

Eosinofilia como biomarcador na DPOC

Cristiana Inês Salvador Mendonça

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutor José Manuel Paulo da Silva

abril de 2021

Dedicatória

À minha avó Juvelina, pelo seu exemplo de resiliência.

Agradecimentos

Ao Prof. Doutor José Manuel Paulo da Silva, pela disponibilidade na orientação desta dissertação e por representar uma referência para mim como profissional e ser humano.

Aos meus pais e à minha madrinha, por me saberem ouvir com o coração.

Aos meus irmãos e aos meus amigos, pela sua presença impulsionadora.

À Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, por me permitir imensurável conhecimento.

Resumo

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, apesar de constituir uma patologia prevenível, é muito comum e corresponde a uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, assumindo-se como um importante problema de saúde pública.

Os critérios diagnósticos atuais não captam a complexidade dos diferentes fenótipos inflamatórios que contribuem para a obstrução aérea, característica da doença. Tradicionalmente predominam neutrófilos acompanhados de macrófagos alveolares, linfócitos T e linfócitos B contudo, aproximadamente um terço dos pacientes com doença estável apresenta evidências de inflamação eosinofílica, sendo também registado um aumento no nível de eosinófilos durante exacerbações agudas em até 28% dos casos.

A procura por ferramentas diagnósticas minimamente invasivas e de fácil aplicação que possam prever a eosinofilia nas vias aéreas tem-se intensificado, sendo que a contagem de células no sangue periférico, um exame laboratorial simples, poderá identificar estes pacientes.

Embora o limiar de eosinófilos associado a relevância clínica esteja atualmente sujeito a debate, elevados níveis sanguíneos de eosinófilos foram associados ao declínio na função pulmonar e a exacerbações mais frequentes todavia, poderão também predizer uma resposta mais eficaz aos corticosteroides a respeito da melhoria da função pulmonar e na prevenção e tratamento de episódios de exacerbação. Por conseguinte, as contagens de eosinófilos parecem ter potencial como biomarcador de prognóstico e terapêutico, apesar de mais estudos conclusivos serem ainda necessários.

Como os corticosteroides não são isentos de riscos, várias terapias biológicas direcionadas à inflamação eosinofílica estão em desenvolvimento.

Palavras-chave

DPOC;Eosinófilos;Exacerbações;Corticosteroides;Marcador Terapêutico

Abstract

Chronic Pulmonary Obstructive Disease, though it is a preventable condition, is very common and is one of the principle causes of morbidity and mortality globally, considered a significant health problem.

The current diagnostic criteria do not address the complexity of the various inflammatory phenotypes that contribute to airway obstruction, characteristic of the disease. Traditionally, neutrophils with alveolar macrophages, T lymphocytes and B lymphocytes predominate. However, approximately one third of patients with stable disease show evidence of eosinophilic inflammation, and an increase in the level of eosinophils during acute exacerbations is also reported in up to 28% of cases.

The search for minimally invasive and easy-to-apply diagnostic tools that can predict eosinophilia in the airways has intensified, and the peripheral blood cell count, a simple laboratory test, can identify those patients who are affected.

Although the eosinophil threshold thought to have clinical relevance is currently a matter of debate, high blood levels of eosinophils have been associated with a decline in lung function and more frequent exacerbations. However, these levels may also predict a more effective response to corticosteroids regarding improved lung function and in the prevention and treatment of episodes of exacerbation. Therefore, eosinophil counts appear to have potential as a prognostic and therapeutic biomarker, although more conclusive studies are still needed.

As corticosteroids are not free of risks, several biological therapies targeting eosinophilic inflammation are under development.

Keywords

COPD;Eosinophils;Exacerbations;Corticosteroids;Therapeutic Marker

Índice

| | | |
|-----|--|----|
| 1 | Introdução e Contextualização | 1 |
| 2 | Metodologia | 5 |
| 3 | Perfil Inflamatório na DPOC | 7 |
| 3.1 | Características e Formação dos Eosinófilos | 8 |
| 3.2 | Migração Eosinofílica | 9 |
| 3.3 | Inflamação Eosinofílica no Tecido Pulmonar | 10 |
| 4 | Níveis de Eosinofilia | 11 |
| 4.1 | Medição | 11 |
| 4.2 | Limites <i>cut off</i> | 12 |
| 4.3 | Limitações | 13 |
| 5 | Eosinofilia: Parâmetros Clínicos | 15 |
| 5.1 | Função Pulmonar | 15 |
| 5.2 | Taxa de Exacerbações | 15 |
| 6 | Eosinofilia: Resposta Terapêutica | 17 |
| 6.1 | Corticosteroides Inalados | 17 |
| 6.2 | Corticosteroides Sistêmicos | 21 |
| 7 | Conclusão e Perspetivas Futuras | 23 |
| 8 | Bibliografia | 25 |
| | Anexos | 29 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Nível de inflamação em pacientes com DPOC e em fumadores sem obstrução das vias aéreas | 7 |
| Figura 2 – Mecanismos que levam ao desenvolvimento da inflamação eosinofílica | 9 |
| Figura 3 – Taxa de exacerbação anual por contagem de eosinófilos no sangue | 16 |
| Figura 4 – Taxas de exacerbações moderadas a severas em pacientes tratados com um LABA apenas ou com a sua associação a um CI (A) contagem de eosinófilos <2% e ≥2% (B) quatro estratos de corte de eosinófilos | 19 |
| Figura 5 – Razão risco-benefício do uso de CI em pacientes com DPOC com base no nível de eosinófilos no sangue durante a doença estável | 20 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Classificação da gravidade da limitação do fluxo aéreo na DPOC | 3 |
| Tabela 2 – Ferramenta de avaliação ABCD baseada em parâmetros clínicos | 3 |
| Tabela 3 – Sensibilidade e especificidade em diferentes limiares de eosinófilos no sangue para detecção da eosinofilia na expetoração | 12 |
| Tabela 4 – Fatores a considerar ao adicionar CI ao tratamento regular com um ou dois broncodilatadores de longa ação | 21 |

Lista de Acrónimos

| | |
|------------------|--|
| CAT™ | Chronic Obstructive Pulmonary Disease Assessment Test |
| CCL | Ligante de quimiocina CC |
| CCR | Recetor de quimiocina CC |
| CI | Corticosteroides inalados |
| CO | Corticosteroides orais |
| COPD | Chronic Obstructive Pulmonary Disease |
| CS | Corticosteroides sistémicos |
| CVF | Capacidade vital forçada |
| DPOC | Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica |
| ECP | Proteína catiónica eosinófila |
| EDN | Neurotoxina derivada de eosinófilos |
| EPO | Peroxidase de eosinófilos |
| GOLD | Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease |
| HPC | Células progenitoras hematopoiéticas |
| IL | Interleucina |
| ILC | Células linfoides inatas |
| LABA | β 2-agonistas de longa ação |
| LAMA | Anticolinérgicos de longa ação |
| MBP | Proteína básica principal |
| mMRC | Modified British Medical Research Council |
| SABA | β 2-agonistas de curta ação |
| SAMA | Anticolinérgicos de curta ação |
| TNF | Fator de necrose tumoral |
| TSLP | Linfopietina estromal do timo |
| VEF ₁ | Volume expiratório forçado no 1º segundo |

1. Introdução e Contextualização

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica (DPOC) desenvolve-se tipicamente na idade adulta e resulta de uma interação complexa entre exposição cumulativa de longo prazo a gases e partículas nocivas e uma variedade de fatores característicos do próprio hospedeiro. (1)

O fumo do tabaco (tabagismo ativo ou passivo) permanece a maior causa ambiental conhecida, embora outros fatores também possam contribuir, tais como os níveis elevados de poluição do ar urbano, a exposição ocupacional (poeira orgânica e inorgânica, agentes químicos e vapores) e a poluição no domicílio (queima de madeira e outros combustíveis de biomassa utilizados para cozinhar e aquecer habitações mal ventiladas). (1,2)

