discussão.....	13
1. Aspetos Endoscópicos e Histopatológicos.....	13
2. Fatores Genéticos e Moleculares .....	14
3. Exposição ambiental .....	17
4. Sensibilização alérgica .....	19
5. Inflamação mediada por linfócitos Th2 .....	22
6. Eosinófilos .....	24
7. Mastócitos .....	25
8. Alterações Estruturais da Barreira.....	27
9. Fibrose Subepitelial.....	29
10. Alterações da Motilidade Esofágica .....	32
11. Novos métodos complementares de diagnóstico e monitorização terapêutica .....	33
12. Terapêutica .....	35
Conclusão .....	39
Referências bibliográficas.....	42

## **Abreviaturas e acrónimos**

**$\alpha$ -SMA** –  $\alpha$  actina do músculo liso

**CAPN14** – calpaína-14

**CCL26** – eotaxina-3

**CCR3** – recetor eosinofílico de eotaxina

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

**CRTH2** – molécula homóloga de recetores e quimioatática expressa em células Th2

**DRGE** – doença de refluxo gastroesofágico

**DSG1** – desmogleína-1

**ECP** – proteína catiónica eosinofílica

**EDC** – complexo de diferenciação epidérmica

**EDN** – neurotoxina derivada de eosinófilos

**ETIS** – espectroscopia elétrica de tecidos

**EoE** – esofagite eosinofílica

**EoEHSS** – *Eosinophilic Esophagitis Histology Scoring System*

**Eo/hpf** – eosinófilos por grande campo de ampliação

**EPO** – peroxidase eosinofílica

**EREFS** – *Endoscopic Reference Scoring System*

**FLG** – filagrina

**FLIP** – *Functional Lumen Imaging Probe*

**GWAS** – estudos de associação genómica ampla

**HIF1A** – gene fator induzível por hipoxia 1 $\alpha$

**hpf** – grande campo de ampliação

**HRM** – manometria de alta resolução

**IBP** – inibidor da bomba de prótons

**IgE** – imunoglobulina E

**IgG4** – imunoglobulina G4

**IL-4** – interleucina 4

**IL-5** – interleucina 5

**IL-13** – interleucina 13

**IL-33** – interleucina 33

**JAK** – Janus quinase

**KLK5** – calicreína-5

**LOX** – lisil oxidase

**MBP** – proteína básica major

**MeSH** – *medical subject headings*

**MI** – impedância mucosa

**NF-κB** – fator nuclear kappa B

**NGS** – sequenciação de última geração

**PGD<sub>2</sub>** – prostaglandina D2

**POSTN** – periostina

**SPINK** – inibidor de serina protease do tipo Kazal

**SPINK5** – inibidor de serina protease do tipo Kazal 5

**SPINK7** – inibidor de serina protease do tipo Kazal 7

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

**TER** – resistência elétrica transepitelial

**TGF-β1** – fator de crescimento transformador β1

**Th2** – linfócitos T helper 2

**TLR** – recetores do tipo Toll

**TNF-α** – fator de necrose tumoral α

**TSLP** – linfopoetina estromal tímica

**uPA** – plasminogénio tipo uroquinase

## Resumo

A esofagite eosinofílica é uma doença inflamatória crônica mediada principalmente por linfócitos Th2. Clinicamente caracteriza-se por disfunção esofágica e, histologicamente, por infiltrado eosinofílico. Embora os mecanismos fisiopatológicos não sejam totalmente compreendidos, há evidência crescente de que tanto alérgenos quanto fatores ambientais e comorbidades genéticas contribuem para o desenvolvimento desta doença. Neste sentido, nos últimos anos foram desenvolvidas novas ferramentas de diagnóstico e tratamento.

A pesquisa bibliográfica foi realizada na *PubMed*, aplicando-se a equação de pesquisa “eosinophilic esophagitis/etiology OR eosinophilic esophagitis/physiopathology”, incluindo apenas artigos de 1 de janeiro de 2016 a 31 de janeiro de 2023, em português e inglês, e cujos resumos estavam disponíveis. Além disso, da base de dados *PubMed*, foram selecionados 5 artigos para contextualizar esta revisão narrativa.

Embora, tradicionalmente, se tenha pensado que a esofagite eosinofílica era uma reação de hipersensibilidade mediada por imunoglobulina E (IgE), estudos recentes não evidenciaram esta associação. Atualmente, assume-se que a exposição ambiental no início da vida e a disbiose esofágica desempenham um papel importante em indivíduos geneticamente suscetíveis. A ativação excessiva de linfócitos Th2 por antígenos resulta num aumento da secreção de moléculas quimiotáticas, como a eotaxina-3, que exacerba a resposta inflamatória, e desregulação de *tight-junctions* e outras proteínas estruturais como desmogleína-1 e filagrina, que aumentam a permeabilidade da barreira, aumentando a exposição a antígenos e perpetuando a resposta inflamatória. Além disso, estudos genéticos encontraram variantes de risco nos genes calpaína-14 e STAT6 que agravam a disfunção da barreira esofágica.

A disfunção da barreira epitelial parece desempenhar um papel central na esofagite eosinofílica tanto como causa, permitindo a penetração de antígenos e patógenos, como consequência, devido à inflamação em curso. Além disso, leucócitos, como eosinófilos, linfócitos Th2 e mastócitos, secretam fator de crescimento tumoral  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) que ativa fibroblastos que aumentam a produção de proteínas da matriz extracelular, levando a fibrose. Além disso, os eosinófilos produzem grânulos neurotóxicos que causam disfunção da motilidade esofágica.

Atualmente estão disponíveis novas técnicas endoscópicas, como a medição da impedância mucosa, espectroscopia elétrica e *Functional Lumen Imaging Probe*, que permitem uma avaliação mais completa e menos invasiva das alterações estruturais. Para além das medidas terapêuticas já reconhecidas, como as dietas restritivas e a utilização de inibidores da bomba de prótons e de corticoides tópicos, existem vários estudos com anticorpos

monoclonais que mostraram melhorar sintomas, características histológicas e aspetos endoscópicos.

Estudos futuros devem focar-se nos mecanismos desencadeantes da doença e em alvos terapêuticos que previnam as alterações estruturais e funcionais observadas na esofagite eosinofílica.

**Palavras-chave:** esofagite eosinofílica, fisiopatologia, diagnóstico, terapia

## **Abstract**

Eosinophilic esophagitis is a chronic inflammatory disease mainly mediated by Th2 lymphocytes. Clinically, it's characterized by oesophageal dysfunction and, histologically, by an eosinophilic infiltrate. Even though the pathophysiological mechanisms are not entirely understood, there is increasing evidence that both allergens, environmental factors and genetic comorbidities contribute to the development of this disease. In this respect, new diagnosis and treatment tools have been developed in recent years.

The literature research was carried out using PubMed, applying the following research equation "eosinophilic esophagitis/etiology OR eosinophilic esophagitis/physiopathology", including only articles from 1 of January of 2016 until 31 of January of 2023, in Portuguese and English, and whose abstracts were available. Furthermore, from the database PubMed, 5 other articles were added to contextualize this review.

Even though, traditionally it was thought that eosinophilic esophagitis was an immunoglobulin E (IgE) mediated hypersensitivity reaction, recent studies lack evidence of this association. Currently, early life environmental exposure and oesophageal dysbiosis are thought to play a major role in genetically susceptible individuals. Excessive activation of Th2 lymphocytes by antigens results in increased secretion of chemoattractant molecules such as eotaxin-3, which enhances the inflammatory response, and dysregulation of tight-junctions and other structural proteins such as desmoglein-1 and filaggrin, which increase barrier permeability, increasing exposure to antigens and perpetuating the inflammatory response. Additionally, genetic studies found risk variants in the calpain-14 and STAT6 genes that further hinder the oesophageal barrier function.

Dysfunction of the epithelial barrier appears to play a central role in eosinophilic esophagitis both as a cause, allowing the penetration of antigens and pathogens, and as a consequence, due to ongoing inflammation. Furthermore, leucocytes, such as eosinophils, Th2 lymphocytes and mastocytes, secrete tumour growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) that activate fibroblasts which increase the production of extracellular matrix proteins, leading to fibrosis. Moreover, eosinophils produce neurotoxic granules that cause motility dysfunction.

Nowadays there are available new endoscopic techniques, as the measure of mucosal impedance, electric spectroscopy and Functional Lumen Imaging Probe, that allow a more complete and less invasive assessment of structural changes. Beyond the already known therapies, such as restrictive diets, the use of proton pump inhibitors and topical corticosteroids, there are many studies with monoclonal antibodies that improved symptoms, histologic characteristics and endoscopic features.

Future studies should focus on disease triggering mechanisms and therapeutic targets that prevent structural and functional changes observed in eosinophilic esophagitis.

**Keywords:** eosinophilic esophagitis, physiopathology, diagnosis, therapy

## Introdução

A esofagite eosinofílica (EoE) é uma doença esofágica crónica, mediada por uma inflamação predominantemente linfocítica T *helper* 2 (Th2). Clinicamente manifesta-se por disfunção esofágica e histologicamente por infiltrado predominantemente eosinofílico (superior ou igual a 15 eosinófilos por grande campo de ampliação (hpf)) na mucosa esofágica, na ausência de outras causas sistémicas ou locais de eosinofilia, segundo as recomendações do *United European Gastroenterology Journal*.<sup>(1)</sup>

Representa a segunda causa mais comum de esofagite crónica, após a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), e a principal causa de impactação alimentar e disfagia em crianças e adultos jovens. Em países desenvolvidos, a sua incidência tem aumentado, sendo que atualmente varia entre 1 e 20 novos casos por 100 000 habitantes por ano, e a sua prevalência entre 13 e 49 casos por 100 000 habitantes. As manifestações podem surgir em qualquer idade, no entanto está documentada uma distribuição bimodal, com um pico na infância, entre os 6 e 12 anos, e outro entre os 30 e 50 anos, e com predominância no sexo masculino. É mais frequente em caucasianos, do que em asiáticos e afro-americanos.<sup>(1,2)</sup>

As manifestações clínicas diferem consoante a idade de apresentação. No adulto, os sintomas mais comuns são a disfagia seletiva, ou seja, inicialmente para sólidos, em até 95% dos doentes, e a impactação alimentar. Estes sintomas estão relacionados com o fenótipo fibroestenótico, que se caracteriza pela presença de estenoses, anéis ondulados e mucosa pregueada. Na idade pediátrica, os sintomas tornam-se mais específicos quanto mais velha for a criança. Em crianças mais novas os sintomas mais comuns são os vómitos, dor abdominal, recusa alimentar e atraso no crescimento. As manifestações clínicas vão-se assemelhando às dos adultos com a progressão da idade.<sup>(3)</sup>

O atraso no diagnóstico não teve redução significativa desde que a EoE foi inicialmente descrita. Observa-se atraso no diagnóstico superior a 10 anos em 32% de doentes adultos, sendo que quanto mais jovem o doente maior é este atraso.<sup>(4)</sup> No entanto, avaliando as causas que levam ao atraso diagnóstico, verifica-se que o tempo desde o início de sintomas até à procura de cuidados de saúde é, em média, 18 meses, enquanto que o atraso dependente dos próprios cuidados de saúde é, em média, 6 meses. Verifica-se, ainda, que 25.7% dos doentes têm um diagnóstico prévio errado, frequentemente de DRGE.<sup>(5)</sup>

O impacto da EoE na vida dos doentes é difícil de avaliar, uma vez que muitos doentes criam estratégias adaptativas para minimizar os seus sintomas, como a evicção de alimentos sólidos, atrasando também o seu diagnóstico.<sup>(6)</sup>

A complicação mais grave é a perfuração esofágica, que ocorre em cerca de 2% dos doentes, muitas vezes após impactação alimentar prolongada. Os principais fatores de risco são a longa duração de sintomas antes do diagnóstico, antecedentes de impactação

alimentar (OR 14.9, 95% CI 1.7-129.2) e presença de estenose focal (OR 4.9, 95%CI 1.1-19.7).<sup>(7)</sup>

Cerca de um terço dos doentes diagnosticados na infância não necessitam de suporte farmacológico na idade adulta, sendo que 64% referem resolução de sintomas com recurso a inibidores da bomba de prótons (IBP) e apenas 7% mantêm corticoterapia. Ao fim de 10 anos, cerca de 63% dos doentes negam disfagia e 82% negam estratégias alimentares para evicção da sintomatologia.<sup>(8)</sup> A presença de disfagia aquando do diagnóstico e de fibrose na biópsia esofágica não são preditores de mau prognóstico.<sup>(9)</sup> Contudo, a ausência de seguimento  $\geq 2$  anos está associada a agravamento das características endoscópicas e diminuição do diâmetro esofágico quando comparadas ao momento do diagnóstico, verificando-se progressão para fenótipo fibroestenótico em 37% dos doentes.<sup>(10)</sup>

A EoE é uma doença multifatorial, dependente de fatores ambientais, imunológicos e genéticos. Está associada frequentemente a patologias atópicas, como a asma, a dermatite atópica, alergias alimentares mediadas por imunoglobulinas E (IgE) específicas e a rinite alérgica, considerando-se a exposição crónica a alérgenos alimentares e ambientais o principal mecanismo fisiopatológico de doença.<sup>(11)</sup> No entanto, está, também, associada a doenças hereditárias do tecido conjuntivo, tais como a Síndrome Ehlers-Danlos, Síndrome de Loeys-Dietz e Síndrome de Marfan tipo II e a patologias que reduzem a integridade da barreira epitelial, tal como a Síndrome de Netherton, com as quais partilha mecanismos fisiopatológicos, o que evidencia a componente genética da EoE.<sup>(12,13)</sup>

Este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão atualizada dos estudos relevantes publicados sobre os mecanismos fisiopatológicos da EoE e as suas implicações clínicas.

## Metodologia

A pesquisa bibliográfica foi realizada com recurso à base de dados *PubMed*, utilizando os termos MeSH “*eosinophilic esophagitis*”, “*physiopathology*” e “*etiology*”. A equação de pesquisa utilizada foi “*eosinophilic esophagitis/etiology* OR *eosinophilic esophagitis/physiopathology*”. Posteriormente, foram aplicados filtros referentes ao idioma, apenas artigos em português e inglês, disponibilidade de *abstract* e data de publicação entre 1 de janeiro de 2016 e 31 de janeiro de 2023. Foram obtidos 526 artigos.

