

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE GRANADA

Programa de Doctorado en Farmacia

**“INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A TERAPIAS
BIOLÓGICAS EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO
CONTROLADA”**

SUSANA ROJO TOLOSA

Granada, abril 2023

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Susana Rojo Tolosa
ISBN: 978-84-1117-868-6
URI: <https://hdl.handle.net/10481/82133>

UNIVERSIDAD DE GRANADA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR II

FACULTAD DE FARMACIA

UNIDAD DE FARMACOGENÉTICA

SERVICIO DE FARMACIA

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

TESIS DOCTORAL

**“INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A TERAPIAS BIOLÓGICAS EN
PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA”**

Tesis presentada por Susana Rojo Tolosa para optar al grado de Doctora.

Directores:

Dr. Alberto Jiménez Morales

Dra. Cristina Pérez Ramírez

Granada, abril 2023

El doctorando / The *doctoral candidate* [**Susana Rojo Tolosa**] y los directores de la tesis /
and the thesis supervisor/s: [**Alberto Jiménez Morales y Cristina Pérez Ramírez**]

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

/

Guarantee, by signing this doctoral thesis, that the work has been done by the doctoral candidate under the direction of the thesis supervisor/s and, as far as our knowledge reaches, in the performance of the work, the rights of other authors to be cited (when their results or publications have been used) have been respected.

Lugar y fecha / Place and date:

Director/es de la Tesis / *Thesis supervisor/s*;

Doctorando / *Doctoral candidate*:

Firma / Signed

Firma / Signed

A mis padres,

A mi tía,

A mis abuelos,

A mis hermanos,

A Antonio...

“La vida está para atreverse.

Para hacer lo que te hace feliz.

Para disfrutar cada instante.

Para querer mucho y bien.

Para sentir con pasión.

Para soñar y cumplir lo sueños.

Para ser quien quieras ser.

Para actuar con corazón.

Para vivir intensamente”.

Lola Ortiz



AGRADECIMIENTOS

Siempre he pensado que las palabras más bonitas son las que menos se dicen: perdón, te quiero y gracias, y este es el momento de dar las gracias infinitas todas las personas que me han acompañado durante este camino y son, en parte responsables del resultado de estos años de esfuerzo.

Gracias a Alberto Jiménez, uno de mis directores de Tesis, por abrirme las puertas del Servicio de Farmacia y depositar toda tu confianza en mi sin conocerme y con la única premisa de “si te atreves, adelante”. Has sido una pieza clave para poder vivir esta etapa, que estoy segura de que deja una bonita huella tanto personal como profesional. Gracias a Cristina Pérez, mi otra directora y mentora en este proceso, por transmitirme todo el conocimiento y la pasión por la farmacogenética, por tu ayuda en dar forma a este proyecto y permitirme seguir disfrutando e ilusionándome con la investigación. Habéis estado hasta el final, a pesar de los contratiempos y estoy segura de que dar estos pasos sin vosotros no hubiera sido posible. Sois dos personas maravillosas que me llevo de esta aventura.

Agradecer a Francisco González Vargas, antiguo Jefe de Servicio de Neumología, por comenzar este proyecto de mi mano, transmitirme todo su conocimiento y sobre todo porque a pesar de jubilarte hiciste todo lo posible para que pudiera continuar este proyecto con todo el apoyo que me darías tú. Gracias a Concepción Morales, Jefa de Servicio de Neumología, por continuar el relevo sin conocerme y darme tu plena confianza y apoyo, pero especialmente por transmitirme esa vocación y amor por lo que haces y apostar plenamente por la investigación.

Agradecer a todo el personal del Servicio de Neumología y Farmacia, por ser partícipes indirectos de esta etapa. En especial a Mayte Rodríguez Zamaro, enfermera de la Unidad de Asma, por ayudarme a comenzar este proceso, acercarme a los pacientes y transmitirles la confianza que tienen en ti en mí.

Gracias a mi tutor de Tesis, Antonio Sánchez Pozo, por su atención y disponibilidad.

Uno de los agradecimientos más importantes para mis compañeros del laboratorio de Farmacogenética, Laura, Noelia, Cristina, Yasmín, Luciana, Chema, Andrea, ... porque habéis sido una de las partes más importantes del camino, por todo lo que me habéis enseñado, por compartir risas y lloros, por hacer que en días oscuros saliese un rayito de sol, porque no puedo evitar quedarme con una parte de cada uno de vosotros porque sois increíbles y hemos hecho un equipo muy bonito. Muchas gracias a Almu, por apasionar y saber transmitir todo tu conocimiento de la farmacogenética.

Gracias a mis amigos, a los que a pesar de la distancia siempre están ahí y a los que hacen de mi familia en Granada, que nunca han dudado de mí.

Gracias a Antonio, por ser familia, equipo, amigo y compañero del viaje más bonito. Eres luz en una habitación oscura y siempre dispuesto a compartirla, a animarme y a disfrutar la vida a mi lado.

Gracias a mi familia. A mis hermanos, que somos las 3 personas más diferentes del mundo, pero sois parte de la persona en la que me he convertido. A mis abuelos, Cayetano, Angelita, José, Isabel y Luis, que habéis sido la pura definición de querer de forma incondicional, con los ojos cerrados y el corazón bien abierto. A mi tía, a mi segunda madre, que estaría tremendamente orgullosa de verme hoy y poder darme un abrazo de los que te dejan sin aire.

Y, por último, gracias a las dos personas más importantes de mi vida, papá y mamá. Habéis sido toda la vida el significado de esfuerzo, lucha y sacrificio. Sois el mejor ejemplo a seguir, y siempre estaré orgullosa de la vida que me habéis dado y los valores que me habéis transmitido. Gracias por darme las alas para seguir mi camino, siempre apoyándome en todo momento, sin juzgar mis decisiones y queriendo para mí solo lo que me hiciera feliz. Gracias papá, porque eres el hombre de mi vida, con el corazón más bonito y bueno del mundo y una sensibilidad que he tenido la suerte que me regales y me defina. Gracias mamá, porque eres la mujer más importante para mí, no solo por darme la vida, sino por seguir dándomela día a día, por llenar hasta el rincón más insospechado cada vez que te ríes, porque siempre pensaré que tu risa es capaz de volver a unir todas las partes rotas de cualquiera y eso forma parte de mí.



RESUMEN

TÍTULO

INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A TERAPIAS BIOLÓGICAS EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA

INTRODUCCION

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica y heterogénea de las vías respiratorias con una alta incidencia a nivel mundial, que se caracteriza por una obstrucción variable del flujo aéreo, total o parcialmente reversible, e hiperreactividad bronquial, que se traduce en episodios recurrentes de disnea, sibilancias y exacerbaciones. La mayoría de los pacientes con asma pueden controlar sus síntomas con un estándar básico de atención médica y medicación. Sin embargo, el asma grave no controlada (AGNC) ya representa más del 25% de los casos de asma grave. El diagnóstico y tratamiento temprano en el AGNC son fundamentales para evitar un deterioro de las capacidades físicas del paciente, que va ligado a una disminución en la calidad de vida. Las opciones de tratamiento más prometedoras han surgido en las últimas décadas con la introducción de las terapias biológicas (TBs). Omalizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une selectivamente a la IgE y evita que esta se una al receptor FcεRI en basófilos y mastocitos, lo que reduce la cantidad de IgE libre disponible para desencadenar la cascada alérgica. Mepolizumab y benralizumab son anticuerpos monoclonales humanizados, que actúan respectivamente contra la IL-5 y su receptor (IL-5R), inhibiendo selectiva y eficazmente la cascada eosinofílica, y por consiguiente la inflamación. La eficacia y seguridad de estas terapias ha sido ampliamente demostrada en múltiples ensayos clínicos aleatorios (ECA). No obstante, las condiciones de los ECA no reflejan las situaciones que se dan en la práctica clínica habitual y existe una gran variabilidad interindividual entre los individuos candidatos a estas TBs. La búsqueda de biomarcadores de respuesta a las terapias biológicas es uno de los grandes reclamos de la medicina. Estudios previos han revelado la asociación de diferentes variables clínicas (IgE, eosinófilos, corticoides, exacerbaciones, FEV1) como biomarcadores de respuesta. Sin embargo, hasta el momento no se han estudiado marcadores genéticos de respuesta a estas TBs, como pueden ser los genes *IL1RL1*, *IL5*, *GATA2*, *IKZF2*, *RAD50*, *C3*, *FCER1A*, *FCER1B*, *FCGR2A*, *FCGR2B* y *FCGR3A*, fuertemente asociados a la patología asmática e implicados en el mecanismo de acción de estas terapias, de manera que la presencia de polimorfismos en estos genes podría modificar la afinidad y funcionalidad del anticuerpo en el organismo.

HIPÓTESIS

Los marcadores clínicos, sociodemográficos y genéticos podrían actuar como predictores de respuesta al tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab en pacientes diagnosticados de asma grave no controlada.

OBJETIVOS

Evaluar la influencia de los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en los genes *IL1RL1*, *IL5*, *GATA2*, *IKZF2*, *RAD50*, *C3*, *FCER1A*, *FCER1B*, *FCGR2A*, *FCGR2B* y *FCGR3A*, factores clínicos y bioquímicos, como marcadores predictores de la respuesta al tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab tras 12 meses, en pacientes diagnosticados de asma grave no controlada.

Objetivo principal

Objetivos específicos

- Determinar los SNPs **rs1420101** (*IL1RL1*), **rs17026974** (*IL1RL1*), **rs1921622** (*IL1RL1*), **rs4143832** (*IL5*), **rs17690122** (*IL5*), **rs4857855** (*GATA2*), **rs12619285** (*IKZF2*), **rs11739623** (*RAD50*), **rs4705959** (*RAD50*), **rs2251746** (*FCER1A*), **rs2427837** (*FCER1A*), **rs1441586** (*FCER1B*), **rs573790** (*FCER1B*), **rs1054485** (*FCER1B*), **rs2230199** (*C3*), **rs1801274** (*FCGR2A*), **rs3219018** (*FCGR2B*), **rs1050501** (*FCGR2B*), **rs10127939** (*FCGR3A*) y **rs396991** (*FCGR3A*) en pacientes tratados con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.
- Medir la efectividad de omalizumab, mepolizumab y benralizumab según la respuesta satisfactoria a la reducción de glucocorticoides orales (GCO), reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, a 12 meses desde el inicio del tratamiento, en los pacientes con asma grave no controlada.
- Evaluar la influencia de las variables independientes: sexo, edad de diagnóstico de asma, edad de inicio de tratamiento de la terapia biológica, años con asma, duración de la TB, tabaquismo, IMC, enfermedad respiratoria previa, poliposis, alergias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), SAHS (síndrome de apnea-hipopneas del sueño), dosis de glucocorticoides inhalados (GCI), ciclos de GCO durante el año previo a la TB, %FEV1, exacerbaciones durante el año previo, recuento de eosinófilos en sangre, IgE y TB previa; con la efectividad del tratamiento, es decir, respuesta a la reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, tras 12 meses desde el inicio de omalizumab, mepolizumab o benralizumab.

- Evaluar la asociación existente entre los genotipos obtenidos de los SNPs analizados y los parámetros determinantes de la efectividad del tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de cohortes retrospectivo, que incluyó 282 pacientes diagnosticados de asma grave no controlada y en tratamiento con omalizumab, mepolizumab o benralizumab, durante un tiempo de al menos 12 meses, llevado a cabo en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (HUVN).

Las variables clínicas, sociodemográficas y bioquímicas se obtuvieron a partir de la revisión de las historias clínicas de los pacientes y entrevistas personales. Se evaluaron tres tipos de respuesta: menor uso de corticosteroides orales, mejora de la función pulmonar y reducción de las exacerbaciones. Las muestras de ADN se recogieron a través de hisopo bucal y se extrajeron utilizando un kit de extracción de ADN de saliva. Los polimorfismos que se analizaron fueron los siguientes: rs1420101 (*IL1RL1*), rs17026974 (*IL1RL1*), rs1921622 (*IL1RL1*), rs4143832 (*IL5*), rs17690122 (*IL5*), rs4857855 (*GATA2*), rs12619285 (*IKZF2*), rs11739623 (*RAD50*), rs4705959 (*RAD50*), rs2251746 (*FCER1A*), rs2427837 (*FCER1A*), rs1441586 (*FCER1B*), rs573790 (*FCER1B*), rs1054485 (*FCER1B*), rs2230199 (*C3*), rs1801274 (*FCGR2A*), rs3219018 (*FCGR2B*), rs1050501 (*FCGR2B*), rs10127939 (*FCGR3A*) y rs396991 (*FCGR3A*). La técnica utilizada para la determinación de los genotipos fue PCR a tiempo real utilizando sondas TaqMan™.

Se evaluó la mejora clínica en vida real y la asociación de los polimorfismos, las variables clínicas y sociodemográficas con la respuesta a la terapia con omalizumab, mepolizumab y benralizumab, tras 12 meses de tratamiento a través del software *R 4.2.0*. aplicando los métodos estadísticos correspondientes para cada tipo de asociación.

RESULTADOS

Tras 12 meses de tratamiento, se recogieron mejoras significativas de la función pulmonar y el control de asma, y se redujeron los niveles de eosinófilos en sangre para las tres terapias biológicas ($p < 0.05$). Se encontraron reducciones significativas en el número de exacerbaciones y el uso de corticosteroides orales para mepolizumab y benralizumab ($p < 0.001$).

En cuanto a los marcadores clínicos predictores de respuesta, para omalizumab se observó que los parámetros asociados con el efecto ahorrador de glucocorticoides orales fueron las puntuaciones bajas en el Test de Control del Asma ($OR = 0.74$; $IC_{95\%} = 0.53-0.97$; $p = 0.045$); con la mejora de la función pulmonar se relacionaron los niveles previos de FEV1 más bajos y la

ausencia de EPOC (OR=0.93; IC_{95%}=0.90-0.96; p<0.001 y OR=34.26; IC_{95%}=5.20-395.88; p=0.001, respectivamente); y con la reducción de exacerbaciones, los valores previos de FEV1 superiores al 80% y la ausencia de ERGE (OR=3.08; IC_{95%}=1.09-8.77; p=0.033 y OR=3.24; IC_{95%}=1.06-12.23; p=0.054). Para mepolizumab y benralizumab, los marcadores asociados con el efecto ahorrador de corticosteroides fueron las dosis bajas GCI y la ausencia de exacerbaciones en el caso de mepolizumab (OR=0.99; IC_{95%}=0.99-0.99; p=0.037 y OR=0.47; IC_{95%}=0.33-0.7; p<0.001); y la mayor eosinofilia en sangre, el menor número de ciclos de GCO y el sexo femenino en el caso de benralizumab (OR=0.1.01; IC_{95%}=1-1.01; p=0.019, OR=0.74; IC_{95%}=0.52-0.93; p=0.028 y OR=5.20; IC_{95%}=1.34-23.58; p=0.002, respectivamente). La mejora de la función pulmonar en ambas terapias se relacionó con niveles previos más bajos de FEV1 (OR=0.89; IC_{95%}=0.84-0.93; p<0.001; mepolizumab y OR=0.96; IC_{95%}=0.92-0.98; p=0.007; benralizumab) y ausencia de SAHS en mepolizumab (OR=14.44; IC_{95%}=2.05-146.15; p=0.013). Los predictores para la reducción de exacerbaciones fueron el menor número de exacerbación en el año previo para mepolizumab (OR=0.14; IC_{95%}=0.01-0.82; p=0.041) y los nunca fumadores para benralizumab (OR=2.89; IC_{95%}=1.89-4.30; p=0.011).

La realización del análisis multivariante entre las variantes genéticas y las respuestas terapéuticas mostró que en omalizumab la mejora de la función pulmonar se relacionaba con los portadores de los alelos *FCGR2B* rs3219018-C (OR=8.6; CI95%=1.12-117.15; p=0.052), *GATA2* rs4857855-T (OR=15.98; CI95%=1.52-519.57; p=0.052) y *FCGR2A* rs1801274-G (OR=13.75; CI95%=2.14-142.68; p=0.012; AG vs AA y OR=7.46; CI95%=0.94-89.12; p=0.076; GG vs AA) y la reducción de exacerbaciones con los portadores de los genotipos *IL1RL1* rs17026974-AG (OR=19.07; CI95%= 1.27-547; p=0.040) y *IL1RL1* rs17026974-GG (OR=16.76; CI95%= 1.22-438.76; p=0.041). No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre los SNPs y la reducción de GCO para omalizumab. Respecto a mepolizumab y benralizumab, la reducción de GCO se asoció con los genotipos *FCER1B* rs569108-AA (OR=66.26; CI95%=2.05-273.71; p=0.056) y *FCGR2A* rs1801274-GG (OR=187.69; CI95%=6.14-2310.39; p=0.011) en pacientes tratados con benralizumab. La mejora de la función pulmonar mostró asociación con el alelo *FCER1A* rs2427837-A (OR=5.29; CI95%=1.4-23.31; p=0.023) en el tratamiento con mepolizumab; y con el genotipo *IKZF2* rs12619285-AA (OR=9.37; CI95%=1.16-173.06; p=0.065) y el alelo *FCER1B* rs1441586-C (OR=290.21; CI95%=7.13-464.67; p=0.014; CC vs TT y OR=46.08; CI95%=2.88-215.17; p=0.02; CT vs TT) en benralizumab. La reducción de exacerbaciones en mepolizumab mostró asociación con los portadores del alelo *FCER1B* rs1054485-T (OR=5.33; CI95%=1.06-30.02; p=0.042) y en benralizumab no se encontraron asociaciones.

CONCLUSIONES

- I. El tratamiento con omalizumab durante 12 meses derivó en mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y reducción de los niveles de eosinófilos en sangre.
- II. El tratamiento con mepolizumab durante 12 meses logró mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y una reducción de los niveles de eosinófilos en sangre, número de exacerbaciones y uso de GCO.
- III. El tratamiento con benralizumab durante 12 meses logró mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y una reducción de los niveles de eosinófilos en sangre, número de exacerbaciones y uso de GCO.
- IV. Las puntuaciones bajas de ACT fueron el predictor clínico de respuesta satisfactoria a la reducción de GCO con omalizumab.
- V. Los niveles previos más bajos de FEV1 y la ausencia de EPOC resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar con omalizumab.
- VI. Los valores previos de FEV1 > 80% y la ausencia de ERGE actuaron como predictores clínicos de respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones con omalizumab.
- VII. Las dosis bajas de GCI y la ausencia de exacerbaciones resultaron ser predictores clínicos de la respuesta favorable a la reducción de GCO con mepolizumab.
- VIII. Los niveles previos más bajos de FEV1 y la ausencia de SAHS resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar con mepolizumab.
- IX. El menor número de exacerbaciones en el año previo actuó como predictor clínico de respuesta favorable a la reducción de exacerbaciones con mepolizumab.
- X. El sexo femenino, la mayor eosinofilia en sangre y el menor número de los ciclos de GCO previos resultaron ser predictores clínicos de la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO en benralizumab.
- XI. Los niveles previos más bajos de FEV1 resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar en benralizumab.
- XII. La ausencia de hábito tabáquico a lo largo de la vida resultó ser el predictor clínico de la respuesta favorable a la reducción de exacerbaciones con benralizumab.
- XIII. Los alelos *FCGR2B* rs3219018-C, *GATA2* rs4857855-T y el genotipo *FCGR2A* rs1801274-AG se asociaron con la mejora de la función pulmonar en omalizumab.

- XIV. Se observó una tendencia entre el genotipo *FCGR2A* rs1801274-GG y la mejora de la función pulmonar en omalizumab
- XV. Los genotipos *IL1RL1* rs17026974-AG y *IL1RL1* rs17026974-GG mostraron una asociación con la respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones en omalizumab.
- XVI. El alelo *FCER1A* rs2427837-A mostró asociación con la mejora de la función pulmonar en mepolizumab.
- XVII. El alelo *FCER1B* rs1054485-T se mostró como predictor de respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones en mepolizumab.
- XVIII. Los genotipos *FCER1B* rs569108-AA y *FCGR2A* rs1801274-GG se vincularon con la respuesta favorable a la reducción de GCO en benralizumab.
- XIX. El alelo *FCER1B* rs1441586-C mostró una asociación con la mejora de la función pulmonar en benralizumab.
- XX. Se encontró una tendencia entre el genotipo *IKZF2* rs12619285-AA y mejora de la función pulmonar en benralizumab.



ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	38
1.1. Asma: definición	38
1.2. Epidemiología del asma	38
1.2.1. Prevalencia, incidencia y mortalidad del asma	38
1.2.2. Factores de riesgo del asma	39
1.3. Fisiopatología del asma	41
1.3.1. Fenotipos de AGNC	41
1.3.1.1. Asma alérgica T2	42
1.3.1.2. Asma eosinofílica (T2)	44
1.4. Clínica del asma	47
1.5. Diagnóstico del asma	47
1.5.1. Historia clínica examen físico	47
1.5.2. Diagnóstico diferencial	48
1.5.3. Pruebas de función pulmonar	49
1.5.3.1. Espirometría	49
1.5.3.2. Flujo espiratorio máximo	50
1.5.3.3. Provocación bronquial inespecífica	50
1.5.3.4. Fracción de óxido nítrico exhalada (FENO)	51
1.5.4. Pruebas de alergia	51
1.5.5. Clasificación de la gravedad	52
1.5.6. Control y métodos de medición	53
2. TRATAMIENTO DEL ASMA	55
2.1. Medidas generales	55
2.1.1. Educación del asma	55
2.1.2. Tratamiento de las comorbilidades	55
2.2. Tratamiento farmacológico	56
2.2.1. Medicamentos de control o mantenimiento	56
2.2.1.1. Glucocorticoides inhalados o sistémicos	56
2.2.1.2. Antagonistas de leucotrienos (ARLT)	57
2.2.1.3. Beta-agonistas de acción larga (LABA)	57
2.2.1.4. Tiotropio	58
2.2.1.5. Anticuerpos monoclonales	58
2.2.1.5.1. Omalizumab	58

2.2.1.5.2.	Mepolizumab	58
2.2.1.5.3.	Reslizumab	58
2.2.1.5.4.	Benralizumab	59
2.2.1.5.5.	Dupilumab	59
2.2.1.6.	Cromonas y teofilinas	60
2.3.	Medicamentos de alivio o rescate	60
2.3.1.	Beta-agonistas de acción corta (SAMA)	61
2.3.2.	Anticolinérgicos inhalados de acción prolongada (LAMA)	61
2.4.	Macrólidos	62
2.5.	Tratamiento no farmacológico	63
2.5.1.	Termoplastia bronquial	62
2.6.	Otras opciones de tratamiento	62
2.6.1.	Inmunoterapia	62
2.6.2.	Vacunación	63
2.7.	Escalones terapéuticos	63
2.7.1.	Escalón 1	63
2.7.2.	Escalón 2	64
2.7.3.	Escalón 3	65
2.7.4.	Escalón 4	65
2.7.5.	Escalón 5	65
2.7.6.	Escalón 6	66
2.8.	Resultados clínicos de las terapias biológicas en AGNC	66
2.8.1.	Resultados clínicos de omalizumab en AGNC	66
2.8.2.	Resultados clínicos de mepolizumab en AGNC	67
2.8.3.	Resultados clínicos de benralizumab en AGNC	68
2.9.	Factores pronósticos del tratamiento con terapias biológicas en AGNC	69
2.9.1.	Factores pronósticos del tratamiento con omalizumab	69
2.9.2.	Factores pronósticos del tratamiento con mepolizumab	69
2.9.3.	Factores pronósticos del tratamiento con benralizumab	70
2.10.	Farmacogenética de las terapias biológicas	70
2.10.1.	FCER	71
2.10.2.	FCGR	72
2.10.3.	IL1RL1	73
2.10.4.	IL5	74
2.10.5.	RAD50	74

2.10.6. C3	75
2.10.7. GATA2	75
2.10.8. IKZF2	75
3. HIPÓTESIS	79
4. OBJETIVOS	79
4.1. Objetivo principal	79
4.2. Objetivos específicos	79
5. MATERIAL Y MÉTODOS	84
5.1. Diseño del estudio	84
5.2. Declaración ética	84
5.3. Población y ámbito de estudio	84
5.4. Alcance geográfico y temporal	84
5.5. Criterios de inclusión	84
5.6. Criterios de exclusión	85
5.7. Variables	85
5.7.1. Variables dependientes o de respuesta	85
5.7.1.1. Medidas de respuesta	85
5.7.2. Variables independientes	86
5.7.2.1. Variables sociodemográficas	86
5.7.2.2. Medidas bioquímicas y biológicas	86
5.7.2.3. Medidas físicas	86
5.7.2.4. Variables clínicas	87
5.7.2.5. Variables farmacoterapéuticas	87
5.7.2.6. Variables genéticas	88
5.7.2.6.1. Extracción y purificación de ADN	88
5.7.2.6.2. Análisis de polimorfismos genéticos Real Time PCR	88
5.8. Variables de respuesta	90
5.9. Análisis estadístico	90
6. RESULTADOS	95
Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. <i>Pharmaceutics</i> 2023, 15, 523	97

Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 2011	114
Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype. Int. J. Mol. Sci. 2023.	142
Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Morales-García, C; Pérez-Ramírez, C; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype. Pharmaceutics 2023	168
7. CONCLUSIONES	200
8. REFERENCIAS	205
9. ANEXOS	249
9.1. ANEXO 1. Aprobación del Comité de Ética	249
9.2. ANEXO 2. Solicitud de ampliación de protocolo	250
9.3. ANEXO 3. Aprobación de la solicitud de ampliación del protocolo	251
9.4. ANEXO 4. Documento de información al paciente	253
9.5. ANEXO 5. Consentimiento informado	255
10. PUBLICACIONES	259
Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. Pharmaceutics 2023, 15, 523	260
Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 2011	272

Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype. Int. J. Mol. Sci. 2023.	292
Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Morales-García, C; Pérez-Ramírez, C; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype. Pharmaceutics 2023,	309
11. MATERIAL SUPLEMENTARIO	333

ABREVIATURAS

ACT	Asthma control test
ACQ	Cuestionario de control de asma
ADAM	Dominio de la metalopeptidasa
AGNC	Asma Grave no Controlada
ARLT	Antagonistas de los receptores de leucotrienos
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
Cε	Dominio del fragmento constante de la inmunoglobulina E
CPAP	Presión positiva continua en la vía aérea
CV	Calidad de vida
CVRS	Calidad de vida relacionada con la salud
CYFIP2	Proteína citoplasmática de interacción FMR1 2
D'	D-primo de Lewontin
DC	Célula dendrítica
DPP	Dipeptidil peptidasa
ECA	Ensayos clínicos aleatorizados
EDA	Endoscopia digestiva alta
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ERGE	Enfermedad por reflujo gastroesofágico
ERK	Quinasa reguladora de la señal extracelular
Fab	Fragmento de unión a antígenos de un anticuerpo
Fc	Fracción cristalizable constante
FcεRI	Receptor de alta afinidad
FcεRII	Receptor de baja afinidad
FcγR	Receptores gamma
FENO	Fracción exhalada de óxido nítrico
FEV1	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo de la espirometría
FVC	Capacidad vital forzada
GC	Glucocorticoides
GCS	Glucocorticoides sistémicos
GCI	Glucocorticoides inhalados
GCO	Glucocorticoides orales
GEMA	Guía Española para el Manejo del Asma

GINA	Global Initiative for Asthma
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
GWAS	Estudios de análisis del genoma completo
HLA	Antígeno leucocitario humano
IBP	Inhibidores de la bomba de protones
ICAM	Molécula de adhesión intercelular
IECA	Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
IFN-γ	Interferón gamma
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleucina
ILC2	Células linfoides innatas de tipo 2
IMC	Índice de masa corporal
IRAK3	Quinasa 3 asociada al receptor de interleucina-1
ITAM	Inunorreceptor activador de la tirosina)
JAK	Janus quinasa
NF-κB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B a
NK	Natural Killer
LABA	Agonistas b2 adrenérgicos de acción larga
LAMA	Anticolinérgicos de acción prolongada
LD	Desequilibrio de ligamiento
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
NPSR1	Receptor del neuropéptido S
OLI	Obstrucción laríngea inducible
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPN3	Opsina 3
PEF	Flujo espiratorio máximo
PHF11	Gen codifica una proteína que contiene un dedo de zinc de tipo PHD
PIK	Fosfatidilinositol-3 quinasa
PKC	Proteína quinasa C
ppb	Partes por billón
r2	Coeficiente de desequilibrio de ligamiento
RM	Resonancia magnética
SABA	Agonistas b2 adrenérgicos de acción corta

SAHS	Síndrome de apnea-hipopneas del sueño
SC	Subcutáneo
SEPAR	Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
STAT	Transductores de señal y activadores de la transcripción
TB	Terapia biológica
TC	tomografía computarizada
TGF	Factor de crecimiento transformante
Th	Linfocitos T helper



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Asma: definición

La Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA) define el asma como una patología que incluye diversos fenotipos clínicos con manifestaciones clínicas similares, pero de etiologías probablemente diferentes. El asma es una enfermedad inflamatoria crónica y heterogénea de las vías respiratorias, en la que participan diferentes células y mediadores de la inflamación, condicionada en parte por factores genéticos. Se caracteriza por una obstrucción variable del flujo aéreo, total o parcialmente reversible, mediante medicación o de forma espontánea, e hiperreactividad bronquial, que se traduce en episodios recurrentes de disnea, sibilancias y exacerbaciones; variando su gravedad en función del paciente [1].