Ainda de salientar que o sexo pode influenciar se uma determinada pessoa inicia hábitos tabágicos ou sofre certas exposições ocupacionais ou ambientais. Posto isto, os maiores valores de prevalência são contabilizados nos homens, contudo o sexo feminino tem vindo a registar números crescentes, estando perto de se assemelharem aos demais. (1,2)

A nível da predisposição individual inclui-se a genética (especialmente a deficiência hereditária grave de alfa-1 antitripsina), a história de hiperresponsividade das vias aéreas e também o baixo nível socioeconómico que poderá estar ligado ao baixo peso ao nascer e às infeções respiratórias na primeira infância, condicionando consequentemente o crescimento e o desenvolvimento do pulmão. (1)

Embora controversos, alguns estudos chegaram a sugerir que as mulheres são mais suscetíveis aos efeitos do fumo do tabaco do que os homens, implicando uma maior gravidade da doença para a quantidade equivalente de cigarros consumidos. (1)

Apesar de constituir uma patologia prevenível, a sua prevalência está prevista aumentar nas próximas décadas devido ao envelhecimento da população mundial e à exposição contínua aos fatores de risco. É muito comum em todo o mundo - cerca de 65 milhões de pessoas apresentam doença moderada a severa -, todavia os dados existentes variam amplamente devido às diferenças nos critérios diagnósticos utilizados, o que se reflete no subdiagnóstico generalizado. (1)

Esta condição é caracterizada pela presença das seguintes alterações (1,3):

- Sintomas respiratórios persistentes - dispneia crónica progressiva e/ou bronquite crónica (presença de tosse e expectoração purulenta por pelo menos 3 meses em cada um de dois anos consecutivos);

e

- Limitação crónica, geralmente progressiva e não totalmente reversível do fluxo aéreo expiratório após broncodilatação - geralmente determinada por espirometria: volume expiratório forçado no 1º segundo (VEF₁)/capacidade vital forçada (CVF) <0,7 após broncodilatação.

Esta diminuição da capacidade das vias aéreas de permanecerem abertas durante a expiração (com encarceramento de ar e posterior hiperinsuflação) está associada à inflamação crónica - mais tipicamente neutrófilos, macrófagos e linfócitos, embora nalguns pacientes os eosinófilos possam também desempenhar um papel significativo - que é responsável, através de sucessivas lesões e reparações, pelas seguintes mudanças estruturais (presentes em graus variados nos diferentes pacientes e evoluindo a taxas não contíguas ao longo do tempo) (1,3):

- Doença das pequenas vias aéreas (em menor número e estreitadas devido ao aumento da espessura da parede por células, muco e fibrose);

e/ou

- Enfisema (destruição dos alvéolos pulmonares - diminuição de trocas gasosas -, dilatação dos espaços aéreos e perda de elasticidade pulmonar).

Segundo as recomendações atuais (2021) da *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD), a compreensão do impacto da DPOC num dado paciente combina a classificação espirométrica (Tabela 1) - determinação da gravidade da limitação do fluxo aéreo - com a análise sintomática (Tabela 2) - avaliação da dispneia através do *Modified British Medical Research Council* (mMRC) *Questionnaire* (Anexo 1) ou dos sintomas utilizando o *Chronic Obstructive Pulmonary Disease* (COPD) *Assessment Test* (CAT™) (Anexo 2) - e com o risco de exacerbações (Tabela 2) - história de episódios de agravamento agudo dos sintomas respiratórios que resultaram em terapia adicional, considerando-se neste caso as classificadas como moderadas [foram tratadas com broncodilatadores de curta ação conjuntamente com antibióticos

e/ou corticosteroides orais (CO)] ou severas (o paciente requereu necessidade de hospitalização ou deslocação ao serviço de urgências). Este modo de visão do paciente, que conjuga um parâmetro espirométrico - grau de 1 a 4 - e um grupo baseado em indicadores clínicos - classe de A a D -, demonstra-se vital para o diagnóstico, prognóstico e consideração de outras abordagens terapêuticas importantes. (1)

Tabela 1 - Classificação da gravidade da limitação do fluxo aéreo na DPOC [adaptado de (1)]

| Grau | VEF ₁ (%) após broncodilatação |
|-----------------------|---|
| GOLD 1 (Ligeiro) | ≥80 |
| GOLD 2 (Moderado) | 50-79 |
| GOLD 3 (Severo) | 30-49 |
| GOLD 4 (Muito severo) | <30 |

Tabela 2 - Ferramenta de avaliação ABCD baseada em parâmetros clínicos [adaptado de (1)]

| | | |
|---|---------------------|--------------------|
| História de Exacerbações (moderadas ou severas) | | |
| ≥2 ou ≥1 com admissão hospitalar | C | D |
| 0 ou 1 sem admissão hospitalar | A | B |
| | mMRC 0-1 CAT <10 | mMRC ≥2 CAT ≥10 |
| | Sintomas | |

Em todo o mundo é uma das principais causas de mortalidade (top 3 - cerca de 3 milhões por ano) e de morbilidade (tradicionalmente várias visitas ao médico e ao departamento de urgências, necessidade de hospitalização, desenvolvimento de comorbilidades mais precocemente), o que induz uma carga económica e social que é substancial e crescente conforme a gravidade dos sintomas e o número de exacerbações. Por conseguinte, torna-se imperativa a necessidade de comprometimento em melhorar a saúde dos doentes que padecem deste distúrbio, um tão importante desafio de saúde pública. (1,4)

Deve ter-se em conta que a gestão de doenças obstrutivas das vias aéreas segundo tratamentos padrões desconsidera a complexidade biológica dessas mesmas condições, nega a multiplicidade de apresentações clínicas e põe de parte as particularidades de um dado doente. Neste sentido, no contexto da DPOC, tem surgido um interesse crescente na exploração de biomarcadores - características objetivamente mensuráveis, indicadoras de processos biológicos ou patogénicos e de respostas farmacológicas a intervenções terapêuticas -, onde se inclui a eosinofilia. O objetivo é que, ao não se ignorarem as variações da doença, se garanta um tratamento com maior chance de resposta e menos efeitos adversos e, assim sendo, se ofereça uma medicina cada vez mais personalizada, de melhor qualidade. (1,5)

2. Metodologia

O desenho deste estudo foi elaborado através de uma revisão bibliográfica realizada entre setembro de 2020 e janeiro de 2021, inclusive.

Recorreu-se à bases de dados PubMed, pesquisando-se as seguintes palavras-chave: *COPD*; *Eosinophils*; *Exacerbations*; *Corticosteroids*; *Therapeutic Marker*. As publicações foram selecionadas de acordo com a relevância do seu conteúdo, leitura do *abstract* e idioma (apenas os redigidos em português ou inglês). Não foi imposta nenhuma limitação temporal, tendo sido dada preferência a artigos mais recentes.

Esta pesquisa foi complementada com consulta de livros e do relatório mais recente da GOLD.