Após leitura dos títulos, foram selecionados 226 artigos potencialmente relevantes para este projeto. Foram excluídos 149 artigos, após a leitura dos seus resumos, por não serem relevantes para o tema, pelo que no final da pesquisa foram selecionados 77 artigos, utilizados nesta revisão.

Adicionalmente, da base de dados *PubMed*, foram selecionados 5 artigos sobre as normas orientadoras da EoE do *United European Gastroenterology Journal* e epidemiologia desta patologia para contextualização e enquadramento do trabalho, pelo que a base bibliográfica deste trabalho consistiu num total de 82 artigos.

## Discussão

### 1. Aspetos Endoscópicos e Histopatológicos

Atualmente estão descritas várias características endoscópicas associadas à EoE, como a presença de exsudatos, anéis ondulados (traquealização esofágica), edema, sulcos longitudinais e estrangulamentos/estenoses. Estas características estão sistematizadas no *Endoscopic Reference Scoring System* (EREFS), que permitiu estandardização na avaliação endoscópica destes doentes.<sup>(14)</sup> No entanto, 10 a 32% dos doentes têm um esófago aparentemente normal e em muitos casos a aparência endoscópica não se correlaciona com a gravidade da disfagia nem com a atividade histológica.<sup>(15,16)</sup> Estes doentes, normalmente, são mais jovens (8.3 vs 25.4 anos), têm menor duração de sintomas antes do diagnóstico (2.8 vs 5.0 anos), e têm menor probabilidade de apresentar disfagia (40% vs 76%) e impactação alimentar (8% vs 33%).<sup>(17)</sup>

As características endoscópicas variam com a idade dos doentes. Em doentes jovens os achados endoscópicos mais comuns são os exsudatos (47%) e sulcos longitudinais (34%). Estas características estão associadas a um processo inflamatório, fenótipo mais comum nesta idade.<sup>(16)</sup> Por outro lado, as características relacionadas com o fenótipo fibroestenótico, como estenoses, anéis ondulados e mucosa pregueada, são achados mais comuns na idade adulta.<sup>(18)</sup>

O tempo de duração dos sintomas antes do diagnóstico correlaciona-se com alterações fibróticas aquando do diagnóstico de EoE. Na verdade, o atraso no diagnóstico é o único fator de risco reconhecido para a deteção de estenoses na endoscopia diagnóstica (OR=1.08,  $p<0.001$ ).<sup>(19)</sup> Em doentes com diagnóstico até dois anos após início de sintomas a presença de estenoses na endoscopia foi 17.2%, enquanto, que em doentes com duração de sintomas superior a 20 anos antes do diagnóstico a presença de estenoses foi 70.8% ( $p<0.001$ ).<sup>(20)</sup>

O diagnóstico de EoE requer 6 biópsias de locais diferentes, preferencialmente onde sejam observáveis alterações endoscópicas. Posteriormente, as secções de tecido devem ser fixadas com formalina e coradas com hematoxilina-eosina. O diagnóstico de EoE implica pelo menos uma biópsia com pelo menos 15 eosinófilos/hpf.<sup>(1)</sup>

O sistema de classificação histológica mais reconhecido atualmente é o *Eosinophilic Esophagitis Histology Scoring System* (EoEHSS), que avalia 8 características histológicas: pico de contagem de eosinófilos/hpf, hiperplasia da camada basal, microabscessos eosinofílicos (aglomerados com 4 ou mais eosinófilos), estratificação superficial de eosinófilos, dilatação dos espaços intercelulares, alteração da superfície epitelial, células epiteliais disqueratóticas e fibrose da lâmina própria.<sup>(21)</sup>

## 2. Fatores Genéticos e Moleculares

Através de estudos genéticos realizados com famílias e estudos de gémeos, e posteriormente, estudos de associação genética ampla (GWAS) e estudos de sequenciação genética de última geração (NGS), foi evidenciada a contribuição da genética na fisiopatologia na EoE.

Num estudo genético de famílias, verificou-se maior incidência de EoE em familiares de 1º grau e que irmãos e pais têm 64 e 43 vezes maior probabilidade de apresentar doença, respetivamente. No entanto, não existe um padrão específico de hereditariedade.<sup>(22)</sup>

A maioria das variantes de risco associadas à EoE estão fora da região codificante dos genes (42.4% encontram-se em intrões e 36.7% são intergénicas). Apenas 2.2% alteram sequências de aminoácidos, correspondendo a 3 das variantes atualmente descritas.<sup>(23)</sup>

### 2.1. Variantes genéticas associadas à disfunção imunitária

O CCL26 é o gene que apresenta a maior sobreexpressão de mRNA em biópsias esofágicas de doentes com EoE quando comparado a controlos. Este gene codifica a eotaxina-3, uma proteína quimiotática específica de eosinófilos via recetores eosinofílicos da eotaxina-3 (CCR3). A sua expressão correlaciona-se com a presença de eosinófilos em biópsias de doentes com EoE. As principais células produtoras de eotaxina-3 são as células do epitélio esofágico, sendo que a interleucina 13 (IL-13) é responsável por aumento da transcrição do gene CCL26.<sup>(24)</sup>

A variante de risco rs2302009 tem uma correlação forte com a presença de doença (OR=1.63, p = 0.0069). Ao contrário de outros genes em que as variantes podem estar associadas a atopia, a associação entre a EoE e a variante rs2302009 aparenta ter uma suscetibilidade direta.<sup>(12)</sup>

Através de estudos GWAS, foram identificadas variantes genéticas no *locus* 12q13, que codifica o transdutor de sinal e ativador de transcrição 6 (STAT6). A sua tradução é ativada pelas IL-13 e interleucina 4 (IL-4) e resulta na ativação da transcrição de vários genes associados à EoE, tal como o gene CCL26.<sup>(23,24)</sup>

Polimorfismos de nucleotídeo único no *locus* 5q22, que codifica a linfopoetina estromal tímica (TSLP), estão associados não só à EoE, mas também a doenças atópicas. A TSLP é uma citocina produzida por células epiteliais em resposta à exposição a alérgenos, e está envolvida na inflamação mediada por Th2. Esta citocina encontra-se sobreexpressa em biópsias esofágicas de doentes com EoE.<sup>(25)</sup> Promove a hematopoiese de basófilos e basófilos que expressam o recetor da TSLP estão presentes em biópsias de doentes com EoE. Verificou-se, também, que pode ocorrer sensibilização a ovo e amendoim mediada por basófilos que expressam o recetor da TSLP, de forma independente da IgE.<sup>(12)</sup>

A predominância de EoE no sexo masculino pode ser explicada, em parte, por polimorfismos no gene citocina fator *receptor-like* tipo 2 (CRLF2), que codifica o recetor do TSLP, uma vez que este se localiza na região pseudoautosómica Xp22.3 e Yp11.3.<sup>(12,13)</sup> Em doentes com aneuploidias dos cromossomas sexuais, verifica-se a sobreexpressão desta região, uma vez que estas regiões não sofrem a normal inativação do cromossoma X. Verificou-se que nestes doentes, o risco de desenvolverem EoE é tanto maior quanto maior o número de cromossomas supranumerários.<sup>(26)</sup>

*Kottyan et al.* identificaram um haplótipo de risco no *locus* 16p13 que codifica os genes CLEC16A, DEXI e CIITA. Os genes CLEC16A e DEXI são expressos pelas células epiteliais de forma independente da IL-13. Os 3 genes são expressos por células imunitárias, sendo que se verificou o aumento da expressão dos genes DEXI e CLEC16A em monócitos e linfócitos B, respetivamente, em doentes com EoE.<sup>(27)</sup>

## **2.2. Variantes genéticas relacionadas com disfunção da barreira epitelial**

Em estudos GWAS foram identificadas variantes de risco no gene CAPN14 associado ao *locus* 2p23. O aumento da expressão do gene CAPN14 é induzido pela presença de IL-13, através da ligação do STAT6 à região promotora deste gene, predominantemente nas células epiteliais. Não só se verificou um aumento superior a 1.5 vezes da expressão do CAPN14 entre doentes com EoE e controlos, como este aumento persiste após remissão.<sup>(28)</sup>

A sua sobreexpressão resulta em perda de coesão entre queratinócitos (acantólise), perda de coesão entre o epitélio e a lâmina própria (epidermólise) e dilatação dos espaços intercelulares (espongiose), levando a disfunção significativa da barreira epitelial. Adicionalmente condiciona a integridade da proteína desmogleína-1, devido à atividade proteolítica da calpaína-14, codificada por este gene.<sup>(24)</sup> A calpaína-14 aumenta, também, a expressão de interleucina 33 (IL-33), que tem uma função semelhante à TSLP.<sup>(29)</sup>

O complexo de diferenciação epidérmica (EDC) é um complexo de genes localizado no *locus* 1q21 que desempenham funções na formação de barreira epitelial e na diferenciação das células epiteliais. Na EoE, a IL-13 diminui a expressão destes genes, nomeadamente o gene FLG, que codifica a filagrina.<sup>(24)</sup>

A filagrina é responsável por agregação dos filamentos de queratina durante a transformação das células granulares em células escamosas que constituem a camada mais superficial do epitélio esofágico. Quando há diminuição da expressão de FLG ocorre disfunção da barreira epitelial, e, conseqüentemente, aumento da exposição a alérgenos exógenos e ativação da resposta imunitária.<sup>(24)</sup>

A família de genes SPINK codifica várias antiproteases. Os genes SPINK5 e SPINK7 são os que têm maior expressão no esófago, e estão envolvidos na diferenciação do epitélio

e manutenção da função de barreira. Ambas as antiproteases estão diminuídas na EoE por um mecanismo independente de IL-13. *Ex vivo*, o silenciamento dos genes SPINK5 e SPINK7 está associado a dilatação dos espaços intercelulares e redução da resistência elétrica transepitelial. A diminuição da expressão de SPINK7 está associada à diminuição da expressão de genes do complexo EDC e dos genes que codificam as proteínas E-caderina e desmogleína-1.<sup>(30)</sup>

Adicionalmente, o silenciamento do gene SPINK7 duplicou a expressão do ativador do plasminogénio tipo uroquinase (uPA), que por sua vez aumentou a ativação de eosinófilos através do recetor dependente de uPA.<sup>(30)</sup>

Os principais genes envolvidos na fisiopatologia da EoE e os seus mecanismos fisiopatológicos estão sintetizados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Genes e respetivos mecanismos fisiopatológicos associados à esofagite eosinófilica

<b>Gene</b>	<b>Mecanismo fisiopatológicos</b>
<b>CCL26</b>	Aumento da atividade e expressão de eotaxina-3. <sup>(24)</sup>
<b>STAT6</b>	Ativação da transcrição de genes, como CCL26 e CAPN14. <sup>(23,24,28)</sup>
<b>TSLP</b>	Associado a respostas mediadas por basófilos. <sup>(12)</sup> Polarização para resposta inflamatória Th2. <sup>(25)</sup>
<b>CRLF2</b>	Codifica o recetor da TSLP. <sup>(12,13)</sup> Associação com o género masculino. <sup>(12,13)</sup>
<b>CLEC16A</b>	Expressão aumentada em linfócitos B de doentes com EoE. <sup>(27)</sup>
<b>DEXI</b>	Expressão aumentada em monócitos de doentes com EoE. <sup>(27)</sup>
<b>CAPN14</b>	Associado a acantólise, epidermólise e espongiose. <sup>(24)</sup> Degradação da desmogleína-1. <sup>(24)</sup> Aumento da expressão de IL-33. <sup>(29)</sup>
<b>FLG</b>	Alterações da função de barreira epitelial por diminuição da agregação de filamentos de queratina. <sup>(24)</sup>
<b>SPINK5</b>	Dilatação dos espaços intercelulares. <sup>(30)</sup> Redução da resistência elétrica transepitelial. <sup>(30)</sup>
<b>SPINK7</b>	Dilatação dos espaços intercelulares. <sup>(30)</sup> Redução da resistência elétrica transepitelial. <sup>(30)</sup> Diminuição da expressão de genes do complexo EDC. <sup>(30)</sup> Aumento da expressão de uPA, com aumento da ativação de eosinófilos. <sup>(30)</sup>

### 3. Exposição ambiental

O estudo de coorte de gémeos revelou que os fatores ambientais são responsáveis por 81% da diferença fenotípica, enquanto a hereditabilidade genética era apenas responsável por 14.5%, contrariamente ao inicialmente documentado.<sup>(12)</sup>

*Dellon et al.* estudaram a associação de exposições no início de vida com o desenvolvimento de EoE. Foi estabelecida uma associação positiva com a utilização de antibióticos na infância (OR=4.65, 95%CI 1.63-13.2), parto por cesariana (OR=3.08, 95%CI 0.75-12.6), parto pré-termo (OR=2.92, 95%CI 0.71-12.0) e admissão na unidade de cuidados intensivos neonatais (OR=4.0, 95%CI 1.01-15.9).<sup>(31)</sup>

Adicionalmente, *Jensen et al.* verificaram uma associação positiva com febre materna intraparto (OR=3.18, 95%CI 1.27-7.98) e utilização de IBP no primeiro ano de vida (OR=6.05, 95%CI 2.55-14.40). À semelhança do estudo anterior, verificaram também que parto pré-termo, parto por cesariana e o uso de antibióticos durante a infância são fatores de risco para o desenvolvimento de EoE. Por outro lado, o contacto com animais com pelo durante a infância mostrou ser um fator protetor (OR=0.58, 95%CI 0.34-0.97). Não se verificou associação com a amamentação ou com a suplementação vitamínica e ácido fólico durante a gravidez e o risco de desenvolvimento de EoE.<sup>(32)</sup>

*Hiremath et al.* estudaram o microbioma salivar em crianças com EoE. Verificaram que não existe diferença significativa na composição do microbioma entre crianças com e sem EoE. No entanto verificou-se uma abundância cerca de 8 vezes superior de *Haemophilus* em crianças com EoE ativa quando comparado com EoE não ativa (valor de  $q=0.008$ ), que se correlacionava com um aumento da pontuação do EoEHSS.<sup>(33)</sup>

Numa meta-análise recente verificou-se um aumento da carga microbiana esofágica em doentes com EoE ativa, com uma abundância relativa de *Haemophilus* (Proteobacteria) e diminuição de membros específicos do filo Firmicutes, como o *Streptococcus* e *Lactobacillus*. No entanto, na EoE não ativa os estudos mostraram resultados díspares, que podem ser atribuídos à utilização de diferentes metodologias.<sup>(34)</sup>