El asma grave incluye tanto a pacientes controlados como no controlados y se caracteriza por requerimientos de múltiples fármacos y a elevadas dosis para su tratamiento y control (escalón 5-6 GEMA y 5 de la Global Initiative for Asthma -GINA) [2,3].

El asma grave no controlada (AGNC) hace referencia a la enfermedad asmática, que a pesar de tratarse con combinaciones de glucocorticoides inhalados y agonista b2 adrenérgicos de acción larga (GCI/LABA), a dosis elevadas en el último año, o corticoides orales durante seis meses del mismo periodo, permanece mal controlada [4].

1.2. Epidemiología del asma

1.2.1 Prevalencia, incidencia y mortalidad del asma

El asma constituye un problema de trascendencia global, siendo una de las afecciones médicas más graves que afecta a todos los grupos de edad. El Global Burden of Disease 2015, presentaba estimaciones sobre el aumento de la prevalencia en todo el mundo, desde 1990 a 2015, en un 12.6% y una disminución del 59% de la mortalidad en ese mismo periodo [5]. El aumento de la prevalencia se asocia primordialmente a mujeres y personas de mediana edad y se atribuye a un incremento del asma alérgica [6].

Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2019 revelan que 235 millones de personas se encuentran afectadas por esta enfermedad. Se trata de una de las principales enfermedades no transmisibles, cuyo diagnóstico y tratamiento es insuficiente, convirtiéndose así en un problema de salud pública independiente del nivel de desarrollo económico y estructural del país [7]. Entre los problemas respiratorios es uno de los trastornos de crecimiento

que más rápido ha victimizado a un tercio de la población mundial, y cerca de 2.5 millones de pacientes mueren cada año resultado de exacerbaciones descontroladas [8,9].

La mayoría de las personas afectadas por asma pueden controlar sus síntomas mediante un estándar básico de atención y medicamentos llevando una buena calidad de vida (CV), pero a pesar de la existencia de fármacos disponibles y efectivos, así como de directrices uniformes para su control, entre el 5% y el 10% de los pacientes sufren asma grave, lo que hace que mantener este control sea un desafío permanente [4]. Estos datos junto con estudios europeos de los últimos años muestran que más de un 50% de los pacientes con asma no están controlados [10]. Los pacientes con asma grave requieren generalmente de tratamientos regulares con corticoesteroides inhalados en altas dosis, además de un segundo regulador y/o corticoesteroides orales durante el 50% del año para controlar su afección [4]. Sin embargo, existe un subconjunto de pacientes con una enfermedad no controlada caracterizada por exacerbaciones frecuentes, disminución de la función pulmonar y una reducción de la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) [11].

1.2.2 Factores de riesgo del asma

El asma es una enfermedad compleja en la que intervienen factores inmunitarios, infecciosos, endocrinos, ambientales, genéticos y psicológicos, cuya intensidad puede variar en cada individuo. La identificación de los factores de riesgo que afectan a esta patología puede proteger o facilitar el control del asma.

- *Factores de riesgo genéticos.* Existe evidencia suficiente para afirmar que el asma presenta determinantes genéticos. En la herencia genética se postula que pueden intervenir diferentes genes, que determinarán la herencia, forma de presentación del asma y severidad. Se postula que entre el 35% y el 95% de la variabilidad del fenotipo es debido a la heredabilidad genética [12]. Entre los genes relacionados con el asma que se han clonado posicionalmente repetidas veces se encuentran: *ADAM33*, *DPP10*, *PHF11*, *NPSR1*, *HLA-G*, *CYFIP2*, *IRAK3* y *OPN3* [12]. Además, estudios de análisis del genoma completo (GWAS - Genome Wide Association Approaches), han encontrado más de 100 genes candidatos asociados con el asma y sus fenotipos. Estos genes y loci están catalogados en una base de datos pública de resultados de GWAS [13,14]. También se ha contrastado, la influencia genética en factores relacionados con el asma como son la atopia, hiperreactividad bronquial y remodelación de la vía aérea.
- *Factores de riesgo ambientales.* La urbanización y la contaminación del aire, cargado de ozono, dióxido de azufre, óxido de nitrógeno y partículas, se han relacionado con el

desarrollo de asma y presencia de exacerbaciones. Estos contaminantes podrían producir daño oxidativo que estimula la remodelación de las vías respiratorias y aumento de la inflamación y sensibilización a alérgenos [15,16]. Hay estudios que demuestran que los pacientes asmáticos expuestos a contaminación de aire tiene una función pulmonar más baja, mayor necesidad de medicación de rescate y una mayor tasa de visitas a urgencias y hospitalización [17,18]. Otros factores de riesgo analizados, como aquellos relacionados con la alimentación, el sistema endocrino o el microbioma gastrointestinal y respiratorio han mostrado asociaciones claras con el desarrollo de asma. La lactancia materna y niveles elevados de vitamina D podrían tener un efecto protector frente al desarrollo de la enfermedad [19].

- *Factores sociodemográficos.* La prevalencia del asma varía en función del sexo a lo largo del tiempo. La prevalencia de asma en niños varones menores de 13 años es del 65%, sin embargo, en mujeres adultas, es de un 65% en comparación con los hombres. Este cambio en la prevalencia del asma en hombres y en mujeres, sugiere que el factor hormonal juega un papel importante. Otros factores de riesgo asociados con una mayor prevalencia de asma son el trastorno por déficit de atención/hiperactividad, la ubicación geográfica, el nivel socioeconómico, las exposiciones ocupacionales, la raza y el origen étnico, entre muchos otros [20].

Hay que diferenciar entre factores causantes de su desarrollo, mayoritariamente intrínsecos, y los desencadenantes de los síntomas, mayoritariamente extrínsecos.

- Factores predisponentes. La exposición a alérgenos (polen, ácaros, epitelio animal, hongos) originan sensibilizaciones concretas que predisponen al desarrollo de asma.
- Factores contribuyentes. Favorecen el desarrollo de la enfermedad, aunque no son necesarios para ello.
 - Exposición al humo del tabaco.
 - Infecciones respiratorias de repetición.
 - Contaminación elevada.
 - Bajo peso al nacer.
- Factores desencadenantes. Se trata de agentes o circunstancias que favorecen la aparición de los síntomas.
 - Alérgenos: ambientales, inhalados, alimentos o medicamentos.
 - Infecciones respiratorias virales.
 - Comorbilidades: rinitis, sinusitis, reflujo gastroesofágico (ERGE), obesidad, etc.

1.3. Fisiopatología del asma

La fisiopatología del asma es muy compleja, ya que en ella participan una gran cantidad de mediadores que regulan el proceso inflamatorio (eosinófilos, macrófagos y linfocitos T). Además, varía en función de las características que presenta el paciente y puede derivar en diferentes mecanismos de acción en función del fenotipo. Se han identificado dos patrones inflamatorios T2 (asma alérgica y eosinofílica) y no T2 [3].

- *Linfocitos T*. Actúan como mediadores del proceso inflamatorio y son activados tras una exposición a un antígeno o por infección respiratoria. Los linfocitos pueden dividirse en dos grupos según los marcadores de superficie: 1) CD4+ o linfocitos T helper (Th) y 2) CD8+ o linfocitos T citotóxicos. Los CD4, se subdividen en función de las citocinas que producen:

- Linfocitos Th1. Producen principalmente interferón gamma (IFN- γ) e interleucina (IL)-2, que inhiben la activación de linfocitos B y la síntesis de inmunoglobulina E (IgE).
- Linfocitos Th2. Estimulan la producción de citocinas importantes en respuesta alérgica como IL-4 e IL-5.

- *Macrófagos*. Células presentadoras de antígeno y producción de IL-1, necesaria en la diferenciación y proliferación de linfocitos T. Se relacionan con la remodelación bronquial.

- *Mastocitos*. Tipo de glóbulo blanco que se encuentra en los tejidos conjuntivos de todo el cuerpo. Aparece en concentraciones elevadas en la vía aérea de pacientes asmáticos. Presentan receptores para IgE en su membrana, que al unirse activan el mastocito, y liberan mediadores inflamatorios. También participan en la inflamación mediante la síntesis de mediadores inflamatorios a partir del metabolismo del ácido araquidónico. En este caso la desgranulación de los mastocitos, no solo se produce por alérgenos, sino que se puede activar con el ejercicio frío, aspirina, etc.

- *Eosinófilos*. Leucocito de tipo granulocito derivado de la médula ósea, que se libera en el proceso inflamatorio y puede migrar a los tejidos, como la mucosa bronquial, donde libera mediadores citotóxicos que pueden dañar la mucosa.

1.3.1 Fenotipos de AGNC

El asma grave es una enfermedad compleja y heterogénea en la que influyen magnitud de variantes clínicas. En los últimos años se han descubierto, estudiado y definido diferentes fenotipos de AGNC, con el fin de llevar a cabo un diagnóstico más preciso, que puede tener relación pronóstica o traducirse en diferencias de tratamiento (6, 34-45). El fenotipo se define

como una característica observable que puede tener relación directa con el endotipo, que hace referencia al conjunto de individuos que poseen una característica concreta de la enfermedad que explica la característica observable [21].

Se han realizado diferentes estudios que agrupaban los casos en función de la patología asmática, características clínicas de la enfermedad y respuesta terapéutica, identificando diferentes fenotipos [21,22,31,23–30]. Finalmente se definieron tres fenotipos, dos definidos por patrones inflamatorios tipo 2 (T2) y uno no T2. En la práctica clínica destacan 3 fenotipos:

- Fenotipo alérgico T2
- Fenotipo eosinofílico T2
- Fenotipo no T2

Los dos fenotipos T2, en algunos casos presentan cierto grado de superposición.

La clasificación en fenotipos tiene como finalidad identificar al candidato específico a recibir un tratamiento concreto [32,33].

1.3.1.1 Asma alérgica (T2)

Entre el 40-50% de los pacientes con asma grave sufren asma alérgica. Se caracteriza por una base atópica que, mediante la exposición a un antígeno inhalado, produce la activación de linfocitos Th2, lo que conlleva producción de IL-4, IL-5 e IL-13 y el cambio de isotipo en los linfocitos B hacia la producción de IgE [3].

La producción de IgE tiene lugar en los ganglios linfáticos y la mucosa de las vías respiratorias debido un cambio de clase de inmunoglobulina dependiente de la IL-4, que estimula las células B para sintetizar este anticuerpo específico. La IL-4 desencadena la maduración de los linfocitos B vírgenes en células plasmáticas secretoras de IgE y el desarrollo de las células B de memoria que producen IgE específica del alérgeno en cantidades elevadas. La estructura molecular de la IgE incluye dos fragmentos variables (Fab) que interactúan con antígenos específicos y una región constante (Fc) que se une a los receptores de IgE [34]. La molécula de IgE está formada por dos cadenas ligeras idénticas que poseen una parte variable y una parte constante, emparejadas con dos cadenas pesadas idénticas con una porción variable de dominio único y por un fragmento constante que incluye cuatro dominios (Cε1, Cε2, Cε3, Cε4). En el asma alérgico, el papel patogénico de la IgE va ligado a su unión, a través de los dominios Cε3, a receptores de alta (FcεRI) y baja (FcεRII/CD23) afinidad que se expresan en multitud de células [35,36].

Los FcεRI expresados en mastocitos y basófilos tienen una estructura tetramérica, con una subunidad alfa (α), una subunidad beta (β) y dos gammas (γ), mientras que los FcεRI localizados en eosinófilos, monocitos/macrófagos, células dendríticas y células estructurales (músculo liso de la vía respiratoria y bronquiolos) son trímeros (αγ₂) que carecen de subunidad β [37–40]. Los FcεRI se unen a la IgE a través de los dos dominios extracelulares de la cadena α, que interactúan con los dos dominios Cε3 de la IgE, mientras que las subunidades β y γ intracelulares participan en funciones de señalización. En la superficie de mastocitos y basófilos los determinantes antigénicos, promueven el entrecruzamiento entre dos moléculas de IgE que se encuentran contiguas y ya unidas a sus receptores FcεRI. Esta dimerización conduce a la activación de una compleja red de señalización que deriva en la liberación de mediadores (histamina, heparina, triptasa y quimasa), secreción de mediadores (cisteinil leucotrienos C₄ - D₄ y prostaglandina) y a la síntesis de citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento, como IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM- LCR) [41]. Este proceso desencadena las reacciones asmáticas de fase temprana y tardías en pacientes expuestos a antígenos inhalados [42]. Transcurridos unos minutos de la conformación de los complejos antígeno/IgE/ FcεRI se produce la reacción de fase temprana, que está mediada por la respuesta contráctil de las células del músculo liso de las vías respiratorias, provocada por los agentes broncoconstrictores liberados tras la desgranulación de los mastocitos. Tras unas horas de la exposición a los antígenos inhalados, se produce la reacción de fase tardía y da lugar a una contracción del músculo liso de las vías respiratorias y cambios en la inflamación bronquial, mediados por las citocinas y quimiocinas responsables de la activación y liberación de eosinófilos. No obstante, la IgE monomérica, puede desencadenar la liberación de histamina y leucotrienos de los mastocitos y prolongar la supervivencia de mastocitos productores de IL-6 [43,44].

Los receptores FcεRII/CD23 poseen un dominio globular de unión a la IgE. Los receptores FcεRII poseen dos formas, CD23a que está presente en las células B, y CD23b, cuya expresión es inducida por IL-4, se localiza en eosinófilos, células presentadoras de antígenos y células del epitelio bronquial [45,46].

Se ha descrito que la IgE dispone de un papel clave en la regulación de la expresión de FcεRI/FcεRII. Los receptores al unirse a sus ligandos se mantienen en la superficie celular, mientras que cuando se encuentran libres se internaliza; esto responde al efecto protector que ejerce la IgE sobre la degradación proteolítica de los receptores [47,48]. A su vez, la IgE puede estimular la expresión de FcεRI en mastocitos haciendo que presenten una mejor respuesta a antígenos y, por tanto, secreten de forma eficaz mediadores inflamatorios [49]. En

consecuencia, la regulación de FcεRI al alza, dependiente de IgE, es responsable de una marcada amplificación de la cascada alérgica.

La interacción de la IgE con sus receptores no solo se desencadenan la respuesta asmática temprana y tardía por la desgranulación de mastocitos, sino que también es responsable de otros procesos patogénicos. La unión de IgE a los receptores FcεRI expresados por células dendríticas facilita la captura, elaboración y presentación de antígenos a los linfocitos T, aumenta la producción de quimiocina que aumenta la expresión de linfocitos Th2 en las vías respiratorias y suprime la producción de proteínas antivirales como los interferones [50]. La estimulación que produce la IgE en los receptores FcεRI y FcεRII expresados en eosinófilos, se correlaciona con infiltración eosinofílica en las vías respiratorias y una mayor supervivencia eosinofílica, ya que impide su apoptosis [51–54].

En el bronquio los receptores FcεRI y FcεRII se expresan en las células epiteliales bronquiales, pudiendo liberar factores de crecimiento implicados en la remodelación de la vía aérea como el factor de crecimiento transformante (TGF) – β [38,46,55]. FcεRI también se expresa en las células del músculo liso bronquial, la unión de IgE a los receptores estimula la proliferación celular, producción de agentes proinflamatorios y proteínas como el colágeno, por tanto, también posee un efecto en la remodelación de las vías respiratorias [56,57].

1.3.1.2 Asma eosinofílica (T2)

El asma eosinofílica T2 se presenta en algo más del 25% de los pacientes con AGNC y se caracteriza por una acumulación de eosinófilos en las vías respiratorias, que producen y liberan citocinas y quimiocinas proinflamatorias, factores de crecimiento, proteínas citotóxicas y mediadores lipídicos, cuyo conjunto juega un papel importante en la remodelación bronquial [3,58]. Los elevados recuentos de eosinófilos en sangre y en esputo se asocian con exacerbaciones asmáticas recurrentes y obstrucción bronquial grave [59].

El factor biológico más importante responsable de la diferenciación, el crecimiento, la activación, la supervivencia y el reclutamiento de eosinófilos en las vías respiratorias es la IL-5 [60–62]. Esta citocina ejerce funciones clave en la patogénesis del asma eosinofílica, que en algunos casos no responde al tratamiento con corticoides, derivando en una falta de control de los síntomas respiratorios, exacerbaciones frecuentes y desarrollo de comorbilidades como poliposis nasal asociada a rinosinusitis crónica [63,64].

Los principales implicados en la producción de IL-5 son los linfocitos Th2 y las células linfoides innatas (ILC2). La exposición a alérgenos y la estimulación de células dendríticas desemboca en

la activación de las células Th2 que producen y secretan IL-5 [65–70]. La presencia de IL-4 es esencial debido a su requerimiento para activar las células Th2 a través de la estimulación de factores de transcripción clave como STAT6 y GATA3 [71]. La liberación de IL-5 por ILC2 depende de la activación de GATA3 inducida por las citocinas innatas epiteliales, entre las que se encuentran IL-25, IL-33 y esencialmente la linfopoyetina del estroma tímico (TSLP) [71]. Existen otras fuentes celulares de IL-5, además de ILC2 y Th2, como las células T natural killer (NK), los mastocitos y los eosinófilos [72–74]. Los mastocitos liberados por la activación de IL-5 desembocan en una interacción con eosinófilos, albergando la llamada “unidad efectora alérgica” [75,76].

Los efectos biológicos de la IL-5 están mediados por su interacción selectiva con el receptor de la IL-5 (IL-5R), que se compone de una subunidad específica α (IL-5R α) y un heterodímero $\beta\gamma$ no específico, que también puede ser reconocido por la IL-3 y GM-CSF [77,78] (Figura 1). La IL-5 se une como una proteína homodimérica a IL-5R α , expresado mayoritariamente en la superficie de eosinófilos, reclutando el dímero $\beta\gamma$ y conformando el complejo IL-5/ IL-5R α / $\beta\gamma$ [79,80]. Al no haber IL-5 en el medio, el IL-5R α forma un complejo con la tirosina quinasa intracelular Janus quinasa (JAK) 2 y la subunidad $\beta\gamma$ se une a JAK1 [81]. Cuando hay presencia de IL-5, se une a IL-5R α , formando un complejo funcional de IL-5R α / $\beta\gamma$, responsable de la activación de una compleja red de señalización intracelular. En concreto activa secuencialmente JAK2 y los transductores de señales y activadores de la transcripción (STAT) 1, 3 y 5, que promueven la actividad transcripcional de muchos genes diana específicos que conduce a la maduración, supervivencia y activación de los eosinófilos [82–84]. A su vez, JAK2 inhibe la apoptosis de eosinófilos por su cooperación con las quinasas Lyn y Raf-1. El efecto inhibitorio de la apoptosis también está mediado por el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B) de la proteína antiapoptótica Bcl-xL. Raf-1 también participa en la desgranulación de eosinófilos [49,65,85].

IL-5 activa otros módulos de transducción de señales, incluyendo otras quinasas intracelulares como la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) y las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK). Mediante la activación de las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) 1/2 y la proteína quinasa C (PKC), PI3K regula la interacción de los eosinófilos con la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) [86]. La activación mediada por Ras-Raf-1 de la subfamilia ERK de MAPK impulsa la transcripción del gen c-fos, que está involucrado en varias funciones de los eosinófilos, incluida la maduración celular, la supervivencia y la proliferación [87–91]. Además, MAPK mediante un mecanismo independiente de NF- κ B, aumenta la biosíntesis de eosinófilos

de citocinas proinflamatorias y estimula el reclutamiento de eosinófilos en la respuesta inflamatoria alérgica [87,92].

Estudios realizados en sujetos asmáticos han demostrado que la acción de la IL-5 tiene lugar tanto en la médula ósea como en la mucosa bronquial, ya que esta citocina estimula la diferenciación y maduración eosinofílica mediante células progenitoras hematopoyéticas CD34+ [93–95]. También se han reportado mayores niveles séricos de IL-5 en pacientes con una mayor gravedad de la enfermedad [96]. Además, se describe de una actividad sinérgica de la IL-5 con eotaxinas, contribuyendo a mayor reclutamiento de eosinófilos en las vías respiratorias, y con la IL-18, que estimula el desarrollo y la activación funcional de los eosinófilos [60,97,98]. Como se ha descrito anteriormente, la IL-5 inhibe la apoptosis eosinofílica, y se han correlacionado negativamente sus niveles con los eosinófilos apoptóticos [99,100]. En el asma T2, la IL-5 favorece la adhesión y migración extracelular de los eosinófilos, gracias a que permite la interacción de eosinófilos con la periostina, proteína de la matriz celular asociada con el tránsito de eosinófilos a los bronquios [101]. La IL-5 también se asocia el asma no alérgica de inicio tardío, siendo las ILC2 las principales productoras de IL-5 [69,70].

La patología de la IL-5, no solo se asocia a la inflamación eosinofílica, sino que también se ha implicado en la inducción de la remodelación de las vías respiratorias. Estudios realizados en animales demostraron que la eliminación del gen de la IL-5, conllevaba una supresión de la eosinofilia pulmonar y la remodelación bronquial [102,103].

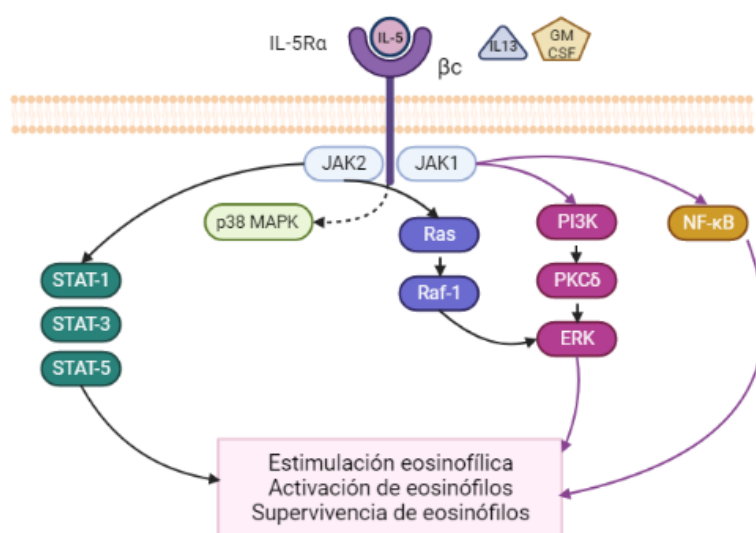


Figura 1. Mecanismos moleculares de acción implícitos a los efectos de la IL-5 sobre los eosinófilos.

La IL-5 se une a la subunidad α del receptor de IL-5 (IL-5 α), induciendo su interacción con las subunidades β c y la consiguiente activación de una compleja red de señalización intracelular, formada por los módulos JAK1/2-STAT1/3/5, las MAP quinasas p38 y ERK, y el factor de transcripción NF- κ B. Esto deriva en la estimulación de genes diana específicos que conducen a la maduración, supervivencia y activación de los eosinófilos.

1.4. Clínica del asma

Las características clínicas del asma incluyen tos, disnea, sibilancias y opresión torácica. Estos síntomas se definen como “síntomas guía” y pueden variar su intensidad y en el tiempo, con un mayor predominio nocturno. Los desencadenantes son múltiples, incluyendo exposición a alérgenos, infecciones víricas, ejercicio, exposición al humo del tabaco, emociones, etc. [2,104]. También es importante comprobar si se producen variaciones estacionales y los antecedentes familiares [2,105,106]. Estos síntomas no son ninguno específico del asma y suelen darse de forma conjunta, de ahí la importancia de incorporar pruebas diagnósticas que confirmen las sospechas [107]. Si aparecen de forma aislada no suelen relacionarse con asma [2,104–106,108,109].

1.5. Diagnóstico del asma

Los procedimientos básicos de diagnóstico de asma incluyen: historia clínica, examen físico, pruebas de función pulmonar, pruebas de alergia y confirmación del diagnóstico diferencial. Todas ellas se explican a continuación.

1.5.1 Historia clínica y examen físico

La evaluación comienza con una adecuada anamnesis haciendo especial hincapié en los síntomas de asma del paciente y es importante que recoja con detalle la siguiente información [106]:

- Historial familiar de asma.
- Naturaleza, duración, frecuencia y desencadenantes de la sintomatología.
- Edad y circunstancias de inicio de la sintomatología
- Estacionalidad y variación nocturna
- Tabaquismo
- Alergias y comorbilidades
- Exacerbaciones
- Contacto con animales
- Estrés
- Gravedad
- Presencia de rinosinusitis, poliposis, rinitis y/o dermatitis

A continuación, se procede con la exploración física, que siempre incluye auscultación para comprobar la presencia de sibilancias. En algunas ocasiones se realiza rinoscopia para ver la

obstrucción nasal y comprobación de dermatitis o eczemas. Únicamente con la exploración física y anamnesis no se puede confirmar ni descartar el diagnóstico de asma [3].