3. Perfil Inflamatório na DPOC

O modelo multicelular observado nos pulmões de pacientes com DPOC envolve tanto a imunidade inata - neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, mastócitos, células *natural-killer*, células T gama-delta, células linfoides inatas (ILC) e células dendríticas - como a adaptativa - linfócitos T e B. Ocorre ainda a ativação de células estruturais, nomeadamente células epiteliais alveolares e das vias aéreas, células endoteliais e fibroblastos. (6,7)

Um padrão semelhante é encontrado em fumadores que não apresentam limitação do fluxo aéreo, contudo em pacientes com DPOC, esta resposta inflamatória encontra-se amplificada (com aumento da intensidade à medida que a doença progride) - a base molecular deste fenómeno ainda não é totalmente compreendida, mas pode ser, pelo menos em parte, determinada por fatores genéticos e epigenéticos - e consegue tornar-se ainda mais exuberante durante exacerbações agudas (Figura 1). (6)

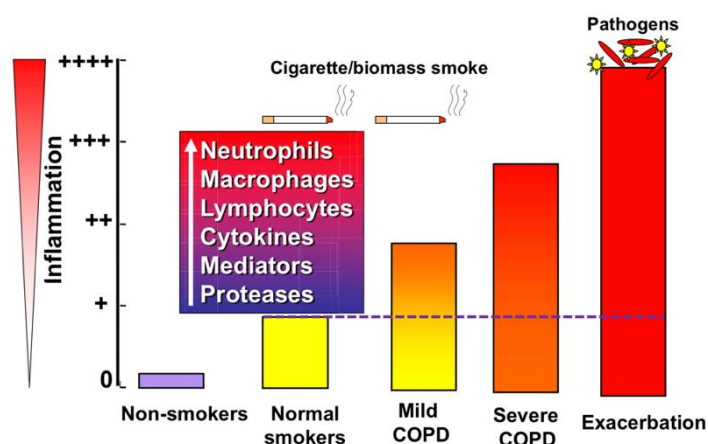


Figura 1 - Nível de inflamação em pacientes com DPOC e em fumadores sem obstrução das vias aéreas [adaptado de (6)]

A inflamação das vias aéreas pode persistir mesmo após a cessação dos hábitos tabágicos, sugerindo que existem mecanismos de autopropagação envolvidos, embora ainda não tenham sido elucidados. É possível que estes sejam uma consequência da imunidade alterada e de mudanças no microambiente das vias. (6,8)

Os critérios diagnósticos atuais da DPOC não captam a complexidade dos diferentes padrões inflamatórios. A fenotipagem dessa heterogeneidade revelou modelos distintos. Na maioria das vezes predominam caracteristicamente neutrófilos acompanhados de macrófagos alveolares, linfócitos T e linfócitos B. No entanto, e

embora a inflamação eosinofílica seja tradicionalmente associada à Asma brônquica (tendo até sido usada como método de diferenciação de outras patologias obstrutivas), atualmente esta constitui-se também um padrão inflamatório reconhecido num subgrupo de pessoas com DPOC. (4,6,8,9)

Estudos indicam que aproximadamente um terço dos pacientes com DPOC estável apresenta eosinofilia na expetoração, com prevalência (10-40%) dependente do limiar de eosinófilos usado e da população específica de pacientes estudada. Além disso, foi demonstrado que as contagens de eosinófilos na expetoração aumentam durante as exacerbações agudas em alguns doentes (em até 28% dos casos), num grau superior ao observado na doença estável. (4,9-13)

3.1. Características e Formação dos Eosinófilos

Em indivíduos saudáveis, os eosinófilos representam menos de 5% do total de leucócitos e estão presentes em pequeno número tanto no sangue periférico como nos tecidos. (14,15)

São células inflamatórias e imunoefetoras essenciais que possuem diversas funções, desempenhando papéis na homeostase e na doença em vários tecidos. Regra geral estão intimamente relacionados com infecções parasitárias e também foram associados a doenças alérgicas e autoimunes. (4,14,15)

Contêm quatro proteínas básicas armazenadas nos grânulos citoplasmáticos - proteína básica principal (MBP), peroxidase de eosinófilos (EPO), proteína catiónica eosinófila (ECP) e neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN) -, que demonstraram exercer efeitos tóxicos em vários tipos de células. (15)

Os principais recetores da superfície celular que suportam a função dos eosinófilos são o recetor de quimiocina CC (CCR) tipo 3 e a subunidade alfa do recetor de interleucina (IL) 5. (15)

Os eosinófilos são derivados de células-tronco progenitoras na medula óssea. A sua produção parece ser regulada por células T mediante a secreção de fatores de crescimento hematopoiético como a IL3, a IL5 e o fator estimulador de colónias de granulócitos-macrófagos. (4)

Quando concluído o processo de maturação, são libertados no sangue, onde podem existir em diferentes estados de ativação (não ativado, pré-ativado ou ativado).

Geralmente permanecem menos de 18 horas em circulação antes de passarem a residir predominantemente no intestino delgado do trato gastrointestinal e na medula tímica. Contudo, sob certas condições, os eosinófilos podem ser recrutados para tecidos, como é o caso do pulmonar. (4,10,15)

3.2. Migração Eosinofílica

Uma vez que a atividade patológica dos eosinófilos ocorre predominantemente a nível do tecido, a compreensão dos mecanismos envolvidos no seu recrutamento para as vias aéreas é particularmente importante para o desenvolvimento de terapias que têm como alvo os eosinófilos, contudo o conhecimento nesta área ainda é limitado. (10,16)

Há produção por parte do epitélio das vias respiratórias de linfopietina estromal do timo (TSLP), IL-25 e IL-33 em resposta ao fumo do cigarro e a infeções. Os músculos lisos das vias aéreas também produzem IL-33 e TSLP quando expostos a sinais de perigo. Estas citocinas estão diretamente envolvidas no recrutamento de linfócitos T helper 2 e de ILC tipo 2 que secretam IL-5, um dos principais componentes envolvidos na inflamação mediada por eosinófilos: promove a sua produção, maturação e ativação (já mencionadas), mas também o tráfego, funções efetoras e sobrevivência. (Figura 2). Os eosinófilos residentes que são independentes de IL-5 também poderão contribuir para a eosinofilia pulmonar na DPOC, mas o seu papel é até agora desconhecido. (4,15-17)

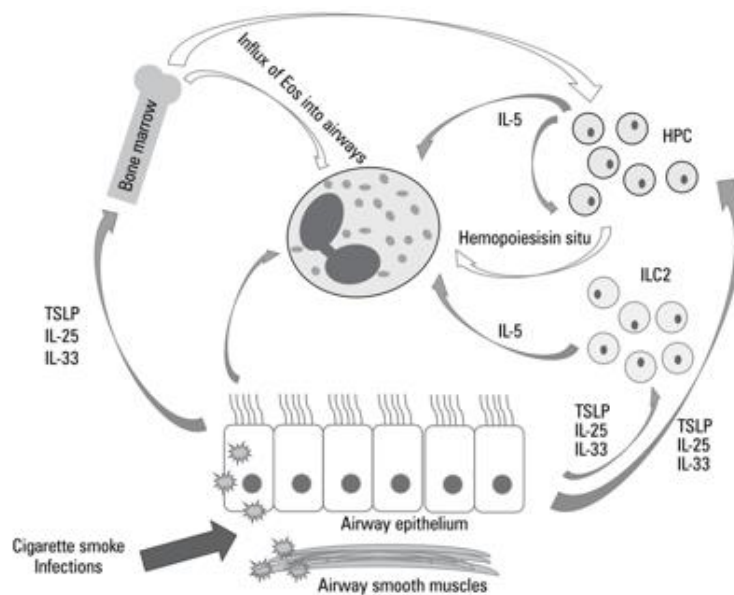


Figura 2 - Mecanismos que levam ao desenvolvimento da inflamação eosinofílica [adaptado de (16)]

Além disso, estas três citocinas derivadas do epitélio aumentam ainda o *homing* pulmonar de células progenitoras hematopoiéticas (HPC), estimulam-nas a produzir IL-5 e orquestram a chamada "hematopoiese in situ", ou seja, a transformação de HPC em eosinófilos maduros diretamente nas vias aéreas (Figura 2). (16)

Sabe-se que fatores quimiotáticos específicos - ligante da quimiocina CC (CCL) 5, CCL7, CCL11, CCL13, CCL15, CCL24 e CCL26 - atuando no CCR3, também estão envolvidos no processo de migração para os locais de inflamação. (4)

