

MOVING TOWARD ENDOTYPES IN ATOPIC DERMATITIS: IDENTIFICATION OF PATIENT CLUSTERS BASED ON SERUM BIOMARKER ANALYSIS

Thijs JL, Strickland I, Bruijnzeel-Koomen CAFM, Nierkens S, Giovannone B, Csomor E, Sellman BR, Mustelin T, Sleeman MA, Saskia de Bruin-Weller M, Herath A, Drylewicz J, May RD, Hijnen D

J Allergy Clin Immunol 2017;140(3):730-7

Introdução: O eczema atópico (EA) é uma doença inflamatória crónica da pele muito frequente, mas também complexa e com uma apresentação clínica muito variada. No entanto, ainda se encontra por esclarecer se esta heterogeneidade clínica se repercute a nível biológico.

Objetivo: Avaliar o perfil biológico, relativamente a mediadores inflamatórios individuais, de doentes com EA.

Métodos: Medição, no soro de doentes adultos com diagnóstico de EA moderado a grave e de controlos saudáveis sem EA, de 147 mediadores inflamatórios (Luminex®), IgE total e IgEs específicas (ISAC®). Dados clínicos foram retirados dos processos eletrónicos dos doentes. A gravidade do EA foi calculada com base no score *Six Area, Six Sign Atopic Dermatitis* (SASSAD). Heterogeneidade da população foi avaliada por análise de componentes principais e análise não supervisionada *k-mean cluster*.

Resultados: Foram analisados marcadores biológicos em 30 controlos saudáveis, 95 doentes com EA moderado (média de SASSAD 22,3 – IC 95%: 21,3-23,3) e 98 doentes com EA grave (média de SASSAD 39,1 – IC 95%: 37,5-40,9). Os doentes com EA apresentaram níveis

muito superiores de mediadores inflamatórios séricos comparativamente aos controlos. A análise destes marcadores séricos revelou a presença potencial de quatro grupos distintos de doentes. Os grupos 1 e 3 apresentaram os scores mais elevados de SASSAD, sendo que no grupo 1 se verificaram níveis mais elevados de quimiocina pulmonar regulada por ativação, inibidor tecidual da metaloproteinase 1 e CD14 solúvel, enquanto o grupo 3 apresentou os níveis mais reduzidos de IFN- β , IL-1 e citocinas epiteliais. Os grupos 2 e 4 apresentam scores mais reduzidos de SASSAD, sendo que os doentes do grupo 2 expressam os níveis mais reduzidos de IFN- α , inibidor tecidual da metaloproteinase 1 e fator de crescimento endotelial vascular, enquanto os do grupo 4 têm os níveis mais elevados dos marcadores inflamatórios IL-1, IL-4, IL-13 e linfopietina do estroma tímico. Clinicamente, os grupos 1 e 4 apresentam tendencialmente um fenótipo eritematoso e os grupos 2 e 3 um fenótipo de liquenificação.

Conclusão: O EA é uma doença heterogénea tanto a nível clínico como a nível biológico, tendo sido identificados 4 grupos distintos de doentes. A melhor compreensão e caracterização destes endotipos é necessária através de estudos adicionais e poderá ter implicações importantes a nível terapêutico.

Comentário: Este trabalho assume-se como o primeiro estudo que classifica os doentes com eczema atópico em grupos com base em biomarcadores séricos. Tendo em conta os resultados obtidos, é possível identificar um padrão com maior expressão de citocinas inflamatórias e fenótipo eritematoso nos grupos 1 e 4, sugerindo que estes sejam os doentes que melhor resposta clínica apresentarão a terapêuticas biológicas como anti-IL4 ou anti-IL-13 (por oposição aos

doentes dos grupos 2 e 3, com menor expressão de mediadores inflamatórios). Apesar de um estudo inicial e apresentar como limitações ser retrospectivo e com fraca associação com a clínica dos doentes, considero um passo importante na investigação da fisiopatologia desta doença complexa e na possível identificação de subgrupos distintos, ponto fundamental para o futuro desenvolvimento de terapêuticas específicas de alvo.