Verificou-se, ainda, o aumento da expressão de recetores do tipo Toll (TLR) em doentes com EoE ativa. Os TLR são recetores presentes nas células epiteliais e da lâmina própria que reconhecem padrões microbianos e distinguem microrganismos patogénicos e comensais. O aumento da sua expressão pode estar correlacionado com a perpetuação da inflamação esofágica.<sup>(34)</sup>

*Brusilovsky et al.* estudaram o microbioma esofágico em murinos e o seu significado na EoE. Observaram que as comunidades bacterianas nos murinos e em humanos saudáveis são sobreponíveis, verificando-se uma dominância de Lactobacillales (*Streptococcaceae*), e

a presença de Proteobacteria (*Pasteurellacea*) e Bactereoidetes, no seu epitélio. Em doentes com EoE verificou-se disbiose, havendo uma diminuição da presença de Lactobacillales.<sup>(35)</sup>

Posteriormente, compararam as alterações de expressão genética entre murinos com alterações do microbioma e doentes com EoE. Verificaram alteração de expressão de 336 genes sobreponíveis entre os dois grupos. Estes genes estão envolvidos na organização da matriz extracelular como o gene da protease relacionada com a calicreína-5 (KLK5), na diferenciação epitelial como o gene fator induzível por hipoxia 1 alfa (HIF1A) e na migração celular como o gene POSTN, que codifica a periostina.<sup>(35)</sup>

O tratamento de ratinhos com antibióticos de largo espectro resultou na diminuição de Lactobacillales, semelhante ao que acontece na EoE, com aumento relativo de Mollicutes, Proteobacteria e Actinobacteria. Verificou-se também um aumento da inflamação mediada por Th2 nestes ratinhos.<sup>(35)</sup>

O papel da infeção por *Helicobacter pylori* no desenvolvimento de EoE é atualmente um assunto controverso. Uma metanálise de 8 estudos observacionais revelou que a infeção por *H. pylori* reduz em 37% o risco de desenvolver EoE (OR 0.63, 95%CI 0.51-0.78). Neste estudo verificou-se que estudos prospetivos tinham menor probabilidade de mostrar uma associação significativa entre a exposição ao *H. pylori* e a EoE. Estudos experimentais mostraram que o *H. pylori* tem um papel protetor na EoE por induzir uma resposta imune mediada por Th1 e Th17, polarizando o sistema imunitário para uma resposta não alérgica.<sup>(36)</sup>

#### 4. Sensibilização alérgica

Entre 50-80% dos doentes com EoE apresentam concomitantemente diagnóstico de patologia alérgica, como rinite alérgica (39%), asma (37%) e dermatite atópica (13%), ou IgE específicas contra antigénios alimentares (75%) ou aeroalergénios (73%) (12,37). A EoE está, também, associada a reações graves mediadas por IgE, como urticária e anafilaxia, em 14.8% dos doentes.<sup>(37)</sup>

A prevalência de alergia alimentar mediada por IgE na EoE é superior à população geral (4.7% vs 0.04%), sendo que a alergia mediada por IgE ao ovo, leite e marisco estão significativamente associadas ao diagnóstico de EoE. Em doentes com EoE e sensíveis à proteína do leite verificou-se o aumento de secreção das interleucinas 5 (IL-5) e IL-13 por linfócitos Th2.<sup>(29)</sup>

Neste sentido, foram utilizados testes epicutâneos e testes *Prick*, que avaliam respostas de hipersensibilidade tipo IV e tipo I, respetivamente, com o objetivo de identificar alergénios alimentares e prever a atividade de doença nos doentes com EoE associada a alergias alimentares mediadas por IgE. No entanto, estes testes demonstraram baixa sensibilidade, especialmente em adultos.<sup>(13,20)</sup>

Para além disto, ratinhos sem expressão de IgE desenvolveram EoE e, em humanos, o anticorpo monoclonal anti-IgE, o omalizumab, não reduziu significativamente a contagem eosinofílica nem a presença de sintomas, quando comparado com doentes que receberam placebo. Neste estudo, verificou-se também uma melhor correlação entre os doseamentos de IgG4 e EoE ativa.<sup>(38)</sup>

A IgG4 é um indicador de dessensibilização na imunoterapia, sendo que o aumento da razão IgG4/IgE indica eficácia terapêutica. No entanto, estudos recentes verificaram que a imunoterapia oral é responsável por induzir EoE entre 2.7 e 12.5% destes doentes, e que estes apresentavam aumento da deposição de IgG4 nas biópsias esofágicas. Os níveis de IgG4 específicas no soro e na mucosa esofágica são 45 vezes superiores na EoE quando comparado com indivíduos saudáveis.<sup>(39)</sup>

A corticoterapia em doentes com EoE mostrou diminuição da IgG4 no soro e nas biópsias esofágicas, acompanhada de melhoria de sintomas. Por outro lado, a restrição dietética orientada pelo doseamento de IgG4 específicas mostrou melhoria clínica em doentes com doença de *Crohn*, sendo que o mesmo poderá ser observado em doentes com EoE em estudos futuros.<sup>(39)</sup>

*Rosenberg et al.* mostraram que a IgG4 é a imunoglobulina com maior expressão na mucosa esofágica em doentes com EoE em relação a controlos (mediana 4.2 mg/g proteína vs 0.2 mg/g proteína,  $p < 0.0001$ ). A IgE não estava significativamente aumentada em doentes com EoE ( $p = 0.06$ ). Os níveis de IgG4 mostraram uma correlação positiva com a hiperplasia

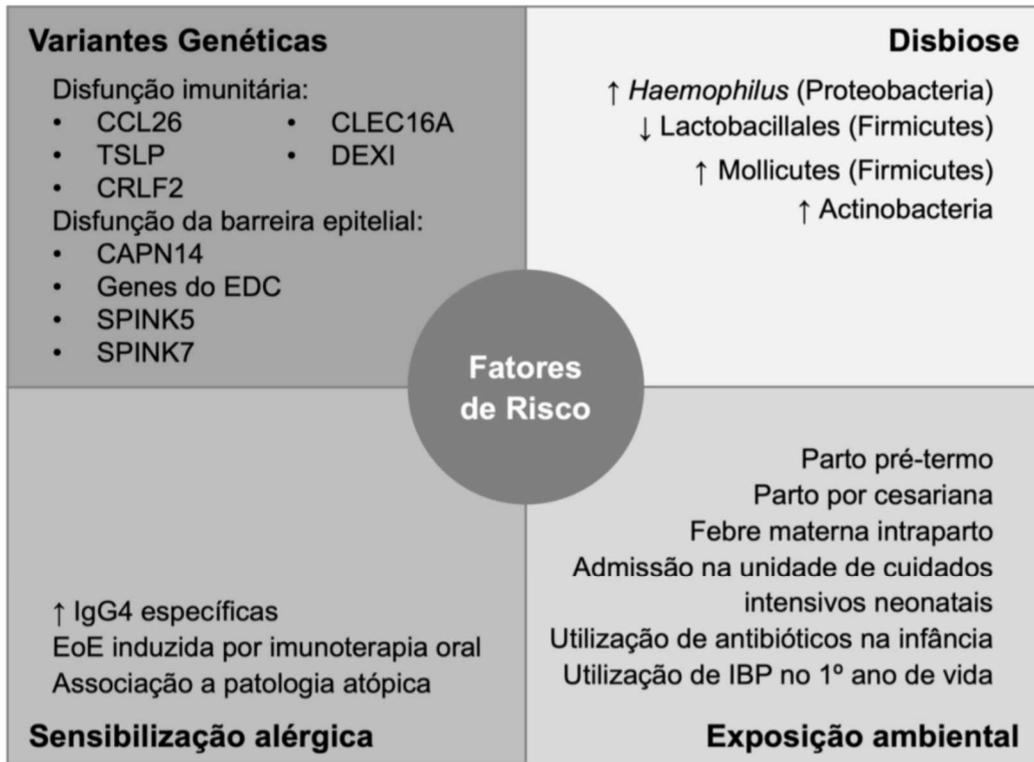
da camada basal, e com a pontuação EoEHSS. No entanto, não se correlacionou com fibrose da lâmina própria.<sup>(40)</sup>

Inicialmente, alguns autores verificaram variações sazonais no diagnóstico e exacerbações da EoE, corroboradas pela ausência de resposta à eliminação empírica de alérgenos alimentares, negatividade na pesquisa de atopia para alérgenos alimentares e positividade para alérgenos inalados. No entanto, estudos mais recentes, não mostraram relação de causalidade entre a exposição a aeroalérgenos e o diagnóstico ou exacerbação da EoE. Alguns destes estudos consideram que a reação cruzada alérgica pode ter um papel no desenvolvimento de EoE concomitantemente a outras patologias atópicas frequentemente associadas a esta doença.<sup>(41)</sup>

*Nakata et al.* dosearam IgE específicas em doentes com EoE e dividiram-nos em 3 grupos. O grupo 1 era constituído por doentes com baixa resposta a quase todos os alérgenos testados, o grupo 2 por doentes com resposta a alérgenos do exterior e algumas plantas e no grupo 3 os doentes eram sensíveis a quase todos os alérgenos. Doentes do grupo 3 apresentavam maior prevalência de disfagia (73.3% vs 35.5%,  $p=0.03$ ) e maior pontuação EREFS nos parâmetros de anéis esofágicos (0.9 vs 0.3,  $p=0.003$ ) e estenoses (0.13 vs 0.0,  $p=0.11$ ) em relação a doentes do grupo 1. No entanto, não houve diferenças significativas entre grupos relativamente ao número de doentes assintomáticos, outras manifestações clínicas, como pirose e dor torácica, e à contagem de eosinófilos.<sup>(42)</sup>

Algumas das limitações dos estudos de associação entre aeroalérgenos e EoE prendem-se pela ausência de estudos que avaliem a associação com aeroalérgenos perenes. Seria expectável que a exposição contínua a estes alérgenos resultasse em sintomas persistentes, paralelamente ao reportado relativamente às variações sazonais. Outra limitação relaciona-se com o atraso no diagnóstico, muitas vezes verificado na EoE, sendo que a sazonalidade do diagnóstico não é uma medida fidedigna para estabelecer esta associação.<sup>(43)</sup>

Na Figura 1 estão sintetizados os principais fatores de risco associados ao desenvolvimento de EoE.



**Figura 1** – Fatores de risco para o desenvolvimento de esofagite eosinofílica (EoE). A EoE é uma doença multifatorial, cujos principais fatores de risco são a presença de variantes genéticas, sensibilização alérgica, disbiose e exposição ambiental.

## 5. Inflamação mediada por linfócitos Th2

A EoE resulta de uma resposta inflamatória crónica anormal, mediada por linfócitos Th2 (Figura 2). A inflamação crónica Th2 resulta no aumento de citocinas em circulação, como a IL-4, a IL-5 e a IL-13, assim como o aumento da expressão da molécula homóloga de recetores e quimiotática expressa por Th2 (CRTH2).<sup>(37,44)</sup>

A IL-4 é produzida por linfócitos Th2, linfócitos T *Natural Killer* e basófilos dependentes da TSLP. A IL-4 induz a diferenciação de linfócitos T naïve em linfócitos Th2 e a mudança de classe dos linfócitos B para produção de IgE (Figura 2).<sup>(37,44)</sup>

A IL-5 é produzida por linfócitos Th2, eosinófilos e mastócitos em reações alérgicas. Promove a diferenciação de eosinófilos na medula óssea e a sua sobrevivência, e, prepara-os para responder a sinais ativadores (Figura 2). Na ausência de IL-5, os ratinhos não desenvolvem EoE experimental nem EoE induzida por IL-13.<sup>(12)</sup> Anticorpos monoclonais inibidores da IL-5 e do seu recetor mostraram redução da contagem de eosinófilos, melhoria de sintomas e redução da expressão de TGF- $\beta$ , sendo que nenhum dos doentes desenvolveu estenoses esofágicas.<sup>(45)</sup>

A IL-13 é produzida em excesso por eosinófilos e linfócitos Th2 em doentes com EoE. A IL-13 está associada à regulação da expressão de alguns genes. Está associada ao aumento da expressão do CCL26 e CAPN14, via ativação do STAT6, que estão envolvidos na inflamação Th2 e manutenção da integridade da barreira epitelial. Por outro lado, diminui a expressão dos genes DSG1 (desmogleína-1) e o EDC, genes envolvidos na manutenção da integridade da barreira epitelial e da diferenciação da mucosa. Promove também a produção de periostina por fibroblastos. Esta proteína facilita a adesão de eosinófilos à fibronectina e leva a alterações epiteliais, como o aumento da deposição de colagénio, angiogénese e hiperplasia epitelial (Figura 2).<sup>(37)</sup> Anticorpos monoclonais inibidores da IL-13 e da subunidade  $\alpha$  do seu recetor mostraram melhoria dos sintomas, redução da eosinofilia na EoE e melhoria do aspeto endoscópico. Adicionalmente, verificou-se aumento da expressão de DSG1.<sup>(45)</sup>

*Dunn et al.* estudaram a expressão de citocinas Th2 na EoE. Dividiram os doentes em 5 grupos por ordem crescente de expressão de IL-5, sendo que no grupo I a expressão de IL-5 era semelhante a doentes com EoE inativa. Neste grupo verificaram-se alterações histológicas em relação a doentes com EoE inativa, no entanto o aspeto endoscópico era, também, semelhante entre grupos. Em todos os grupos verificou-se maior inflamação eosinofílica e hiperplasia da camada basal em relação aos doentes com EoE inativa.<sup>(46)</sup>

Nos grupos III-V verificou-se um aumento significativo da IL-13 e até 20% dos doentes dos grupos IV e V tinham aumento da expressão da IL-4. Os grupos III e V tinham um aumento da expressão de TSLP. Doentes dos grupos II-V apresentaram dilatação dos espaços

intercelulares, no entanto apenas no grupo V se verificaram alterações da superfície epitelial. Os restantes aspetos histológicos não apresentaram diferenças significativas entre grupos.<sup>(46)</sup>

Relativamente ao aspeto endoscópico, nos grupos II-IV verificou-se a presença de edema e nos grupos II-V a presença de exsudatos e sulcos longitudinais estatisticamente significativa em relação aos outros grupos. Não se estabeleceu correlação significativa entre nenhum dos grupos e o fenótipo fibroestenótico.<sup>(46)</sup>