O extravasamento para as vias aéreas é mediado pela interação das integrinas da superfície celular dos eosinófilos com as moléculas de adesão do endotélio vascular, o que permite a transmigração através do epitélio vascular brônquico. (10)

3.3. Inflamação Eosinofílica no Tecido Pulmonar

Uma vez no tecido pulmonar, os eosinófilos libertam mediadores pró-inflamatórios, incluindo proteínas básicas - MBP, EPO, ECP, EDN -, citocinas - IL2, IL3, IL4, IL5, IL10, IL12, IL13, IL16, IL25 -, quimiocinas - CCL5, CCL11, CCL13 - e fatores de crescimento - fator de necrose tumoral (TNF), fator de crescimento transformador α/β - que contribuem para a resposta inflamatória contínua e dano tecidual característicos da DPOC. (4)

O mecanismo pelo qual a inflamação eosinofílica contribui para as exacerbações não está claro, mas poderá envolver uma combinação de edema, remodelação das vias aéreas, produção de muco e alterações na geometria das vias. A redução da depuração de eosinófilos também é apontada como um fator contribuinte, tendo sido demonstrado que a fagocitose macrofágica de eosinófilos se encontra prejudicada na DPOC e está relacionada com a gravidade e frequência de episódios de exacerbação. (14)

4. Níveis de Eosinofilia

Estabelecer que um paciente com DPOC apresenta um fenótipo inflamatório com predominância de eosinófilos é crítico para a administração apropriada de terapia direcionada. (10)

4.1. Medição

A avaliação mais precisa do grau de inflamação eosinofílica em doenças das vias aéreas é obtida através da contagem dos eosinófilos recrutados para o local real da inflamação, através de biópsia pulmonar ou brônquica. Contudo, a medição de eosinófilos ao nível do tecido é um procedimento bastante invasivo e só pode ser realizado em ambientes especializados. (10)

Um método alternativo de avaliar este nível de inflamação é através da utilização de amostras de expetoração induzida já que vários estudos corroboram a noção de que as contagens de eosinófilos na expetoração se correlacionam com a inflamação eosinofílica das vias aéreas tanto na Asma quanto na DPOC. Embora menos invasiva do que a biópsia de tecido, a indução da expetoração também apresenta uma série de limitações. É uma técnica difícil, exigindo realização em centros especializados e, portanto, representa uma modalidade impraticável em ensaios clínicos em grande escala. As próprias técnicas empregues diferem significativamente entre os centros, portanto é improvável que a colheita de expetoração seja proposta como medida de rotina, a menos que ocorra um esforço significativo de padronização. Além disso, também apresenta questões de segurança, sendo frequentemente contraindicada em pacientes mais graves, os com maior probabilidade de necessitarem e beneficiarem desta avaliação. Ainda de referir que nem sempre é um procedimento bem-sucedido (taxa de falha de até 30%). (10,12)

Por estes motivos, a procura por ferramentas diagnósticas minimamente invasivas e de fácil aplicação que possam prever a eosinofilia na expetoração tem-se intensificado. O uso da contagem de células no sangue periférico venoso como uma alternativa potencial tem despertado profundo interesse e incentivado várias investigações devido à sua facilidade de adaptação à prática clínica. (12)

Estudos recentes sugerem que a contagem de eosinófilos no sangue periférico pode ajudar a identificar a presença ou ausência de eosinofilia na expetoração em pacientes com DPOC estável, com um grau razoável de precisão (Tabela 3). (12)

Tabela 3 - Sensibilidade e especificidade em diferentes limiares de eosinófilos no sangue para detecção da eosinofilia na expetoração [adaptado de (12)]

| Limites <i>cut off</i> de eosinófilos no sangue ($\times 10^9/L$) | Sensibilidade (%) | Especificidade (%) | Classificados corretamente (%) |
|---|-------------------|--------------------|--------------------------------|
| $\geq 0,1$ | 97,8 | 6,3 | 35,5 |
| $\geq 0,2$ | 91,1 | 50,0 | 63,1 |
| $\geq 0,3$ | 60,0 | 76,0 | 70,9 |
| $\geq 0,4$ | 31,1 | 91,7 | 72,3 |
| $\geq 0,5$ | 13,3 | 94,8 | 68,8 |
| $\geq 0,6$ | 8,9 | 99,0 | 70,2 |
| $\geq 0,7$ | 4,4 | 100,0 | 69,5 |

Outros estudos mostraram ainda que a percentagem de eosinófilos no sangue periférico pode servir como um biomarcador sensível para determinar a eosinofilia na expetoração durante as exacerbações da DPOC. Por exemplo, um limite *cut off* de 2% de eosinófilos no sangue periférico demonstrou sensibilidade de 90% e especificidade de 60% para identificar $>3\%$ de eosinófilos na expetoração durante exacerbações. (12)

4.2. Limites *cut off*

A concentração de eosinófilos no sangue é relatada como uma percentagem do total de leucócitos ou como uma contagem absoluta (células/ μL) determinada multiplicando a contagem total de leucócitos pela percentagem de eosinófilos. A contagem relativa informa do grau de influência de outras células, enquanto que a contagem absoluta relata a carga celular total. (4,15,18)

Estudos demonstram que estes dois métodos de quantificação são concordantes. Não obstante, a contagem relativa parece ser importante no cenário de uma exacerbação, quando a colheita de informações acerca dos restantes leucócitos é aplicável. Assim sendo, uma distinção poderia ser feita entre o tratamento de manutenção, para o qual a contagem absoluta se utilizaria, e o tratamento de exacerbações, onde a contagem relativa teria o seu impacto. No entanto, apenas um estudo prospetivo foi realizado para investigar esta estratégia. É importante notar que estes valores refletem os níveis gerais, não tendo em conta o estado de ativação dos eosinófilos. (4,15)

Na expetoração as contagens são relatadas como uma percentagem do total de leucócitos, enquanto que a quantificação para eosinófilos em amostras de biópsia é expressa por área específica de tecido. (4)

Estudos recentes relataram uma contagem média de eosinófilos no sangue de 2,4% numa população geral não selecionada e contagens absolutas de eosinófilos no sangue de 100-200 células/ μ L em indivíduos saudáveis. Na expetoração induzida, percentagens médias de 0,3%-1,4% foram relatadas em não fumadores saudáveis. Em pacientes com DPOC, contagens médias de eosinófilos no sangue de 2,41%-2,70% e 180-230 células/ μ L e na expetoração induzida de 0,8%-6,2% foram registadas. Tanto na população geral quanto em pacientes com DPOC, níveis mais elevados de eosinófilos foram encontrados em homens comparativamente às mulheres. (4)

Não existe consenso acerca dos limites apropriados usados para definir a inflamação eosinofílica na DPOC. Na expetoração, os estudos usaram um limiar de 1%, 2% ou 3%, enquanto que os estudos relativos ao sangue se focaram principalmente num limiar de 2% (aproximadamente equivalente a 150 células/ μ L) ou de 300 células/ μ L. No entanto, alguns destes valores foram adotados daqueles estabelecidos previamente em estudos de eosinofilia na Asma e, portanto, podem não ser necessariamente ideais para a DPOC. (4,14,18)

Adicionalmente, é improvável que um único limiar seja recomendado para orientar todas as decisões de tratamento, sendo que os valores podem diferir dependendo do contexto de uso, como por exemplo, para prever o risco de exacerbação ou a resposta ao tratamento. (14)

4.3. Limitações

Embora seja empolgante a hipótese de se utilizarem os eosinófilos presentes no sangue como um biomarcador facilmente disponível, foram reportadas algumas barreiras potenciais ao seu uso, sendo necessários estudos adicionais para validar o seu valor na prática clínica. (18)

O quão forte é a correlação entre a eosinofilia no sangue e na expetoração ou tecidos é um assunto ainda muito debatido, tendo já sido observadas discordâncias entre as contagens. (10)