Cristina Ornelas

Interna de Formação Específica de Imunoalergologia
Serviço de Imunoalergologia
Hospital de Santa Maria – Centro Hospitalar Lisboa
Norte, EPE

EFEITOS DO RINOVÍRUS HUMANO NA INTEGRIDADE E FUNÇÃO DA BARREIRA EPITELIAL EM CRIANÇAS COM ASMA

Looi K, Buckley A, Rigby P, Garratt L, Iosifidis T, Zosky G, Larcombe A, Lannigan F, Ling KM, Martinovich K, Kicic-Starcevic E, Shaw N, Sutanto N, Knight D, Kicic A, Stick S.

Clin Exp Allergy 2018; Accepted manuscript online: 19 January 2018 DOI: 10.1111/cea.13097

Introdução: As *tight junctions* (TJ) do epitélio brônquico têm sido amplamente avaliadas na via aérea (VA) de indivíduos saudáveis. Contudo, não foi analisado o efeito da infecção pelo rinovírus humano (RVH) na expressão e consequente função de barreira das TJ na asma infantil.

Objetivos: Investigar o impacto da infecção por RVH na expressão das TJ no epitélio respiratório, bem como na sua função de barreira nas células epiteliais da VA de crianças asmáticas e não asmáticas.

Métodos: Foram extraídas células epiteliais da VA de crianças asmáticas e não asmáticas. Foi avaliada a ex-

pressão de claudina-I, ocludina e *zonula ocluden-I* (ZO-I) via *qPCR*, imunocitoquímica, *in-cell western* e microscopia confocal em culturas de células infetadas pelo RVH. A função de barreira foi avaliada através de resistência elétrica transepitelial e através da avaliação da permeabilidade ao dextrano fluorescente.

Resultados: Verificou-se uma sobreexpressão da expressão genética basal de claudina-I e ocludina nas crianças asmáticas, quando comparado ao grupo das crianças não asmáticas. Não houve diferença significativa na expressão de ZO-I nos dois grupos. A expressão das proteínas claudina-I, ocludina e ZO-I foi significativamente menor nas células epiteliais da VA de crianças asmáticas, o que sugere possíveis diferenças inerentes à pós-transcrição proteica. A infeção pelo RVH resultou numa dissociação transitória das TJ e da integridade da barreira da VA em crianças não asmáticas. Apesar de se verificar uma dissociação semelhante das TJ nas crianças asmáticas, observou-se uma redução significativa e persistente da expressão de TJ concomitante com uma diminuição significativa da resistência elétrica transepitelial e um aumento da permeabilidade ao dextrano fluorescente nas crianças asmáticas.

Conclusão: Este estudo evidencia diferenças intrínsecas no que concerne à expressão proteica e genética das TJ nas células epiteliais de crianças asmáticas e não asmáticas.

Associadamente, correlaciona diretamente a infeção pelo RVH e a dissociação das TJ epiteliais da VA, o que proporciona uma função de barreira persistentemente alterada nas crianças asmáticas.

Comentário: Trata-se de um trabalho inovador, que compara a expressão genética e proteica das TJ de células epiteliais da VA de crianças asmáticas e não asmáticas e avalia ainda o papel do rinovírus humano na dissociação das TJ no grupo de crianças asmáticas. Demonstrou que existe uma expressão genética basal aumentada de claudina-I e ocludina nas células epiteliais de crianças asmáticas e que a expressão de claudina-I, ocludina e ZO-I é

menor neste grupo, sugerindo diferenças inerentes à pós-transcrição proteica. Evidencia que nas crianças não asmáticas a infeção pelo RVH irá provocar uma dissociação transitória das TJ, enquanto em crianças asmáticas o grau de dissociação das TJ é superior e de carácter persistente. Tem elevada importância clínica porque enfatiza as consequências da infeção pelo RVH na criança asmática, sendo um *trigger* para a dissociação mantida das TJ neste grupo.