*Morgan et al.* verificaram o aumento do marcador GRP15 nos linfócitos CD4+ esofágico e do sangue periférico em doentes com EoE. Este marcador promove a migração de linfócitos Th2 para o tecido esofágico. Mostraram, também, expansão clonal de linfócitos Th2, que apresentavam uma convergência de sequências nos recetores de linfócitos T e partilhavam um fenótipo semelhante. Neste estudo verificou-se, ainda, desregulação do metabolismo lipídico que resultou no aumento da produção de prostaglandina D2 (PGD<sub>2</sub>). Juntamente com as IL-13, IL-4 e IL-5, verificou-se que a PGD<sub>2</sub> está envolvida no recrutamento e ativação de eosinófilos e mastócitos para o tecido esofágico (Figura 2).<sup>(47)</sup>

O CRTH2 é expresso na superfície dos linfócitos Th2, eosinófilos e basófilos e está envolvido no recrutamento celular durante respostas alérgicas, mediadas por PGD<sub>2</sub>. A sua expressão está aumentada em doentes com EoE. O antagonista do CRTH2, OC000459, mostrou diminuição significativa dos eosinófilos esofágicos em doentes que receberam duas doses de OC000459 durante 8 semanas, no entanto não houve diferenças significativas nos aspetos endoscópicos e nos sintomas reportados pelos doentes tratados em relação aos doentes que receberam placebo.<sup>(44,45)</sup>

## 6. Eosinófilos

Os eosinófilos são as células imunitárias características da EoE, sendo a sua presença na mucosa esofágica essencial para o seu diagnóstico. Na verdade, a gravidade da eosinofilia correlaciona-se com a remodelação epitelial e presença de fibrose.<sup>(44)</sup> Estes são recrutados para o tecido esofágico através da ligação da eotaxina-3 ao CCR3 e à TSLP, produzida pelos basófilos, moléculas sobreexpressas no epitélio de doentes com EoE.<sup>(12,29)</sup>

Os eosinófilos iniciam e mantêm a resposta inflamatória, atuando como células apresentadoras de antígenos, recrutando linfócitos T e induzindo a sua diferenciação em linfócitos Th2, para além de recrutarem e ativarem mastócitos e basófilos. Secretam, também, grânulos citotóxicos como a peroxidase eosinofílica (EPO), a proteína catiónica eosinofílica (ECP), a proteína básica *major* (MBP) e a neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN), envolvidas na lesão epitelial.<sup>(37)</sup>

O papel destes grânulos na EoE tem sido alvo de investigação, sendo que um estudo mostrou que a presença de EPO tem maior correlação com os sintomas do que a presença de eosinófilos na mucosa esofágica.<sup>(37)</sup> Por outro lado, a ECP está associada a ativação de mastócitos e neuro e citotoxicidade (Figura 2).<sup>(48)</sup>

A MBP está envolvida em vários mecanismos fisiopatológicos da EoE. *In vitro*, promove a secreção de fator de crescimento de fibroblastos-9, que condiciona hiperplasia das células basais.<sup>(44)</sup> Também está associada ao aumento da reatividade do músculo liso através da ativação dos recetores muscarínicos M2, resultando em alterações na motilidade esofágica, e, ao aumento da libertação de mediadores pró-inflamatórios e aumento da desgranulação de mastócitos e basófilos (Figura 2).<sup>(48)</sup>

*Morgan et al.* estudaram vias pró-inflamatórias sobreexpressas pelos eosinófilos durante a doença ativa. Nestes eosinófilos verificou-se um aumento da expressão de genes dependentes do fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que já tinha sido associada à sinalização pelas IL-5 e IL-33. O NF- $\kappa$ B mostrou inibir a apoptose, promovendo a ativação e sobrevivência dos eosinófilos.<sup>(47)</sup>

Os eosinófilos secretam, também, fator de crescimento transformador  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) e periostina, que estimulam fibrose e remodelação do epitélio esofágico. Em condições não patológicas, o TGF- $\beta$ 1 está envolvido na reparação de lesões, na função de barreira e tolerância imunitária, por indução de linfócitos Treg. No entanto, na EoE está associado a fibrose, por ativação de fibroblastos e estimulação da produção de colagénio, ativação e proliferação de músculo liso e hiperplasia da camada muscular, que pode contribuir para alterações da motilidade esofágica.<sup>(48)</sup>

## 7. Mastócitos

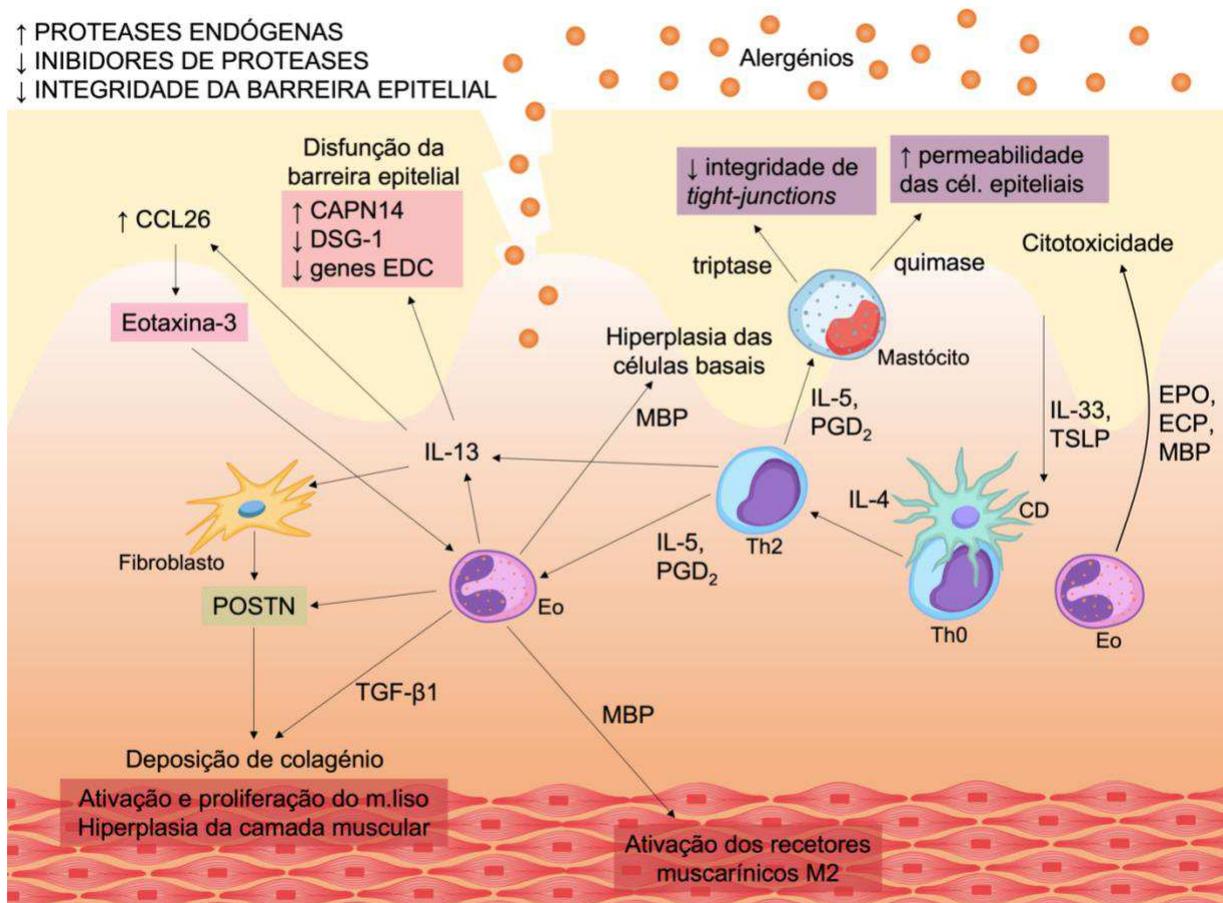
A presença de mastócitos está aumentada nas biópsias esofágicas de doentes com EoE relativamente a indivíduos saudáveis. *Bolton et al.* demonstram que doentes com alterações endoscópicas persistentes apresentavam um aumento de mastócitos totais/hpf ( $17 \pm 11$  vs  $8 \pm 6$ ,  $p < 0.01$ ) e ativados/hpf ( $8 \pm 6$  vs  $5 \pm 4$ ,  $p = 0.002$ ), quando comparado com controlos, não se verificando o mesmo com o número de eosinófilos. Verificaram, também, que o número de mastócitos se correlaciona com a presença de anéis esofágicos (OR=1.05,  $p = 0.03$ ) e sulcos longitudinais (OR=1.6,  $p = 0.01$ ). Histologicamente, doentes com maior número de mastócitos apresentavam hiperplasia da camada basal e dilatação dos espaços intercelulares persistente. Doentes em remissão clínica e histológica tinham menor número de mastócitos em relação a doentes com EoE ativa. No entanto, doentes que mantinham aumento dos mastócitos, ainda que em remissão histológica, continuavam a apresentar sintomas.<sup>(49)</sup>

Estes granulócitos produzem várias protéases, entre elas a triptase, quimase e a carboxipetidase A3. A triptase induz alterações na integridade das *tight-junctions* através da ativação do recetor 2 ativado por protéase (PAR-2) e a quimase está associada ao aumento a permeabilidade das células epiteliais (Figura 2).<sup>(49)</sup>

Noutro estudo, verificou-se na doença ativa, o aumento da expressão dos genes que codificam a triptase e carboxipetidase A3 se correlaciona positivamente com a expressão das IL-13 ( $\rho = 0.88$  e  $\rho = 0.90$ ,  $p < 0.001$ , respetivamente) e IL-5 ( $\rho = 0.90$  e  $\rho = 0.92$ ,  $p < 0.001$ , respetivamente). Para além do aumento da expressão de protéases, verificou-se o aumento da expressão de genes correlacionados com a biossíntese de prostaglandinas, que se associaram a ativação de fibroblastos, e, leucotrienos, que se associaram a sinais inflamatórios e proliferação de células endoteliais e fibroblastos. São a principal população de células que expressam recetor de alta afinidade para a IgE.<sup>(50)</sup>

Verificou-se aumento da expressão do fator KITLG por fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, e, aumento da expressão do recetor IL-33 pelos mastócitos na EoE, que está associado ao aumento da sobrevivência destas células.<sup>(50)</sup>

Na EoE ativa, verificou-se aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-13 e IL-5, e, TGF- $\beta$ 1 e fator de crescimento endotelial vascular A, relacionadas com proliferação de fibroblastos e diferenciação endotelial, respetivamente. Estas alterações persistiram em doentes em remissão.<sup>(50)</sup>



**Figura 2** – Mecanismos inflamatórios na EoE. A diminuição da integridade da barreira epitelial leva a maior exposição a alergénios, com libertação de citocinas (IL-33, TSLP) que recrutam células inflamatórias para o tecido esofágico. Ocorre polarização da resposta inflamatória para linfócitos Th2, que libertam citocinas inflamatórias. A IL-13 modifica a expressão de genes envolvidos na disfunção da barreira epitelial e na resposta inflamatória e ativa os fibroblastos. Por outro lado, a IL-5 e a PGD<sub>2</sub> recrutam eosinófilos e mastócitos que libertam grânulos citotóxicos. Assim, a EPO, ECP, MBP e periostina, libertadas pelos eosinófilos, e a triptase e quimase, libertadas pelos mastócitos, condicionam alterações da barreira epitelial e da motilidade esofágica.

## 8. Alterações Estruturais da Barreira

Na EoE podem ser observadas alterações estruturais da barreira esofágica, tais como a hiperplasia das células basais, dilatação dos espaços intercelulares (DIS) e disfunção da própria barreira. Alguns estudos demonstraram correlação entre a DIS e a presença de eosinofilia na mucosa esofágica. Em doentes sujeitos a tratamento com redução de eosinófilos em biópsia houve melhoria da DIS, embora mantivessem algum grau de disfunção de barreira.<sup>(51)</sup> Estas alterações aparentam estar correlacionadas com diminuição na expressão de várias proteínas estruturais, tais como a E-caderina, claudina-1, claudina-7, desmogleína-1 e filagrina, e o aumento da expressão de proteases como a calpaína-14 (Figura 3).<sup>(29)</sup>

A desmogleína-1 é uma glicoproteína transmembranar que constitui um componente *major* dos desmossomas. Na EoE, a sua expressão diminui em resposta à IL-13 por intermédio da calpaína-14. Resulta em disrupção da arquitetura epitelial, diminuição da resistência transepitelial e aumento da permeabilidade celular. Para além de alterações da estruturais, a diminuição da expressão de desmogleína-1 *in vitro* levou ao aumento da expressão de moléculas pró-inflamatórias da matriz extracelular, como a periostina e a TSLP.<sup>(52)</sup>

A filagrina está, também, diminuída na EoE e associa-se à diminuição da função de barreira. A sua expressão é, igualmente, inibida pela IL-13, sobreexpressa na EoE. Para além disto, existem duas variantes genéticas de risco associadas à EoE, independentemente da presença de atopia.<sup>(12)</sup> Em doentes com EoE tratados com IBP verificou-se um aumento do mRNA do gene codificante da filagrina e recuperação parcial da integridade de barreira em doentes que responderam a esta terapêutica.<sup>(44)</sup>

A infiltração por leucócitos leva ao aumento das necessidades metabólicas dos tecidos com diminuição da disponibilidade de oxigénio. Na EoE ativa e em modelos experimentais verificou-se que a hipoxia prolongada diminui a expressão de HIF-1 $\alpha$ . A diminuição da expressão deste fator associou-se a diminuição da expressão de claudina-1 e, conseqüentemente, a disrupção da barreira epitelial.<sup>(53)</sup>

Células epiteliais expostas a TGF- $\beta$ 1 diminuíram a expressão de claudina-7 *in vitro*. Verificou-se diminuição da resistência elétrica transepitelial e aumento do fluxo paracelular, e, histologicamente, separação celular nas camadas basais e suprabasais, quando comparado com controlos. Controlos e doentes pediátricos em remissão apresentaram níveis semelhantes de claudina-7, que à observação por imunofluorescência estava disposta num padrão linear a delimitar a membrana celular. Doentes pediátricos com EoE ativa apresentaram diminuição da expressão de claudina-7, que se dispunha num padrão granular difuso perimembranar.<sup>(54)</sup>