1.5.2 Diagnóstico diferencial

La determinación correcta de asma en el paciente es un aspecto primordial antes del comienzo del tratamiento, puesto que se diagnostican erróneamente entre 12-30% de enfermedades no asmáticas como asma no controlada. Una de las principales causas es que los síntomas guía no son específicos únicamente del asma. Esto respalda la importancia de realizar un diagnóstico diferencial con otras enfermedades [3], como muestra la *Tabla 1*.

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) según la GEMA 5.2.

	Asma	EPOC
Edad de inicio	Cualquiera	>40 años
Tabaquismo	Indiferente	En la mayoría de los casos
Atopía	Frecuente	Infrecuente
Antecedentes familiares	Frecuente	No aplica
Reversibilidad de la obstrucción bronquial	Significativa	No
Variabilidad de sintomatología	Si	No
Respuesta a glucocorticoides	Muy buena	Variable o indeterminada
	Otras patologías	Síntomas característicos
Entre 15 y 40 años	<ul style="list-style-type: none"> - Disfunción de cuerdas vocales - Hiperventilación - Cuerpo extraño inhalado - Fibrosis quística - Bronquiectasias - Enfermedad cardiaca congénita - Tromboembolismo pulmonar 	<ul style="list-style-type: none"> - Disnea, estridor inspiratorio - Desvanecimiento, parestesias - Síntomas de aparición brusca - Tos y moco excesivos - Infecciones recurrentes - Soplos cardiacos - Disnea de instauración brusca, dolor torácico
> 40 años	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad del parénquima pulmonar - Insuficiencia cardiaca 	<ul style="list-style-type: none"> - Infecciones recurrentes - Disnea de esfuerzo, tos no productiva - Disnea de esfuerzo, síntomas nocturnos

1.5.3 Pruebas de función pulmonar

La presencia de sintomatología clínica no es suficiente para confirmar el diagnóstico de asma, es necesario la realización de una prueba de función pulmonar que confirme la alteración funcional compatible con la enfermedad. Las principales alteraciones son la obstrucción del flujo aéreo, la reversibilidad, la variabilidad y la hiperreactividad bronquial [3].

- *Obstrucción del flujo aéreo o limitación al flujo aéreo.* Reducción del flujo aéreo máximo desproporcionada con respecto al volumen de aire que el paciente puede desplazar desde los pulmones.
- *Reversibilidad de obstrucción bronquial.* Capacidad bronquial de revertir la obstrucción después del uso de un broncodilatador, es decir, es el cambio existente entre la prueba pre broncodilatadora y post broncodilatadora.
- *Variabilidad.* Es la diferencia existente en la prueba de función pulmonar al realizarla con diferente horario (mañana o noche).
- *Hiperreactividad bronquial.* Estrechamiento excesivo de la luz bronquial ante estímulos externos (físicos o químicos) que provocan una reducción del calibre de la vía respiratoria.

1.5.3.1 Espirometría

El asma se caracteriza por una limitación variable del flujo de aire espiratorio. La espirometría es un estudio no invasivo del volumen y ritmo del flujo de aire dentro de los pulmones. Es la principal prueba diagnóstica realizada en pacientes asmáticos. Los principales parámetros que se deben considerar y determinar son el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1) y la capacidad vital forzada (FVC). Estos valores toman como referencia las características de un paciente sin asma con su misma edad y etnia. Estas medidas reflejan de forma reproducible la función pulmonar del paciente [3].

La obstrucción es definida como el cociente de FEV1/FVC por debajo de 0.7, que es el límite inferior estipulado de referencia [110]. Valores reducidos de FEV1 indican un mayor riesgo de exacerbaciones y ayuda a establecer la gravedad [111].

La **prueba de broncodilatación (PBD)** es una herramienta esencial en el estudio de la función pulmonar. Consiste en realizar una espirometría basal y repetirla un tiempo después de administrar una medicación broncodilatadora. Para esta prueba se recomienda administrar 4 inhalaciones sucesivas de 100 µg de salbutamol o su equivalente y repetir la espirometría transcurridos 15 minutos de la inhalación. Se considera como respuesta positiva un aumento del

FEV1 \geq 12 % y \geq 200 ml respecto al valor basal [1]. La reversibilidad también se puede identificar con una mejora del FEV1 tras 2 semanas de tratamiento con glucocorticoides orales (GCO) en dosis de 40 mg/día de prednisona o su equivalente o de 2 a 8 semanas de tratamiento con GCI en dosis de 1500-2000 μ g/día de propionato de fluticasona o su equivalente [112]. La reversibilidad de la obstrucción bronquial es una característica de la exacerbación asmática, sin embargo, no se expresa en todos los pacientes.

1.5.3.2 Flujo espiratorio máximo

El flujo espiratorio máximo (PEF), es el mayor flujo que se alcanza durante una maniobra de espiración forzada. Una característica del asma es la variabilidad clínica de sus valores a lo largo del día, registrándose los valores más bajos durante las primeras horas del día y los más altos por la tarde. Para determinar la variabilidad se puede usar la prueba del PEF durante dos semanas, de forma previa al tratamiento, y si se obtienen una variabilidad PEF \geq 20% puede resultar diagnóstica de asma [113].

Esta prueba se puede utilizar como prueba de broncodilatación alternativa, considerándose una respuesta positiva un aumento del PEF $>$ 20% [114]. Esta prueba también permite comprobar la reversibilidad mediante una mejora del PEF tras 2 semanas de tratamiento con GCO en dosis de 40 mg/día de prednisona o su equivalente o de 2 a 8 semanas de tratamiento con GCI en dosis de 1500-2000 μ g/día de propionato de fluticasona o su equivalente [112].

1.5.3.3 Provocación bronquial inespecífica

La prueba de provocación bronquial inespecífica se emplea para identificar la hiperreactividad bronquial y es útil en aquellos pacientes con sospecha clínica de asma, pero con una función pulmonar normal.

La prueba consiste en la administración inhalada de un control negativo y diferentes concentraciones de un agente que producirá un estrechamiento de la vía aérea. Se emplean tantos agentes directos (metacolina, histamina) como agentes indirectos (adenosina monofosfato, manitol, solución salina hipertónica) [115]. El análisis de hiperreactividad bronquial determina la dosis o concentración que produce una reducción del 20% de FEV1 con respecto al valor basal obtenido con el control negativo [116,117]. En a prueba de metacolina el resultado se considera positivo para dosis de metacolina que reducen el FEV1 en un 20%, respecto al valor basa [118]. Esta prueba tiene una elevada sensibilidad, pero baja especificidad, por lo que es más útil para rechazar que para confirmar el diagnóstico [3].

La prueba del manitol se considera positiva para las dosis de manitol que marcan una caída del 15% en el FEV1 respecto al valor basal. En este caso la sensibilidad es del 60%, pero su especificidad es superior al 95%, por lo que se considera más útil para confirmar el diagnóstico de asma [3,117].

1.5.3.4 Fracción de óxido nítrico exhalada (FE_{NO})

La fracción exhalada de óxido nítrico (FE_{NO}) es una medida no invasiva de inflamación de las vías respiratorias del fenotipo T2. Tanto el óxido nítrico como los eosinófilos son resultado de la cascada inflamatoria T2, sin embargo, están regulados por diferentes vías inflamatorias. Esta prueba se considera positiva con concentraciones > 40 ppb en adultos que no precisen de glucocorticoides [109,119]. Posee una elevada sensibilidad para el diagnóstico de asma en paciente no fumadores, que no precisan de GCI y con niveles bajos de FEV1 [120].

Cabe destacar que en esta prueba un valor normal de FE_{NO} no excluye el diagnóstico de asma, principalmente en fenotipos T2 eosinofílicos, ya que es más sensible en pacientes con fenotipo alérgico T2 [121]. Además, existen factores externos que pueden provocar variaciones en el FE_{NO} como pueden ser las infecciones respiratorias virales [2].

1.5.4 Pruebas de alergia

La presencia de atopia incrementa la probabilidad de que un paciente con síntomas respiratorios tenga asma alérgica, pero no es específica del asma ni está presente en todos los fenotipos de asma. En la anamnesis, se valora de forma previa los antecedentes familiares y personales de atopia y la relación con los síntomas del asma, pero para confirmar el diagnóstico de asma alérgica, se pueden hacer pruebas de sensibilización. La atopía se puede identificar mediante pruebas cutáneas o midiendo el nivel de IgE específica en suero [2,3].

La **prueba de punción intradérmica o *prick*** con alérgenos ambientales comunes es simple y rápida de realizar y, cuando la realiza un probador experimentado con extractos estandarizados, es económica y tiene una alta sensibilidad. Para una correcta interpretación de los resultados es necesario tener en cuenta las variables que pueden ser influyentes y los falsos positivos por reacciones cruzadas[122,123].

La determinación de **IgE específica frente a aeroalérgenos completos** posee una menor sensibilidad que las pruebas cutáneas y es más costosa, pero puede ser preferible para pacientes que no cooperan, aquellos con enfermedad cutánea generalizada o si la historia sugiere un riesgo de anafilaxia. Además, permite distinguir entre sensibilización primaria y reacciones

cruzadas, en pacientes con múltiples sensibilizaciones, de forma que se puede seleccionar una inmunoterapia específica frente a alérgenos [124–126].

La **prueba de provocación bronquial específica** no es recomendable en la práctica clínica rutinaria, pero puede ser de utilidad para confirmar diagnósticos cuando hay discrepancias entre la historia clínica del paciente y los resultados de sensibilización reportados [3].

1.5.5. Clasificación de la gravedad

La clasificación habitual del asma ha sido en función de la gravedad, una definición y evaluación que ha ido modificándose y evolucionando con el transcurso de los años [1,127,128]. La gravedad del asma es una propiedad inherente de la enfermedad, que se traduce en la intensidad de los cambios fisiopatológicos [115].

La gravedad del asma está implicada tanto en la intensidad del proceso, como en la respuesta al tratamiento, por ello se evalúa cuando el paciente está siendo tratado y se clasifica en función de las necesidades de tratamiento de mantenimiento que precisa el paciente para alcanzar un grado adecuado de control de la sintomatología y exacerbaciones [129,130]. La GEMA clasifica la gravedad del asma distribuyéndola en 4 categorías: intermitente (escalón 1), persistente leve (escalón 2), persistente moderada (escalón 3 o 4) y persistente grave (escalón 5 o 6) [3], mientras que la GINA establece una clasificación en 3 categorías: asma leve (escalón 1 y 2), asma moderada (escalón 3) y asma grave (escalón 4 o 5) (*Tablas 2 y 3*)[2].

Tabla 2. Clasificación de la gravedad de asma distribuido en escalones según la GEMA 5.2.

Gravedad	Intermitente	Persistente		
		Leve	Moderada	Grave
Necesidades mínimas de tratamiento para mantener el control	Escalón 1	Escalón 2	Escalón 3 o Escalón 4	Escalón 5 o Escalón 6

Tabla 3. Clasificación de la gravedad de asma distribuido en escalones según la GINA 2022.

Gravedad	Intermitente	Persistente		
		Leve	Moderada	Grave
Necesidades mínimas de tratamiento para mantener el control	Escalón 1	Escalón 2	Escalón 3	Escalón 4 o Escalón 5

Se trata de una característica de la enfermedad que no es constante, puede variar a lo largo de los años, por ello es necesario que a los pacientes con asma se los reevalúe periódicamente.

1.5.6. Control y métodos de medición

El nivel de control del asma es la medida en que las manifestaciones del asma pueden ser observadas en el paciente, se estima el grado en el que han sido reducidas o eliminadas por la intervención terapéutica [131,132]. Está determinado por la interacción entre los antecedentes genéticos del paciente, los procesos patológicos subyacentes, el tratamiento, condiciones ambientales y factores psicosociales [131].

El control de los síntomas se evalúa por la presencia y frecuencia de los síntomas, tanto diurnos como nocturnos, la necesidad de medicación de rescate, función pulmonar, exacerbaciones y la existencia de alguna limitación para la vida diaria (*Tabla 4*). Los criterios establecidos para definir el grado de control varían de unas guías a otras, pero, generalmente, se clasifica en asma bien, asma parcialmente controlada y asma mal controlada [3].

En el objetivo de alcanzar el control completo del asma hay que tener en cuenta el control actual, con las manifestaciones que presenta el paciente diariamente y el riesgo futuro, por las posibles consecuencias que pueda ocasionar [131].

- *Control actual.* Para establecer el grado de control actual se tienen en cuenta: la presencia y frecuencia de síntomas (diurnos y nocturnos), la frecuencia de uso de medicación de rescate; la función pulmonar estable y cerca de la normalidad y la ausencia de limitaciones diarias.
- *Riesgo futuro.* Ausencia de exacerbaciones, uso de GCO no necesario, ausencia de visitas a urgencias y/u hospitalizaciones, control de la pérdida de la función pulmonar y la obstrucción bronquial.

Tabla 4. Clasificación del control del asma en adultos según la GEMA 5.2

	Bien controlada (Todos los siguientes)	Parcialmente controlada (Cualquier medida en cualquier semana)	Mal controlada
Síntomas diurnos	Ninguno o ≤ 2 días al me	> 2 días al mes	Si ≥ 3 características de asma parcialmente controlada
Limitación de actividades	Ninguna	Cualquiera	
Síntomas nocturnos	Ninguno	Cualquiera	
Necesidad medicación de rescate (agonista b2)	Ninguno o ≤ 2 días al me	> 2 días al mes	

adrenérgico de acción corta)			
Función pulmonar FEV1	≥ 80 % del valor teórico o z-score (-1,64)	< 80 % del valor teórico z-score (-1,64)	
PEF	≥ 80 % del mejor valor personal	< 80 % del mejor valor personal	
Exacerbaciones	Ninguna	≥ 1/año	≥ 1 en cualquier semana

FEV1: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; PEF: flujo espiratorio máximo.

En definitiva, para mantener o conseguir un control de la sintomatología es necesario realizar periódicamente una evaluación del paciente atendiendo a lo descrito anteriormente. Esto se consigue con visitas médicas continuadas, y para la evaluación del control existen una serie de herramientas que permiten evaluar de forma fácil y estandarizada el control actual de los síntomas por parte del paciente [133].

El **Asthma Control Test (ACT)** es una herramienta útil y sencilla para poder evaluar rápidamente el control de la patología mediante 5 preguntas que se puntúan de 1-5, donde el total de los puntos obtenidos indica un grado de control [134,135].

- Total de 25: Control total de asma.
- De 20 a 24: Buen control de asma.
- 19 o menos: Asma no controlada.

La diferencia mínima clínicamente significativa es el aumento de 3 o más puntos.

El **Cuestionario de Control del Asma (ACQ)- 5** es una herramienta útil y sencilla para poder evaluar rápidamente el control de la patología mediante 5 preguntas que se puntúan de 0-6, se suman los puntos y dividen entre 5, de forma que el resultado indica un mayor control a menores puntuaciones obtenidas [136,137].

- Menor o igual a 0.5: Control adecuado del asma
- De 0.5 a 0.99: Asma parcialmente controlada
- Más de 1: Control inadecuado del asma

Estas herramientas son de utilidad para evaluar el grado de control del asma de forma objetiva, pero no pueden ser la única herramienta de detección de un asma no controlado.

2. TRATAMIENTO DEL ASMA

Los objetivos a largo plazo del control del asma son lograr un buen control de los síntomas y minimizar el riesgo futuro de mortalidad relacionada con el asma, exacerbaciones, limitación persistente del flujo de aire y efectos secundarios del tratamiento [2,3].

2.1. Medidas generales

2.1.1. Educación del asma

El manejo efectivo del asma requiere una sinergia entre el personal sanitario y el paciente asmático, donde además de identificar el tratamiento que más se adapta a las características del paciente, se le eduque sobre la enfermedad y su manejo. El equipo médico debe ser multidisciplinar, en el que el neumólogo sea el principal encargado del proceso, incluyendo al personal de enfermería y al resto de especialistas que podrían ser partícipes en función de las afecciones del paciente. Esto resulta en una mayor satisfacción del paciente, mejores resultados de salud y menor uso de los recursos de atención médica [1].

Por último, el tratamiento del asma se debe ajustar en un ciclo continuo de evaluación, tratamiento y revisión de la respuesta del paciente tanto en el control de los síntomas como en el riesgo futuro (de exacerbaciones y efectos secundarios) y de las preferencias del paciente [2,3].

2.1.2. Tratamiento de las comorbilidades

En el paciente asmático, una vez que se han confirmado todas las comorbilidades recogidas en la historia clínica, se deben tomar las medidas oportunas, ya que son agravantes de la enfermedad. La GEMA establece unas pautas de confirmación y tratamiento de las comorbilidades que se muestran en la *Tabla 5*.

Tabla 5. Comorbilidades y agravantes más frecuentes en asma, pruebas diagnósticas y tratamiento según la GEMA 5.2.

Comorbilidad	Pruebas diagnósticas	Tratamiento
Obesidad	IMC	Pérdida de peso Cirugía bariátrica
ERGE	pH-metría/manometría esofágica Ensayo terapéutico con IBP EDA	Consejos higiénico-dietéticos Inhibidores de la bomba de protones Intervención quirúrgica
SAHS	Polisomnografía	CPAP Pérdida de peso

Enfermedad nasosinusal	Rinoscopia/endoscopia nasal Estudio de imagen de senos (TC/RM)	Glucocorticoides intranasales Lavados Nasales/ antileucotrienos Cirugía endonasal
Disnea funcional	Cuestionarios específicos (Nijmegen)	Psicoterapia Reeducación respiratoria
OLI	Laringoscopia en la crisis o provocación con: metacolina/ejercicio	Rehabilitación logofoniatría Tratamiento de comorbilidades: reflujo
Tabaco	Entrevista	Deshabitación
Ansiedad/ Depresión	Evaluación psicológica	Psicoterapia/tratamiento específico
Fármacos: AINE, b-bloqueantes no selectivos, IECA	Historia clínica	Sustitución

IMC: índice de masa corporal; ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea hipopnea del sueño; IBP: inhibidores de la bomba de protones; EDA: Endoscopia digestiva alta; CPAP: Presión positiva continua en la vía aérea; TC: tomografía computarizada; RM: resonancia magnética; OLI: Obstrucción laríngea inducible; AINE: antiinflamatorio no esteroideo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina.

2.2. Tratamiento farmacológico

Los fármacos para el tratamiento del asma se clasifican en medicación de control o mantenimiento y medicación de alivio o rescate.

2.2.1. Medicamentos de control o mantenimiento

Los medicamentos de control se administran de forma continua y durante largos periodos de tiempo. Se usan para reducir la inflamación de las vías respiratorias, controlar los síntomas y reducir los riesgos futuros, como las exacerbaciones y la disminución relacionada de la función pulmonar. Incluyen glucocorticoides (GC), antagonistas de los receptores de leucotrienos (ARLT), LABA, tiotrópico y anticuerpos monoclonales (omalizumab, mepolizumab, reslizumab, benralizumab y dupilumab).

2.2.1.1. Glucocorticoides inhalados o sistémicos

Los GC son fármacos con potentes propiedades antiinflamatorias empleados en el tratamiento de una amplia variedad de afecciones inflamatorias y autoinmunes, incluida el asma. Los GC ejercen su efecto al difundirse a través de la membrana plasmática y unirse a su receptor a nivel citoplasmático. Esta unión produce una activación del complejo, que es traslocado al núcleo por distintos mediadores y ahí ejerce su efecto directo e indirecto sobre el control de la inflamación, dando como resultado la disminución de la expresión de distintos mediadores inflamatorios. A su vez, produce una disminución del reclutamiento y activación de las células inflamatorias, el

aumento de receptores β_2 , y la disminución de la permeabilidad microvascular y producción de moco [138].

Existe una gran diversidad de GC, los GCI más comunes son la budesónida, beclometasona, ciclesonida, propionato de fluticasona, furoato de fluticasona y furoato de mometasona, y son utilizados comúnmente como tratamiento de mantenimiento para el control de síntomas. Los GCO más utilizados son la prednisolona, metilprednisolona o deflazacort, empleados como tratamiento en ciclos cuando el paciente está exacerbado o bien como mantenimiento en dosis bajas en pacientes que no consiguen el control de su sintomatología [3,128]. Asimismo, los GCO presentan un perfil modesto de efectos adversos a dosis bajas, pero son acumulativos, por lo que no se recomienda su uso en exceso, salvo en casos concretos e intentando establecer una pauta de dosis descendente hasta su retirada [139].

2.2.1.2. Antagonistas de leucotrienos (ARLT)

Dentro de los mediadores inflamatorios implicados en el asma se encuentran los leucotrienos (LTB₄, LTC₄, LTD₄ Y LTE₄). Los ARLT actúan bloqueando la unión de los leucotrienos con sus receptores [140].

Los ARLT han demostrado en diversos estudios su acción broncodilatadora en tratamiento agudo o crónico [141,142], eficacia en la prevención de la hiperreactividad bronquial en adultos [143], disminución de la inflamación bronquial ligada a la reducción de eosinófilos en sangre y en esputo [144–146], y su acción ahorradora de GC [147]. El ARLT más usado en asma es montelukast. Son fármacos muy seguros y solo se han descrito efectos adversos leves como cefalea, dolor abdominal y cierta elevación de enzimas hepáticas [148].

2.2.1.3. Beta-agonistas de acción larga (LABA)

Los LABA (Long-Acting Beta Agonists) son fármacos estimulantes de los receptores β_2 adrenérgicos, que tienen efecto broncodilatador de acción prolongada indicados en profilaxis y tratamiento de la broncoconstricción en pacientes con enfermedad obstructiva reversible de las vías respiratorias, como es el asma. No se aconseja su uso en monoterapia, ya que se asocia a un mayor número de hospitalizaciones y exacerbaciones graves [149,150]. Por lo tanto, se aprovecha su efecto sinérgico con GCI en el asma.

Su seguridad ha sido controvertida por su asociación con un mayor riesgo de muerte por asma y empeoramiento del cuadro clínico [151], sin embargo, revisiones recientes no encontraron asociación con un aumento del riesgo de muerte [152].

2.2.1.4. Tiotropio

El bromuro de tiotropio es un antagonista específico de los receptores muscarínicos de acción prolongada (M1-M5). En la vía aérea se une de forma competitiva y reversible a los receptores M3 de la musculatura lisa bronquial, bloqueando el efecto colinérgico de la acetilcolina, de forma que produce una relajación en la musculatura lisa bronquial [153]. Está indicado como tratamiento broncodilatador adicional en pacientes adultos con asma, que estén siendo tratados con GCI y LABA y que hayan experimentado una o más exacerbaciones graves en el último año. Se relaciona con mejoras significativas del FEV1 [154].

Se trata de un fármaco seguro cuyos principales efectos adversos son la sequedad de boca, cefalea, nasofaringitis, sinusitis, taquicardia, estreñimiento, retención urinaria y glaucoma, todos ellos asociados a las propiedades anticolinérgicas del tiotropio [155,156].

2.2.1.5. Anticuerpos monoclonales

2.2.1.5.1. Omalizumab

Omalizumab es un anticuerpo monoclonal que se une selectivamente a la IgE. Está indicado para el tratamiento del AGNC con fenotipo alérgico en pacientes mayores de 6 años, con valores de IgE total entre 30-1500 UI y FEV1 < 80%. Se administra de forma subcutánea (SC), a dosis variables en función del nivel de IgE y el peso corporal [157].

Se ha demostrado ampliamente su efectividad en ensayos clínicos aleatorizados (ECA), reportando mejoras significativas en la calidad de vida del paciente, reducción de exacerbaciones, reducción de GCI y disminución de la intensidad de los síntomas [158–162]. Además de las mejoras indicadas, los estudios de vida real muestran reducción de GCO y el número de eosinófilos, y mejora de la función pulmonar [163–167].

2.2.1.5.2. Mepolizumab

Es un anticuerpo monoclonal que bloquea la IL-5, que está indicado en pacientes mayores de 6 años con AGNC y fenotipo eosinofílico, con recuentos de eosinófilos ≥ 500 cel./ μ L, o < 500 cel./ μ L y dos exacerbaciones graves o un ingreso hospitalario en el año previo. Su administración es a dosis de 100 mg de forma subcutánea cada 4 semanas en pacientes ≥ 12 años y de 40 mg subcutáneos cada 4 semanas en pacientes entre 6-11 años. [168].

Ha demostrado su eficacia en ECA, mostrando una reducción de las exacerbaciones en pacientes con recuentos de eosinófilos ≥ 300 cel./ μ L en sangre durante el año previo o con ≥ 150 cel./ μ L

en el momento del tratamiento, pero con recuentos históricos de ≥ 300 cel./ μL [169,170]. Además, se ha reportado una mayor reducción de las exacerbaciones en el grupo con recuentos eosinofílicos ≥ 500 cel./ μL [171]. Del mismo modo, ha demostrado su eficacia en la reducción de dosis de GCO de mantenimiento [172–174]. Los estudios de extensión demostraron que su eficacia y seguridad es constante en el tiempo [175–177]. Los estudios en vida real han corroborado los resultados de los ECA, y además reportan reducción de dosis de GCI, mejora de la función pulmonar y disminución de eosinófilos en sangre [173,178–184].

Recientemente se ha confirmado la efectividad de mepolizumab en pacientes con respuesta parcial a omalizumab [185].

2.2.1.5.3. Reslizumab

Reslizumab es un anticuerpo monoclonal anti IL-5, indicado en pacientes asmáticos con fenotipo eosinofílico mayores de 18 años, se administra por vía intravenosa a dosis de 3 mg/kg cada 4 semanas [186]. Se indica para pacientes con AGNC y fenotipo eosinofílico, en tratamiento con dosis altas de GCI más recuentos de eosinófilos en sangre ≥ 500 cel./ μL , o bien entre 400-500 cel./ μL y dos exacerbaciones graves o un ingreso hospitalario en el año previo. Los ECA muestran mejora del control del asma, reducción significativa de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar [187–189]. El perfil de seguridad de 2 años es favorable [190].

Algunos estudios han reportado que reslizumab promueve una mejoría en pacientes con fracaso de omalizumab o mepolizumab, sin embargo, se han realizado con muestras de pequeño tamaño [191,192].

2.2.1.5.4. Benralizumab

Benralizumab es un anticuerpo monoclonal anti IL-5 que se une de forma selectiva a la subunidad α de IL-5R, impidiendo que se produzca la cascada eosinofílica e induciendo la eliminación directa de eosinófilos y basófilos a través de las células NK. Está indicado en pacientes con AGNC y fenotipo eosinofílico mayores de 18 años, en tratamiento con dosis elevadas de GCI + LABA y recuentos de eosinófilos en sangre ≥ 500 cel./ μL o < 500 cel./ μL y dos exacerbaciones graves o un ingreso hospitalario en el año previo. La dosis es subcutánea de 30 mg cada 4 semanas las 3 primeras dosis y a continuación cada 8 semanas [193].

Los ECA han demostrado reducción significativa de las exacerbaciones en pacientes con recuentos de eosinófilos ≥ 300 cel./ μL y más de 3 exacerbaciones en el año previo, mejoras de

la función pulmonar y reducción de GCO [194,195]. Su eficacia ha sido reproducible en estudios de vida real [196–200].