Joana Pita

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF THE LYMPHOCYTE TRANSFORMATION TEST IN DRUG REACTION WITH EOSINOPHILIA AND SYSTEMIC SYMPTOMS CAUSALITY ASSESSMENT

Cabañas R, Calderón O, Ramírez E, Fiandor A, Caballero T, Heredia R, Herranz P, Madero R, Quirce S, Bellón T

Clin Exp Allergy 2018;48:325-33

O síndrome DRESS é uma reacção de hipersensibilidade tardia, grave a fármacos. A determinação do fármaco causal é complexa. O teste de transformação linfocitária (TTL) foi positivo em mais de 50% dos casos de DRESS em trabalhos prévios, no entanto, a sua sensibilidade e especificidade (S/Sp) não foram estabelecidas. A provocação com o fármaco suspeito está contraindicada e não pode ser utilizada como *gold-standard*. Este trabalho pretendeu estimar a S/Sp do TTL numa série de casos de DRESS.

Foram incluídos 41 doentes. O resultado do algoritmo do Sistema de Farmacovigilância Espanhol foi utilizado como *standard* para a correta identificação do fármaco causal. Foram realizados TTL *standard* com os fármacos envolvidos em amostras colhidas na fase aguda ou de

recuperação da doença. Consideraram-se positivos índices de estimulação (SI) ≥ 2 em pelo menos uma concentração, exceto para os β -lactâmicos (SI ≥ 3) e meios de contrastes iodados (SI ≥ 4). A análise estatística foi realizada com tabelas de contingência e curvas ROC.

A S/Sp do TTL na fase de recuperação do DRESS foram 73% e 82%, e 40 e 30% na fase aguda. A comparação entre testes cutâneos (TC) e TTL confirmou maior S/Sp do TTL no DRESS. O TTL mostrou maior S/Sp para os anticonvulsivantes (S=100%, Sp=100%; p=0,008), anti-bacilares (S=87,5%, Sp=100%; p=0,004) e β -lactâmicos (S=73%, Sp=100%; p=0,001). As curvas ROC estabeleceram um SI ≥ 2 em ≥ 1 concentração como melhor critério de positividade no TTL para todos os fármacos, aumentando a S para 80% e, para os β -lactâmicos de 73% para 92%.

O TTL é uma boa ferramenta para identificar o fármaco causal no DRESS, especialmente se realizado na fase de recuperação.

Comentário: O DRESS é uma reacção grave, em que frequentemente existem vários fármacos suspeitos, dado o alargado espaço temporal entre a exposição e o surgimento dos sintomas; a sensibilização a múltiplos fármacos pode acontecer em até 17% dos casos.

O estudo alergológico é limitado pelo facto do DRESS contraindicar as provas de provocação e pelo baixo valor dos TC. O TTL é o método *in-vitro* mais utilizado, mas a não *standardização* da técnica e a indefinição do seu valor diagnóstico minam a interpretação dos resultados. Neste trabalho, Cabañas *et al* determinaram a S/Sp do TTL exclusivamente no DRESS. Dada a diversidade de mecanismos subjacentes às várias *Severe Cutaneous Adverse Reactions* (SCAR), esta abordagem poderá ser preferível à definição do valor do TTL para as SCAR agrupadas.

Apesar da pequena dimensão da amostra, quando realizado na fase de recuperação do DRESS, o TTL obteve S/Sp consideráveis na análise global e ótimas, quando analisados os β -lactâmicos (grupo com maior expressão), atingindo valores de S/Sp de 75,45/100%. Em 7 doentes reexpostos, o VPN do TTL foi de 100%.

A intervenção do Imunoalergologista não se esgota no diagnóstico de DRESS, sendo fundamental a identificação do fármaco causal. A investigação é balizada pela segurança do doente, mas também pela redução de evicções desnecessárias, já que o recurso a fármacos alternativos frequentemente representa maiores custos e perfis de segurança/eficácia in-

feriores. O TTL parece, de acordo com este trabalho, ser uma ferramenta valiosa nesta difícil, mas importante tarefa, devendo estar acessível em centros de referência.

Leonor Leão

Centro Hospitalar de São João, Porto