Em doentes com polimorfismo de risco no promotor do gene que codifica a TGF- $\beta$ 1, que aumenta a sua expressão, a expressão de E-caderina está diminuída e o espaço na sua disposição membranar está aumentado ( $446\pm 189\text{nm}$  e  $372\pm 52\text{nm}$ , em doentes com e sem polimorfismo de risco, respetivamente). Uma vez que a posição da claudina-1 está dependente da E-caderina, verificou-se que a sua ligação à membrana está, também, diminuída. Em células cultivadas em meios ricos em TGF- $\beta$ 1 verificou-se disrupção no padrão de distribuição de E-caderina nas células epiteliais em relação com os controlos.<sup>(55)</sup>

## 9. Fibrose Subepitelial

Na EoE há evidência de fibrose em 57 a 78% das crianças e 89% dos adultos diagnosticados, sendo a lâmina própria a camada mais afetada. A fibrose correlaciona-se com a rigidez esofágica, hipertrofia muscular e o risco de impactação alimentar.<sup>(29)</sup>

O risco de complicações, nomeadamente a formação de estenoses e a impactação alimentar, parece estar mais associado à atividade subepitelial do que há inflamação eosinofílica da mucosa. Num estudo retrospectivo verificou-se que a densidade eosinofílica da mucosa se correlacionava apenas moderadamente com a inflamação eosinofílica subepitelial, e que a densidade de eosinófilos era superior no subepitélio. A análise das biópsias evidenciou que a inflamação eosinofílica, assim como a presença de mediadores inflamatórios e as alterações fibróticas envolviam, também, a submucosa e a *muscularis* própria.<sup>(56)</sup>

A EoE está associada a um processo de transição epitélio-mesenquimal, mediado pelo TGF- $\beta$ 1 e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Neste processo, o epitélio adquire características de células mesenquimatosas, como a produção de colagénio, migração e contração. Ao diminuir a adesão celular, a transição epitélio-mesenquimal contribui, também, para defeitos na barreira epitelial (Figura 3).<sup>(57)</sup>

A matriz extracelular é uma estrutura complexa que contém várias moléculas, como o colagénio tipo I e a  $\alpha$  actina do músculo liso ( $\alpha$ -SMA), importantes na homeostase dos tecidos. Alterações da matriz extracelular estão associadas a alterações estruturais, na migração celular e ativação de citocinas. Fibroblastos de doentes com EoE e controlos foram cultivados em matrizes extracelulares autólogas e não autólogas. Os níveis de colagénio tipo I e  $\alpha$ -SMA estavam significativamente aumentados em fibroblastos normais cultivados em matriz extracelular de doentes com EoE, quando comparado com a matriz normal ( $p < 0.05$ ), ou seja, a matriz extracelular é capaz de alterar a expressão proteica em fibroblastos saudáveis.<sup>(58)</sup>

Os miofibroblastos são células-chave no desenvolvimento de fibrose na EoE. *Muir et al.* procuraram determinar o papel dos miofibroblastos na EoE, assim como em que medida a estimulação destas células por TGF- $\beta$ 1 altera a sua expressão genética e a sua contratilidade na matriz extracelular.<sup>(59)</sup>

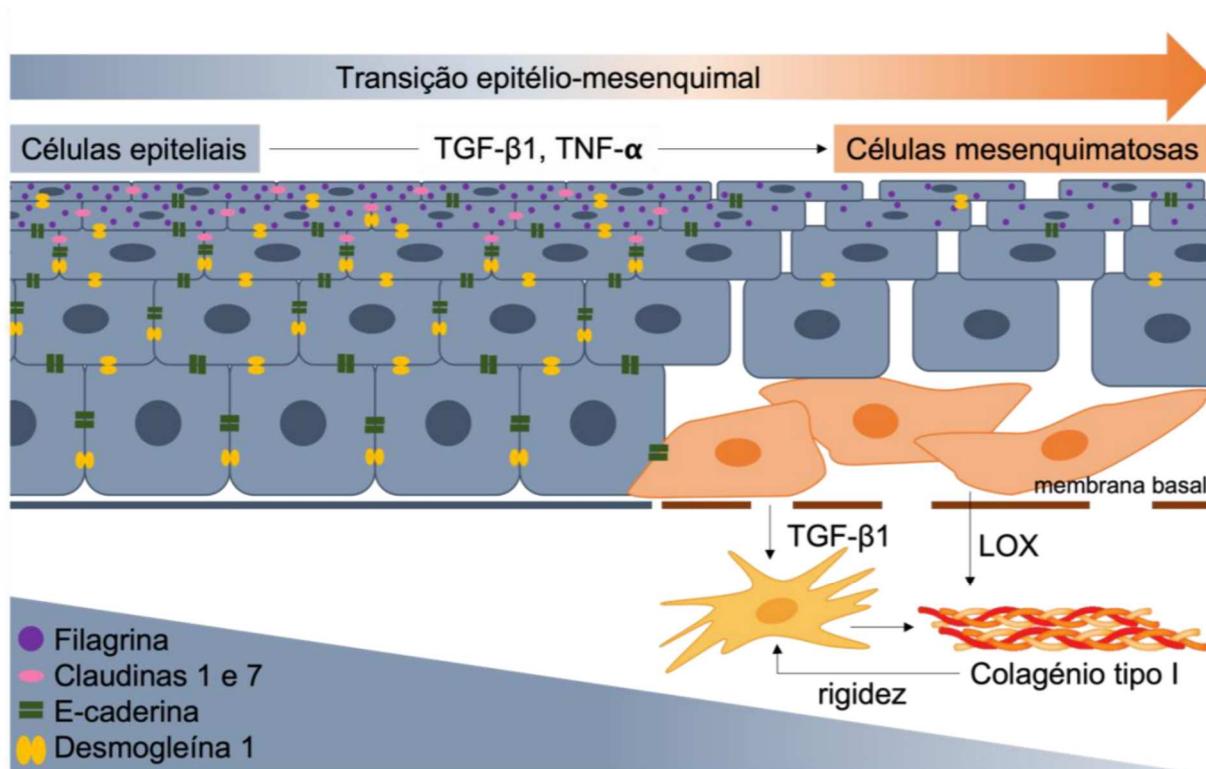
A  $\alpha$ -SMA foi utilizada para marcar fibroblastos ativos em adultos e crianças com e sem EoE. Verificaram que a expressão de  $\alpha$ -SMA está significativamente aumentada em doentes com EoE ativa quando comparada com indivíduos saudáveis. Por outro lado, na EoE inativa em crianças verificou-se resolução da eosinofilia e da ativação do estroma, enquanto em adultos com EoE inativa manteve-se ativação subepitelial.<sup>(59)</sup>

Posteriormente, foi avaliada a expressão dos genes ACTA, que codifica a  $\alpha$ -SMA, FN1, que codifica a fibronectina, e COL1A1, que codifica o colagénio tipo I, em fibroblastos estimulados por TGF- $\beta$ 1. Verificou-se um aumento da expressão dos genes ACTA e FN1 semelhante entre grupos, no entanto a sobreexpressão do gene COL1A1 foi significativamente superior no grupo dos adultos, com e sem EoE, quando comparado com o grupo pediátrico, com e sem EoE.<sup>(59)</sup>

Por fim, verificou-se que fibroblastos expostos a TGF- $\beta$ 1 aumentaram a sua contratilidade entre 66.2 e 69.7% em todos grupos, não havendo diferenças significativas entre grupos. Já o aumento da rigidez da matriz está associado ao aumento da expressão de  $\alpha$ -SMA e do número de fibroblastos ativados, sendo que a estimulação por TGF- $\beta$ 1 intensificou estas alterações.<sup>(59)</sup>

*Shoda et al.* verificaram que a diminuição da expressão de tetrasparina-12 pelas células endoteliais se correlacionava com o fenótipo fibroestenótico na EoE ( $r=-0.40$ ,  $p<0.001$ ). A tetrasparina-12 faz parte de uma superfamília que regula o desenvolvimento, ativação, crescimento e motilidade celular. A sua expressão é inibida pela IL-13 e está associada a diminuição da integridade endotelial e aumento da sua permeabilidade. Fibroblastos em meios de cultura com deficiência de tetrasparina-12 mostraram aumento da expressão de proteínas da matriz extracelular, como o colagénio tipo I e  $\alpha$ -SMA, e genes pró-fibróticos, como a endotelina-1.<sup>(60)</sup>

O aumento da produção de TNF- $\alpha$  pelos fibroblastos leva ao aumento da secreção de TGF- $\beta$  e lisil oxidase (LOX) pelo epitélio, sendo que o próprio TGF- $\beta$  reforça a secreção de LOX, que está 11.3 vezes mais expressa em indivíduos com EoE do que em controlos. A LOX atua no colagénio produzido pelos fibroblastos, aumentando a rigidez da lâmina própria. Verificou-se que estava sobreexpressa em doentes com fenótipo clínico e endoscópico fibroestenótico em relação a doentes com fenótipo inflamatório.<sup>(61)</sup>



**Figura 3 – Alterações estruturais na esofagite eosinofílica**

No processo de transição epitélio-mesenquimal, mediado pelo TGF- $\beta$ 1 e pelo TNF- $\alpha$ , as células epiteliais adquirem características de células mesenquimatosas. Ocorre uma diminuição da expressão das proteínas estruturais, que resulta na diminuição da adesão celular. Por outro lado, as células mesenquimatosas e fibroblastos subepiteliais produzem colagénio aumentando a rigidez da matriz extracelular.

## 10. Alterações da Motilidade Esofágica

As alterações da motilidade esofágica são uma manifestação tardia da EoE, como consequência de alterações estruturais que levam à diminuição da *compliance* e alterações da contratilidade causadas por rigidez transmural. A duração de doença é um fator de risco para distúrbios da motilidade (OR=1.14/ano), verificando-se que a prevalência da dismotilidade aumenta de 36% nos primeiros 5 anos de doença para 83% quando a duração de doença é superior a 16 anos.<sup>(19)</sup>

Estas alterações estão associadas à sobreexpressão de substância neurotóxicas por eosinófilos. Como já descrito, a MBP está associada à ativação dos recetores muscarínicos M2, que levam ao aumento da contração do músculo liso nos dois terços distais do esófago. Por outro lado, interleucinas eosinofílicas inibem a libertação de acetilcolina, levando à diminuição da contração do músculo liso. Associadamente, outros grânulos eosinofílicos causam necrose axonal, diminuindo a libertação de neurotransmissores nos plexos nervosos esofágicos. Os mastócitos induzem o aumento da contratilidade de células musculares e libertam mediadores neuroativos que ativam as vias de contração do músculo liso.<sup>(19)</sup>

A utilização da ecoendoscopia revelou uma diminuição da espessura do músculo longitudinal do esófago, assim como diminuição da duração da sua contração em doentes com EoE. Foram propostas duas explicações para este achado: disfunção do próprio músculo longitudinal ou que as alterações transmural verificadas na EoE impedem o encurtamento adequado do esófago, e, portanto, condicionam alterações da motilidade do esófago.<sup>(56)</sup>

*Armin et al.* procuraram padrões de motilidade esofágica em adultos com EoE utilizando manometria de alta resolução (HRM). Verificaram que 42% dos doentes com EoE e 88.5% dos controlos tinham padrões de motilidade normais. Em 26.9% dos doentes com EoE apresentaram padrões de hipomotilidade esofágica (ausência ou pouca peristalse). No entanto, não foram observadas diferenças significativas nas alterações manométricas entre os fenótipos fibroestenótico e inflamatório.<sup>(18)</sup>

Em doentes pediátricos, estudos manométricos mostraram picos isolados de contrações de grande amplitude alternados com períodos de motilidade ineficaz durante o jejum e períodos de refeições.<sup>(62)</sup>

*Colizzo et al.* estudaram os padrões de motilidade em ambos os fenótipos da EoE, utilizando, também, HRM. As pressões médias nos fenótipos fibroestenótico e inflamatório foram  $18.6 \pm 6.0$  mmHg e  $12.6 \pm 3.5$  mmHg, respetivamente ( $p < 0.001$ ). No entanto, não foram observados padrões anormais de motilidade significativamente diferentes entre os dois fenótipos, nem foi estabelecida correlação entre a presença de estenoses e a pressão média esofágica.<sup>(63)</sup>

## 11. Novos métodos complementares de diagnóstico e monitorização terapêutica

Atendendo a alterações estruturais observadas na barreira epitelial, têm sido desenvolvidas técnicas endoscópicas como a medição da impedância mucosa (MI), espectroscopia elétrica de tecidos e *Functional Lumen Imaging Probe* (FLIP).

A MI permite a deteção de alterações na integridade da barreira mucosa e do influxo intercelular de iões, associado a dilatação dos espaços intercelulares, sendo que quanto menor a MI, maior a permeabilidade da barreira mucosa. *Lowry et al.* verificaram que a MI é significativamente mais baixa em doentes com EoE ativa quando comparado com medições em doentes com EoE não ativa, doença de refluxo não erosiva e controlos. Verificaram, também, que a MI se correlacionava inversamente com a contagem eosinofílica e com a gravidade do edema intercelular.<sup>(64)</sup>

À semelhança do estudo anterior, *Alexander et al.* relataram que a MI é significativamente inferior em doentes com EoE do que em controlos, sendo que 95.6% dos controlos tinham valores de impedância normais, enquanto o mesmo se verificou apenas em 29.2% dos doentes com EoE e nenhum dos doentes com EoE tinha valores de MI uniformemente normais. Embora se tenha verificado correlação entre a MI e uma contagem de eosinófilos >15/hpf, em grande parte dos doentes a densidade eosinofílica não se correlacionou com a extensão das anomalias detetadas por este método.<sup>(51)</sup>

*Patel et al.* compararam padrões de alteração da MI entre a DRGE, a EoE e indivíduos saudáveis. O grupo controlo teve maiores valores de MI em todos os segmentos onde foi medida. Verificaram que doentes com DRGE têm diminuição da MI no esófago distal, mas valores normais no restante esófago, enquanto na EoE se verificou uma diminuição dos valores de MI em todos segmentos do esófago, com ligeiro aumento no sentido ascendente, desde a transição esófago-gástrica.<sup>(65)</sup>

Não existem estudos relativamente à utilização da MI no fenótipo fibroestenótico grave, uma vez que a segurança da expansão do balão por cateter ainda não foi estudada.<sup>(66)</sup>

*Werners et al.* procuraram correlacionar alterações da integridade da mucosa com a atividade de doença. A integridade da mucosa foi avaliada, *in vivo*, por endoscopia utilizando espectroscopia elétrica de tecidos (ETIS), e *ex vivo*, por resistência elétrica transepitelial (TER) e fluxo transepitelial por fluoresceína e rodamina. Verificaram que o pico de eosinófilos se correlaciona negativamente com a integridade da mucosa medida por ETIS ( $r=-0.66$ ,  $p\leq 0.001$ ) e por TER ( $r=-0.58$ ,  $p\leq 0.001$ ). A permeabilidade da mucosa à fluoresceína e à rodamina está significativamente aumentada na EoE, no entanto não se verificou diferenças significativas na permeabilidade da mucosa entre doentes em remissão e indivíduos saudáveis.<sup>(67)</sup>