2.2.1.5.5. Dupilumab

Dupilumab es un anticuerpo monoclonal que bloquea la subunidad α del receptor de IL-4. Está indicado para pacientes mayores a 12 años con asma grave y marcadores T2 (Eosinófilos ≥ 500 cel./ μ L o FE_{NO} ≥ 25 ppb) o corticodependiente. Se administra SC con una dosis inicial de 400 mg seguido de: 200 mg SC cada dos semanas para asma grave T2 y 300 mg SC en pacientes corticodependientes o con dermatitis atópica asociada [186].

Se ha demostrado su efectividad en ECA, mostrando reducción de exacerbaciones graves, mejora de la calidad de vida, control de los síntomas, mejora de la función pulmonar, reducción de las dosis de GCO de mantenimiento y mejora de la poliposis [201–205].

2.2.1.6. Cromonas y teofilina

Las cromonas (cromoglicato y nedocromilo) son inhibidores de la liberación de mediadores de la inflamación, poseen actividad antiinflamatoria al estabilizar la membrana de los mastocitos, lo que resulta en un efecto supresor sobre las células inflamatorias, inhibiendo la respuesta inflamatoria y, por consiguiente, la hiperreactividad bronquial. Son fármacos que presentan una escasa eficacia pero buena tolerancia y sus efectos adversos son escasos, pero en la actualidad cada vez están más en desuso [206,207].

Las teofilinas pertenecen a la familia de las metilxantinas e inhiben la fosfodiesterasa, provocando una acción broncodilatadora ya que esta enzima participa en la infiltración linfocitaria y eosinofílica y aumenta la contractilidad del diafragma y el aclaramiento mucociliar. El principal inconveniente que presentan es su escaso índice terapéutico y la gran variabilidad de aclaramiento metabólico que presenta entre individuos [207].

2.3. Medicamentos de alivio o de rescate

Los medicamentos de alivio o rescate se utilizan a demanda y su finalidad es tratar de forma rápida y prevenir la broncoconstricción, incluso durante el empeoramiento del asma o las exacerbaciones. Incluyen a los agonistas β_2 adrenérgicos de acción corta (SABA) inhalados y los anticolinérgicos de acción corta inhalados (bromuro de ipratropio). También comprenden las combinaciones de budesónida/formoterol, beclometasona/formoterol o beclometasona/salbutamol si se utilizan de recate y a demanda [3].

2.3.1.1. Beta-agonistas de acción corta (SABA)

Los SABA (Short-Acting Beta Agonists), también conocidos como medicamentos de rescate, son fármacos estimulantes de los receptores β_2 adrenérgicos, que tienen efecto broncodilatador de acción rápida, pudiendo dilatar el bronquio de 2 a 5 minutos después de su administración inhalada y ejerciendo su efecto durante unas horas [2].

Los más empleados son el salbutamol y la terbutalina. Existe evidencia de que su utilización se asocia a mejoras de la función pulmonar tras su administración y de la calidad de vida. Sin embargo, tienen poco efecto sobre la inflamación subyacente de las vías respiratorias [105,208] y su dependencia excesiva se asocia con un control deficiente del asma y un mayor número de exacerbaciones [209–213]. Uno de los principales efectos adversos que se recogen es el temblor, esto es debido a que los receptores β_2 adrenérgicos no solo se localizan en los bronquios, sino que la activación del receptor muscular puede provocar este temblor. También se han reportado palpitaciones y otros efectos adversos no graves, demostrándose su seguridad con un correcto uso [214].

2.3.1.2. Anticolinérgicos inhalados de acción prolongada (LAMA)

Los anticolinérgicos o antimuscarínicos de acción prolongada (Long-acting muscarinic antagonist) son fármacos que inhiben la broncoconstricción mediante su unión a la acetilcolina, principal neurotransmisor parasimpático de las vías respiratorias que se asocia con la contracción de la musculatura lisa y la secreción de moco [215,216]. El papel que ejerce la acetilcolina viene mediando por su unión a los receptores muscarínicos M3 de la musculatura lisa de las vías respiratorias y activar la contracción y la broncoconstricción. Además, al unirse a los receptores M3 de las células inflamatorias, activa la secreción de citocinas proinflamatorias [216].

Existen anticolinérgicos de acción corta (bromuro de ipatropio y bromuro de oxitropio) y de acción prolongada (bromuro de tiotropio, bromuro de aclidinio, bromuro de glicopirronio, bromuro de umeclidinio). Se evidencia su seguridad y su efecto broncodilatador y como mecanismo de prevención de la remodelación de las vías respiratorias y la inflamación eosinofílica [133,155,216].

2.4. Macrólidos

Los macrólidos son una familia de antibióticos caracterizados por tener un anillo lactónico macrocíclico con al menos uno de los azúcares de su estructura aminorados. Ejercen una acción

bacteriana y cierto efecto antiinflamatorio causado por la reducción de las células inmunitarias y la alteración de las células bacterianas [217,218]. En general se trata de fármacos seguros, bien tolerados y con efectos adversos leves, entre los que se describen como más frecuentes las náuseas, diarrea, dispepsia y cefalea [219].

El macrólido más común empleado en asma es la azitromicina, que ha demostrado su eficacia con una actividad antiinflamatoria directa, reducción de la hiperreactividad bronquial y exacerbaciones, y mejora de la calidad de vida [218,219]. Se administra comúnmente a dosis de 50 mg vía oral 3 veces a la semana durante 12 meses en pacientes con AGNC no T2 y triple terapia (GCI + LABA + LAMA) [3].

2.5. Tratamiento no farmacológico

2.5.1. Termoplastia bronquial

La termoplastia es una opción terapéutica no farmacológica que se lleva a cabo mediante un procedimiento de broncoscopía que reduce la capa del músculo liso bronquial, mediante la aplicación de calor por radiofrecuencia [220–225]. Esta indicado para pacientes con asma AGNC, que no son candidatos a tratamiento con anticuerpos monoclonales o cuyo tratamiento ha fracasado [3].

Se han reportado resultados en pacientes con asma modera-grave, que tras la intervención mostraron una mejora significativa de la calidad de vida, del control y reducción de exacerbaciones, con una eficacia mantenida entre 5 y 10 años [224,226,227].

2.6. Otras opciones de tratamiento

2.6.1. Inmunoterapia

Otra de las opciones terapéuticas para el asma con fenotipo alérgico es la inmunoterapia con extractos de alérgenos. Se ha demostrado su eficacia en pacientes con una sensibilización frente a alergen mediada por IgE y que tenga un buen control de la enfermedad, encontrándose en los escalones terapéuticos de 2 a 4 [228–231].

2.6.2. Vacunación

La vacunación antigripal o antineumocócica está indicada en pacientes con asma moderada-grave, ya que presentan una mayor predisposición a padecer enfermedad invasiva neumocócica y el padecimiento gripal podría perjudicar el control del asma [232–236]. Evitar estas complicaciones puede ser una medida preventiva de complicaciones futuras de la enfermedad,

aunque no hayan mostrado ser procedimientos eficaces en la reducción de exacerbaciones [220–223].

2.7. Escalones terapéuticos

La GEMA establece seis escalones del tratamiento de mantenimiento de asma en el adulto con el fin de conseguir un control adecuado de los síntomas. Estos escalones terapéuticos, se corresponden a su vez con los escalones descritos anteriormente para la clasificación de la gravedad.

2.7.1. Escalón 1

El escalón 1 se corresponde con el asma intermitente y contempla diferentes opciones terapéuticas de uso exclusivamente a demanda cuya elección dependerá de la valoración clínica y funcional del paciente.

Permite el uso de **SABA inhalado** (salbutamol o terbutalina) a demanda:

- Un máximo de 2 veces al mes: pacientes con síntomas diurnos ocasionales leves y sin sintomatología nocturna. Entre crisis el paciente se mantiene asintomático (sin exacerbaciones ni factores de riesgo y función pulmonar normal) [2,104].
- Previo al ejercicio físico: 10-15 minutos previenen la broncoconstricción inducida por la actividad física [237].

A su vez se puede emplear **budesónida/formoterol** a demanda ya que ha demostrado su efectividad en pacientes con asma intermitente en la prevención de exacerbaciones y reducciones del FE_{NO} [238,239].

Se contempla una subida de escalón si el paciente ha requerido el uso superior a 2 veces al mes de SABA, ha sufrido exacerbaciones durante el año previo o presenta FEV₁<80%, lo que indicarían un control inadecuado del asma y la necesidad de instaurar una terapia de mantenimiento [240–242].

2.7.2. Escalón 2

El escalón 2 se corresponde con el asma persistente leve y añade a las opciones de terapéuticas los **GCI (beclometasona, budesónida, ciclesonida, fluticasona o mometasona)** como tratamiento de elección de administración diaria a dosis bajas [243–246]. Las dosis de GCI (baja, media, alta) las establece la Agencia Española del Medicamento y quedan recogidas en la *Tabla*

6. Los pacientes con asma persistente que nunca han sido tratados suelen comenzar su tratamiento en este escalón.

En el asma persistente se ha demostrado que el uso continuo de GCI es el tratamiento más eficaz para evitar el reducir el riesgo de exacerbaciones y mantener un control de la sintomatología [241,246–248].

En este escalón también se permite el uso de medicación a demanda como medida terapéutica única, sin necesidad de tratamiento de mantenimiento, o bien la combinación de ambas. Existe evidencia de que el uso de **budesónida/formoterol** a demanda en pacientes con asma persistente reporta datos similares en la prevención de exacerbaciones que el tratamiento con GCI de forma continua, sin embargo, mostró peores resultados en el control de la sintomatología y la mejora de la función pulmonar [249,250]. Otros estudios, reportan que no hay diferencias estadísticamente significativas en la tasa anual de exacerbaciones entre la administración de budesónida dos veces al día más salbutamol a demanda y budesónida/formoterol a demanda [238].

En este escalón existen otras opciones de tratamiento además del de elección y el de rescate, como los **ARTL**. Están indicados para pacientes que con sensibilización o los GCI, que no desean recibir GCI, con rinitis alérgica o con dificultades para realizar una correcta técnica inhalatoria. [251,252].

Tabla 6. Equivalencias de dosis de GCI según la GEMA 5.2 [3].

Dosis (µg/día)	Baja	Media	Alta
Budesónida	200-400	400-800	800-1600
Beclometasona dipropionato	200-500	500-1000	1000-2000
Beclometasona extrafina	100-200	200-400	>400
Ciclesonida	80-160	160-300	300-1280
Fluticasona propionato	100-250	250-500	500-1000
Fluticasona furoato	-	92	184

2.7.3. Escalón 3

El escalón 3 se corresponde con el asma persistente moderada y el tratamiento inhalado de elección es un **GCI a dosis bajas + LABA (salmeterol, formoterol, vilanterol o indacaterol)** [253–256]. Se ha demostrado en diferentes estudios que esta combinación contribuye a la disminución de síntomas, reducción de exacerbaciones y medicación de rescate, y mejora de la función pulmonar, de forma más óptima que con el aumento de la dosis de GCI.

En este escalón se permite usar la terapia MART, es decir, la combinación de GCI+LABA de inicio rápido como terapia tanto de mantenimiento como de rescate. Las combinaciones MART permitidas que poseen evidencia en la reducción de exacerbaciones y el mejor control de asma son **budesónida/formoterol** y **beclometasona/formoterol** [247,257–264]. Cuando se emplea esta técnica siempre debe usarse con un dispositivo único de inhalación.

Este nivel también permite la opción de incrementar las dosis de GCI a dosis medias, aunque resulta menos eficaz que la adición de un LABA [265–267]; utilizar GCI + ARTL, que resulta más eficaz que usar GCI en monoterapia es muy seguro, pero dificulta la desescalada del tratamiento, es decir, disminuir de forma progresiva las dosis de GCI [268–272].

2.7.4. Escalón 4

El escalón 4 se corresponde con el asma persistente moderada y el tratamiento inhalado de elección es un **GCI a dosis medias + LABA** [254,273–275].

En este nivel se evidencia mayor eficacia en la prevención de exacerbaciones con el uso de la estrategia MART, combinando GCI dosis bajas + formoterol en pacientes que han sufrido al menos una exacerbación en el año previo respecto al uso de GCI a dosis más altas o GCI+LABA en con la misma dosis fija [257,276].

Se permite el uso de otras alternativas a GCI dosis media + LABA, aunque menos eficaces en la reducción de exacerbaciones, mejora de la función pulmonar y control de síntomas, como es la combinación de **GCI dosis medias + ARTL** [269].

2.7.5. Escalón 5

El escalón 5 se corresponde con el asma persistente grave y el tratamiento consiste en el aumento de las dosis de **GCI a dosis altas + LABA** [256,277].

Este nivel permite añadir otras terapias de mantenimiento como **ARTL** o **teofilinas** de acción retardada [278–280].

Los pacientes que no hayan conseguido un control de los síntomas a pesar del uso de GCI a dosis altas + LABA y con un cociente PB de FEV1 <70%, pueden añadir a su terapia de mantenimiento tiotropio o glicopirronio o para la mejora de la función pulmonar y reducción de exacerbaciones [279,281–284].

2.7.6. Escalón 6

El escalón 6 hace referencia a pacientes con el asma persistente grave no controlada y presencia de exacerbaciones frecuentes y se indica la incorporación de anticuerpos monoclonales adecuados al fenotipo de cada individuo [3].

En pacientes con AGNC y fenotipo alérgico, está indicado el uso de omalizumab, que mejora el control y reduce el número de exacerbaciones [158,285–287]. En pacientes con AGNC y fenotipo eosinofílico se indica la valoración de mepolizumab, reslizumab y benralizumab, en función de las variables clínicas que presente el paciente. 86-92. En el caso de que el paciente además de presentar un fenotipo eosinofílico tenga niveles elevados de FE_{NO}, se aconseja dupilumab [201,204].

Si se produce fracaso con el uso de terapias biológicas o mala tolerancia, se puede indicar la termoplastia bronquial [288]. La última opción terapéutica de este escalón es la administración glucocorticoides sistémicos (GCS) intentando administrar las dosis más bajas posibles y durante el menor tiempo con el que se estime una mejoría. Sin embargo, su administración se relaciona con efectos adversos, que pueden derivar en efectos adversos graves [289].

2.8. Resultados clínicos de las terapias biológicas en AGNC

Según las indicaciones de GEMA las terapias biológicas (TBs) están indicadas como tratamiento de referencia para pacientes con AGNC situado como escalón 6 de gravedad. Estas indicaciones están avaladas por diferentes ECA y estudios en vida real [3].

2.8.1. Resultados clínicos de omalizumab en AGNC

La primera propiedad atribuida a omalizumab fue la capacidad de inhibir las respuestas alérgicas tempranas y tardías provocadas por antígenos inhalados [290]. Más adelante, con el desarrollo de ECA se demostró su eficacia en la reducción de exacerbaciones, mejora de la sintomatología y reducción de visitas a urgencias, hospitalizaciones y ciclos de GCO [55,159,162,287,291–295].

Busse et al. desarrollaron un ensayo clínico en fase III, doble ciego, controlado con placebo, en población mixta con 525 pacientes con AGNC y fenotipo alérgico donde demostraron que el tratamiento con omalizumab durante 28 semanas redujo el número de exacerbaciones y el porcentaje de pacientes que sufrieron exacerbaciones respecto a placebo (0.28 vs 0.54, $p = 0.006$ y 14.6% vs 23.3%, $p = 0.009$, respectivamente), también se redujeron las exacerbaciones durante la fase de reducción de GCO (0.39 vs 0.66. $p = 0.003$ y 21.3% vs 32.3%, $p = 0.004$). Las dosis de GCI también se redujeron (75 % vs 50 %, $p < 0.001$) y se reportaron mejoras significativas

en la calidad de vida y sintomatología [162]. Estos resultados están en concordancia con los reportados por Solèr et al. en un ECA aleatorizado doble ciego controlado por placebo en 546 pacientes asmáticos alérgicos [159] y con los resultados reportados por Holgate et al. que llevaron a cabo otro ECA doble ciego controlado con placebo en 246 pacientes con asma alérgica grave, ambos en población mixta [294]. Además, Vignola et al. demostraron la efectividad de omalizumab en la mejora de la calidad de vida en pacientes con asma grave y rinitis alérgica ($p < 0.05$) [293]. El metaanálisis de Tsaouri et al. (2014), que incluyó 11 ECA mostró resultados en la misma línea [296].

El estudio INNOVATE, liderado por Humbert et al., en población mixta con 419 pacientes con asma alérgica grave en tratamiento con omalizumab durante 28 semanas, observó reducciones significativas en la tasa anual de exacerbaciones, las visitas a urgencias y consumo de GCO, además de mejoras en la calidad de vida y el flujo espiratorio máximo ($p < 0.05$) [287]. Estos resultados están en concordancia con la revisión sistemática reportada por Rodrigo et al., que además mencionan mejoras significativas en la función pulmonar, sintomatología clínica y menor uso de broncodilatadores [297].

Abraham et al. (2016) y Alhossan et al. (2017) realizaron revisiones sistemáticas de los estudios en vida real realizados con omalizumab, demostrando que los pacientes con asma alérgica grave experimentan reducciones significativas en la tasa de exacerbaciones, ingresos hospitalarios y ciclos de GCO, así como, mejoras en la función pulmonar y el control de los síntomas [298,299].

2.8.2. Resultados clínicos de mepolizumab en AGNC

Mepolizumab fue la segunda línea de terapias biológicas lanzada al mercado con la reducción de exacerbaciones como resultado primario.

El estudio MENSA fue un ECA, doble ciego y controlado por placebo, encabezado por Ortega et al., que reportó como principales resultados reducciones significativas en la tasa de exacerbaciones ($\downarrow 53\%$, $p < 0.001$), visitas a urgencias u hospitalizaciones y aumentos mayores a 100 mL en el FEV1 ($p = 0.03$). También se recogieron mejoras en los cuestionarios de control de asma, ACQ-5 y Cuestionario Respiratorio de St. George (SGRQ) ($\downarrow ACQ-5 = 0.44$, $p < 0.001$ y $\downarrow SGRQ = 7$; $p < 0.01$, respectivamente) [170]. Otro ECA multicéntrico, el estudio MUSCA liderado por Chupp et al., reportó resultados en consonancia, con reducciones significativas en el ratio de exacerbaciones ($\downarrow 58\%$, $p < 0.001$), mejora de la función pulmonar ($\uparrow FEV1$ pre-PB 120 mL; $p = 0.01$) y en la calidad de vida ($\downarrow ACQ-5 = 0.4$ y $\downarrow SGRQ = 7.7$, $p < 0.001$) [300]. En línea con estos

resultados también se encuentra el estudio SIRIUS, que además reportó con resultado principal reducciones significativas en el uso de GCO ($p = 0.007$) [107].

Los estudios de la vida real también informaron de mejoras en la función pulmonar, el control del asma, la reducción del uso de ciclos de GCO y GCO de mantenimiento, y la disminución de los recuentos de eosinófilos y las exacerbaciones [173,178–184]. Una revisión de Israel E. et al. (2021) reportó resultados de estudios retrospectivos que reflejaron reducciones significativas del 54% al 94% en el requerimiento de ciclos de GCO ($p < 0.001$ y $p = 0.001$, respectivamente) y reducciones del 55% en las exacerbaciones que requirieron urgencias u hospitalización ($p < 0.001$). El 73% ($p = 0.004$) y el 83% (valores de p no comunicados) mostraron reducciones en la tasa de exacerbaciones que requirieron hospitalización; del 27% al 84% habían suspendido los GCO de mantenimiento y del 32% al 100% habían reducido la dosis inicial de mantenimiento ($p < 0.001$); la función pulmonar mejoró del 3% al 8% ($p < 0.05$) [181]. Sin embargo, hay estudios no muestran una mejora de la función pulmonar [173,178,184].

2.8.3. Resultados clínicos de benralizumab en AGNC

Los principales ECA que demuestran la eficacia de benralizumab son CALIMA, SIROCCO y ZONDA [194,195,275].

El estudio CALIMA es un estudio en fase III, doble ciego controlado por placebo, liderado por FitzGerald et al., que estratificó a los pacientes en función del recuento de eosinófilos en sangre: ≥ 300 cel./ μL y < 300 cel./ μL [195]. Se reportaron reducciones significativas en el ratio de exacerbaciones (≥ 300 cel./ μL : $\downarrow 28\%$, $p = 0.01$ y < 300 cel./ μL : $\downarrow 48\%$, $p = 0.004$), mejora de la función pulmonar con incrementos del FEV1 pre-PB (≥ 300 cel./ μL : $\uparrow 116$ mL, $p = 0.01$) y de la calidad de vida reportada por el cuestionario ACQ-6 (≥ 300 cel./ μL : $\downarrow 0.25$, $p = 0.008$). En consonancia con estos resultados, se encuentra el estudio SIROCCO de Bleeker et al., en el que los pacientes fueron estratificados de la misma forma [194]. En el estudio ZONDA de Nair et al. se observaron reducciones significativas del 70% de la tasa de exacerbaciones ($p < 0.001$) y reducciones del 75% en el uso de GCO ($p < 0.001$) [301].

Los estudios realizados en la vida real en los últimos años coinciden con nuestra investigación [196–199]. Entre estos estudios, una reciente revisión sistemática y metaanálisis realizada por Charles, D. et al. (2022), muestra que benralizumab produce cambios significativos ($p < 0.05$) en la tasa anual de exacerbaciones y en el porcentaje de FEV1, una mejoría significativa de los síntomas de asma medidos por ACT y una disminución de la eosinofilia en sangre [302].

2.9. Factores pronósticos del tratamiento con terapias biológicas en AGNC

En los últimos años la GEMA ha hecho referencia a la importancia futura de poseer biomarcadores que identifiquen las características clínicas e inflamatorias de los pacientes candidatos a recibir una terapia biológica [3].

2.9.1. Factores pronósticos del tratamiento con omalizumab

En el tratamiento del AGNC con fenotipo alérgico es muy importante la realización de un cribado exhaustivo para identificar a los pacientes candidatos a la terapia anti-IgE con omalizumab.

El estudio EXTRA demostró que los niveles elevados de eosinófilos en sangre, FENO y periostina sérica podían considerarse indicadores fiables de inflamación asmática T, con capacidad para predecir un buen efecto terapéutico de omalizumab [303,304]. Sin embargo, un estudio retrospectivo posterior revelaba que la respuesta terapéutica a omalizumab era similar en pacientes con niveles de eosinófilos altos (≤ 300 cel./ μL) o bajos (> 300 cel./ μL) [305]. Los ensayos PROSPERO Y STELLAIR, indicaron que los recuentos de eosinófilos en sangre no predecían la reducción de exacerbaciones con omalizumab, pero sí podían predecir el control de la sintomatología [306,307].

A pesar de los marcadores reportados, el estudio INNOVATE con análisis post hoc de cinco estudios clínicos no idéntico ningún marcador para predecir la respuesta de omalizumab [308].

2.9.2. Factores pronósticos del tratamiento con mepolizumab

Uno de los principales marcadores reportados como factor pronóstico de la respuesta a mepolizumab es el recuento de eosinófilos. Los análisis DREAM y MENSA indicaban recuentos ≥ 150 cel./ μL se asociaban a reducciones en la tasa de exacerbaciones y > 500 cel./ μL predictivos del FEV1 [171].

Otros estudios descartan la influencia de los niveles de FE_{NO} como factor pronóstico de la respuesta a mepolizumab, lo cual resulta lógico porque la producción de FE_{NO} es promovida por IL-13, no por la IL-5 [304,309].

2.9.3. Factores pronósticos del tratamiento con benralizumab

Los resultados agrupados del SIROCCO y CALIMA reportaron que recuentos de eosinófilos en sangre ≥ 300 cel./ μL eran predictores de la tasa de exacerbaciones, FEV1 y ACQ-6 [194,195].

Otro estudio estudió la implicación de quimiocinas como IFN- γ y TNF- α , asociando los niveles bajos en suero de estas citocinas inflamatorias con una respuesta positiva a benralizumab [310].

El principal estudio en vida real que informa de marcadores de respuesta relaciona la ausencia de exacerbaciones y de GCO con un fenotipo fuertemente eosinofílico y una menor gravedad de la enfermedad [200].

2.10. Farmacogenética de las terapias biológicas en AGNC

El principal reto en el tratamiento del asma reside en su heterogeneidad. Dada la complejidad de la enfermedad y la dificultad de control, las opciones más prometedoras han surgido en la última década con el desarrollo de terapias biológicas como alternativa y/o complemento del tratamiento, en concreto, los anticuerpos monoclonales frente a dianas selectivas (6). Dentro de estos anticuerpos monoclonales, destacan los que se dirigen a diferentes mediadores de la respuesta inmune tipo 2 para el tratamiento del asma grave (13).

Es bien sabido, que la variabilidad genética interindividual puede contribuir en respuesta al fármaco, desde la falta de eficacia hasta la susceptibilidad a reacciones adversas. La identificación de predictores genéticos de respuesta, tanto terapéutica como adversa, podrían ayudar a determinar que pacientes se beneficiarían del tratamiento de forma previa a su instauración. La farmacogenómica, es una parte de la biología molecular que investiga las variaciones del genoma en relación con la respuesta a fármacos, lo que permite la identificación de nuevas dianas terapéuticas. La farmacogenética por su parte estudia la influencia de variaciones en la secuencia de ADN de un gen concreto en la respuesta a un fármaco. Esto permitiría, por tanto, construir una base genética de las diferentes respuestas de los individuos a un mismo fármaco. Las variaciones más frecuentes son los polimorfismos de un solo nucleótido (*Single Nucleotide polymorphisms*, SNPs) localizados en un gen implicado en la ruta de acción de un fármaco. Consecuentemente, la farmacogenética es una importante herramienta que nos acerca hacia una medicina personalizada que, combinada con las características clínicas y factores asociados al paciente, contribuirá en la obtención de un tratamiento único, eficaz y efectivo. La medicina personalizada tiene un gran impacto clínico, económico y bibliométrico. En primer lugar, el paciente recibirá un tratamiento individualizado que permitirá una máxima efectividad y baja probabilidad de reacciones adversas, mejorando su calidad de vida. En segundo lugar, el gasto sanitario suele elevarse por la falta de herramientas que ayuden a seleccionar el fármaco más adecuado al paciente, de esta forma al tener marcadores previos de respuesta reducirían el gasto sanitario en atención médica, visitas a urgencias y hospitalizaciones. Y, en tercer lugar, podría tener un fuerte impacto bibliométrico el describir

nuevos marcadores genéticos de respuesta asociados en este caso a terapias biológicas frente al AGNC, ya que en la actualidad aún no hay ninguna referencia que haya descrito SNPs relacionados con la respuesta a estas terapias. Hoy en día la implicación de la farmacogenética está experimentando grandes avances con algunas implicaciones con suficiente evidencia como para instaurar la determinación de SNPs en la práctica clínica rutinaria, sin embargo, aún son pocas las guías clínicas instauradas de ahí la necesidad de continuar con la investigación para poder seguir aprovechando esta herramienta.