Além disso, a estabilidade e, portanto, a reprodutibilidade das medições da eosinofilia no sangue também tem sido questionada visto que ocorrem flutuações no mesmo

paciente em dias distintos (tempo de meia-vida no sangue curto) e a horas diferentes (variação diurna, com pico à noite). Claramente, estes achados podem impactar a precisão dos estudos, particularmente naqueles onde o grau de eosinofilia é baseado numa única medição pré-estudo (com impacto adicional se limiares inadequados forem utilizados). (10,14,18)

A eosinofilia está associada à gravidade e progressão da doença, porém a certa altura da história natural da DPOC, o processo inflamatório esmorece, tornando-se menos evidente conforme ocorre a redução do VEF₁. Este dado demonstra a complexidade desta doença, que se comporta de forma diferente, e aparentemente contraditória, nas suas diversas fases. Ensaios clínicos mostram o benefício do tratamento apenas na doença precoce, quando o processo inflamatório é intenso. (5)

A contagem elevada de eosinófilos no sangue está também associada a uma ampla variedade de doenças alérgicas, reumatológicas, infecciosas, neoplásicas e idiopáticas. De referir que pacientes com DPOC apresentam geralmente muitas comorbilidades. (18)

Existem igualmente muitas terapias que podem aumentar a contagem de eosinófilos sanguíneos, incluindo suplementos nutricionais, terapias alternativas e medicamentos, alguns comumente prescritos, tais como anfetaminas, antibióticos (penicilinas, cefalosporinas e sulfonamidas), anti-inflamatórios não esteroides, ranitidina, alopurinol, anti-reumáticos, anticonvulsivantes e tranquilizantes. Por outro lado, o uso de corticosteroides sistêmicos (CS) pode diminuir a sua contagem. Portanto, para que o clínico possa usar o eosinófilo sanguíneo como biomarcador, é necessário antes efetuar um histórico completo. (18)

5. Eosinofilia: Parâmetros Clínicos

Embora um limiar amplamente aceite para definir a inflamação eosinofílica no contexto da DPOC não tenha sido firmemente estabelecido, dados recentes têm sugerido uma relação entre contagens elevadas de eosinófilos e certas variáveis clínicas - função pulmonar e taxa de exacerbações. (4)

5.1. Função Pulmonar

Apesar da natureza exata da relação entre inflamação eosinofílica e taxa de declínio da função pulmonar em pacientes com DPOC ainda permaneça obscura, algumas evidências apontam para uma potencial ligação entre contagens elevadas de eosinófilos e obstrução do fluxo aéreo. Estudos demonstraram que em pacientes com doença moderada a severa, valores mais baixos de VEF₁ foram associados a maiores concentrações de eosinófilos e ECP na expetoração. Também em pesquisas envolvendo indivíduos com elevadas contagens de eosinófilos no sangue (≥ 340 células/ μ L), estes obtiveram valores percentuais preditivos de VEF₁ ligeiramente mais baixos do que aqueles com níveis sanguíneos inferiores. (4)

5.2. Taxa de Exacerbações

As exacerbações na DPOC são eventos importantes que levam à redução a curto e longo prazo na qualidade de vida e ao declínio acelerado da função pulmonar comparativamente aos pacientes que não apresentam estas ocorrências, sugerindo que estão associadas a um pior curso clínico. Além disso, exacerbações frequentes elevam o risco de mortalidade, sendo que 50% dos pacientes com DPOC morrerão dentro de cinco anos após um episódio de agravamento severo. Por conseguinte, a sua rápida resolução (minimizando o impacto negativo do episódio) e prevenção são pontos essenciais no tratamento da DPOC. (2,15,16)

Foram identificados pelo menos quatro grupos distintos de tipos de exacerbações: bacterianas, virais, pauci-inflamatórias e eosinofílicas. Num estudo observacional com duração de um ano, 55% das exacerbações em doentes com DPOC foram associadas a bactérias, 29% a vírus e 28% à eosinofilia na expetoração (descrições não foram mutuamente exclusivas; percentagens relativas às exacerbações pauci-inflamatórias demonstraram-se residuais). (4)

Os eosinófilos sanguíneos são um provável marcador de exacerbações eosinofílicas, sendo que as taxas anuais de exacerbações de outras causas permanecem inalteradas, independentemente do aumento na contagem de eosinófilos no sangue (Figura 3). (19)

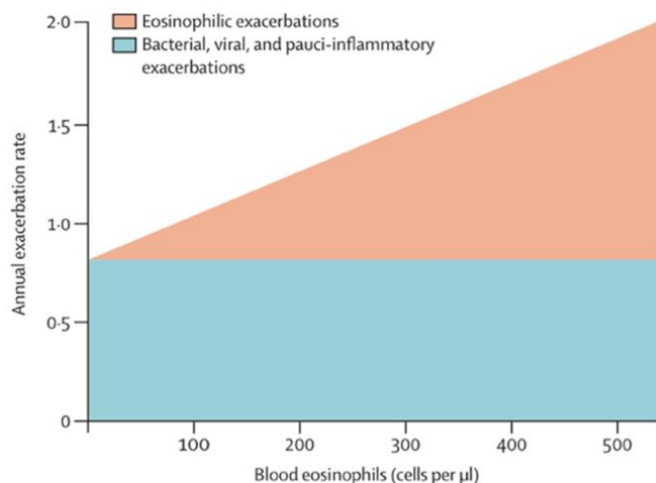


Figura 3 - Taxa de exacerbação anual por contagem de eosinófilos no sangue [adaptado de (19)]

Um crescente corpo de evidências apoia a associação entre altas concentrações de eosinófilos no sangue durante a doença estável e risco aumentado de exacerbações na DPOC, especialmente as severas. Recentemente, análises epidemiológicas mostraram que uma contagem de eosinófilos no sangue periférico circulante superior a 340 células/ μ L estaria associada a um risco geral aumentado de exacerbações e a um aumento de duas vezes do risco no que diz respeito a episódios severos. Também dados de estudos prospetivos indicaram que pacientes com doença moderada a severa que apresentavam níveis de eosinófilos no sangue $\geq 2\%$ ou ≥ 150 células/ μ L experimentaram maior frequência de exacerbações do que indivíduos com níveis inferiores. (4,14-16)

Por conseguinte, os níveis de eosinófilos no sangue podem ser considerados um biomarcador de prognóstico, ou seja, podem ser úteis na seleção de pacientes com risco aumentado de exacerbações, porém são necessárias pesquisas adicionais acerca dos limiares exatos a serem utilizados e é importante ter em conta que poderão existir fatores de confusão que os influenciem, incluindo nível de gravidade da doença, histórico variável de exacerbações (o melhor preditor de exacerbações conhecido atualmente) e tratamento com corticosteroides inalados (CI). (1,14)

6. Eosinofilia: Resposta Terapêutica

A inflamação das vias aéreas e a inflamação sistêmica são características consistentes da DPOC e estão implicadas na sua patogênese, progressão e mortalidade. Ainda assim, a terapia anti-inflamatória não se constitui o tratamento de primeira linha, visando este o tratamento sintomático da broncoconstrição na forma de broncodilatadores. (8)

Relativamente à doença estável, nos modelos para iniciação e seguimento farmacológico da DPOC que constam do relatório da GOLD (2021) predominam habitualmente como primeiro plano broncodilatadores de longa ação - anticolinérgicos de longa ação (LAMA) e/ou β 2-agonistas de longa ação (LABA). Consta também das recomendações que os β 2-agonistas de curta ação (SABA), com ou sem anticolinérgicos de curta ação (SAMA) associados, sejam os broncodilatadores iniciais para o tratamento agudo de uma exacerbação. (1)