O FLIP é uma ferramenta que permite determinar a distensibilidade e *compliance* da parede esofágica. A medição do *plateau* de distensibilidade (DP) em doentes com EoE permitiu perceber que o aumento do volume e pressão do balão não é acompanhado pelo mesmo aumento da distensibilidade nas várias zonas do esófago, refletindo áreas de esófago mais estreitas, que, por sua vez, se correlacionam com fibrose da lâmina própria.<sup>(68)</sup> Verificou-se, também, que o DP e as curvas de distensibilidade estão significativamente diminuídas em doentes com história de impactação alimentar quando comparado com outros doentes.<sup>(69)</sup>

*Hassan et al.* estudaram a relação entre a *compliance* e distensibilidade com alterações histológicas observadas na EoE, em doentes pediátricos. Este estudo sugeriu que a *compliance* tem uma correlação inversa com a remodelação esofágica ( $r=-0.67$ ,  $p=0.001$ ), a densidade de eosinófilos ( $r=-0.57$ ,  $p<0.05$ ) e a fibrose da lâmina própria ( $r=-0.81$ ,  $p<0.05$ ). Verificaram, também, que a *compliance* é mais sensível a detetar doentes com pontuação de remodelação esofágica superior ou igual a dois do que a distensibilidade (79% e 64%, respetivamente). Os autores atribuíram esta observação ao facto de a *compliance* avaliar toda a extensão do esófago em vez de focar na zona mais estreita.<sup>(70)</sup> Outro estudo observou que crianças sem EoE aumentavam a distensibilidade com a progressão da idade, mas o mesmo não se verificou em crianças com EoE.<sup>(69)</sup>

No estudo de uma coorte de doentes pediátricos, verificou-se que há menor distensibilidade em doentes com EoE ativa do que em doentes com EoE em remissão (14.09mm vs 16.07mm, respetivamente,  $p<0.001$ ). Verificou-se, também, que a distensibilidade está diminuída em doentes com fibrose da lâmina própria, características fibroestenóticas na endoscopia, disfagia e história de estenose recentes.<sup>(71)</sup>

*Chen et al.* procuraram associar o DP e alterações endoscópicas. Verificaram que maior pontuação em anéis esofágicos, segundo o *score* EREFS, estava inversamente associada à medição do DP ( $r_s=-0.46$ ,  $p<0.001$ ). Adicionalmente, verificaram que a presença de exsudatos e sulcos longitudinais não estavam associados a alterações da distensibilidade.<sup>(72)</sup> Estes resultados corroboram que alterações da distensibilidade estão associadas ao fenótipo fibroestenótico da EoE.

## 12. Terapêutica

O tratamento da EoE assenta na utilização de três modalidades terapêuticas: dietas restritivas, tratamento farmacológico com inibidor da bomba de prótons (IBP) e/ou corticoterapia tópica e terapêutica endoscópica com recurso a dilatação esofágica.<sup>(1)</sup>

Atualmente podem ser propostas três tipos de dieta restritivas: dieta elementar, baseada em fórmulas com aminoácidos hipoalérgicos, dieta de eliminação empírica e dieta de eliminação dirigida a alérgenos. Como já referido, a eliminação de alimentos da dieta dirigida por testes epicutâneos, testes *Prick* e doseamento de IgEs específicas mostrou remissão em 58% dos doentes, inferior a outras modalidades terapêuticas, pelo que a sua utilização não está atualmente recomendada. A dieta elementar demonstrou remissão histológica em 96% dos doentes, contudo a dificuldade à sua adesão, por crianças mais velhas, e dificuldades na alimentação e comunicação, em crianças mais novas, faz com que esta terapêutica esteja apenas recomendada em lactentes ou doentes com refratariedade a modalidades terapêuticas mais cómodas. As dietas de eliminação empírica baseiam-se na eliminação de 6, 4 e 2 grupos de alimentos ou eliminação isolada do leite de vaca. Na primeira são eliminados o leite de vaca, trigo, soja, amendoim ou frutos de casca rija e peixe ou marisco, verificando-se uma remissão em 64% dos doentes. Na eliminação de 4 grupos alimentares, os doentes não consomem leite de vaca, trigo, ovo e soja, verificando-se remissão em 62% dos doentes. Apenas dois estudos avaliaram a eliminação de 2 grupos alimentares, tendo escolhido grupos de alimentos diferentes. No primeiro eliminaram leite de vaca e soja. Nos primeiros 3 meses, associaram corticoides tópicos à restrição dietética, verificando-se remissão em 79% dos doentes. Após este período suspenderam a utilização de corticoides, sendo que apenas 33% os doentes mantiveram remissão. No outro estudo, a eliminação de todos os produtos lácteos e glúten induziu remissão em 40% dos doentes. A eliminação isolada do leite de vaca levou a remissão em 53% dos doentes. Alguns autores estudaram, ainda, a reintrodução destes alimentos na dieta dos doentes, identificando o leite de vaca como o causador de recorrência mais comum.<sup>(73)</sup>

Num estudo retrospectivo, para avaliar a resposta a longo prazo da dieta de eliminação de 6 alimentos sem corticoterapia em adultos, verificou-se diminuição dos sintomas em 73% dos doentes e remissão histológica em 40% dos que mantiveram adesão à terapêutica ao fim de 2 anos. Adicionalmente, houve melhoria da pontuação endoscópica, embora estatisticamente não significativa (3.2 inicialmente vs 1.7 ao fim de 2 anos,  $p=0.06$ ).<sup>(74)</sup>

O omeprazol, um IBP, mostrou bloquear a ligação da STAT6 ao promotor do gene CCL26, que codifica a eotaxina-3, nas células epiteliais do esófago, estando associado a remissão em 62% dos doentes com EoE. A presença da variante alélica rs1059513 do gene STAT6 mostrou ser um fator protetor, tendo estes doentes maior probabilidade de remissão

com tratamento com IBP (OR=6.16, 95%CI 1.44-26.4). No entanto, doentes com a variante rs324011 do gene STAT6 têm maior risco de refratariedade ao tratamento com IBP (OR=5.556, 95%CI 1.33-20.72).<sup>(75)</sup>

Em crianças com terapêutica de manutenção com 1mg/kg/dia de IBP verificou-se recorrência histológica em 33% ao fim de um ano, sendo que a presença de variantes de risco no gene STAT6 está associado a maior risco de recorrência (OR=2.77, 95%CI 1.27-6.92).<sup>(76)</sup> Todavia, não se verificou diminuição da expressão de eotaxina-3 em fibroblastos, pelo que o papel dos IBP na remodelação esofágica poderá ser limitado. Por outro lado, inibidores da via JAK-STAT6, como o AS1517499, a leflunomida e o ruxolitinib, mostraram diminuir a expressão de eotaxina-3 em fibroblastos e células epiteliais.<sup>(77)</sup>

A corticoterapia tópica utilizada na EoE são o propionato de fluticasona em inalador pressurizado e a suspensão oral viscosa de budesonido. Doentes sujeitos a corticoterapia tópica têm maior taxa de remissão histológica completa, quando comparado com doentes que recebem placebo (OR 20.81, 95% CI 7.03, 61.63). No entanto, a utilização de corticoides tópicos não demonstrou melhoria significativa da sintomatologia dos doentes quando comparado com os que receberam placebo (OR 2.72, 95% CI 0.90, 8.23).<sup>(78)</sup>

Para além de reduzir a inflamação epitelial, a utilização do budesonido mostrou reduzir significativamente a expressão de TGF- $\beta$ 1, assim como a gravidade da fibrose em doentes pediátricos. Em adultos, embora se verifique diminuição da expressão de TGF- $\beta$ 1, a diminuição dos achados fibroestenóticos não tem sido consistente.<sup>(56)</sup>

*Andrae et al.* estudaram a utilização do propionato de fluticasona enquanto terapêutica de manutenção em crianças com EoE. Verificou-se melhoria significativa dos sintomas e diminuição significativa da contagem de eosinófilos (mediana do pico de eosinófilos/hpf no início do tratamento: 72, < 4 meses: 0.5, 4-12 meses: 1.75, 13-34 meses: 10, > 24 meses: 12, todas com  $p < 0.01$ ), assim como redução da pontuação dos critérios da classificação EoEHSS e melhoria significativa de todos os aspetos endoscópicos.<sup>(79)</sup>

O resultado da inflamação crónica na EoE é o desenvolvimento de fibrose subepitelial refratária às terapêuticas convencionais. Nestes doentes, a dilatação mecânica é o último recurso para alívio sintomático. Numa metanálise recente, verificou-se melhoria clínica em 75% dos doentes, sendo que este procedimento está associado a menos de 1% de complicações. Embora não tenha impacto na diminuição da inflamação eosinofílica, este procedimento é um importante adjuvante na terapêutica destes doentes.<sup>(80)</sup>

Têm sido desenvolvidas novas terapêuticas, utilizando anticorpos monoclonais inibidores de intervenientes na fisiopatologia da EoE, úteis em casos refratários (Tabela 2).

O mepolizumab é um anticorpo monoclonal que se liga diretamente à IL-5, inibindo a ativação do seu recetor. Foi estudado pela primeira vez em 2006 em 4 adultos e mostrou

diminuição da contagem de eosinófilos e melhoria da qualidade de vida e sintomas destes doentes. Num estudo subsequente, embora se tenha verificado diminuição da contagem de eosinófilos, apenas foi observada remissão histológica completa, definida por  $< 5$  eosinófilos/hpf, em 8.8% dos doentes, e apenas 31.6% apresentaram pico de eosinófilos  $< 20$ /hpf. Noutro estudo, doentes sem remissão histológica após 8 semanas receberam mais duas infusões de mepolizumab, no entanto, não se verificou redução eosinofílica. Ainda neste estudo verificou-se uma redução da expressão de TGF- $\beta$ , sugerindo que o mepolizumab pode ter um papel na prevenção da remodelação esofágica. Em ambos os estudos não houve melhoria significativa dos sintomas dos participantes.<sup>(45)</sup>

O reslizumab é, também, um anticorpo monoclonal inibidor da IL-5. Num estudo em que crianças e adolescentes receberam uma infusão de reslizumab ou placebo durante 4 meses, os doentes tratados com reslizumab tiveram uma redução superior a 67% do pico de eosinófilos quando comparado com os doentes que receberam placebo, no entanto não se verificaram melhorias sintomáticas significativas entre grupos. Num estudo subsequente, em que doentes foram tratados com infusões mensais de reslizumab durante 3 a 9 anos, 92% dos doentes demonstraram remissão histológica completa, melhoria de todos os sintomas e nenhum dos doentes desenvolveu estenoses esofágicas.<sup>(45)</sup>

O QAX576 é um anticorpo monoclonal inibidor da IL-13 que demonstrou diminuição da eosinofilia em 60% em relação ao aumento em 23% em doentes que receberam placebo. Para além disso, verificou-se um aumento da expressão de DSG1 e melhoria significativa dos sintomas reportados pelos doentes.<sup>(25)</sup>

O anticorpo monoclonal RPC4046 liga-se à subunidade  $\alpha$  do recetor da IL-13, inibindo-a. Num ensaio clínico de fase II verificou-se redução da eosinofilia esofágica em relação a doentes que receberam placebo, assim como melhoria do aspeto endoscópico.<sup>(45)</sup> Num estudo subsequente, verificou-se aumento em 5.6 vezes da expressão da E-caderina, que se correlacionou com diminuição da contagem média de eosinófilos ( $r=-0.335$ ,  $p<0.05$ ), das pontuações EoEHSS ( $r=-0.531$ ,  $p<0.001$ ) e endoscópica ( $r=-0.444$ ,  $p<0.001$ ).<sup>(81)</sup>

O dupilumab é um anticorpo monoclonal que se liga à subunidade  $\alpha$  do recetor da IL-4 e que inibe, também, a ativação da IL-13. Num estudo randomizado de fase II, verificou-se redução significativa da contagem de eosinófilos esofágicos (redução de 107.1%,  $p<0.001$ ), assim como melhoria significativa da pontuação EoEHSS (redução 68.3%,  $p<0.001$ ), distensibilidade esofágica (aumento 18%,  $p<0.001$ ) e dos sintomas reportados pelos doentes tratados com dupilumab.<sup>(82)</sup>

**Tabela 2** – Características e repercussões dos anticorpos monoclonais utilizados no tratamento da esofagite eosinofílica

<b>Anticorpo monoclonal</b>	<b>Mepolizumab</b> (45)	<b>Reslizumab</b> (45)	<b>QAX576</b> (25,45)	<b>RPC4046</b> (45,81)	<b>Dupilumab</b> (82)
<b>Mecanismo de ação</b>	Inibição da IL-5	Inibição da IL-5	Inibição da IL-13	Inibição da IL-13	Inibição da IL-4 e IL-13
<b>Duração do tratamento</b>	1 infusão/mês por 3 meses	1 infusão/mês 3 a 9 anos	1 infusão/mês 0, 1 e 2 meses	16 infusões/16 semanas	12 infusões/12 semanas
<b>Sintomas</b>	Sem melhoria significativa	Melhoria significativa	Melhoria significativa	N/A	Melhoria significativa
<b>≤ 5 Eo/hpf</b>	8.8%	92%	Não significativo*	25%	65%
<b>EoEHSS</b>	N/A	N/A	N/A	Diminuição significativa	↓ 63.8%
<b>Aspetos endoscópicos</b>	Sem estenoses	Sem estenoses	N/A	↓ 1.3 ± 1.22 EREFS	↓ 1.6 ± 1.22 EREFS
<b>Outros efeitos</b>	↓ TGF-β	N/A	↑ DSG1 ↓ eotaxina-3, periostina	↑ E-caderina	↑ 18% do DP

\*No entanto, houve redução significativa da contagem de eosinófilos média em relação a controles.

N/A: não aplicável.