El asma es un síndrome complejo consecuencia de la interacción de numerosos genes y exposición ambiental. Existen pocos estudios relacionados con el AGNC que permitan determinar con precisión qué genes son los responsables de que un individuo tenga mayor susceptibilidad de responder a una terapia biológica u otra. En la actualidad se han llevado a cabo estudios de aproximación del genoma completo GWAS que analizan cientos de miles de polimorfismos distribuidos por todo el genoma en busca de variables que estén asociadas a desarrollar un AGNC, con la respuesta al tratamiento con GCI, altos recuentos de eosinófilos y con la regulación y expresión de la IL-5 e IgE, las moléculas más importantes en el desarrollo del asma alérgica y eosinofílica y las principales dianas terapéuticas estudiadas en las terapias biológicas en AGNC [311–316].

2.10.1. FCER

El gen *FCER1A* que codifica la cadena alfa del receptor de alta afinidad para IgE se encuentra localizado en el cromosoma 1q23. El gen consta de seis exones y dos transcritos, por lo que, en consecuencia, hay dos regiones promotoras. Se ha informado que una de estas regiones proximales, que se encuentra aguas arriba del exón 2, está asociada con los niveles de expresión de IgE, así como con la susceptibilidad a las enfermedades atópicas en muchos estudios previos [317–320]. En esta región hay dos SNPs, rs2251746 (T > C) y rs2427837 (C > T), que han sido ampliamente estudiados por su relación con altos niveles de IgE sérica [321–323], lo que estimula el entrecruzamiento IgE-FcεRI liberando citocinas proinflamatorias como IL-5 [324]

No se ha estudiado previamente su asociación con la respuesta a TBs en AGNC, pero En-Chinh Liao et al. relacionaron los genotipos *FCER1B* rs2427827-CT/TT y *FCER1B* rs2251746-TC con niveles más elevados de IgE total, IgE específico y células B de secreción de IgE ($p < 0.001$) [321]. Además, estos SNPs se han relacionado con una mayor expresión del complemento Cε [321]. Estos resultados son respaldados por otros autores [322,323].

La subunidad beta del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad es una proteína que en humanos está codificada por el gen *FCER1B*, que está localizado en el cromosoma 11q12-13 y actúa como amplificador de señal de FcεRI. En este gen se han descrito los SNPs rs1441586 (T > C), rs573790 (T > C), rs1054485 (T > G) y rs569108 (A>G), comunes en la patología asmática, atopía y relacionados con altos niveles de IgE [325–329].

Los polimorfismos rs1441586 (-109C/T) y rs573790 (-752C/T) se encuentran en la región promotora del gen. Nishiyama et al. reportaron que los SNPs -109T y -752T estaban asociados con una menor expresión del gen en la superficie de basófilos [330]. El rs1054485 es una variante de codificación localizada en el exón 6 y produce una sustitución de leucina por isoleucina en la posición de aminoácido 181 (I181L), que podría influir en la señalización de las colas citoplasmáticas de las cadenas β [325]. El SNPs rs569108 se encuentra en el exón 7 y produce una sustitución de adenina por guanina, cambiando el residuo de aminoácido 237 de ácido glutámico a glicina (E237G) en la cola citoplasmática de la proteína. Esto puede producir que E237G introduzca un cambio de hidrofobicidad dentro del extremo C-terminal de FcεRI, que es adyacente a la activación de la tirosina del inmunorreceptor (ITAM) y puede afectar la capacidad de señalización intracelular de FcεRI [331].

No se han reportados estudios que estudien la asociación de estos SNPs con la respuesta a las TBs, pero si se ha reportado la presencia del genotipo *FCER1B* rs573790-CC en pacientes con enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (AERD) y asma [332]. La presencia de los alelos *FCER1B* rs569108-G y *FCER1B* rs1441586-T se asociaron con un riesgo aumentado de asma, lo que podría postular los alelos de menor riesgo con mejor pronóstico a estas TBs [328,333–336]. Por otro lado, el alelo *FCER1B* rs1054485-G se relacionó con recuentos de eosinófilos significativamente elevados y asma [327,328].

2.10.2. FCGR

La función de la región Fc de IgG es aumentar la estabilidad y prolongar la vida media del fármaco, mejorando así su farmacocinética [337]. La región Fc de la IgG1 humana se une selectivamente a los receptores Fc-gamma (FcγR) de la superficie de linfocitos B, células dendríticas (DCs) y macrófagos, que son glicoproteínas integrales de membrana que exhiben una activación compleja o efectos inhibidores sobre las funciones celulares del anticuerpo tras la agregación a IgG [338,339]. Entre los procesos celulares en los que están implicados se incluyen la inflamación medida por anticuerpos, proliferación de linfocitos B, maduración de DCs y regulación de citoquinas [340]. La interacción de los FcγR con la región Fc de las TB ocasiona liberación de citoquinas, apoptosis, citotoxicidad dependiente de anticuerpos y eliminación de

complejos inmunes a través de macrófagos [338,339,341,342]. Existen diferentes tipos de FcγR, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16), en los que la afinidad por la región Fc de IgG puede variar modificando la respuesta a terapias biológicas [339]. Se han estudiado SNPs en los genes *FCGR2A*, *FCGR2B* y *FCGR3A* (cromosoma 1q23.3) de los receptores FcγR, que podrían afectar a la estabilidad de unión de la región Fc de las TBs.

El FcγRII se expresa en neutrófilos, macrófagos y monocitos. El SNP *FCGR2A* rs1801274 (A > G) produce una sustitución de histidina por arginina en la posición 131 (His131Arg) [343,344]. Estudios previos en otras patologías mostraron que el *FCGR2A* con His en lugar de Arg en la posición 131 se traducía en una mayor afinidad por IgG1 [345]. El receptor FcγRIIb, es un receptor inhibitor de IgG, cuyos SNPs que se han correlacionado con la regulación negativa de la expresión de FcγRIIb en las células B y la regulación positiva de las respuestas de anticuerpos IgG [346,347]. Algunos de estos SNPs son *FCGR2B* rs3219018 (G > C) y *FCGR2B* rs1050501 (T > C).

El FcγRIIIa se expresa en macrófagos, DCs y células NK [348]. El SNP *FCGR3A* rs396991 (A > C) produce una sustitución de fenilalanina por valina en la posición 158 (Phe158Val). En estudios previos con otras TBs muestran que la variante de baja afinidad *FCGR3A*-p.158Phe se asocia con un menor aclaramiento de la TB y consecuentemente con una mejor respuesta terapéutica [345]. El segundo sitio polimórfico en el dominio extracelular se corresponde con *FCGR3A* rs10127939, que se encuentra en el residuo de aminoácido 66 y es trialélico, produciendo un cambio de leucina por arginina o histidina (L66R/H), que inhibe la glicosilación y esto a su vez puede influir en la afinidad de unión del ligando por FcγRIIIa [349].

2.10.3. IL1RL1

La IL-1 es una citocina proinflamatoria de los linfocitos Th2 y su expresión se encuentra aumentada en asma ya que promueve la activación de los linfocitos T y por consiguiente, la promoción en el recuento de eosinófilos [350]. Recientemente se ha informado que IL-33 pertenece a la familia de las IL-1, con capacidad para la producción de Th2. Sus funciones están mediadas por el receptor de IL-1 (IL1RL1), que da lugar a la liberación de mediadores alérgicos y eosinófilos, como IL-5 e IL-13, lo que tiene como resultado un aumento del recuento de eosinófilos y la inflamación eosinofílica [351], lo que podría influir en la respuesta a mepolizumab y benralizumab. El gen *IL1RL1* ha sido estudiado en múltiples GWAS como gen de susceptibilidad al desarrollo de asma, la respuesta del tratamiento con corticoides inhalados y un aumento significativo de la IgE sérica [311–315], pudiendo verse afectada la respuesta a omalizumab.

IL1RL1 se encuentra en el cromosoma 2q12. Los SNPs rs1420101 (C > T), rs17026974 (G > A), rs1921622 (G > A) pueden actuar como promotores de la respuesta inflamatoria de tipo 2 en las vías respiratorias, con mayores recuentos de IgE sérica, alta eosinofilia y menor reversibilidad de FEV1, sin embargo, no se ha estudiado su relación con la respuesta a TBs [313,314,352]

2.10.4. IL5

Como se ha descrito anteriormente la IL-5 es el factor biológico más importante responsable de la diferenciación, el crecimiento, la activación, la supervivencia y el reclutamiento de eosinófilos en las vías respiratorias. Existen estudios que asocian polimorfismos de nucleótido único en el gen de *IL5* con asma atópica, un aumento de la expresión de ARNm de IL5, una función disminuida de la función pulmonar y con el recuento eosinofílico [353,354]

El gen *IL5* se encuentra en el cromosoma 5q31. En este gen se reconocen dos SNPs, rs4143832 (G > T) y rs17690122 (A > G) relacionados con el recuento de eosinófilos y los niveles de IL-5 en asma e infarto de miocardio, pero se desconoce su papel en la respuesta a estas TBs [313].

2.10.5. RAD50

La IL-5 es fundamental para la maduración y diferenciación de eosinófilos. Por el contrario, los gránulos específicos de eosinófilos pueden almacenar IL-5, lo que indica que estas células también podrían contribuir a aumentar los niveles circulantes de IL-5 [355,356]. Otros autores plantearon que la proteína reparadora de roturas de doble hebra, RAD50, podría actuar como factor común regulando los niveles de IL-5. Se han detectado SNPs en este gen fuertemente ligados a los niveles de IL-5 y eosinofilia [357], lo que podría afectar a la respuesta terapéutica de las TBs anti IL-5.

RAD50 es un gen codificador de proteínas que se ubica en el cromosoma 5q31.1, en él se han estudiado dos SNPs, rs11739623 (C > T) y rs4705959 (T > C), en los que se postula un posible efecto sobre la expresión de RAD50, lo que podría influir en los niveles de IL-5 y eosinófilos [357]. No se ha estudiado su asociación con la respuesta a las TBs anti IL-5, pero un estudio previo mostró asociación del alelo *RAD50* rs4705959-T con niveles aumentados de eosinófilos y menores niveles de IL-5, lo que podría justificar una mejor respuesta [357].

2.10.6. C3

En el asma alérgica el papel patogénico de la IgE depende de su unión, a través de los dominios Cε3 a receptores de alta afinidad (FcεRI) y baja afinidad (FcεRII/CD23) expresados por muchas células [34].

El polimorfismo C3 rs2230199 (G>C) produce un cambio de Arginina por Glicina en la posición 102 (p.Arg102Gly), dando lugar a una variante sin sentido que altera parcialmente la funcionalidad del complemento en el asma [358]. No se ha estudiado previamente la relación de este SNP con la respuesta a omalizumab, pero si hay autores que asocian cambios en la funcionalidad del gen con alteraciones en la producción de IL-4 y las respuestas IgE e IgG específicas [358], lo que conduce a pensar que si se altera la funcionalidad del gen también podría verse alterada la unión de omalizumab a IgE.

2.10.7. GATA2

La proteína de unión a GATA2, miembro de la familia de los factores de transcripción GATA, tiene un papel fundamental en la diferenciación de mastocitos. Los mastocitos presentan FcεRI en la superficie celular que se une selectivamente a la IgE desencadenando la reacción alérgica [359]. GATA2 se unen a la región promotora de FcεRIα y al promotor de FcεRIβ, regulando a la expresión FcεRI y la actividad de desgranulación mediada por IgE [360].

El gen *GATA2* se encuentra localizado en el cromosoma 3q21. Estudios previos remarcan el importante papel de *GATA2* como factor de transcripción que actúa regulando la hematopoyesis, participando principalmente en la diferenciación de las células Th2. Se ha asociado el SNP *GATA2* rs4857855 con recuentos elevados de eosinófilos [313,360], pero no ha sido estudiado su papel en la respuesta a TBs.

2.10.8. IKZF2

El gen *IKZF2* pertenece a la familia IKAROS de proteínas zinc-finger. Los miembros de esta familia son factores de transcripción hematopoyéticos específicos del desarrollo de linfocitos [361]. Estudios asocian la presencia de SNPs en este gen con el recuento de eosinófilos en asma [313,353].

IKZF2 se ubica en el cromosoma 2q13. Este gen no se ha relacionado con la biología de eosinófilos, pero es un regulador del desarrollo y diferenciación de linfocitos a través de la regulación transcripcional [362]. De forma previa se ha asociado este SNP con elevados recuentos de eosinófilos en sangre [313].



OBJETIVOS

3. HIPÓTESIS

Los marcadores clínicos, sociodemográficos y genéticos podrían actuar como predictores de respuesta al tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab en pacientes diagnosticados asma grave no controlada.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

Evaluar la influencia de SNPs en los genes *IL1RL1*, *IL5*, *GATA2*, *IKZF2*, *RAD50*, *C3*, *FCER1A*, *FCER1B*, *FCGR2A*, *FCGR2B* y *FCGR3A*, factores clínicos y bioquímicos, como marcadores predictores de la respuesta al tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab tras 12 meses, en pacientes diagnosticados de asma grave no controlada.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar los SNPs **rs1420101** (*IL1RL1*), **rs17026974** (*IL1RL1*), **rs1921622** (*IL1RL1*), **rs4143832** (*IL5*), **rs17690122** (*IL5*), **rs4857855** (*GATA2*), **rs12619285** (*IKZF2*), **rs11739623** (*RAD50*), **rs4705959** (*RAD50*), **rs2251746** (*FCER1A*), **rs2427837** (*FCER1A*), **rs1441586** (*FCER1B*), **rs573790** (*FCER1B*), **rs1054485** (*FCER1B*), **rs2230199** (*C3*), **rs1801274** (*FCGR2A*), **rs3219018** (*FCGR2B*), **rs1050501** (*FCGR2B*), **rs10127939** (*FCGR3A*) y **rs396991** (*FCGR3A*) en pacientes tratados con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.
- Medir la efectividad de omalizumab, mepolizumab y benralizumab según la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, a 12 meses desde el inicio del tratamiento, en los pacientes con asma grave no controlada.
- Evaluar la influencia de las variables independientes: sexo, edad de diagnóstico de asma, edad de inicio de tratamiento de la TB, años con asma, duración de la TB, tabaquismo, IMC, enfermedad respiratoria previa, poliposis, alergias, EPOC, ERGE, SAHS, dosis de GCI, ciclos de GCO durante el año previo a la TB, %FEV1, exacerbaciones durante el año previo, recuento de eosinófilos en sangre, IgE y TB previa; con la efectividad del tratamiento, es decir, respuesta a la reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, tras 12 meses desde el inicio de omalizumab, mepolizumab o benralizumab.

- Evaluar la asociación existente entre los genotipos obtenidos de los SNPs analizados y los parámetros determinantes de la efectividad del tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.



MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional de cohortes retrospectivo.

5.2. Declaración ética

Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki, bajo la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) (Anexos 1, 2 y 3). Los sujetos participantes en el estudio recibieron una hoja de información sobre el proyecto (Anexo 4) y firmaron un consentimiento informado para la recogida y análisis genético de las muestras de saliva, y su donación al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía (Anexo 5) y. La identificación de las muestras se realizó con una codificación alfanumérica.

5.3. Población y ámbito de estudio

Pacientes diagnosticados de asma grave no controlada en tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.

5.4. Alcance geográfico y temporal

El estudio incluyó 282 pacientes diagnosticados de asma grave no controlada en tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab entre 2007 y 2022 en el Servicio de Neumología y en el Servicio de Farmacia del HUVN.

5.5. Criterios de inclusión

- Pacientes caucásicos.
- Edad mayor de 18 años.
- Pacientes diagnosticados de asma grave no controlada, según los criterios de clasificación de la GEMA.
- Pacientes tratados con terapias biológicas: omalizumab (administración subcutánea, dosis de 75 mg a 600 mg, según la concentración inicial de IgE y el peso del paciente, cada 2 o 4 semanas), mepolizumab (subcutánea, 100 mg cada 4 semanas) y

benralizumab (30 mg cada 4 semanas las tres primeras dosis y posteriormente cada 8 semanas).

- Periodo de seguimiento de, al menos, 12 meses desde el inicio de la terapia biológica.
- Pacientes que aceptaron participar de forma voluntaria en el estudio y firmaron el consentimiento informado de acuerdo con la Ley 14/2007 de Aceptación de Investigación Biomédica.

5.6. Criterios de exclusión

- Pacientes que se nieguen a participar en el estudio.
- Mujeres embarazadas, en periodo de lactancia o que quieran quedarse embarazadas durante el periodo del estudio.
- Pacientes con hipersensibilidad a omalizumab, mepolizumab, benralizumab, o a cualquiera de los excipientes contenidos en las fórmulas farmacéuticas.
- Pacientes con historia clínica no disponible para hacer el seguimiento.

5.7. Variables

5.7.1. Variables dependientes o de respuesta

5.7.1.1. Medidas de la respuesta

Siguiendo las recomendaciones del Documento de Consenso de Asma Grave 2020 de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), las variables seleccionadas como variables de respuesta fueron las siguientes:

- Reducción de ciclos de GCO, considerando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% de los ciclos o ausencia de ciclos de GCO durante los 12 primeros meses del tratamiento.
- Reducción del GCO de mantenimiento, considerando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% del GCO de mantenimiento o ausencia, durante los 12 meses de seguimiento.
- Mejora de la función pulmonar, considerando una respuesta satisfactoria en el aumento de al menos un 10% en el FEV1 o consiguiendo valores de FEV1 > 80% tras 12 meses de tratamiento.

- Reducción de exacerbaciones con requerimiento de urgencia y/o hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% o la ausencia de exacerbaciones durante los 12 primeros meses de tratamiento.

Por consiguiente, la evaluación de la respuesta al tratamiento con estas tres TBs se realizó utilizando tres variables dependientes: reducción de GCO, mejora de la función pulmonar y reducción de exacerbaciones, tras 0 y 12 meses de terapia con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.

5.7.2. Variables independientes

5.7.2.1. Variables sociodemográficas

- Edad de diagnóstico de AGNC. Edad del paciente a la fecha del diagnóstico de la enfermedad. Variable cuantitativa continua.
- Edad de inicio de la TB. Edad del paciente a la fecha de inicio de tratamiento con la TB. Variable cuantitativa continua.
- Sexo (H/M). Variable cualitativa nominal.
- Hábito tabáquico. Variable cualitativa nominal que toma los valores de: fumador/exfumador/no fumador.
- IMC. Variable cualitativa nominal que toma los valores de: bajo peso ($IMC < 18,5$), peso saludable ($18,5 < IMC < 24,9$), sobrepeso ($25 < IMC < 29,9$) y obesidad ($IMC > 40$).

Estas variables se recogieron a partir de las historias clínicas de los pacientes, procedentes de los datos recogidos por el neumólogo.

5.7.2.2. Medidas bioquímicas y biológicas

- Eosinófilos. Variable cuantitativa continua (Valores normales: 1-10 mm/H).
- IgE. Variable cuantitativa continua (Valores normales: 1-10 mm/H).

Los valores de eosinófilos e IgE se obtuvieron a partir de las analíticas realizadas a los pacientes a los 0 y 12 meses desde el inicio de la TB.

5.7.2.3. Medidas físicas

- Asthma Control Test (ACT). Valoración por parte del paciente de 5 preguntas relacionadas con la frecuencia de los síntomas asmáticos y el uso de medicación de rescate que ha precisado en las 4 semanas previas. Toma valores de 5-25.

Estos parámetros fueron recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes, procedentes de los datos recogidos por el neumólogo.

5.7.2.4. Variables clínicas

- Duración de la enfermedad (años). Desde el diagnóstico hasta el inicio de la TB. Variable cuantitativa continua.
- Enfermedad respiratoria diferente al asma. Variable cualitativa nominal.
- Pólipos. Variable cualitativa nominal.
- Alergias. Variable cualitativa nominal.
- ERGE. Variable cualitativa nominal.
- SAHS. Variable cualitativa nominal.
- EPOC. Variable cualitativa nominal.
- GCI de mantenimiento ($\mu\text{g}/\text{día}$). Variable cuantitativa continua que se expresa como equivalentes de propionato de fluticasona.
- Ciclos de GCO (n/año). Variable cuantitativa continua.
- Ciclos de GCO. Variable cualitativa nominal.
- GCO de mantenimiento ($\text{mg}/\text{día}$). Variable cuantitativa continua que se expresa como equivalentes de prednisona.
- GCO de mantenimiento. Variable cualitativa nominal.
- %FEV1. Variable cualitativa nominal que toma los valores $<80\%$ y $>80\%$.
- Exacerbaciones (n/año). Variable cuantitativa continua.
- Exacerbaciones. Variable cualitativa nominal.

Estos parámetros fueron recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes, procedentes de los datos recogidos por el neumólogo.

5.7.2.5. Variables farmacoterapéuticas

- Duración de la TB (años). Variable cuantitativa continua.
- TB previa. Variable cualitativa nominal.
- Cambio de TB. Variable cualitativa nominal.

Estos parámetros fueron recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes, procedentes de los datos recogidos por el neumólogo y el farmacéutico hospitalario encargado de la unidad de pacientes externos.

5.7.2.6. Variables genéticas

- Estatus de los marcadores genéticos. Variable cualitativa ordinal que toma los valores Homocigoto AA/Homocigoto aa/Heterocigoto Aa.

Las variables genéticas fueron obtenidas a partir de los análisis de detección de SNPs realizados en la unidad de farmacogenética del servicio de farmacia del HUVN.

5.7.2.6.1. Extracción y purificación de ADN

Las muestras de saliva se recogieron en hisopos bucales (Kit OCR-100). La extracción de ADN se realizó utilizando el kit de extracción *QIAamp DNA Mini* (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania), siguiendo las especificaciones proporcionadas por el fabricante para la purificación de ADN a partir de saliva y se almacenó a -40°C. La concentración y la pureza del ADN se midieron con el espectrofotómetro de UV *NanoDrop 2000* mediante la relación de absorbancia a 260/280 y 260/230.

5.7.2.6.2. Análisis de polimorfismos genéticos mediante Real Time PCR

La identificación de genotipos de los SNPs *IL1RL1* C>T (rs1420101), *IL1RL1* G>A (rs17026974), *IL1RL1* G>A (rs1921622), *IL5* T>G (rs4143832), *IL5* A>G (rs17690122), *GATA2* C>T (rs4857855), *IKZF2* A>G (rs12619285), *RAD50* C>T (rs11739623), *RAD50* T>C (rs4705959), *FCER1A* T>C (rs2251746), *FCER1A* G>A (rs2427837), *FCER1B* T>C (rs1441586), *FEER1B* T>C (rs573790), *FCER1B* T>G (rs1054485), *C3* G>C (rs2230199), *FCGR2A* A>G (rs1801274), *FCGR2B* A>G (rs3219018), *FCGR2B* G>C (rs1050501), *FCGR3A* T>C (rs10127939) y *FCGR3A* A>C (rs396991) se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (Real Time PCR) con sondas TaqMan™ específicas de alelo. Los assay ID utilizados se muestran en la *Tabla 7*. La técnica y el análisis se llevaron a cabo en el Applied Biosystem StepOne Real Time PCR System (*ABI Applied Biosystems, 7300 Real-Time PCR System, Foster City, CA, USA*). Los ensayos TaqMan™ se basan en la composición química de 5' nucleasa, que utiliza una sonda fluorogénica para habilitar la detección de un producto de PCR específico conforme se acumula durante la PCR. Los reactivos TaqMan™ contienen sondas con diferentes fluorocromos el extremo 5' y uniones al surco menor (MGB) y supresores no fluorescente (NFQ) en el extremo 3'. El fluorocromo VIC se encuentra unido en el extremo 5' de la sonda del alelo 1 y el FAM al extremo 5' de la sonda del alelo 2. El NFQ, mientras la sonda permanece intacta, inhibe la fluorescencia que emite el fluorocromo por medio de transferencia de energía de resonancia de Förster (FRET). Cuando la sonda hibrida, ocurren cambios conformacionales en fluorocromo y el NFQ, lo cual permite que la actividad exonucleasa 5'-3' de la Taq polimerasa rompa esta unión, logrando que la fluorescencia emitida

por el fluorocromo sea liberada y capturada por el equipo. En cada ciclo se separan más moléculas de fluorocromo de las sondas específicas, produciéndose un aumento de la intensidad de fluorescencia, que será proporcional a la cantidad de amplicón producido. En función del genotipo que presente el ADN del individuo, emitirá fluorescencia el fluorocromo VIC, el FAM o ambos.

Las condiciones de reacción de PCR fueron: 1) inició el proceso con la desnaturalización a 95°C durante 10 minutos; 2) 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 segundos 3) extensión a 60°C durante 60 segundos.

El 10% de los resultados fue confirmado mediante secuenciación Sanger. Los criterios para el control de calidad de los SNPs fueron (1) tasa de genotipos perdidos por SNP < 0.05; (2) frecuencia de alelos menores > 0.01; (3) valor p > 0.05 en el test de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE); (4) tasa de genotipos perdidos entre casos y control < 0.05.

Tabla 7. Características de los SNPs utilizados y metodología de análisis.

Gene	SNP	dbSNP ID	Assay ID
<i>IL5</i> (5q31)	T>G	rs4143832	C_28028637_10
	A>G	rs17690122	C_33291516_10
<i>RAD50</i> (5q31.1)	C>T	rs11739623	C_31237883_10
	T>C	rs4705959	C_2549990_10
<i>FCER1A</i> (1q23)	T>C	rs2251746	C__1840470_20
	G>A	rs2427837	C_16233438_20
<i>FCER1B</i> (11q12-13)	T>C	rs1441586	C__1842226_10
	T>C	rs573790	C__900105_20
	T>G	rs1054485	C__2932371_10
	A>G	rs569108	C__900116_10
<i>IKZF2</i> (2q13)	A>G	rs12619285	C__1861821_10
<i>FCGR2A</i> (1q23.3)	A>G	rs1801274	C__9077561_20
<i>FCGR2B</i> (1q23.3)	G>C	rs3219018	ANPRZAZ
	T>C	rs1050501	ANRWUVX
<i>FCGR3A</i> (1q23.3)	A>C	rs10127939	C_57480226_10
	A>C	rs396991	C_25815666_10
<i>IL1RL1</i> (2q12)	C>T	rs1420101	C__8906009_20
	G>A	rs17026974	C_33551182_10
	G>A	rs1921622	C__1226146_10
<i>GATA2</i> (3q21)	C>T	rs4857855	C_11231076_10

5.8. Variables de respuesta

Para evaluar los predictores de respuesta a los 12 meses se tomaron como variables respuesta: la reducción de los ciclos de GCO anuales, considerando respuesta satisfactoria la reducción de al menos el 50% de los ciclos o ausencia de GCO; la mejora de la función pulmonar, considerando respondedores a aquellos que consiguieron un aumento de al menos el 10% del FEV1 o un FEV1>80% tras los 12 meses de tratamiento; y la reducción de las exacerbaciones anuales con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria a aquellos pacientes que lograron una reducción de al menos el 50% de las exacerbaciones o ausencia.

En adicción, se tomaron como variables respuesta, la respuesta a al menos 1 de los criterios anteriormente citados; la respuesta a al menos 2 criterios; y la respuesta a los 3 criterios.