Fármacos cujo papel adjuvante no tratamento da DPOC tem vindo a ser explorado são os corticosteroides, produzidos laboratorialmente através da hormona cortisol, derivada da glândula suprarrenal. Os mecanismos moleculares pelos quais atua a sua atividade anti-inflamatória incluem repressão de genes inflamatórios ativados, ativação de genes anti-inflamatórios e efeitos pós-transcricionais. A nível celular, os corticosteroides podem inibir a sobrevivência de eosinófilos nos tecidos e no sangue periférico, apresentando um efeito mais discreto a respeito da inflamação neutrofílica. (11,13,14)

Algumas evidências recentes apontam para uma possível relação entre os níveis de eosinofilia e a predição de resposta aos CI (como terapia de manutenção) - na melhoria da função pulmonar e na prevenção de exacerbações - e aos CS no tratamento das mesmas. (4,11,20)

6.1. Corticosteroides Inalados

A eficácia e a segurança dos CI no tratamento de pacientes com DPOC são temas muito debatidos uma vez que o seu uso pode resultar em benefícios clínicos claros em alguns pacientes, contudo revelam-se ineficazes ou estão mesmo associados a efeitos colaterais indesejados noutros. Vários fatores devem ser considerados individualmente antes de se adicionarem CI ao tratamento broncodilatador de manutenção. (21)

Um dos principais propósitos a atingir no tratamento da DPOC é retardar a progressão da doença. Este ideal tem sido estudado no contexto de tentativa de redução da taxa de declínio do VEF₁. O tratamento com CI poderá ter um impacto diferencial na função pulmonar, dependendo se as concentrações de eosinófilos são normais ou elevadas. No entanto, requer-se ainda confirmação através de estudos especificamente planeados visto que não existem evidências conclusivas de que quaisquer medicamentos utilizados na DPOC modifiquem o declínio a longo prazo da função pulmonar e, adicionalmente, o papel dos eosinófilos na melhoria do fluxo de ar, relacionada com a terapia com CI, não se encontra ainda claro. (1,4,14,20,22,23)

A análise de um ensaio, onde foi avaliado o tratamento com proprionato de fluticasona (um CI) versus o efeito placebo, relatou que os pacientes tratados com o CI que apresentavam elevada contagem de eosinófilos no sangue ($\geq 2\%$), mas não aqueles com eosinófilos $< 2\%$, experimentaram uma taxa de declínio significativamente menor no VEF₁ comparativamente aos pacientes tratados com placebo. Outro estudo mostrou ainda que o tratamento que incluiu a associação de fluorato de fluticasona (um CI) ao vilanterol (um LABA), melhorou a limitação do fluxo de ar em comparação ao vilanterol isolado, em pacientes com quase todos os níveis basais de eosinófilos no sangue. No entanto, pacientes com maiores contagens obtiveram a maior melhoria no VEF₁ quando tratados com este conjunto de fármacos e registaram a maior perda no VEF₁ quando somente o vilanterol foi utilizado. Estes resultados sugerem que a função pulmonar em pacientes com níveis elevados de eosinófilos é mais responsiva à terapia com CI. (4,20)

Planos de tratamentos que incluam CI desempenham um papel fundamental na redução das exacerbações na DPOC, um outro grande objetivo do tratamento desta patologia. Vários estudos foram publicados demonstrando que as contagens basais de eosinófilos no sangue podem prever uma maior magnitude do efeito dos CI no que diz respeito à capacidade de prevenção de exacerbações futuras, porém o mecanismo como tal se proporciona permanece obscuro. (1,14,19,24)

Uma análise de dois ensaios clínicos com 12 meses de duração comparou o efeito do vilanterol isolado à sua combinação com 50, 100 ou 200 µg de fluorato de fluticasona em pacientes com DPOC moderada a severa e que apresentavam história de uma ou mais exacerbações no ano anterior. Em todas as doses de CI, a associação de fluorato de fluticasona ao vilanterol reduziu significativamente em 29% as taxas de exacerbações moderadas/severas em comparação com o vilanterol sozinho (média de 0,91 vs 1,28 exacerbações por paciente por ano) em pacientes com contagens de eosinófilos $\geq 2\%$ (ou

≥150 células/μl) e não significativamente em 10% (0,79 vs 0,89) em pacientes com contagem de eosinófilos ≤2%. A proporção de redução nas exacerbações aumentou juntamente com a percentagem de eosinófilos no sangue: 24% com contagens iniciais de 2% a <4%; 32% com contagens de linha de base de 4% a <6%; e atingiu os 42% em pacientes com contagens ≥6%. Concluiu-se que as contagens basais mais altas obtiveram o maior benefício da terapia com CI em termos de melhoria na prevenção de exacerbações (Figura 4). (14,16)

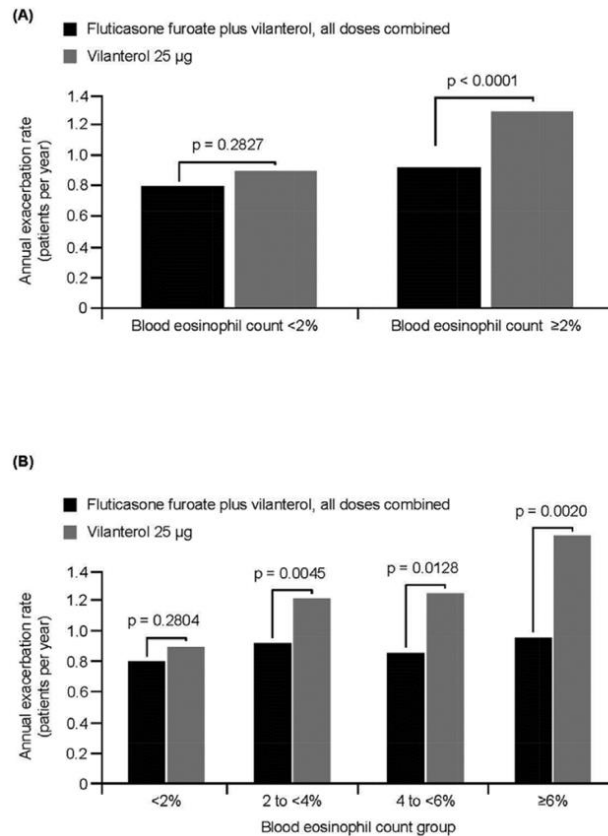


Figura 4 - Taxas de exacerbações moderadas a severas em pacientes tratados com um LABA apenas ou com a sua associação a um CI (A) contagem de eosinófilos <2% e ≥2% (B) quatro estratos de corte de eosinófilos [adaptado de (14)]

É importante limitar a exposição aos CI a pacientes que provavelmente se beneficiarão do seu uso dado que estes medicamentos não são isentos de efeitos adversos. Podem prejudicar a quimiotaxia de monócitos, a atividade bactericida, a produção de IL-1 e TNFα e a ativação de células T, aumentando assim o risco de infeções respiratórias e resultando em casos de pneumonia, candidíase orofaríngea, infeção por micobactérias (incluindo tuberculose), infeção das vias respiratórias superiores e rouquidão. Possivelmente também incluem riscos de hiperglicemia, fraturas osteoporóticas e cataratas. (21,25)

O risco de pneumonia encontra-se por si só aumentado tanto em fumadores como em pacientes com DPOC, independentemente do uso de CI, contudo esta medicação acresce ainda mais ao risco (3,9% vs 4,5%). Este poderá estar ainda mais elevado, particularmente em pacientes com idade avançada, menor índice de massa corporal, maior fragilidade geral, limitação grave do fluxo de ar, doses maiores de CI e baixa contagem de eosinófilos no sangue. (16,21)