## Conclusão

A EoE é uma doença inflamatória crônica mediada por linfócitos Th2, que libertam várias citocinas, nomeadamente a IL-4, IL-5 e IL-13. Estas citocinas recrutam e ativam eosinófilos e outras células inflamatórias. Particularmente, a IL-13 condiciona modificações estruturais no tecido esofágico através da alteração da expressão genética, com aumento da permeabilidade do epitélio esofágico e ativação de fibroblastos.<sup>(12,37)</sup>

Os eosinófilos libertam grânulos citotóxicos que condicionam perpetuação da resposta inflamatória, por aumento da ativação de granulócitos e inibição da sua apoptose. A libertação de substâncias neurotóxicas resulta num aumento da ativação dos recetores muscarínicos, inibição da libertação de acetilcolina ou necrose axonal, pelo que a maioria dos doentes apresentam alterações da motilidade esofágica, embora ainda não tenham sido identificados padrões específicos na EoE. Adicionalmente, eosinófilos ativados secretam TGF- $\beta$ 1, potenciando a ativação de fibroblastos.<sup>(47,48)</sup>

Estudos recentes verificaram que o número de mastócitos no tecido esofágico se correlaciona com a persistência de sintomas em doentes com EoE em remissão histológica. As IL-13 e IL-5 induzem a produção de proteases envolvidas na diminuição da integridade da barreira epitelial. Os mastócitos estão também envolvidos em alterações fibróticas, através da secreção de prostaglandinas, leucotrienos e TGF- $\beta$ 1, e da diferenciação epitelial, através de leucotrienos e VEGFA.<sup>(49,50)</sup>

Inicialmente pensou-se que o principal mecanismo fisiopatológico da EoE tinha por base uma resposta a alergénios alimentares, no entanto terapêuticas dirigidas por testes epicutâneos e *Prick* e por doseamento de IgEs específicas não demonstraram eficácia significativa, tal como a utilização do anticorpo monoclonal anti-IgE.<sup>(20,38)</sup> Por outro lado, verificou-se que a diminuição da IgG4 se acompanhou de melhoria de sintomas em doentes com EoE.<sup>(39)</sup> Neste sentido, a restrição dietética orientada por doseamento de IgG4 específicas pode ser uma futura abordagem terapêutica.

A associação prévia com a resposta a aeroalergénios tem sido controversa devido à dificuldade na reprodutibilidade dos estudos e ausência de correlação em estudos mais recentes. No entanto, a gravidade da sensibilização alérgica pode correlacionar-se com a gravidade dos sintomas e alterações endoscópicas em doentes com EoE.<sup>(41,42)</sup>

Estudos recentes têm-se focado em alterações da expressão genética e molecular. Destacam-se variantes genéticas do STAT6 que resultam na ativação de genes envolvidos na resposta inflamatória, como o gene CCL26, e nas alterações da barreira epitelial, como o gene CAPN14. A IL-13 está envolvida no aumento da transcrição de vários genes através do fator de transcrição STAT6, e diminuição da expressão de genes relacionados com a

formação e diferenciação da barreira epitelial, tais como os genes do complexo de diferenciação epidérmica.<sup>(23,24,29)</sup>

Atualmente pensa-se que a exposição ambiental tenha também um papel importante no desenvolvimento de EoE. Fatores intraparto, como a febre materna intraparto, parto pré-termo, parto por cesariana, e pós-natais, como admissão em unidade de cuidados intensivos neonatais, utilização de antibióticos e IBP na infância revelaram ser fatores de risco para desenvolvimento de EoE.<sup>(31,32)</sup> Adicionalmente, verificou-se que a disbiose, com empobrecimento relativo em Firmicutes e enriquecimento em *Haemophilus*, pode condicionar a expressão genética e alterações inflamatórias nestes doentes.<sup>(35)</sup> Todavia, não existem metodologias específicas para o estudo das alterações do microbioma esofágico, o que dificulta a interpretação e comparação dos diferentes estudos.

A diminuição da função da barreira epitelial está associada à diminuição da expressão de proteínas estruturais. A IL-13 inibe a expressão de desmogleína-1 e filagrina.<sup>(12,52)</sup> *In vitro*, o TGF- $\beta$ 1 diminui a expressão da E-caderina, claudina-1 e claudina-7 e altera a sua disposição na membrana celular.<sup>(54,55)</sup> A alteração da expressão das proteínas estruturais resulta em dilatação dos espaços intercelulares e disfunção da própria barreira epitelial, aumentando a sua permeabilidade, e, conseqüentemente, a exposição a alérgenos.

A inflamação crônica, com libertação de TGF- $\beta$ 1, sobretudo, e das IL-4 e IL-13, estimula a produção de matriz extracelular através da ativação de fibroblastos, que depositam colágeno e fibronectina na lâmina própria. Este processo resulta em “rigidez” da mucosa esofágica, o que por sua vez contribui para perpetuação da ativação de fibroblastos. O próprio aumento da produção de matriz extracelular resulta no aumento da adesão dos eosinófilos ao tecido esofágico e aumenta a contratilidade dos fibroblastos.<sup>(58,59)</sup>

Com base nas alterações descritas, têm sido desenvolvidas novas técnicas para avaliação desta patologia. Doentes com EoE têm menores valores de impedância da mucosa, sendo que estes se correlacionam inversamente com a dilatação dos espaços intercelulares e a eosinofilia em biópsias esofágicas. Através do FLIP verificou-se que quanto menor a *compliance* esofágica maior a remodelação esofágica, a densidade eosinofílica e a fibrose da lâmina própria, e que a diminuição do *plateau* de distensibilidade se correlacionava apenas com alterações fibroestenóticas.<sup>(64,69,72)</sup>

Muitos doentes respondem positivamente à terapêutica com IBP, sendo estes eficazes na redução de produção de eotaxina-3 pelas células epiteliais, no entanto não existe evidência de que haja redução da produção de eotaxina-3 pelos fibroblastos. Neste sentido, estudos futuros devem avaliar o seu papel na fibrose subepitelial e procurar outros alvos terapêuticos para prevenir estas alterações, como inibidores da JAK-STAT6.<sup>(75-77)</sup>

A corticoterapia tópica é, também, eficaz na maioria dos doentes com EoE. Tanto o budesonido como o propionato de fluticasona demonstraram reduzir a inflamação epitelial. Todavia, o seu papel na prevenção da fibrose epitelial ainda não foi comprovado consistentemente nos estudos realizados.<sup>(56,79)</sup>

Dada a eficácia da eliminação do leite de vaca da dieta e que este é frequentemente o fator desencadeador de recorrência, deve ser estudada uma abordagem de escalonamento terapêutico dietético, com restrição dietética consoante a refratariedade à dieta implementada no momento. Em estudos futuros, devem ser uniformizados os alimentos eliminados na restrição de 6 alimentos (amendoim ou frutos de casca rija, e peixe ou marisco) e de 2 alimentos e a duração do tratamento de forma a estes estudos serem comparáveis e reprodutíveis. A dieta de eliminação de aminoácidos deve apenas ser ponderada em lactentes ou doentes que não respondam às restantes terapêuticas.<sup>(73,74)</sup>

Em casos refratários às terapêuticas supramencionadas, podem ainda ser utilizados anticorpos monoclonais, como o mepolizumab e o reslizumab, inibidores da IL-5, o QAX578 e o RPC4046, inibidores da IL-13, e o dupilumab, inibidor das IL-4 e IL-13.<sup>(25,45,81,82)</sup> Estes fármacos têm mostrado resultados promissores, diminuindo a eosinofilia e melhorando os sintomas dos doentes e os aspetos endoscópicos e histológicos.

O número crescente de estudos que identificam novos mecanismos fisiopatológicos, nomeadamente estudos moleculares, permitem a identificação de novos alvos terapêuticos que podem ter impacto nas alterações esofágicas estruturais e funcionais verificadas nestes doentes. No entanto, são ainda necessários estudos que correlacionem os sintomas reportados por estes doentes com as alterações histológicas avaliadas, assim como biópsias que permitam avaliação da submucosa e da *muscularis* própria, onde as alterações fibróticas são mais pronunciadas. Adicionalmente, estes estudos podem utilizar novas técnicas endoscópicas para corroborar a eficácia dos tratamentos propostos.

## Referências bibliográficas

1. Lucendo AJ, Molina-Infante J, Arias Á, von Arnim U, Bredenoord AJ, Busmann C, et al. Guidelines on eosinophilic esophagitis: evidence-based statements and recommendations for diagnosis and management in children and adults. Vol. 5, United European Gastroenterology Journal. SAGE Publications Ltd; 2017. p. 335–58.
2. Shaheen NJ, Mukkada V, Eichinger CS, Schofield H, Todorova L, Falk GW. Natural history of eosinophilic esophagitis: a systematic review of epidemiology and disease course. *Diseases of the Esophagus*. 2018 Aug 1;31(8).
3. Wong S, Ellison S, Haj Ali S, Hawkes J, Collinson J, O'Neill T, et al. Characteristics and progression of childhood-onset and adult-onset eosinophilic esophagitis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2022 Jan 1;37(1):69–74.
4. Murray FR, Kreienbuehl AS, Greuter T, Nennstiel S, Safroneeva E, Saner C, et al. Diagnostic Delay in Patients With Eosinophilic Esophagitis Has Not Changed Since the First Description 30 Years Ago: Diagnostic Delay in Eosinophilic Esophagitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2022 Nov;117(11):1772–9.
5. Lenti MV, Savarino E, Mauro A, Penagini R, Racca F, Ghisa M, et al. Diagnostic delay and misdiagnosis in eosinophilic oesophagitis. *Digestive and Liver Disease*. 2021 Dec;53(12):1632–9.
6. Attwood SE. Overview of eosinophilic esophagitis. *British Journal of Hospital Medicine*. 2019;80(3).
7. Runge TM, Eluri S, Cotton CC, Burk CM, Woosley JT, Shaheen NJ, et al. Causes and Outcomes of Esophageal Perforation in Eosinophilic Esophagitis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2017;51(9):805–13.
8. Podboy AJ, Lavey C, Mara K, Geno D, Khana S, Ravi K, et al. Eosinophilic Esophagitis Is Rarely Continually Symptomatic 10 Years After an Initial Treatment Course in Adults. *Digestive Diseases and Sciences*. 2019 Dec 1;64(12):3568–78.
9. Bohm M, Jacobs JW, Gupta A, Gupta S, Wo JM. Most children with eosinophilic esophagitis have a favorable outcome as young adults. *Diseases of the Esophagus*. 2017 Jan 1;30(1):1–6.
10. Chang NC, Thakkar KP, Ketchem CJ, Eluri S, Reed CC, Dellon ES. A Gap in Care Leads to Progression of Fibrosis in Eosinophilic Esophagitis Patients. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2022 Aug;20(8):1701-1708.e2.
11. Moawad FJ, Cheng E, Schoepfer A, Al-Haddad S, Bellizzi AM, Dawson H, et al. Eosinophilic esophagitis: current perspectives from diagnosis to management. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2016 Sep 1;1380(1):204–17.

12. Davis BP, Rothenberg ME. Mechanisms of Disease of Eosinophilic Esophagitis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2016 May 23;11:365–93.
13. Posten S, Adamiak T, Jensen M. Pediatric Eosinophilic Esophagitis: Updates for the Primary Care Setting. *Curren Opinion in Pediatrics*. 2018 Dec;30(6):829-36.
14. Bhesania N, Selvakumar PKC, Patel S. Eosinophilic esophagitis: A review of the pediatric population and consideration of upcoming therapies. Vol. 37, *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 420–7.
15. Lucendo AJ, Arias Á, Molina-Infante J, Arias-González L. The role of endoscopy in eosinophilic esophagitis: from diagnosis to therapy. Vol. 11, *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*. Taylor and Francis Ltd; 2017. p. 1135–49.
16. Załęski A, Banasiuk M, Sokół-Łupińska K, Karolewska-Bochenek K, Banaszkiwicz A. Correlation of clinical symptoms, endoscopic features and density of oesophageal eosinophilia in children with newly-diagnosed eosinophilic esophagitis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2021 Sep 16;28(3):404–8.
17. Eluri S, Corder SR, Kim E, Tappata M, Reed CC, Shaheen NJ, et al. Clinical features and time trends associated with an endoscopically normal esophagus in active eosinophilic esophagitis. *Endoscopy*. 2021 Sep 6;53(09):886–92.
18. von Arnim U, Kandulski A, Weigt J, Malfertheiner P. Correlation of High-Resolution Manometric Findings with Symptoms of Dysphagia and Endoscopic Features in Adults with Eosinophilic Esophagitis. *Digestive Diseases*. 2017 Aug 1;35(5):472–7.
19. Visaggi P, Ghisa M, Marabotto E, Venturini A, Stefani Donati D, Bellini M, et al. Esophageal dysmotility in patients with eosinophilic esophagitis: pathogenesis, assessment tools, manometric characteristics, and clinical implications. *Esophagus*. Springer; 2022.
20. Schoepfer A, Blanchard C, Dawson H, Lucendo A, Mauro A, Ribi C, et al. Eosinophilic esophagitis: Latest insights from diagnosis to therapy. Vol. 1434, *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc.; 2018. p. 84–93.
21. Dellon ES. Red Between the Lines: Evolution of Eosinophilic Esophagitis as a Distinct Clinicopathologic Syndrome. *Digestive Diseases and Sciences*. 2020 Dec 1;65(12):3434–47.
22. Lyles J, Rothenberg M. Role of genetics, environment, and their interactions in the pathogenesis of eosinophilic esophagitis. *Current Opinion in Immunology*. 2019 Oct;60:46–53.