5.9. Análisis estadístico

El análisis descriptivo se realizó con el software *R 4.2.0* [363]. Las variables cuantitativas se expresaron como la media \pm desviación estándar (DE) para aquellas que cumplían la normalidad, y como la mediana (p50) y los percentiles (p25 y p75) para las variables que no seguían una distribución normal. La normalidad se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnof.

Las variables clínicas responsables de la respuesta se compararon antes y después del tratamiento mediante la prueba de McNemar para variables cualitativas. Para variables cuantitativas que cumplían la normalidad se empleó el test T para datos emparejados y, para las variables no normales la prueba U de Mann-Whitney (Prueba de suma de rangos de Wilcoxon). Los resultados se consideraron significativo cuando $p\text{-valor} < 0.05$.

El análisis bivalente entre la respuesta y las variables sociodemográficas, clínicas y genéticas se realizó mediante el Test de chi-cuadrado de Pearson, o, aplicando el Test exacto de Fisher para las variables cualitativas. Para las variables cuantitativas se aplicó el Test de la t-Student a las variables que cumplieron la normalidad. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para variables no normales. Los modelos genéticos fueron definidos como: alélico (D vs. d), dominante ((DD, Dd) vs. dd), recesivo (DD vs. (Dd, dd) genotípico (DD vs. dd, y Dd vs. dd) y aditivo, siendo D, el alelo menor y d, el alelo mayor. Para cada variable independiente se calcularon la razón de probabilidad ajustada (OR) y el intervalo de confianza del 95 % (IC del 95 %). La probabilidad de 0.05 o menor fue considerada como estadísticamente significativa.

El análisis multivariante (regresión logística) se utilizó para calcular la OR y el IC95% para los potenciales factores de pronósticos de respuesta. Para la selección de las variables incluidas en el modelo multivariante se utilizó la técnica de “pasos hacia atrás”, que considera como criterio de entrada un valor de $p < 0.05$. La probabilidad de 0.05 o menor fue considerada como estadísticamente significativa.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg, la frecuencia de haplotipos, y el desequilibrio de ligamiento (LD) a través de los coeficientes D-primo de Lewontin (D') y el coeficiente de desequilibrio de ligamiento (r^2). El desequilibrio de ligamiento para cada polimorfismo se calculó a través del programa de análisis de asociación del genoma *PLINK* [364]. El análisis de las frecuencias de haplotipos se llevó a cabo con los programas *HaploView* [365] y *SNPstats* [366], herramientas web para el análisis de estudios de asociación.



RESULTADOS

6. RESULTADOS

Los resultados del presente estudio, así como la discusión se presentan estructurados en cuatro artículos científicos.

El primero y el segundo de los artículos originales dan respuesta al segundo y tercer objetivo del estudio:

Segundo objetivo: Medir la efectividad de omalizumab, mepolizumab y benralizumab según la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, a 12 meses desde el inicio del tratamiento, en los pacientes con asma grave no controlada.

Tercer objetivo: Evaluar la influencia de las variables independientes: sexo, edad de diagnóstico de asma, edad de inicio de tratamiento de la TB, años con asma, duración de la TB, tabaquismo, IMC, enfermedad respiratoria previa, poliposis, alergias, EPOC, ERGE, SAHS, dosis de GCI, ciclos de GCO durante el año previo a la TB, %FEV1, exacerbaciones durante el año previo, recuento de eosinófilos en sangre, IgE y TB previa; con la efectividad del tratamiento, es decir, respuesta a la reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejora de la función pulmonar, tras 12 meses desde el inicio de omalizumab, mepolizumab o benralizumab.

❖ **Rojo-Tolosa, S.;** González-Gutiérrez, M.V.; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 523

❖ **Rojo-Tolosa, S.;** González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 2011.

El tercero y el cuarto de los artículos originales dan respuesta los objetivos primero y cuarto del estudio:

Primer objetivo: Determinar los SNPs rs1420101 (*IL1RL1*), rs17026974 (*IL1RL1*), rs1921622 (*IL1RL1*), rs4143832 (*IL5*), rs17690122 (*IL5*), rs4857855 (*GATA2*), rs12619285 (*IKZF2*),

rs11739623 (*RAD50*), rs4705959 (*RAD50*), rs2251746 (*FCER1A*), rs2427837 (*FCER1A*), rs1441586 (*FCER1B*), rs573790 (*FCER1B*), rs1054485 (*FCER1B*), rs2230199 (*C3*), rs1801274 (*FCGR2A*), rs3219018 (*FCGR2B*), rs1050501 (*FCGR2B*), rs10127939 (*FCGR3A*) y rs396991 (*FCGR3A*) en pacientes tratados con omalizumab, mepolizumab y benralizumab

Cuarto objetivo: Evaluar la asociación existente entre los genotipos obtenidos de los SNPs analizados y los parámetros determinantes de la efectividad del tratamiento con omalizumab, mepolizumab y benralizumab.

- ❖ **Rojo-Tolosa, S.;** Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype. *Int. J. Mol. Sci.* **2023** (*Pendiente de publicación*).

- ❖ **Rojo-Tolosa, S.;** Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Morales-García, C; Pérez-Ramírez, C; Jiménez-Morales, A. Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype. *Pharmaceutics* **2023**. (*Pendiente de publicación*).

IMPACTO DE OMALIZUMAB EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA Y POSIBLES BIOMARCADORES PREDICTORES DE RESPUESTA: ESTUDIO EN VIDA REAL

Susana Rojo-Tolosa^{1,2,3,*}, María Victoria González Gutiérrez¹, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Gonzalo Jiménez-Gálvez¹, Laura Elena Pineda-Lancheros^{2,3,*}, José María Gálvez-Navas^{2,3}, Alberto Jiménez-Morales[‡], Cristina Pérez-Ramírez³ and Concepción Morales-García^{‡1}.

1. Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
2. Unidad de Farmacogenética, Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
3. Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

* Autor de correspondencia

‡ Autor co-senior

Abstract

Asthma is a chronic respiratory disease with a high incidence worldwide. Most patients with asthma can control their symptoms with a basic standard of medical care and with maintenance and rescue medication. However, between 5% and 10% of asthmatics worldwide do not achieve control of symptoms and have recurrent exacerbations and respiratory difficulties. The objective of the study was real-life evaluation of the clinical improvement of patients with severe eosinophilic asthma treated with omalizumab, together with the search for biomarkers associated with the response. An observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled eosinophilic asthma being treated with biological therapies in a tertiary hospital. Three types of response were evaluated: lower use of oral corticosteroids, improvement in lung function and reduction of exacerbations. A total of 110 patients under treatment with omalizumab were included, with a mean age of 48 ± 16 years. After 12 months of evaluation of the treatment had elapsed, significant reductions were found in the number of exacerbations, use of oral corticosteroids and doses of inhaled corticosteroids ($p < 0.001$). Lung function improved with significant increases in the percentage of FEV1 ($p < 0.001$), eosinophil levels were significantly reduced ($p = 0.004$) and a significant increase in asthma control was achieved ($p = 0.004$). Low scores in the Asthma Control Test were associated with the oral corticosteroid-saving effect; lower previous FEV1 levels and absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were related to improvement in lung function, and prior FEV1 values higher than 80% and absence of gastroesophageal reflux disease (GERD) with reduction of exacerbations. The results of this study confirm the clinical benefit obtained after the introduction of omalizumab and the possible predictive biomarkers of response to the treatment.

Keywords: severe uncontrolled asthma; omalizumab; effectiveness; biomarkers.

Introducción

El asma es una enfermedad respiratoria crónica con una alta incidencia a nivel mundial, que se caracteriza por una obstrucción crónica de las vías respiratorias que ocasiona patrones de inflamación y remodelación bronquial [1–3]. La mayoría de los pacientes con asma pueden controlar sus síntomas mediante un estándar básico que incluye medicamentos de control o mantenimiento, que se administran durante periodos prolongados, incluyendo glucocorticoides inhalados (GCI), antagonistas de los receptores de leucotrienos y agonistas β 2 adrenérgicos de acción prolongada, y medicamentos de rescate que se utilizan a demanda para aliviar de forma rápida o prevenir la broncoconstricción [4–7]. Sin embargo, a pesar de la adaptación de la terapia estándar a las necesidades del paciente, entre el 5 y el 10% de los asmáticos a nivel mundial no consiguen un control de los síntomas, presentando exacerbaciones de forma recurrente y una falta de control de los síntomas respiratorios [8,9]. La Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA) y la Global Initiative for Asthma (GINA) consideran a estos pacientes como casos de asma grave no controlada y según sus indicaciones para el tratamiento, escalón 6 de GEMA y escalón 5 de GINA, se aconseja la introducción de terapias biológicas adaptadas al fenotipo/endotipo del paciente para incrementar el control global de la enfermedad [6,7].

La IgE es un tipo de anticuerpo relacionado con hipersensibilidad y reacciones alérgicas, que provoca una respuesta inmunitaria al unirse al receptor de alta afinidad Fc ϵ RI localizado en la superficie de mastocitos y basófilos, promoviendo la liberación de mediadores inflamatorios [10].

Omalizumab (Xolair®) es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une selectivamente a la inmunoglobulina E (IgE) y previene su unión al receptor Fc ϵ RI en basófilos y mastocitos, reduciendo así la cantidad de IgE libre disponible para desencadenar la cascada alérgica [11,12]. Al impedir la unión de la IgE a los receptores Fc ϵ RI, omalizumab consigue una reducción del 97% de estos receptores expresados en la superficie de mastocitos y basófilos [13]. Además, debido a la unión de omalizumab con la IgE libre, los niveles de IgE en sangre disminuyen entre un 96-99% y el agotamiento de IgE libre conlleva a que los receptores Fc ϵ RI de la membrana plasmática de los basófilos se trasladen al citoplasma y no se resinteticen [14,15].

Aunque se han realizado múltiples ensayos clínicos controlados aleatorizados que han demostrado la eficacia y seguridad de omalizumab [16-30], no reflejan las situaciones que se dan en la práctica clínica habitual ya que han sido desarrollados en condiciones óptimas con estrictos criterios de inclusión y exclusión. En consecuencia, los estudios de la vida real se han vuelto cada vez más importantes para respaldar los resultados informados por los ensayos clínicos. Ahora hay estudios de la vida real que demuestran la eficacia de omalizumab [31-36]

Estos estudios incluyen diversos grupos de participantes, por lo que se necesitan estimaciones agrupadas precisas para evaluar la eficacia y determinar los biomarcadores que predicen la respuesta en poblaciones específicas. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad del tratamiento con omalizumab e identificar marcadores predictivos de respuesta en pacientes caucásicos del sur de España.

Material y métodos

Estudio en vida real de cohortes retrospectivo observacional.

Población de estudio

Este estudio incluyó a 113 pacientes mayores de 18 años y de origen caucásico diagnosticados de AGNC según los criterios de la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA 5.1), reclutados en el Servicio de Neumología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada entre marzo de 2007 y abril de 2022. De los 113 pacientes reclutados se evaluó la respuesta en 110 pacientes tratados con omalizumab de forma previa al inicio del tratamiento y trascurridos 12 meses desde el comienzo de la terapia biológica. La vía de administración del fármaco fue subcutánea, con dosis de 75 a 600 mg en función de la concentración inicial de IgE y el peso del paciente cada 2 o 4 semanas [37]. El resto de los pacientes no cumplió los criterios de evaluación del estudio.

Variables clínicas y sociodemográficas

Las variables sociodemográficas incluyeron edad, sexo, IMC, hábito tabáquico, años con la enfermedad, poliposis nasal, enfermedad respiratoria previa, alergias, reflujo gastroesofágico (ERGE), síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS), enfermedad obstructiva crónica (EPOC), años con omalizumab, dosis de tratamiento y cambio a otro anticuerpo monoclonal.

Las variables clínicas se recogieron acordes a los 12 meses previos del comienzo del tratamiento con omalizumab y tras cumplir el primer año de tratamiento. Se incluyeron dosis de GCO e GCI, recuento de eosinófilos en sangre, exacerbaciones con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, IgE, función pulmonar como volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1%) y Asthma Control Test (ACT) [38].

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como media (\pm desviación estándar) para aquellas que cumplían con la normalidad y como mediana y percentiles (25 y 75) para las variables que no

seguían una distribución normal. La normalidad se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnof.

Las variables clínicas responsables de la respuesta se compararon antes y después del tratamiento mediante la prueba de McNemar para variables cualitativas. Para variables cuantitativas que cumplían la normalidad se empleó el test T para datos emparejados y, para las variables no normales la prueba U de Mann-Whitney (Prueba de suma de rangos de Wilcoxon). Los resultados se consideraron significativo cuando $p\text{-valor} < 0.05$.

Para evaluar los predictores de respuesta a los 12 meses se tomaron como variables respuesta: la reducción de los ciclos de GCO anuales, considerando respuesta satisfactoria la reducción de al menos el 50% de los ciclos o ausencia de GCO; la mejora de la función pulmonar, considerando respondedores a aquellos que consiguieron un aumento de al menos el 10% del FEV1 tras los 12 meses de tratamiento; y la reducción de las exacerbaciones anuales con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria a aquellos pacientes que lograron una reducción de al menos el 50% de las exacerbaciones o ausencia. Se utilizó un análisis multivariado (regresión logística o lineal) para calcular la razón de probabilidad ajustada (OR) y el intervalo de confianza del 95 % (IC del 95 %) para los posibles factores pronósticos de respuesta a GCO, función pulmonar y exacerbaciones. Todas las pruebas fueron bilaterales, con una probabilidad de 0.05 o menos considerada estadísticamente significativa, y se realizaron utilizando el software de libre acceso R 4.2.0.

Resultados

Características de los pacientes tratados con omalizumab

Las características clínicas y demográficas de los 110 pacientes tratados con omalizumab se describen en la *Tabla 1*. Del total de pacientes el 61.82% eran mujeres (68/110); la media de edad fue de 48.48 ± 16.08 años, con una media de 8.5 [5-13.75] años de duración de la enfermedad y 2.5 [1-5] años en tratamiento con omalizumab. La mayor parte de los pacientes se encontraba en situación de sobrepeso u obesidad, 40% (44/110) y 34.55% (38/110) respectivamente; y el 4.55% eran fumadores (5/110). El 20.91% (23/110) presentó alguna enfermedad respiratoria previa, el 19.09% (21/110) poliposis nasal, el 75.45% (83/110) alergias, el 27.27% (30/110) ERGE, un 18.18% (20/110) SAHS y el 14.55% (16/110) EPOC.

La totalidad de los pacientes el año previo al inicio del tratamiento precisó de GCI con una mediana de 320 [184-640]mg/día y el 77.27% (85/110) requirió GCO con una mediana de 2 [1-

3] ciclos. El FEV1 medio fue del 76.12 ± 21.68 %, y se registró una mediana de eosinófilos en sangre de 250 [127.5-485] cel./ μ l y de 310.45 [142.5-716.25] IU/MI de IgE. El 61.82% (68/110) sufrió al menos una exacerbación durante el año previo al tratamiento y la mediana de ACT fue de 12 [10-16] puntos. De los 110 pacientes el 42.73% requirió de cambio a otro monoclonal para el control del asma.

Tabla 1: Características clínicas y demográficas de los pacientes tratados con omalizumab.

Variables	n	%	Media \pm DE/ p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)
Edad	110	-	48.48 \pm 16.08
Sexo			
M	68	61.82	-
H	42	38.18	-
IMC			
Bajo Peso	1	0.91	-
Normopeso	27	24.55	-
Sobrepeso	44	40	-
Obesidad	38	34.55	-
Hábito tabáquico			
No fumador	77	70	-
Exfumador	28	25.45	-
Fumador	5	4.55	-
Enfermedad respiratoria previa			
Si	23	20.91	-
No	87	79.09	-
Pólipos			
Si	21	19.09	-
No	89	80.91	-
Alergias			
Si	83	75.45	-
No	27	24.55	-
ERGE			
Si	30	27.27	-
No	80	72.73	-
SAHS			
Si	20	18.18	-
No	90	81.82	-
EPOC			
Si	16	14.55	-
No	94	85.45	-
Años con AE	110	-	8.5 [5-13.75]
GCI (mg/día)	110	-	320 [184-640]
Ciclos de GCO en el año previo	110	-	2 [1-3]
Si	85	77.27	-
No	25	22.73	-
FEV1 basal (%)	106	-	76.12 \pm 21.68
<80	62	58.49	-
>80	44	41.51	-

ACT basal	25	-	12 [10-16]
Exacerbaciones en el año previo	110	-	1 [0-2]
	Si	68	61.82
	No	42	38.18
Eosinófilos en sangre basales (cel./ μ l)	100	-	250 [127.5-485]
IgE basal (IU/MI)	96	-	310.45 [142.5-716.25]
Años con omalizumab	110	-	2.5 [1-5]
Dosis de omalizumab (mg/4 semanas)	110	-	450 [300-600]
Cambio de TB			
	Yes	47	42.73
	No	63	57.27

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; EA: asma eosinofílica; GCI: corticoides inhalados; GCO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; ACT: prueba de control del asma; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media \pm desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 -p 75).

Eficacia clínica de omalizumab

La eficacia de omalizumab se evaluó en 110 (97.35%) pacientes de los 113 candidatos al estudio (Tabla 2). El 2.65% de los pacientes (3/113) suspendió el tratamiento por la presencia de efectos adversos.

Tabla 2: Eficacia clínica de omalizumab en pacientes con asma grave no controlada.

Definición de respondedor	N	%
Reducción de GCO \geq 50%		
Si	56	51.38
No	37	33.94
No GCO	16	14.68
Reducción de GCO \geq 50% o ausencia		
Si	71	64.55
No	39	35.45
Incremento del FEV1 \geq 10%		
Si	42	46.15
No	49	53.85
Incremento FEV1 \geq 10% o FEV1 \geq 80%		
Si	71	75.53
No	23	24.47
Reducción de exacerbaciones \geq 50%		
Si	54	49.09
No	18	16.36
No exacerbaciones	38	34.55
Reducción de exacerbaciones \geq 50% o ausencia		

Si	90	81.82
No	20	18.18

GCO: corticosteroides orales; FEV1: volumen espirado máximo en el primer segundo de espiración forzada.

Trascurrido un año de tratamiento con omalizumab la reducción del 50% de GCO fue satisfactoria en el 51.38% (56/110) de los pacientes y el 14.68% (16/110) no precisó de GCO durante el transcurso de los primeros 12 meses con la terapia biológica. El FEV1 (%) sufrió un incremento de al menos un 10% en el 46.15% (42/91) de los casos y el 75.53% (71/94) presentó valores superiores al 80% de FEV1. La reducción de al menos el 50% de exacerbaciones con requerimiento de urgencias y/u hospitalización fue satisfactoria en el 49.09% (54/110) de los pacientes y el 34.55% (38/110) no mostró ninguna exacerbación.

Comparación de las variables clínicas antes y después del tratamiento

Dosis de GCI

Tras 12 meses de terapia biológica con omalizumab, las dosis diarias de GCI presentaron reducciones significativas del 42.50% ($p < 0.001$). Los resultados del análisis comparativo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Cambio de las variables basales después de 12 meses de tratamiento.

Variable independiente	Omalizumab
Dosis GCI (mg/día)	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	320 [184-640]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	184 [92.75-400]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001
Uso de GCO (Si/No)	
Basal, n (%)	85 (77.27)
Seguimiento, n (%)	63 (57.27)
Cambio respecto al valor basal	p<0.001
Ciclos de GCO por año	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	2 [1-3]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0-2]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001
Pacientes con FEV1 > 80%	
Basal, n (%)	44 (41.51)
Seguimiento, n (%)	53 (56.38)
Cambio respecto al valor basal	p=0.745
FEV1 (%)	
basal, media (DE)	76.12 ± 21.68
Seguimiento (DE)	85.53 ± 20.10
Cambio respecto al valor basal	p<0.001
ACT	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	12 [10-16]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	20.5 [16-23]

Cambio respecto al valor basal	p=0.004
Presencia de exacerbaciones (Si/No)	
Basal, n (%)	68 (61.82)
Seguimiento, n (%)	27 (24.55)
Cambio respecto al valor basal	p=0.071
Exacerbaciones por año	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0-2]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0-0]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001
Eosinófilos en sangre (cel./μl)	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	250 [127.5-485]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	215 [120-327.5]
Cambio respecto al valor basal	p=0.004
IgE (IU/ml)	
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	310.45 [142.5-716.25]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	496 [191-852]
Cambio respecto al valor basal	p=0.888

GCI: corticoesteroides inhalados; GCO: corticoesteroides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; ACT: prueba de control del asma; IgE: inmunoglobulina E. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media ± desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p₅₀ (p₂₅ -p₇₅).

Ciclos anuales de GCO

El año previo al comienzo de la terapia biológica se registró un elevado uso de GCO entre los pacientes de estudio, el 77.27% de los pacientes habían precisado al menos un ciclo de GCO. Tras un año de tratamiento con omalizumab, disminuyó significativamente el uso de GCO en un 25.88% (p<0.001, Tabla 3, Figura 1) y paralelamente se produjo una reducción significativa en la mediana de dosis de GCO registradas (p<0.001, Tabla 3, Figura 1).

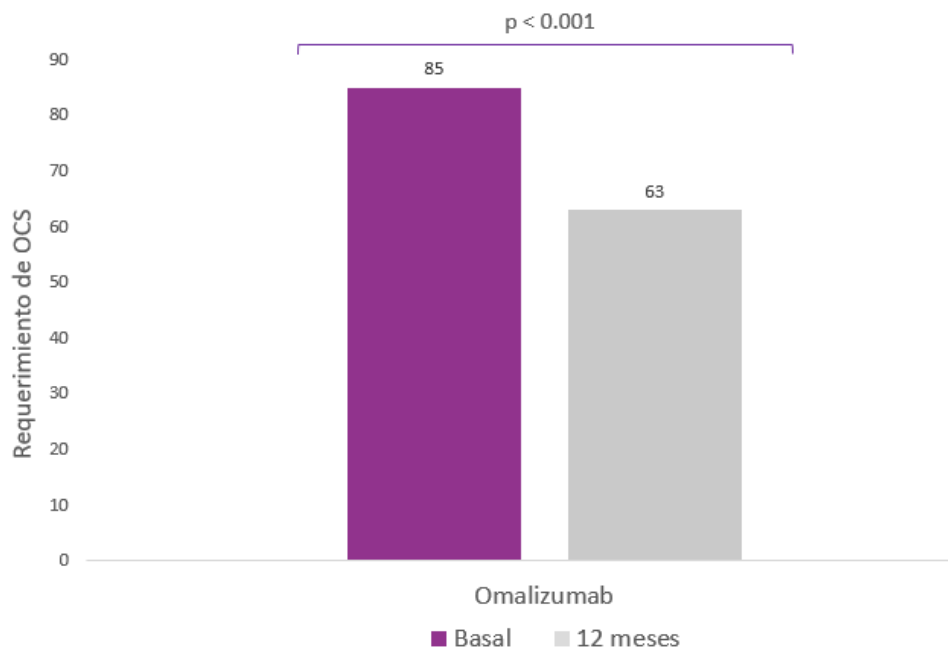


Figura 1. Respuesta clínica a omalizumab: GCO. Pacientes con necesidades de corticosteroides orales durante los 12 meses previos al inicio de omalizumab y en la evaluación de seguimiento tras 12 meses de tratamiento.

Función pulmonar

La función pulmonar incrementó significativamente trascurridos los 12 meses de tratamiento con omalizumab, mostrándose un incremento en la media de FEV1 del 9.41% ($p < 0.001$, Tabla 3, Figura 2). Sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes con valores de FEV1 > 80%.

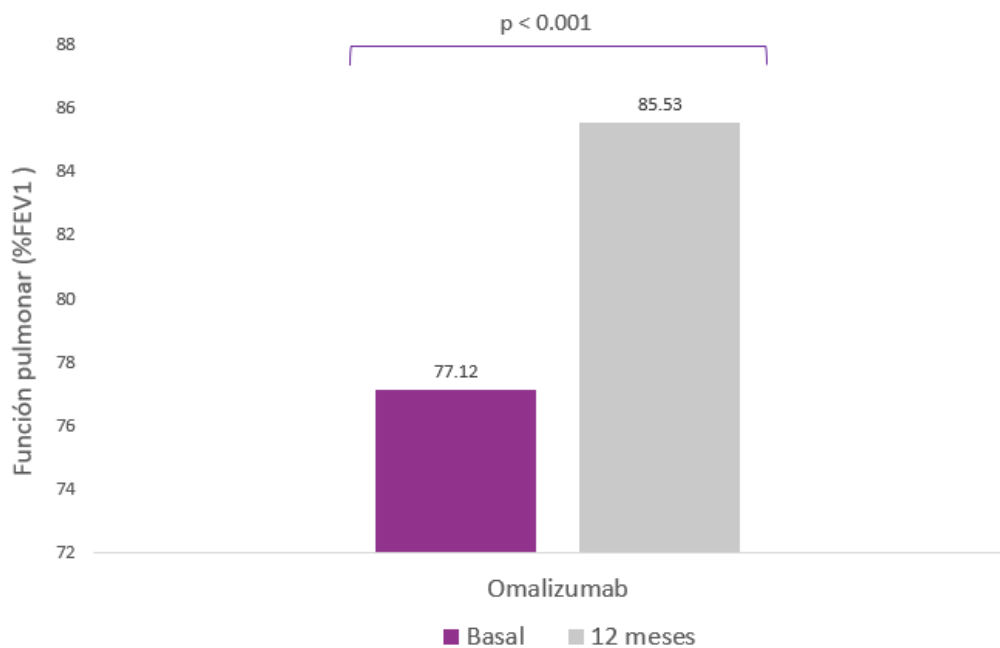


Figura 2. Respuesta clínica a omalizumab: Función pulmonar. Porcentaje medio del volumen espiratorio forzado máximo en el primer segundo de espiración forzada (FEV1) antes de omalizumab y después de 12 meses de tratamiento.

Asthma control test (ACT)

Los pacientes tras la administración de omalizumab tuvieron un incremento significativo en la mediana del ACT de 8.5 puntos (12 a 20.5; $p < 0.004$, Tabla 3).

Frecuencia de exacerbaciones

El porcentaje de pacientes con exacerbaciones disminuyó del 61.82% al 24.55% tras un año de tratamiento con omalizumab ($p = 0.071$, Tabla 3, Figura 3), al igual que la mediana de exacerbaciones ($p < 0.001$, Tabla 3).