Uma análise de ensaios clínicos demonstrou que quando não tratados com CI, indivíduos com DPOC que apresentam contagens de eosinófilos no sangue $\geq 2\%$ são ligeiramente menos propensos a ter pneumonia do que indivíduos com $< 2\%$ de eosinófilos no sangue (2,4% vs 3,8%). Também em pacientes que fazem uso de CI, um maior risco de incidência de pneumonia foi observado naqueles com eosinófilos $< 2\%$ em comparação com aqueles com $\geq 2\%$. Autores especulam que pacientes com contagens elevadas de eosinófilos poderão ter melhor capacidade de proteger os pulmões contra infeções devido ao papel de defesa antimicrobiano dos eosinófilos. Assim sendo, a relação risco-benefício do uso de CI pode ser categorizada em três áreas, cada uma modulada pela contagem de eosinófilos no sangue, podendo ser utilizadas para orientação de decisão terapêutica (Figura 5). (4,10,16)

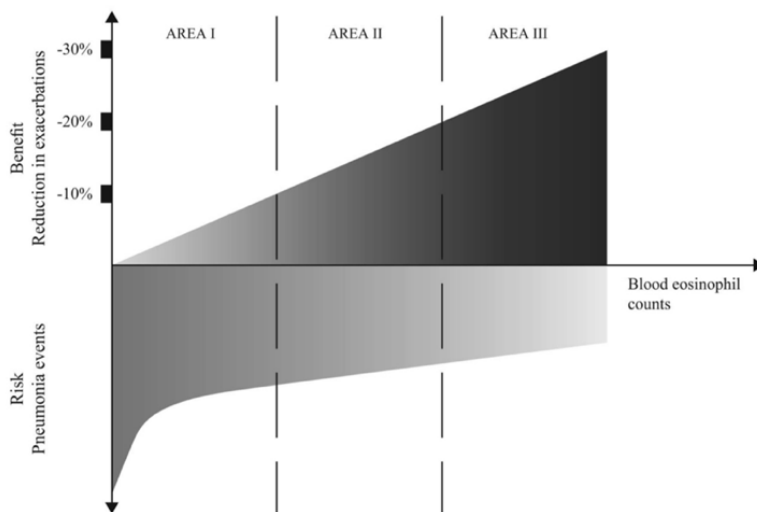


Figura 5 - Razão risco-benefício do uso de CI em pacientes com DPOC com base no nível de eosinófilos no sangue durante a doença estável [adaptado de (10)]

De momento, o que consta no relatório da Gold (2021) é que os pacientes com maior probabilidade de se beneficiarem da adição de CI a broncodilatadores de ação prolongada (LABA/LAMA/CI ou LABA/CI vs LABA/LAMA) incluem aqueles com história de pelo menos duas exacerbações moderadas, apesar do uso de broncodilatador de manutenção apropriado, particularmente se os eosinófilos

sanguíneos forem >300 células/μL, e aqueles com história de e/ou asma concomitante. Também história prévia de infecções respiratórias bacterianas poderá ser importante considerar (Tabela 4). (4,13,21)

Tabela 4 - Fatores a considerar ao adicionar CI ao tratamento regular com um ou dois broncodilatadores de longa ação [adaptado de (1)]

| A favor do uso | Considerar uso | Contra o uso |
|--|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - História de hospitalização por exacerbação - ≥2 exacerbações moderadas/ano - Eosinófilos no sangue >300 células/μL - História de e/ou asma concomitantemente | <ul style="list-style-type: none"> - 1 exacerbação moderada/ano - Eosinófilos no sangue 100-300 células/μL | <ul style="list-style-type: none"> - Pneumonias de repetição - Eosinófilos no sangue <100 células/μL - História de infecções por micobactérias |

Adicionalmente, alguns estudos apontaram que a retirada de CI de um plano de tratamento triplo (que inclui terapia broncodilatadora dupla) demonstrou efeitos nefastos associados comparativamente aos pacientes que o mantiveram - aumento nos sintomas, redução modesta do VEF₁ e maior frequência de exacerbações -, tendo sido mais marcados entre os pacientes que registavam contagem de eosinófilos no sangue ≥4% ou ≥300 células/μl antes do tratamento ter sido instituído. Portanto, estes doentes mais propensos a riscos, que parem o tratamento com CI dada a sua falta de eficácia relatada ou os efeitos adversos registrados, devem posteriormente ser seguidos de perto. (1,4,16,20)

6.2. Corticosteroides Sistêmicos

Os dados dos estudos que se debruçaram acerca do uso de CS nas exacerbações da DPOC indicam que a sua utilização durante este período se demonstrou uma mais valia ao encurtar o tempo de recuperação, melhorar a função pulmonar (VEF₁) e a oxigenação e reduzir o tempo de hospitalização, a falha do tratamento e o risco de recidiva precoce. (1)

Segundo as informações que constam no relatório da GOLD (2021), a duração da terapia não deve ser superior a 5-7 dias, sendo que um estudo observacional sugere que cursos mais longos de CO estão associados a um risco aumentado de pneumonia, sépsis e mortalidade. Uma dose de 40 mg de prednisona por dia durante 5 dias é recomendada. A prednisolona oral é igualmente eficaz à sua administração intravenosa. (1)

Estudos recentes sugerem que os CS podem ser menos eficazes ao tratar exacerbações agudas em pacientes com níveis mais baixos de eosinófilos no sangue e foi igualmente demonstrado que as exacerbações associadas a um aumento de eosinófilos no sangue podem ser mais responsivas ao seu uso, embora mais investigações sejam necessárias para testar esta hipótese. (1,15)

Alguns autores aplicaram retrospectivamente agrupamentos de $\geq 2\%$ versus $< 2\%$ de eosinófilos no sangue no momento da exacerbação e presença/ausência de tratamento com prednisolona em ensaios clínicos disponíveis. Verificou-se que os pacientes com contagens de eosinófilos no sangue $\geq 2\%$ reduziram significativamente as taxas de falha do tratamento com prednisolona, em comparação com o placebo. Em contraste, houve pouca evidência de que a prednisolona modificou os resultados ou proporcionou benefícios em pacientes com contagem de eosinófilos no sangue $< 2\%$. (14)

Estudos prospectivos acerca dos efeitos a longo prazo dos CO na DPOC estável são limitados. Sabe-se, no entanto, que estes apresentam vários efeitos colaterais, incluindo miopatia esteroide que pode contribuir para a fraqueza muscular, diminuição da funcionalidade e insuficiência respiratória em indivíduos com DPOC muito severa. Portanto, embora os CO desempenhem um papel no tratamento agudo das exacerbações, eles não têm nenhuma indicação no tratamento diário crônico da DPOC devido à falta de benefício em comparação com uma alta taxa de complicações sistêmicas associadas. (1)

7. Conclusão e Perspetivas Futuras

Um crescente corpo de evidências sugere que a DPOC eosinofílica se comporta como um fenótipo distinto da doença. A contagem de eosinófilos no sangue periférico, um exame laboratorial simples, poderá constituir uma ferramenta prontamente acessível na identificação de pacientes que apresentam inflamação eosinofílica nas vias aéreas.

Embora, no contexto da DPOC, um limiar amplamente aceite para definir a inflamação eosinofílica não tenha sido firmemente estabelecido, contagens elevadas de eosinófilos no sangue têm vindo a ser associadas à redução da função pulmonar e ao aumento do risco de exacerbação, comportando-se desta forma como biomarcador de prognóstico, no entanto, pesquisas adicionais que confirmem estes achados e validem o seu valor prático são requeridas.

A contagem de eosinófilos no sangue, em conjunto com a avaliação clínica do paciente, pode ajudar a estimar a probabilidade de uma resposta preventiva benéfica à adição de CI ao tratamento broncodilatador regular, para melhoria da função pulmonar e para prevenção de exacerbações. Também uma estratégia de tratamento que passe pela contagem de eosinófilos no sangue medida no início de uma exacerbação parece ser uma abordagem promissora para maximizar o benefício e minimizar o uso desnecessário de CS no tratamento de exacerbações. Contudo, para que o papel dos eosinófilos como biomarcador associado a recomendações terapêuticas específicas possa ser devidamente estabelecido com firmeza, mais dados prospetivos serão necessários.