23. Kottyan LC, Parameswaran S, Weirauch MT, Rothenberg ME, Martin LJ. The genetic etiology of eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020 Jan;145(1):9–15.
24. Zhernov Y v., Vysochanskaya SO, Sukhov VA, Zaostrovitseva OK, Gorshenin DS, Sidorova EA, et al. Molecular mechanisms of eosinophilic esophagitis. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2021.
25. Capucilli P, Hill DA. Allergic Comorbidity in Eosinophilic Esophagitis: Mechanistic Relevance and Clinical Implications. Vol. 57, *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. Humana Press Inc.; 2019. p. 111–27.
26. Howell S, Buchanan C, Davis SM, Miyazawa H, Furuta GT, Tartaglia NR, et al. Eosinophilic esophagitis in individuals with sex chromosome aneuploidies: Clinical presentations and management implications. *Molecular Genetics and Genomic Medicine*. 2021 Dec 1;9(12).
27. Kottyan LC, Maddox A, Braxton JR, Stucke EM, Mukkada V, Putnam PE, et al. Genetic variants at the 16p13 locus confer risk for eosinophilic esophagitis. *Genes & Immunity*. 2019 Apr 8;20(4):281–92.
28. Kottyan LC, Trimarchi MP, Lu X, Caldwell JM, Maddox A, Parameswaran S, et al. Replication and meta-analyses nominate numerous eosinophilic esophagitis risk genes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2021 Jan 1;147(1):255–66.
29. Ruffner MA, Kennedy K, Cianferoni A. Pathophysiology of eosinophilic esophagitis: recent advances and their clinical implications. Vol. 15, *Expert Review of Clinical Immunology*. Taylor and Francis Ltd; 2019. p. 83–95.
30. Azouz NP, Ynga-Durand MA, Caldwell JM, Jain A, Rochman M, Fischesser DM, et al. The antiprotease SPINK7 serves as an inhibitory checkpoint for esophageal epithelial inflammatory responses. *Science Translational Medicine*. 2018 Jun 6;10(444).
31. Dellon ES, Shaheen O, Koutlas NT, Chang AO, Martin LJ, Rothenberg ME, et al. Early life factors are associated with risk for eosinophilic esophagitis diagnosed in adulthood. *Diseases of the Esophagus*. 2021 Feb 10;34(2).
32. Jensen ET, Kuhl JT, Martin LJ, Rothenberg ME, Dellon ES. Prenatal, intrapartum, and postnatal factors are associated with pediatric eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018 Jan;141(1):214–22.
33. Hiremath G, Shilts MH, Boone HH, Correa H, Acra S, Tovchigrechko A, et al. The Salivary Microbiome Is Altered in Children With Eosinophilic Esophagitis and Correlates With Disease Activity. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2019 Jun;10(6):e00039.

34. Angerami Almeida K, de Queiroz Andrade E, Burns G, Hoedt EC, Mattes J, Keely S, et al. The microbiota in eosinophilic esophagitis: A systematic review. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2022 Sep 12;37(9):1673–84.
35. Brusilovsky M, Bao R, Rochman M, Kemter AM, Nagler CR, Rothenberg ME. Host–Microbiota Interactions in the Esophagus During Homeostasis and Allergic Inflammation. *Gastroenterology*. 2022 Feb 1;162(2):521-534.e8.
36. Shah SC, Tepler A, Peek RM, Colombel JF, Hirano I, Narula N. Association Between *Helicobacter pylori* Exposure and Decreased Odds of Eosinophilic Esophagitis—A Systematic Review and Meta-analysis. Vol. 17, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. W.B. Saunders; 2019. p. 2185-2198.e3.
37. Vinit C, Dieme A, Courbage S, Dehaine C, Dufeu CM, Jacquemot S, et al. Eosinophilic esophagitis: Pathophysiology, diagnosis, and management. Vol. 26, *Archives de Pédiatrie*. Elsevier Masson SAS; 2019. p. 182–90.
38. Renz H, Allen KJ, Sicherer SH, Sampson HA, Lack G, Beyer K, et al. Food allergy. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018 Jan 4;4.
39. Lim AH, Wong S, Nguyen NQ. Eosinophilic Esophagitis and IgG4: Is There a Relationship? Vol. 66, *Digestive Diseases and Sciences*. Springer; 2021. p. 4099–108.
40. Rosenberg CE, Mingler MK, Caldwell JM, Collins MH, Fulkerson PC, Morris DW, et al. Esophageal IgG4 levels correlate with histopathologic and transcriptomic features in eosinophilic esophagitis. *Allergy*. 2018 Sep;73(9):1892–901.
41. Guajardo JR, Zegarra-Bustamante MA, Brooks EG. Does Aeroallergen Sensitization Cause or Contribute to Eosinophilic Esophagitis? Vol. 55, *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. Humana Press Inc.; 2018. p. 65–9.
42. Nakata A, Tanaka F, Nadatani Y, Fukunaga S, Otani K, Hosomi S, et al. Classification of patients with esophageal eosinophilia by patterns of sensitization revealed by a diagnostic assay for multiple allergen-specific IgEs. *Journal of Gastroenterology*. 2021;56:422–33.
43. Egan M, Atkins D. What Is the Relationship Between Eosinophilic Esophagitis (EoE) and Aeroallergens? Implications for Allergen Immunotherapy. Vol. 18, *Current Allergy and Asthma Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2018.
44. van Rhijn BD, Bredenoord AJ. Management of eosinophilic esophagitis based on pathophysiological evidence. Vol. 51, *Journal of Clinical Gastroenterology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 659–68.
45. Pesek RD, Gupta SK. Emerging drugs for eosinophilic esophagitis. Vol. 23, *Expert Opinion on Emerging Drugs*. Taylor and Francis Ltd; 2018. p. 173–83.

46. Dunn JLM, Shoda T, Caldwell JM, Wen T, Aceves SS, Collins MH, et al. Esophageal type 2 cytokine expression heterogeneity in eosinophilic esophagitis in a multisite cohort. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020 Jun;145(6):1629-1640.e4.
47. Morgan DM, Ruitter B, Smith NP, Tu AA, Monian B, Stone BE, et al. Clonally expanded, GPR15-expressing pathogenic effector TH2 cells are associated with eosinophilic esophagitis. *Science Immunology*. 2021 Aug 10;6(62).
48. Doyle AD, Masuda MY, Kita H, Wright BL. Eosinophils in Eosinophilic Esophagitis: The Road to Fibrostenosis is Paved With Good Intentions. *Frontiers in Immunology*. 2020 Dec 1;11.
49. Bolton SM, Kagalwalla AF, Arva NC, Wang MY, Amsden K, Melin-Aldana H, et al. Mast Cell Infiltration Is Associated With Persistent Symptoms and Endoscopic Abnormalities Despite Resolution of Eosinophilia in Pediatric Eosinophilic Esophagitis. *The American Journal of Gastroenterology*. 2020 Feb 1;115(2):224–33.
50. Ben-Baruch Morgenstern N, Ballaban AY, Wen T, Shoda T, Caldwell JM, Kliwer K, et al. Single-cell RNA sequencing of mast cells in eosinophilic esophagitis reveals heterogeneity, local proliferation, and activation that persists in remission. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2022 Jun 1;149(6):2062–77.
51. Alexander JA, Ravi K, Geno DM, Tholen CJ, Higginbotham TC, Wildhorn S, et al. Comparison of mucosal impedance measurements throughout the esophagus and mucosal eosinophil counts in endoscopic biopsy specimens in eosinophilic esophagitis. *Gastrointestinal Endoscopy*. 2019 Apr 1;89(4):693-700.e1.
52. Litosh VA, Rochman M, Rymer JK, Porollo A, Kottyan LC, Rothenberg ME. Calpain-14 and its association with eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017 Jun;139(6):1762-1771.e7.
53. Masterson JC, Biette KA, Hammer JA, Nguyen N, Capocelli KE, Saeedi BJ, et al. Epithelial HIF-1 $\alpha$ /claudin-1 axis regulates barrier dysfunction in eosinophilic esophagitis. *Journal of Clinical Investigation*. 2019 Aug 1;129(8):3224–35.
54. Nguyen N, Fernando SD, Biette KA, Hammer JA, Capocelli KE, Kitzenberg DA, et al. TGF- $\beta$ 1 alters esophageal epithelial barrier function by attenuation of claudin-7 in eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunology*. 2018 Mar;11(2):415–26.
55. Duong LD, Rawson R, Bezryadina A, Manresa MC, Newbury RO, Dohil R, et al. TGF $\beta$ 1 single-nucleotide polymorphism C-509T alters mucosal cell function in pediatric eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunology*. 2020 Jan;13(1):110–7.
56. Hirano I. Clinical relevance of esophageal subepithelial activity in eosinophilic esophagitis. Vol. 55, *Journal of Gastroenterology*. Springer; 2020. p. 249–60.

57. Muir AB, Wang JX, Nakagawa H. Epithelial-stromal crosstalk and fibrosis in eosinophilic esophagitis. *Journal of Gastroenterology*. 2019 Jan 12;54(1):10–8.
58. Hsieh LY, Chiang AWT, Duong LD, Kuo CC, Dong SX, Dohil R, et al. A unique esophageal extracellular matrix proteome alters normal fibroblast function in severe eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2021 Aug;148(2):486–94.
59. Muir AB, Dods K, Henry SJ, Benitez AJ, Lee D, Whelan KA, et al. Eosinophilic esophagitis-associated chemical and mechanical microenvironment shapes esophageal fibroblast behavior. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016 Jul 26;63(2):200–9.
60. Shoda T, Wen T, Caldwell JM, Ben-Baruch Morgenstern N, Osswald GA, Rochman M, et al. Loss of Endothelial TSPAN12 Promotes Fibrostenotic Eosinophilic Esophagitis via Endothelial Cell–Fibroblast Crosstalk. *Gastroenterology*. 2022 Feb;162(2):439–53.
61. Kasagi Y, Dods K, Wang JX, Chandramouleeswaran PM, Benitez AJ, Gambanga F, et al. Fibrostenotic eosinophilic esophagitis might reflect epithelial lysyl oxidase induction by fibroblast-derived TNF- $\alpha$ . *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019 Jul;144(1):171–82.
62. Nikaki K, Sawada A, Ustaoglu A, Sifrim D. Neuronal Control of Esophageal Peristalsis and Its Role in Esophageal Disease. Vol. 21, *Current Gastroenterology Reports*. Springer; 2019.
63. Colizzo JM, Clayton SB, Richter JE. Intrabolar pressure on high-resolution manometry distinguishes fibrostenotic and inflammatory phenotypes of eosinophilic esophagitis. *Diseases of the Esophagus*. 2016 Aug 1;29(6):551–7.
64. Lowry MA, Vaezi MF, Correa H, Higginbotham T, Slaughter JC, Acra S. Mucosal impedance measurements differentiate pediatric patients with active versus inactive eosinophilic esophagitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2018;67(2):198–203.
65. Patel DA, Higginbotham T, Slaughter JC, Aslam M, Yuksel E, Katzka D, et al. Development and Validation of a Mucosal Impedance Contour Analysis System to Distinguish Esophageal Disorders. *Gastroenterology*. 2019 May 1;156(6):1617–1626.e1.
66. Clarke JO, Ahuja NK, Chan WW, Gyawali CP, Horsley-Silva JL, Kamal AN, et al. Mucosal impedance for esophageal disease: evaluating the evidence. Vol. 1481, *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc.; 2020. p. 247–57.

67. Warners MJ, van Rhijn BD, Verheij J, Smout AJPM, Bredenoord AJ. Disease activity in eosinophilic esophagitis is associated with impaired esophageal barrier integrity. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2017 Sep 1;313(3):G230–8.
68. Savarino E, di Pietro M, Bredenoord AJ, Carlson DA, Clarke JO, Khan A, et al. Use of the Functional Lumen Imaging Probe in Clinical Esophagology. Vol. 115, *American Journal of Gastroenterology*. Wolters Kluwer Health; 2020. p. 1786–96.
69. Donnan EN, Pandolfino JE. EndoFLIP in the Esophagus: Assessing Sphincter Function, Wall Stiffness, and Motility to Guide Treatment. Vol. 49, *Gastroenterology Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2020. p. 427–35.
70. Hassan M, Aceves S, Dohil R, Gharibans A, Newbury R, Proudfoot J, et al. Esophageal Compliance Quantifies Epithelial Remodeling in Pediatric Patients With Eosinophilic Esophagitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2019 Apr 1;68(4):559–65.
71. Menard-Katcher C, Benitez AJ, Pan Z, Ahmed FN, Wilkins BJ, Capocelli KE, et al. Influence of Age and Eosinophilic Esophagitis on Esophageal Distensibility in a Pediatric Cohort. *American Journal of Gastroenterology*. 2017 Sep 1;112(9):1466–73.
72. Chen JW, Pandolfino JE, Lin Z, Ciolino JD, Gonsalves N, Kahrilas PJ, et al. Severity of endoscopically identified esophageal rings correlates with reduced esophageal distensibility in eosinophilic esophagitis. *Endoscopy*. 2016 Sep 1;48(9):794–801.
73. de Vlieger L, Smolders L, Nuyttens L, Verelst S, Breynaert C, Vanuytsel T, et al. A Clinical Perspective on the Dietary Therapies for Pediatric Eosinophilic Esophagitis: The Gap Between Research and Daily Practice. *Front Immunol*. 2021 May 19;12.
74. Reed CC, Fan C, Koutlas NT, Shaheen NJ, Dellon ES. Food elimination diets are effective for long-term treatment of adults with eosinophilic oesophagitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2017 Nov 1;46(9):836–44.
75. Mougey EB, Williams A, Coyne AJK, Gutiérrez-Junquera C, Fernández-Fernández S, Cilleruelo ML, et al. CYP2C19 and STAT6 Variants Influence the Outcome of Proton Pump Inhibitor Therapy in Pediatric Eosinophilic Esophagitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2019 Nov;69(5):581–7.
76. Mougey EB, Nguyen V, Gutiérrez-Junquera C, Fernández-Fernández S, Cilleruelo ML, Rayo A, et al. STAT6 Variants Associate With Relapse of Eosinophilic Esophagitis in Patients Receiving Long-term Proton Pump Inhibitor Therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2021 Oct;19(10):2046-2053.e2.
77. 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 Jun 16;11(6):e0157376.
78. Murali AR, Gupta A, Attar BM, Ravi V, Koduru P. Topical steroids in eosinophilic esophagitis: Systematic review and meta-analysis of placebo-controlled randomized clinical trials. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2016 Jun 1;31(6):1111–9.
  79. Andrae DA, Hanna MG, Magid MS, Malerba S, Andrae MH, Bagiella E, et al. Swallowed fluticasone propionate is an effective long-term maintenance therapy for children with eosinophilic esophagitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2016 Aug 1;111(8):1187–97.
  80. Schoepfer A, Safroneeva E, Straumann A. Eosinophilic Esophagitis: Impact of Latest Insights into Pathophysiology on Therapeutic Strategies. *Digestive Diseases*. 2016 Jun 1;34(5):462–8.
  81. Gann PH, Deaton RJ, McMahon N, Collins MH, Dellon ES, Hirano I, et al. An anti-IL-13 antibody reverses epithelial-mesenchymal transition biomarkers in eosinophilic esophagitis: Phase 2 trial results. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020 Aug;146(2):367-376.e3.
  82. Hirano I, Dellon ES, Hamilton JD, Collins MH, Peterson K, Chehade M, et al. Efficacy of Dupilumab in a Phase 2 Randomized Trial of Adults With Active Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology*. 2020 Jan;158(1):111-122.e10.