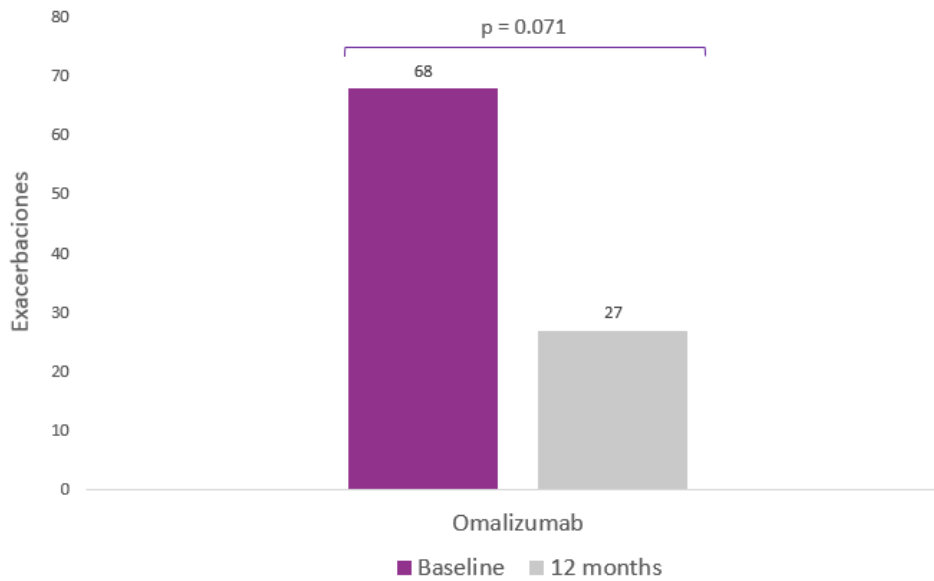


Figura 3. Respuesta clínica a omalizumab: exacerbaciones. Pacientes con exacerbación 12 meses antes de omalizumab y después de 12 meses de tratamiento.

Marcadores inflamatorios

Omalizumab se relacionó con reducciones significativas del recuento de eosinófilos en sangre (Figura 4), con una reducción de la mediana de los recuentos de eosinófilos en sangre del 14% ($p=0.004$, Tabla 3).

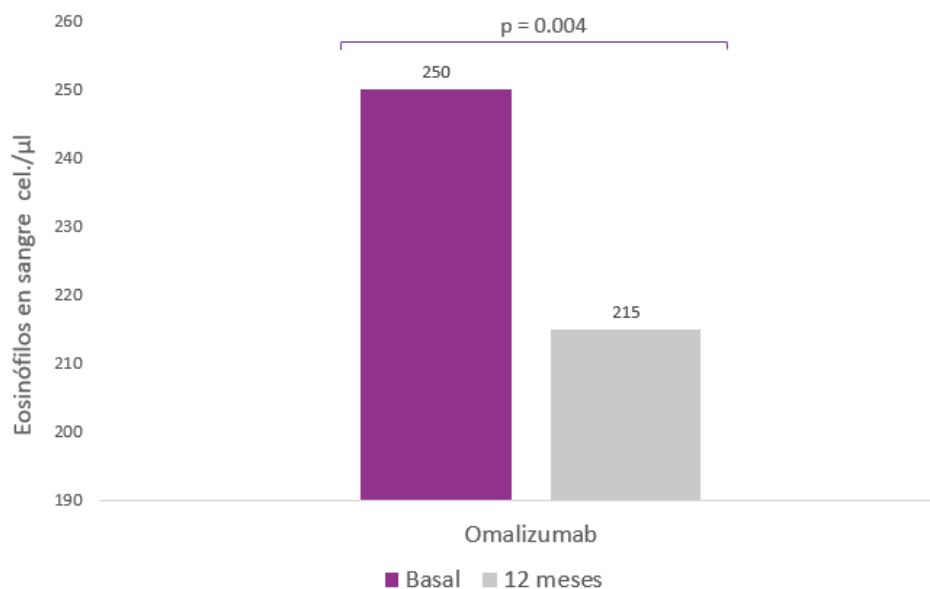


Figura 1. Respuesta clínica a omalizumab: eosinófilos. Mediana de eosinófilos antes y después de 12 meses de tratamiento con omalizumab.

Inmunoglobulina E

No se encontraron cambios estadísticamente significativos en los niveles de IgE tras 12 meses de tratamiento con omalizumab ($p=0.888$, Tabla 3).

Predictores de respuesta a los 12 meses con omalizumab

Respuesta a la reducción de corticoides orales (GCO)

En el análisis bivariante se encontró una mayor respuesta a GCO en pacientes con valores de ACT basal más bajos, mayores niveles de eosinófilos en sangre y dosis de tratamiento cada 4 semanas más bajas (Tabla S1). El análisis multivariante mostró que la variable independiente asociada a la respuesta GCO a los 12 meses fue los menores valores basales de ACT ($OR=0.74$; $IC_{95\%}=0.53-0.97$). Los resultados del análisis multivariado se muestran en la Tabla 4.

Table 4: Predictores de respuesta tras 12 meses de tratamiento con omalizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis multivariante).

	B	Odds Ratio	p-value	IC _{95%}
Predictor de la reducción de GCO				
ACT	-0.2994	0.74	0.045	0.53-0.97
Predictores de la mejora de la función pulmonar				
FEV1	-0.0719	0.93	<0.001	0.90-0.96
EPOC	3.5341	34.26	0.001	5.20-395.88
Predictores de la reducción de exacerbaciones				
ERGE	1.1238	3.08	0.033	0.11-0.92
FEV1 (>80)	1.1759	3.24	0.054	1.06-12.23

GCO: glucocorticosteroides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; ACT: prueba de control del asma; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico. IC_{95%}, intervalo de confianza del 95%. El análisis multivariante se ajustó por ACT, niveles de eosinófilos y dosis de omalizumab para predictores de reducción de GCO; sexo, EPOC y valor FEV1 previo como predictores de mejoría pulmonar; pólipos y ERGE para predictores de reducción de exacerbaciones.

Respuesta de la función pulmonar (FEV1)

En el análisis bivariante, la respuesta satisfactoria de la función pulmonar se asoció a mujeres, ausencia de EPOC ligado al asma y menores valores de FEV1 previos (los valores quedan detallados en la Tabla S2). Tras realizar el análisis multivariante, encontramos que valores iniciales de FEV1 más bajos ($OR=0.93$; $IC_{95\%}=0.90-0.96$; Tabla 4) y la ausencia de EPOC ($OR=34.26$; $IC_{95\%}=5.20-395.88$; Tabla 4) indicaron mayor mejora de la función pulmonar.

Respuesta a la reducción de exacerbaciones

El análisis bivariante asoció a una mayor respuesta la ausencia de pólipos y ERGE, valores previos de FEV1 más altos y el cambio de terapia biológica (los valores se detallan en la Tabla S3). En el análisis multivariante se encontró una asociación significativa con la respuesta en la ausencia de ERGE (OR=3.08; IC_{95%}=1.09-8.77; Tabla 4) y valores previos de FEV1 más elevados (OR=3.24; IC_{95%}=1.06-12.23; Tabla 4).

Discusión

En este estudio, omalizumab se asoció con una mejora significativa en la función pulmonar (FEV1) y el control de los síntomas de asma evaluados mediante el cuestionario ACT y reducciones significativas de la tasa anual de exacerbaciones graves, nivel de eosinófilos en sangre, ciclos anuales de GCO y dosis de GCI. La respuesta al tratamiento con omalizumab conseguida en nuestro estudio está en línea con los estudios previos publicados en vida real, que recogieron Jean Bousquet et al. en el metaanálisis publicado en 2021 donde se encontraron mejoras significativas en la función pulmonar (IC 95 %: 0.03–0.48; $p = 0.02$), tasa anual de exacerbaciones (cociente de riesgo [RR]: 0.41; IC 95 %: 0.30–0.56; $p < 0.01$), la puntuación del cuestionario ACT (diferencia media [DM]: 6.47; IC 95 %: 4.76–8.18), y en la proporción de pacientes que recibieron GCO, que disminuyó significativamente (RR: 0.59; IC 95 %: 0.47–0.75 ; $p < 0.01$) [33]. Cabe señalar que no encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes con valores de FEV1 superiores al 80% tras 12 meses de tratamiento con omalizumab, lo que puede indicar que este biológico logra mejoras en la función pulmonar, pero en muchos casos al tener valores basales de FEV1 muy bajos no se consiguen un incremento tan significativo con el primer año de terapia biológica. En cuanto a los biomarcadores, el análisis multivariante indicó que era más probable tener una respuesta positiva a la reducción de GCO si el sujeto presentaba valores iniciales de ACT más bajos. Como marcadores de respuesta de la función pulmonar, se encontró que la ausencia de EPOC y valores previos de %FEV1 más bajos conducían a una mejor respuesta y, finalmente, la ausencia de ERGE y valores previos de %FEV1 más altos eran los marcadores asociados con una respuesta positiva de reducción de exacerbaciones. La bibliografía previa presenta diferentes resultados, Casale et al. asociaron la mejora de la función pulmonar en aquellos pacientes con un nivel elevado de eosinófilos ($p = 0.011$) y un mayor riesgo de exacerbaciones con omalizumab si el año previo se habían sufrido (OR: 2.19; IC 95%: 1.55-3.08; $p < 0.001$), lo que está en consonancia con nuestro estudio, y no buscaron biomarcadores asociados con el efecto de ahorro de GCO [34]. Otros autores asocian biomarcadores con respuesta global, considerando niveles más bajos de FEV1, un mayor

recuento eosinofílico o mayores niveles de IgE como predictores de respuesta a omalizumab [35-38].

Este estudio, al ser una investigación de la vida real, careció de un grupo de control con placebo, y esto podría considerarse su principal limitación. La ausencia de un grupo de control hace que la magnitud de los resultados observados carezca de la firmeza de una comparación con un grupo de control. Otra limitación inherente a los estudios retrospectivos es la falta de recolección de datos como en el ACT y el tamaño de la muestra. No obstante, aunque los ensayos clínicos aleatorizados siguen siendo el estándar de oro, este tipo de estudios permite extrapolar estos resultados a entornos no controlados y heterogéneos.

Conclusiones

Omalizumab fue el primer biológico aprobado para el tratamiento del asma y ha supuesto un gran avance en la calidad de vida de los pacientes con asma alérgica grave. Su eficacia y seguridad ha sido demostrada en múltiples ensayos clínicos controlados y los resultados alcanzados en este estudio muestran datos muy prometedores en vida real. Omalizumab consiguió mejoras significativas en las tres respuestas evaluadas, reduciendo el uso de corticoides orales, mejorando la función pulmonar y disminuyendo y/o evitando la presencia de exacerbaciones en una gran parte de los pacientes estudiados. Asimismo, los marcadores de respuesta podrían ser una herramienta útil en la toma de decisiones en la práctica clínica.

Materiales complementarios

La siguiente información de apoyo se puede descargar en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics15020523/s1> , Tabla S1: Predictores de reducción de corticosteroides orales a los 12 meses de tratamiento con omalizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis bivariado); Tabla S2: Predictores de mejora de la función pulmonar a los 12 meses de tratamiento con omalizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis bivariado); Tabla S3: Predictores de reducción de exacerbaciones a los 12 meses de tratamiento con omalizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis bivariado).

Contribuciones de autor

SR-T. y CP-R. concibió y diseñó los experimentos; SR-T. realizó los experimentos; SR-T. muestras recolectadas; SR-T. y CP-R. analizó los datos; MVG-G., JAS-M. y GJ-G. aportó materiales y

herramientas de análisis; SR-T. preparó el borrador original; CP-R., LEP-L., JMG-N. y SR-T. revisó y editó el borrador; SR-T., CP-R. y CM-G. revisó el análisis y la interpretación; AJ-M. y CM-G. supervisó la adquisición de fondos. Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y en la mejora de su contenido intelectual. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Fondos

Fondos FEDER (UE) del Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) apoyados por subvenciones de cofinanciación del Biobanco del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional

Este estudio se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Sistema Andaluz de Salud (código: 1313-N-20).

Declaración de consentimiento informado

Todos los sujetos involucrados en el estudio firmaron el formulario de consentimiento informado por escrito.

Expresiones de gratitud

Los resultados de este estudio forman parte de la tesis doctoral presentada por Susana Rojo Tolosa en la Universidad de Granada.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses. Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, en la recopilación, análisis o interpretación de datos, en la redacción del manuscrito o en la decisión de publicar los resultados.

Referencias

1. Papi, A., Brightling, C., Pedersen, S. E. & Reddel, H. K. Asthma. *Lancet (London, England)* **391**, 783–800 (2018).
2. Pavord, I. D. *et al.* After asthma: redefining airways diseases. *Lancet (London, England)* **391**, 350–400 (2018).

3. Carr, T. F., Zeki, A. A. & Kraft, M. Eosinophilic and noneosinophilic asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **197**, 22–37 (2018).
4. Vitale, C., Maglio, A., Pelaia, C. & Vatrella, A. Long-term treatment in pediatric asthma: an update on chemical pharmacotherapy. *Expert Opin. Pharmacother.* **18**, 667–676 (2017).
5. Mandlik, D. S. & Mandlik, S. K. New perspectives in bronchial asthma: pathological, immunological alterations, biological targets, and pharmacotherapy. <https://doi.org/10.1080/08923973.2020.1824238> **42**, 521–544 (2020).
6. *Global Initiative for Asthma Management and Prevention (GINA 2019)*. (2019).
7. *GEMA 5.0. GUÍA ESPAÑOLA PARA EL MANEJO DEL ASMA*. (Luzán 5 Health Consulting, S.A., 2020).
8. Vatrella, A. *et al.* Phenotyping severe asthma: a rationale for biologic therapy. <https://doi.org/10.1080/23808993.2020.1776106> **5**, 265–274 (2020).
9. Viswanathan, R. K. & Busse, W. W. Biologic Therapy and Asthma. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* **39**, 100–114 (2018).
10. Dullaers, M. *et al.* The who, where, and when of IgE in allergic airway disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **129**, 635–645 (2012).
11. Lin, H. *et al.* Omalizumab rapidly decreases nasal allergic response and FcεRI on basophils☆. *J. Allergy Clin. Immunol.* **113**, 297–302 (2004).
12. Loureiro, C. C. *et al.* Omalizumab for Severe Asthma: Beyond Allergic Asthma. *Biomed Res. Int.* **2018**, (2018).
13. Spector, S. Omalizumab: efficacy in allergic disease. *Panminerva Med.* **46**, 141–148 (2004).
14. Domingo, C. Omalizumab for severe asthma: efficacy beyond the atopic patient? *Drugs* **74**, 521–533 (2014).
15. Holgate, S. *et al.* The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**, 459–465 (2005).
16. Menzies-Gow, A. *et al.* Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy induces bone marrow eosinophil maturational arrest and decreases eosinophil progenitors in the bronchial mucosa of atopic asthmatics. *J. Allergy Clin. Immunol.* **111**, 714–719 (2003).
17. Verma, P., Randhawa, I. & Klaustermeyer, W. B. Clinical efficacy of omalizumab in an elderly veteran population with severe asthma. *Allergy Asthma Proc.* **32**, 346–350 (2011).
18. Paganin, F. *et al.* Lung function parameters in omalizumab responder patients: An interesting tool? *Allergy* **72**, 1953–1961 (2017).
19. Adachi, M. *et al.* Real-world safety and efficacy of omalizumab in patients with severe allergic asthma: A long-term post-marketing study in Japan. *Respir. Med.* **141**, 56–63 (2018).
20. Normansell, R., Walker, S., Milan, S. J., Walters, E. H. & Nair, P. Omalizumab for asthma

- in adults and children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, (2014).
21. Yancey, S. W. *et al.* Biomarkers for severe eosinophilic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **140**, 1509–1518 (2017).
 22. Ortega, H., Katz, L., Gunsoy, N., Keene, O. & Yancey, S. Blood eosinophil counts predict treatment response in patients with severe eosinophilic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **136**, 825–826 (2015).
 23. Harrison, T. W. *et al.* Onset of effect and impact on health-related quality of life, exacerbation rate, lung function, and nasal polyposis symptoms for patients with severe eosinophilic asthma treated with benralizumab (ANDHI): a randomised, controlled, phase 3b trial. *Lancet Respir. Med.* **9**, 260–274 (2021).
 24. Humbert, M. *et al.* Omalizumab effectiveness in patients with severe allergic asthma according to blood eosinophil count: the STELLAIR study. *Eur. Respir. J.* **51**, (2018).
 25. Gevaert, P. *et al.* Efficacy and safety of omalizumab in nasal polyposis: 2 randomized phase 3 trials. *J. Allergy Clin. Immunol.* **146**, 595–605 (2020).
 26. Humbert, M. *et al.* Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* **60**, 309–316 (2005).
 27. Chan, S., Cornelius, V., Cro, S., Harper, J. I. & Lack, G. Treatment Effect of Omalizumab on Severe Pediatric Atopic Dermatitis: The ADAPT Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* **174**, 29–37 (2020).
 28. Hanania, N. A. *et al.* Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: an analysis of biomarkers in the EXTRA study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **187**, 804–811 (2013).
 29. Damask, C. *et al.* Defining the Efficacy of Omalizumab in Nasal Polyposis: A POLYP 1 and POLYP 2 Subgroup Analysis. *Am. J. Rhinol. Allergy* **36**, 135–141 (2022).
 30. Gevaert, P. *et al.* Long-term efficacy and safety of omalizumab for nasal polyposis in an open-label extension study. *J. Allergy Clin. Immunol.* **149**, 957-965.e3 (2022).
 31. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. FICHA TECNICA XOLAIR 150 mg SOLUCION INYECTABLE. *Cima* 147 https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/05319008/FT_05319008.html#10-fecha-de-la-revisi-n-del-texto (2015).
 32. Asthma Control Test (ACT). *American Thoracic Society* <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php>.
 33. Bousquet, J. *et al.* Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **9**, 2702–2714 (2021).
 34. Casale, T. B. *et al.* Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **7**, 156-164.e1 (2019).
 35. Caminati, M. *et al.* Relevance of TH2 markers in the assessment and therapeutic

- management of severe allergic asthma: A real-life perspective. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **30**, 35–41 (2020).
36. Marzano, A. V. *et al.* Predictors of response to omalizumab and relapse in chronic spontaneous urticaria: a study of 470 patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **33**, 918–924 (2019).
 37. Sheehan, W. J. *et al.* Aeroallergen Sensitization, Serum IgE, and Eosinophilia as Predictors of Response to Omalizumab Therapy During the Fall Season Among Children with Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **8**, 3021-3028.e2 (2020).
 38. Kallieri, M. *et al.* Predictors of response to therapy with omalizumab in patients with severe allergic asthma - a real life study. *Postgrad. Med.* **129**, 598–604 (2017).

IMPACTO DE LAS TERAPIAS ANTI-IL5 EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA Y POSIBLES BIOMARCADORES PREDICTORES DE RESPUESTA: ESTUDIO EN VIDA REAL

Susana Rojo-Tolosa^{1,2,3,*}, María Victoria González Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez-Gálvez¹, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Laura Elena Pineda-Lancheros^{2,3,*}, José María Gálvez-Navas^{2,3}, Alberto Jiménez-Morales^{‡2}, Cristina Pérez-Ramírez³ and Concepción Morales-García^{‡1}.

1. Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
2. Unidad de Farmacogenética. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
3. Departamento de Bioquímica. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

Abstract

Severe Uncontrolled Asthma (SUA) counts for more than 25% of cases of severe asthma. The main factors that impair the quality of life of these patients are high doses of oral corticosteroids, the presence of exacerbations, and reduced lung function. The objective of this study was to evaluate, in real life, the clinical improvement of patients with SUA treated with anti-interleukin

5 (IL5) therapies: mepolizumab and benralizumab, together with the search for biomarkers associated with the response. e conducted a retrospective observational cohort study that included patients with severe uncontrolled eosinophilic asthma in a tertiary hospital receiving biological therapies. Three types of response were evaluated: improvement in lung function, reduction in exacerbations, and decrease in the use of oral corticosteroids. After 12 months of treatment, significant reductions were found in the number of exacerbations, the use of oral corticosteroids, and blood eosinophil levels for both biological therapies ($p < 0.001$). Lung function improved, achieving a significant improvement in %FEV1 ($p < 0.001$), as well as asthma control, with a significant increase in asthma control test (ACT) scores in both therapies. The markers associated with the corticosteroid-saving effect were the low doses of oral corticosteroids and absence of exacerbations for mepolizumab, and higher blood eosinophilia, absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and reduction in oral corticosteroid cycles for benralizumab. The greatest improvement in lung function in both therapies was linked to lower previous FEV1 levels and absence of other respiratory diseases. The reduction in exacerbations was associated with absence of exacerbations the previous year for mepolizumab and never smokers for benralizumab. The results of this real-life study confirm the clinical benefit obtained after the introduction of an anti-IL5 biological therapy and the possible predictive biomarkers of response to treatment.

Keywords: severe uncontrolled asthma; mepolizumab; benralizumab; effectiveness; biomarkers.

1. Introducción

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica y heterogénea de las vías respiratorias, en la que intervienen diversas células y mediadores inflamatorios, en parte determinada por factores genéticos, que se traduce en hiperreactividad bronquial y restricción del flujo aéreo, que dan lugar a episodios recurrentes de sibilancias, disnea y exacerbaciones [1,2].

Es una de las principales enfermedades no transmisibles que afectan a niños y adultos. Las estimaciones más recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que, en 2019, 262 millones de personas se vieron afectadas por el asma en todo el mundo y ese año se registraron 461 000 muertes por falta de diagnóstico y/o tratamiento [3]. Al tratarse de una condición crónica, el objetivo que se persigue al abordarla es lograr el control de la enfermedad y la prevención del riesgo futuro, ya que puede poner en peligro la vida y generar importantes costos asistenciales [2].

Según la European Respiratory Society (ERS) y la American Thoracic Society (ATS), el asma grave no controlada (AGNC) representa entre el 5% y el 10% de los casos de asma, por lo que mantener este control es un desafío constante [4]. Los datos informados por ARS/ATS, junto con estudios europeos de los últimos años, muestran que más del 50 % de los pacientes con asma no están controlados [5].

Entre el 30% y el 40% de los pacientes con asma grave también requieren el uso regular de corticosteroides orales (GCO) para controlar su asma [6-8], lo que conlleva el riesgo de presentar efectos adversos graves y, a menudo, irreversibles [9,10].

La Estrategia Global para el Manejo y la Prevención del Asma (GINA) define la exacerbación asmática como episodios caracterizados por un aumento progresivo de los síntomas de dificultad para respirar, tos, sibilancias u opresión en el pecho, y una disminución progresiva de la función pulmonar, es decir, representan un cambio del estado habitual del paciente que es suficiente para requerir un cambio en el tratamiento [2]. Las exacerbaciones difieren de los síntomas habituales del asma en la falta de respuesta a los corticosteroides inhalados (GCI) de uso común y están fuertemente relacionados con el aumento de la inflamación de las vías respiratorias. Pueden desencadenar resultados fatales y son más comunes y graves cuando el asma no está controlada [11]. A menudo se relacionan con la inflamación eosinofílica de las vías respiratorias, ya que los marcadores de inflamación eosinofílica aumentan antes del inicio de las exacerbaciones [12-14]. Además, las estrategias para el control de la inflamación eosinofílica de las vías respiratorias se asocian con una reducción de las exacerbaciones [15-17].

La falta de prevención y/o tratamiento de las exacerbaciones, junto con la presencia de factores de riesgo potenciadores, como la adherencia deficiente al tratamiento, la técnica inhalatoria incorrecta, las comorbilidades, la exposición a toxinas o alérgenos y la función pulmonar reducida, representan un problema importante en el manejo clínico de asma, asociado con una mayor morbilidad y riesgo de muerte, lo que podría triplicar los costos de atención médica debido al aumento de los requisitos de medicamentos, la necesidad de visitas a los departamentos de emergencia y, en muchos casos, la hospitalización [2, 18-22].

El desarrollo de nuevas terapias biológicas anti-interleucina-5 (IL5), como mepolizumab y benralizumab, para el manejo del asma representa un gran avance en su abordaje. Mepolizumab y benralizumab son anticuerpos monoclonales humanizados, que actúan respectivamente contra la IL5 y su receptor (IL5R), inhibiendo selectiva y eficazmente la cascada eosinofílica [23-27]. Estas terapias biológicas han demostrado ser efectivas en ensayos controlados aleatorios (ECA). Sin embargo, se sabe que solo una minoría de pacientes con asma

grave cumpliría los criterios de inclusión de un ECA [28]. En consecuencia, se han planteado dudas sobre el uso de estos resultados en la práctica clínica, y los estudios de la vida real se han vuelto más influyentes para respaldar los resultados de los ECA. Hay estudios de eficacia anteriores que demuestran una reducción significativa en el recuento de eosinófilos en sangre y la tasa de exacerbaciones con mepolizumab y benralizumab [29-37]. Estos estudios incluyen diversos grupos de participantes, por lo que se necesitan estimaciones agrupadas precisas para evaluar la eficacia y determinar los biomarcadores que predicen la respuesta en poblaciones específicas. El objetivo del estudio fue evaluar la efectividad del tratamiento con mepolizumab y benralizumab e identificar marcadores predictivos de respuesta en pacientes caucásicos del sur de España.

2. Materiales y Métodos

Realizamos un estudio de cohorte observacional retrospectivo de la vida real.

2.1 Población de estudio

Este estudio incluyó a 172 pacientes mayores de 18 años de origen caucásico diagnosticados de AGNC según los criterios de la Guía Española de Manejo del Asma (GEMA 5.1), reclutados en el Servicio de Medicina Respiratoria del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (España), entre abril de 2014 y abril de 2022. De los 172 pacientes, 103 eran candidatos a mepolizumab y 69 a benralizumab (Figura 1). De los 103 mepolizumab candidatos a incluir en el estudio, finalmente se evaluó la eficacia de mepolizumab en 89 (86.4%) pacientes. Un total de 8.7% (9/103) de los pacientes no completaron los 12 meses de tratamiento con mepolizumab; en el 3.9% (4/103) no se evaluó una de las variables clínicas esenciales; y el 1% (1/103) tuvo un evento adverso. Se evaluó la respuesta en 57 (82.6%) pacientes de los 69 candidatos a participar en el estudio de benralizumab. De estos últimos, el 15.9% (11/69) no había completado los 12 meses de tratamiento cuando se recogieron los datos y el 1.4% (1/69) no tenía evaluación de alguna de las variables esenciales para el estudio. La vía de administración del fármaco fue subcutánea: 100 mg de mepolizumab cada 4 semanas y 30 mg de benralizumab cada 4 semanas las tres primeras dosis y posteriormente cada 8 semanas [38,39]. El resto de los pacientes no cumplían los criterios de evaluación del estudio.