O tratamento que inclui corticosteroides não está isento de riscos, por conseguinte, espera-se que a nova abordagem com agentes biológicos não seja prejudicada por efeitos colaterais deste tipo. Todavia, as terapias que visam a via da IL-5 foram investigadas, não mostrando nenhum benefício claro até ao momento em relação à redução do risco de exacerbação e melhora de outros parâmetros clínicos. Mais estudos são necessários para confirmar se produtos biológicos que neutralizem citocinas cruciais para a produção, maturação, ativação, tráfego, funções efetoras e/ou sobrevivência dos eosinófilos - potenciais moléculas de interesse incluem as citocinas derivadas do epitélio, ou seja, IL-25, IL-33 e TSLP - poderão ser benéficos no tratamento de pacientes com DPOC eosinofílica, contribuindo para uma abordagem mais personalizada, de melhor qualidade. (4,16)

8. Bibliografia


1. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Internet]. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; 2021 [cited 2021 Jan 12]. Available from: <http://goldcopd.org>
2. Benjamin IJ, Griggs RC, Wing EJ, Fitz JG. Andreoli and Carpenter's Cecil Essentials of Medicine. 9th edition. Elsevier; 2016.
3. Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. Harrison's Principles of Internal Medicine. 20th edition. McGraw Hill Education; 2018.
4. Tashkin DP, Wechsler ME. Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2018 Jan 17;13:335-49.
5. Fernandes FLA. Eosinophils in COPD: why should I care? *J Bras Pneumol*. 2016 Jul-Aug;42(4):237-8.
6. Barnes PJ. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jul;138(1):16-27.
7. Rufino R, Costa CH, Souza HSP, Madi K, Silva JRL. Induced sputum and peripheral blood cell profile in chronic obstructive pulmonary disease. *J Bras Pneumol*. 2007 Sep-Oct;33(5):510-8.
8. Brightling C, Greening N. Airway inflammation in COPD: progress to precision medicine. *Eur Respir J*. 2019 Aug 1;54(2):1900651.
9. Eapen MS, Myers S, Walters EH, Sohal SS. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a true paradox. *Expert Rev Respir Med*. 2017 Oct;11(10):827-39.
10. Kostikas K, Brindicci C, Patalano F. Blood Eosinophils as Biomarkers to Drive Treatment Choices in Asthma and COPD. *Curr Drug Targets*. 2018;19(16):1882-96.
11. Cheng SL. Blood eosinophils and inhaled corticosteroids in patients with COPD: systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2018 Sep 6;13:2775-84.

12. Negewo NA, McDonald VM, Baines KJ, Wark PAB, Simpson JL, Jones PW, Gibson PG. Peripheral blood eosinophils: a surrogate marker for airway eosinophilia in stable COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2016 Jul 1;11:1495-504.
13. Fuschillo S, Molino A, Stellato C, Motta A, Maniscalco M. Blood eosinophils as biomarkers of therapeutic response to chronic obstructive pulmonary disease: Still work in progress. *Eur J Intern Med.* 2019 Oct;68:1-5.
14. Brusselle G, Pavord ID, Landis S, Pascoe S, Lettis S, Morjaria N, Barnes N, Hilton E. Blood eosinophil levels as a biomarker in COPD. *Respir Med.* 2018 May;138:21-31.
15. Bafadhel M, Pavord ID, Russell REK. Eosinophils in COPD: just another biomarker? *Lancet Respir Med.* 2017 Sep;5(9):747-59.
16. Tworek D, Antczak A. Eosinophilic COPD - a distinct phenotype of the disease. *Adv Respir Med.* 2017;85(5):271-276.
17. Barnes PJ. Inflammatory endotypes in COPD. *Allergy.* 2019 Jul;74(7):1249-56.
18. Tsiligianni I, Kaplan AG. Are blood eosinophils a prime-time biomarker for COPD management decisions? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2018 Jun 12;13:1889-91.
19. Greulich T, Vogelmeier CF. Blood eosinophils as a marker of eosinophilic exacerbations in COPD. *Lancet Respir Med.* 2018 May;6(5):e17.
20. Siddiqui SH, Pavord ID, Barnes NC, Guasconi A, Lettis S, Pascoe S, Petruzzelli S. Blood eosinophils: a biomarker of COPD exacerbation reduction with inhaled corticosteroids. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2018 Nov 6;13:3669-76.
21. Agusti A, Fabbri LM, Singh D, Vestbo J, Celli B, Franssen FME, Rabe KF, Papi A. Inhaled corticosteroids in COPD: friend or foe? *Eur Respir J.* 2018 Dec 13;52(6):1801219.
22. Barnes NC, Sharma R, Lettis S, Calverley PMA. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD. *Eur Respir J.* 2016 May;47(5):1374-82.

23. van den Berge M, Kerstjens HA. Blood eosinophils as a continuous variable in the treatment of COPD: impact on the guidelines. *Lancet Respir Med*. 2019 Sep;7(9):722-3.
24. Fabbri LM, Beghé B, Papi A. Blood eosinophils for the management of COPD patients? *Lancet Respir Med*. 2018 Nov;6(11):807-8.
25. Vestbo J, Vogelmeier CF, Small M, Siddall J, Fogel R, Kostikas K. Inhaled corticosteroid use by exacerbations and eosinophils: a real-world COPD population. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2019 Apr 16;14:853-61.

Anexos

Anexo 1

|  MODIFIED MRC DYSPNEA SCALE^a | | |
|--|--|--------------------------|
| PLEASE TICK IN THE BOX THAT APPLIES TO YOU ONE BOX ONLY Grades 0 - 4 | | |
| mMRC Grade 0. | I only get breathless with strenuous exercise. | <input type="checkbox"/> |
| mMRC Grade 1. | I get short of breath when hurrying on the level or walking up a slight hill. | <input type="checkbox"/> |
| mMRC Grade 2. | I walk slower than people of the same age on the level because of breathlessness, or I have to stop for breath when walking on my own pace on the level. | <input type="checkbox"/> |
| mMRC Grade 3. | I stop for breath after walking about 100 meters or after a few minutes on the level. | <input type="checkbox"/> |
| mMRC Grade 4. | I am too breathless to leave the house or I am breathless when dressing or undressing. | <input type="checkbox"/> |
| <small>^a Fletcher CM. BMJ 1960; 2: 1662.</small> | | |

Anexo 2

| ▶ CAT™ ASSESSMENT | | |
|---|--|---|
| <i>For each item below, place a mark (x) in the box that best describes you currently. Be sure to only select one response for each question.</i> | | |
| EXAMPLE: I am very happy | <input type="radio"/> 0 <input checked="" type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I am very sad |
| I never cough | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I cough all the time |
| I have no phlegm (mucus) in my chest at all | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | My chest is completely full of phlegm (mucus) |
| My chest does not feel tight at all | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | My chest feels very tight |
| When I walk up a hill or one flight of stairs I am not breathless | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | When I walk up a hill or one flight of stairs I am very breathless |
| I am not limited doing any activities at home | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I am very limited doing activities at home |
| I am confident leaving my home despite my lung condition | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I am not at all confident leaving my home because of my lung condition |
| I sleep soundly | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I don't sleep soundly because of my lung condition |
| I have lots of energy | <input type="radio"/> 0 <input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> 2 <input type="radio"/> 3 <input type="radio"/> 4 <input type="radio"/> 5 | I have no energy at all |
| Reference: Jones et al. ERJ 2009; 34 (3); 648-54. | | TOTAL SCORE: <input style="width: 40px; height: 30px; border: 1px solid black; border-radius: 50%; border: none;" type="text"/> |