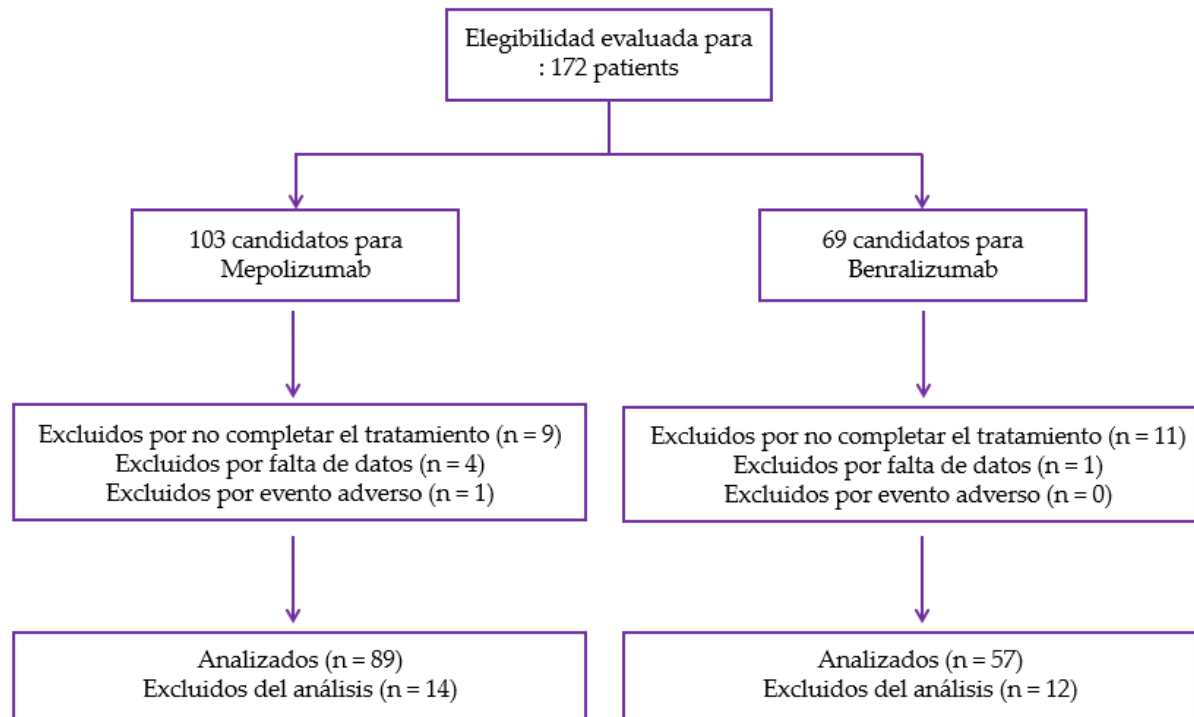


Figura 1. Criterios de elegibilidad de los pacientes.

2.2. Variables sociodemográficas y clínicas

Las variables sociodemográficas incluyeron edad, sexo, índice de masa corporal (IMC), tabaquismo, años con la enfermedad, pólipos nasales, enfermedad respiratoria previa, alergias, enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), años con el tratamiento, dosis de tratamiento y cambio a otra terapia con anticuerpos monoclonales. Se clasificó a los individuos como no fumadores si nunca habían fumado o habían fumado menos de 100 cigarrillos en su vida, como ex fumadores si habían fumado 100 o más cigarrillos en su vida pero no fumaban actualmente y como fumadores actuales. Para el IMC, siguiendo los criterios de la OMS, los individuos se clasificaron como bajo peso (IMC < 18,5), peso saludable (18.5 < IMC < 24.9), sobrepeso (25 < IMC < 29.9) u obesos (IMC >30) [40].

Las variables clínicas se recogieron según el año antes de iniciar el tratamiento con la terapia biológica y tras finalizar el primer año de tratamiento. Incluyeron dosis de mantenimiento de GCI expresadas como equivalentes de μg de propionato de fluticasona, descargas de GCO requeridas en el período de seguimiento y dosis de mantenimiento de GCO expresadas como equivalentes de mg de prednisona [41], recuento de eosinófilos en sangre, exacerbaciones que requirieron tratamiento en el departamento de emergencias y/u hospitalización con GCO por al

menos 3 días, IgE, función pulmonar como porcentaje del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (%FEV1) y prueba de control del asma (ACT) [42].

2.3. Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como media (\pm desviación estándar) para las que cumplían con la normalidad y como mediana y percentiles (25 y 75) para las que no seguían una distribución normal. La normalidad se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Las variables clínicas responsables de la respuesta se compararon antes y después del tratamiento mediante la prueba de McNemar para variables cualitativas. Para las variables cuantitativas que cumplieron con la normalidad, se utilizó la prueba *t* para datos apareados y la prueba U de Mann-Whitney (prueba de suma de rangos de Wilcoxon) para variables no normales. Los resultados se consideraron significativos cuando el valor *de p* fue inferior a 0,05.

Para evaluar los predictores de respuesta a los 12 meses se tomaron como variables de respuesta: reducción de ciclos de GCO por año, considerando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% de los ciclos de GCO o ausencia; reducción de GCO de mantenimiento, considerando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% del GCO de mantenimiento o ausencia; mejoría de la función pulmonar, considerando respondedores aquellos que consiguieron un aumento de al menos un 10% en el FEV1 tras 12 meses de tratamiento; y reducción de exacerbaciones por año que requieran tratamiento en urgencias y/u hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria una reducción de al menos el 50% o la ausencia de exacerbaciones. El análisis bivariado entre la respuesta y las variables sociodemográficas y clínicas se realizó mediante la prueba de chi-cuadrado de Pearson o aplicando la prueba exacta de Fisher para las variables cualitativas. Para las variables cuantitativas, se aplicó la prueba *t* de Student a las variables que cumplieron con la normalidad. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para variables no normales. Se utilizó un análisis multivariante (regresión logística) para calcular la odds ratio (OR) ajustado y el intervalo de confianza (IC) del 95 % para los posibles factores pronósticos de respuesta a los ciclos de GCO, mantenimiento de GCO, función pulmonar y exacerbaciones. Todas las variables que resultaron significativas en el análisis bivalente se incluyeron en el modelo para el análisis multivariante. En el análisis multivariante se eliminaron todas las variables que no resultaron significativas, obteniendo así el modelo final para cada tipo de respuesta. Todas las pruebas fueron bilaterales, con una probabilidad de 0.05 o menos considerada estadísticamente significativa, y se realizaron con el software libre R 4.2.0.

3. Resultados

3.1. Características de los pacientes

3.1.1. Características de los pacientes tratados con mepolizumab

Se incluyeron en el estudio un total de 89 pacientes en tratamiento con mepolizumab. Sus características clínicas y demográficas se muestran en la Tabla 1. La edad media registrada fue de 55.8 ± 13.1 años, con un 65.2% de mujeres (58/89). La mediana de tiempo en tratamiento con mepolizumab fue de 2 [1-4] años, se registró cambio a otra terapia con anticuerpos monoclonales en el 22.2% (18/89) y el 74.2% (66/89) no había tenido terapias biológicas previas. La mayoría de los pacientes tenían sobrepeso u obesidad: 42.7% (38/89) y 31.5% (28/89), respectivamente. Solo se registró un caso de fumador activo, que representa el 1.1%. Hubo 42.7% (38/89) que habían tenido alguna enfermedad respiratoria previa, 42.7% (38/89) con pólipos nasales, 49.4% (44/89) con alergias, 39.3% (35/89) con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), el 18% (16/89) con síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS) y el 15.7% (14/89) con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Durante el año previo, todos los pacientes habían requerido GCI, con una mediana de 500 [500-1000] $\mu\text{g}/\text{día}$, el 73.9% (65/89) necesitaron ciclos de GCO, con una mediana de 2 [0-4] ciclos, y 6.7% (6/89) requirió mantenimiento GCO. El %FEV1 medio fue de 71.1 ± 23.7 , se registró una mediana del recuento de eosinófilos en sangre al inicio de 655 [330-905] células/ μL y una IgE inicial de 122.55 [30.25-179.75] UI/mL. Hubo un 60.2% (53/89) que sufrieron al menos una exacerbación durante el año previo al tratamiento y la mediana de la puntuación ACT fue de 12.5 [9-15.8] puntos.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes tratados con mepolizumab.

Variables	n	%	Media \pm DE/ p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)
Edad	89	-	55.84 \pm 13.14
Sexo			
M	58	65.17	-
H	31	34.83	-
IMC			
Bajo Peso	4	4.49	-
Normopeso	19	21.35	-
Sobrepeso	38	42.70	-
Obesidad	28	31.46	-
Hábito tabáquico			
No fumador	74	83.15	-
Exfumador	14	15.73	-
Fumador	1	1.12	-
Enfermedad respiratoria previa			
Si	38	42.7	-
No	51	57.3	-

Pólipos			
	Si	38	42.7
	No	51	57.3
Alergias			
	Si	44	49.44
	No	45	50.56
ERGE			
	Si	35	39.33
	No	54	60.67
SAHS			
	Si	16	17.98
	No	73	82.02
EPOC			
	Si	14	15.73
	No	75	84.27
Años con AE		89	-
GCI (mg/día)		89	-
Ciclos de GCO en el año previo		89	-
	Si	65	73.86
	No	23	26.14
Ciclos de GCO en el año previo (Si)		65	-
GCO mantenimiento (mg/día)		89	-
	Si	6	6.7
	No	83	93.3
GCO mantenimiento (Si)		6	-
FEV1 basal (%)		85	-
	<80	60	70.59
	>80	25	29.41
ACT basal		28	-
Exacerbaciones en el año previo		89	-
	Si	53	60.23
	No	35	39.77
Eosinófilos en sangre basales (cel./ μ l)		88	-
IgE basal (IU/MI)		54	-
Años con mepolizumab		89	-
TB previa			
	Yes	23	25.84
	No	66	74.16
Cambio de TB			
	Yes	18	22.22
	No	71	79.78

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; EA: asma eosinofílica; CSI: corticoides inhalados; CSO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; TCA: prueba de control del asma; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media \pm desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 -p 75).

3.1.2. Características de los pacientes tratados con benralizumab

En la tabla 2 se describen las características demográficas y clínicas de los 57 pacientes tratados con benralizumab. Su edad media fue de 58.4 ± 4.3 años, con un 64.9% de mujeres (37/57), una

mediana de duración de la enfermedad de 7 [4-9] años y una mediana de 2 [1-3] años en tratamiento con benralizumab. Presentaron una baja tasa de cambio de terapia biológica, el 8.8% (5/57), y el 66.7% (38/57) había tenido alguna terapia biológica previa. La mayoría de los pacientes tenían sobrepeso u obesidad: el 33.3% (19/57) y el 45.6% (26/57), respectivamente, el 24.7% (14/57) eran exfumadores y sólo había un fumador activo (1.7%). El 45.6% (26/57) había tenido alguna enfermedad respiratoria previa, el 38.6% (22/57) pólipos nasales, el 61.4% (35/57) alergias, el 40.4% (23/57) ERGE, el 17.5% (10 /57) SAHS, y 19.3% (11/57) EPOC. Durante el año previo al tratamiento con benralizumab, todos los pacientes habían recibido GCI, con una mediana de 1000 [500-1000] µg/día, el 87.7% (50/57) habían requerido ciclos de GCO, con una mediana de 2 [1-4] ciclos, y el 8.8% (5/57) requirió mantenimiento GCO. El %FEV1 medio fue de 71.7 ± 22.52 , se registró una mediana del recuento de eosinófilos en sangre al inicio de 410 [230-570] células/µL y una IgE inicial de 137.7 [50-758] UI/mL. Hubo un 45.6% (26/57) que sufrió al menos una exacerbación durante el año anterior al tratamiento y la mediana de la puntuación ACT fue de 13 [9.5-15.5] puntos.

Tabla 2. Características demográficas y clínicas de los pacientes tratados con benralizumab.

Variables	n	%	Media ± DE/ p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)
Edad	57	-	58.42 ± 14.29
Sexo			
M	37	64.91	-
H	20	35.09	-
IMC			
Bajo Peso	0	0	-
Normopeso	12	21.05	-
Sobrepeso	19	33.33	-
Obesidad	26	45.61	-
Hábito tabáquico			
No fumador	42	73.68	-
Exfumador	14	24.56	-
Fumador	1	1.75	-
Enfermedad respiratoria previa			
Si	26	45.61	-
No	31	54.39	-
Pólipos			
Si	22	38.6	-
No	35	61.4	-
Alergias			
Si	35	61.4	-
No	22	38.6	-
ERGE			
Si	23	40.35	-
No	34	59.65	-
SAHS			
Si	10	17.54	-
No	47	82.46	-
EPOC			

	Si	11	19.3	-
	No	46	80.7	-
Años con AE		57	-	7 [4-9]
GCI (mg/día)		57	-	184 [184-640]
Ciclos de GCO en el año previo		57	-	2 [1-4]
	Si	50	87.72	-
	No	7	12.28	-
Ciclos de GCO en el año previo (Si)		50		3 [1.3-4]
GCO mantenimiento (mg/día)		57		0 [0-0]
	Si	5	8.8	
	No	52	91.2	
GCO mantenimiento (Si)		5		10 [10-15]
FEV1 basal (%)		57	-	71.65 ± 22.52
	<80	38	66.67	-
	>80	19	33.33	-
ACT basal		27	-	13 [9.5-15.5]
Exacerbaciones en el año previo		57	-	0 [0-1]
	Si	26	45.61	-
	No	31	54.39	-
Eosinófilos en sangre basales (cel./μl)		57	-	410 [230-570]
IgE basal (IU/MI)		45	-	137.7 [50-758]
Años con benralizumab		57	-	2 [1-3]
TB previa				
	Yes	19	33.33	-
	No	38	66.67	-
Cambio de TB				
	Yes	5	8.77	-
	No	52	91,23	-

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; EA: asma eosinofílica; CSI: corticoides inhalados; CSO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; TCA: prueba de control del asma; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media ± desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 -p 75).

3.2. Comparación de Variables Clínicas antes y después del Tratamiento

3.2.1. Dosis diaria de GCI

Después de 12 meses de terapia biológica, las dosis diarias de GCI mostraron reducciones significativas del 50 % para el grupo de benralizumab ($p = 0.039$). No se encontraron diferencias significativas entre las dosis basales y posteriores al tratamiento en el grupo de mepolizumab. Los resultados del análisis comparativo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Cambios en las variables basales tras 12 meses de terapia biológica.

Variable independiente	Terapia biológica	
	Mepolizumab	Benralizumab
Dosis GCI (mg/día)		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	225 [184-640]	184 [184-640]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	184 [100-400]	184 [184-500]

Cambio respecto al valor basal	p=0.012	p=0.139
Uso de GCO (Si/No)		
Basal, n (%)	65 (73.86)	50 (87.72)
Seguimiento, n (%)	40 (44.94)	23 (50.88)
Cambio respecto al valor basal	p=0.032	p<0.001
Ciclos de GCO por año		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	2 [0-4]	2 [1-4]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0-2]	1 [0-2]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001	p=0.001
GCO mantenimiento (Si/No)		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	6 (6.7)	5 (8.8)
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	3 (3.8)	8 (14)
Cambio respecto al valor basal	p < 0.001	p = 0.377
Dosis de GCO mantenimiento		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0-0]	0 [0-0]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0-0]	0 [0-0]
Cambio respecto al valor basal	p = 0.095	p = 0.734
Pacientes con FEV1 > 80%		
Basal, n (%)	17 (28.33)	19 (33.33)
Seguimiento, n (%)	20 (40)	25 (50)
Cambio respecto al valor basal	p=0.058	p=0.366
FEV1 (%)		
basal, media (DE)	71.12 ± 23.65	71.65 ± 22.52
Seguimiento (DE)	81.38 ± 18.05	83.06 ± 23.97
Cambio respecto al valor basal	p<0.001	p<0.001
ACT		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	12.5[9-15.75]	13 [9.5-15.5]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	22 [19-23]	22 [19-24]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001	p<0.001
Presencia de exacerbaciones (Si/No)		
Basal, n (%)	53 (60.23)	26 (45.61)
Seguimiento, n (%)	13 (14.61)	6 (10.53)
Cambio respecto al valor basal	p=0.001	p<0.001
Exacerbaciones por año		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0-2]	0 [0-1]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0-0]	0 [0-0]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001	p<0.001
Eosinófilos en sangre (cel./μl)		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	655 [330-905]	410 [230-570]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	80 [40-120]	10 [10-10]
Cambio respecto al valor basal	p<0.001	p<0.001
IgE (IU/ml)		
Basal, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	112.55 [30.25-279.75]	137.7 [50-758]
Seguimiento, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	79 [34.9-204.1]	136 [51-147]
Cambio respecto al valor basal	p=0.015	p=0.385

GCI: corticoesteroides inhalados; GCO: corticoesteroides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; ACT: prueba de control del asma; IgE: inmunoglobulina E. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media ± desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p₅₀ (p₂₅ -p₇₅).

3.2.2. Ciclos de GCO por año y GCO de mantenimiento

Durante el año previo al inicio de la terapia biológica se registró un alto uso de ciclos de GCO entre los pacientes del estudio: el 73.9% de los pacientes con mepolizumab y el 87.7% de los que recibieron benralizumab necesitaron uno o más ciclos de GCO. Después de un año con mepolizumab, el uso de ciclos de GCO había disminuido significativamente, en un 38.5 % ($p < 0.032$, Tabla 3, Figura 2), al igual que las dosis medianas recibidas por año ($p < 0.001$, Tabla 3, Figura 2). Los pacientes tratados con benralizumab registraron una reducción significativa del 54 % en el requerimiento de ciclos de GCO y las dosis medianas de ciclos de GCO por año también se redujeron significativamente ($p < 0.001$, Tabla 3, Figura 2).

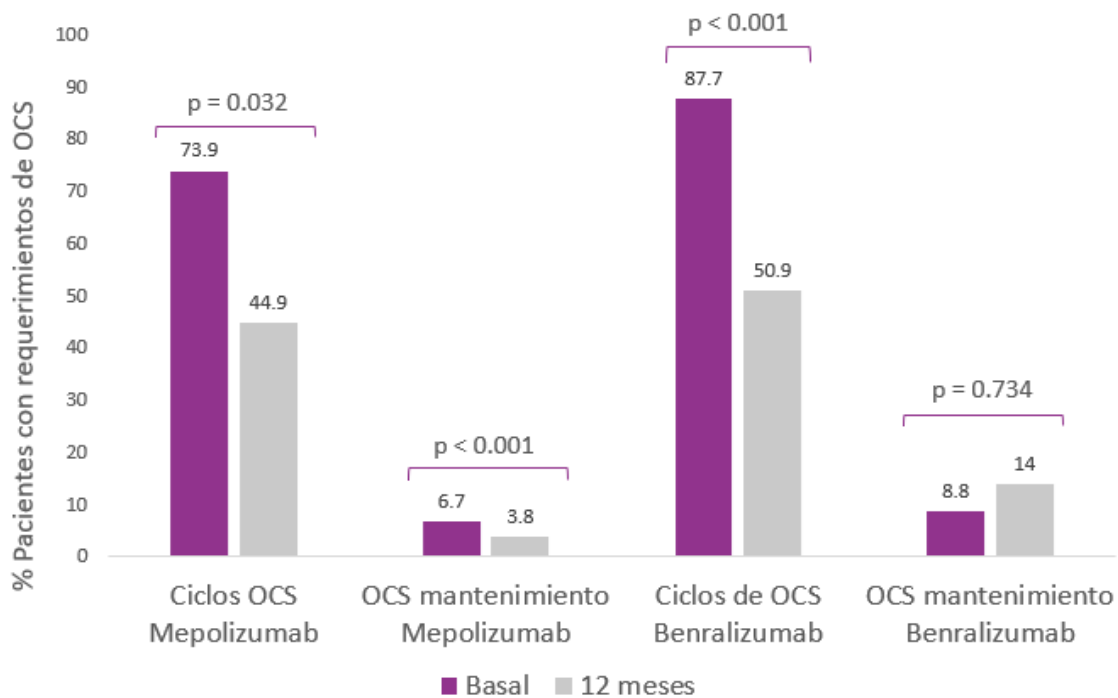


Figura 2. Respuesta clínica a terapias biológicas: ciclos de GCO y GCO de mantenimiento. Pacientes con ciclos de requerimientos de corticosteroides orales y GCO de mantenimiento durante los 12 meses previos al inicio de mepolizumab y benralizumab, y en la evaluación de seguimiento después de 12 meses de terapia.

Antes de la terapia biológica, el 6.7 % de los pacientes con mepolizumab y el 8.8 % de los pacientes con benralizumab requirieron GCO de mantenimiento. Después de 1 año de tratamiento con mepolizumab, el número de pacientes que requerían GCO de mantenimiento se redujo significativamente al 3.8 % ($p < 0.001$, Tabla 3, Figura 2). Por el contrario, los requisitos de mantenimiento de GCO en el grupo de pacientes con benralizumab, después de 1 año de tratamiento, aumentaron al 14 % ($p = 0.734$, Tabla 3, Figura 2). No hubo cambios significativos en las dosis de GCO de mantenimiento en ninguno de los grupos de tratamiento después de 1 año.

3.2.3. Función pulmonar

La función pulmonar mostró una mejora significativa después de 12 meses de terapia biológica (Figura 3). En mepolizumab se observó un aumento del 10.3% en el FEV1 medio ($p < 0.001$, Tabla 3) y del 11.4% en benralizumab ($p < 0.001$, Tabla 3). Por el contrario, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes con valores de FEV1 superiores al 80% para ninguna de las dos terapias biológicas.

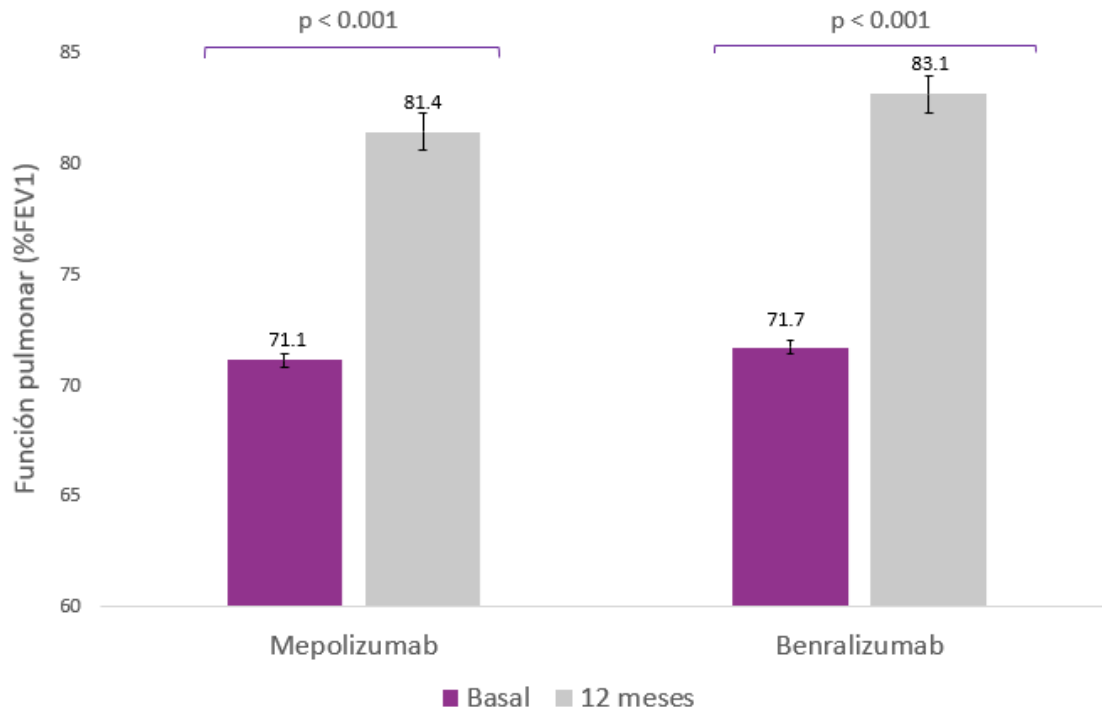


Figura 3. Respuesta clínica a las terapias biológicas: función pulmonar. Porcentaje medio del volumen espiratorio forzado máximo en el primer segundo de espiración forzada (FEV1) antes de la terapia biológica y después de 12 meses de terapia.

3.2.4. Prueba de control del asma (ACT)

Los cambios en las puntuaciones de las pruebas de control del asma fueron estadísticamente significativos en todos los casos. Los pacientes mostraron un aumento de 9.5 puntos tras la administración de mepolizumab (12.5 a 22; $p < 0.001$, Tabla 3) y de 9 puntos con benralizumab (13 a 22; $p < 0.001$, Tabla 3).

3.2.5. Frecuencia de exacerbaciones graves

La proporción de pacientes con exacerbaciones descendió del 62.2% en el año previo al inicio de la terapia biológica al 14.6% con mepolizumab ($p = 0.001$, Tabla 3, Figura 4) y del 45.6% al 10.5% con benralizumab ($p < 0.001$, Tabla 3, Figura 4). Se produjo una reducción significativa en

la mediana del número de exacerbaciones para ambos grupos de tratamiento ($p < 0,001$. Tabla 3).

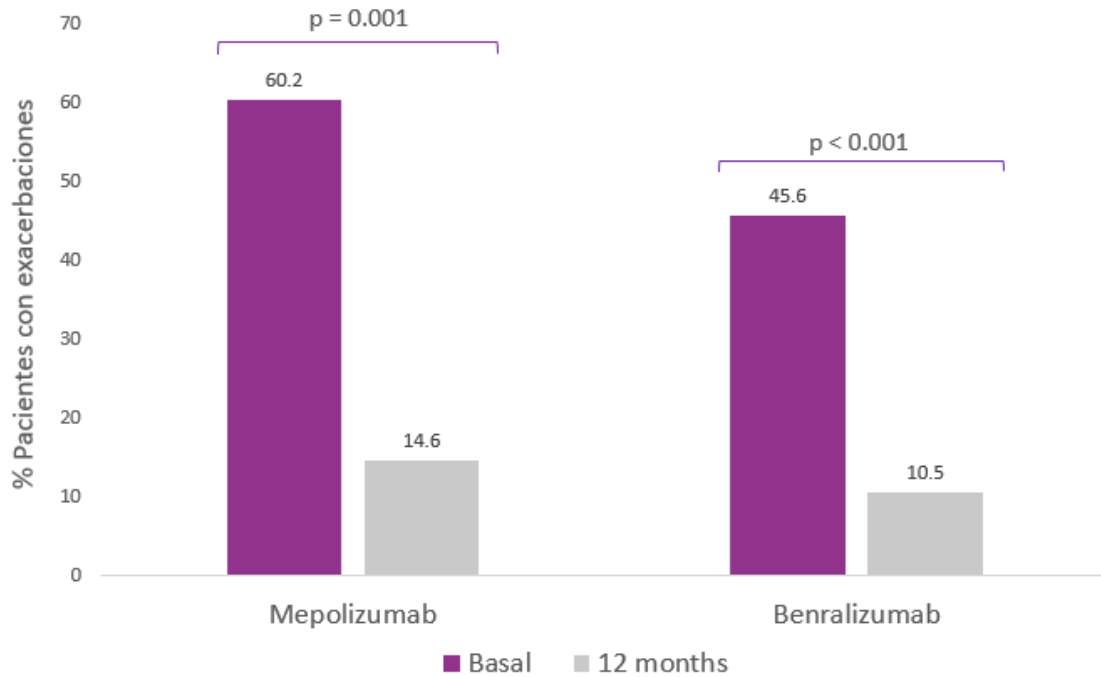


Figura 4. Respuesta clínica a terapias biológicas: exacerbaciones. Pacientes con al menos una exacerbación en los 12 meses previos al inicio de mepolizumab y benralizumab, y en la evaluación de seguimiento después de 12 meses de terapia.

3.2.6. Marcadores inflamatorios

Ambas terapias biológicas se asociaron con reducciones significativas en el recuento de eosinófilos en sangre (Figura 5). La mediana del recuento de eosinófilos en sangre se redujo en un 88% en el grupo de mepolizumab ($p < 0.001$, Tabla 3) y en un 98% en el grupo de benralizumab ($p < 0.001$, Tabla 3).

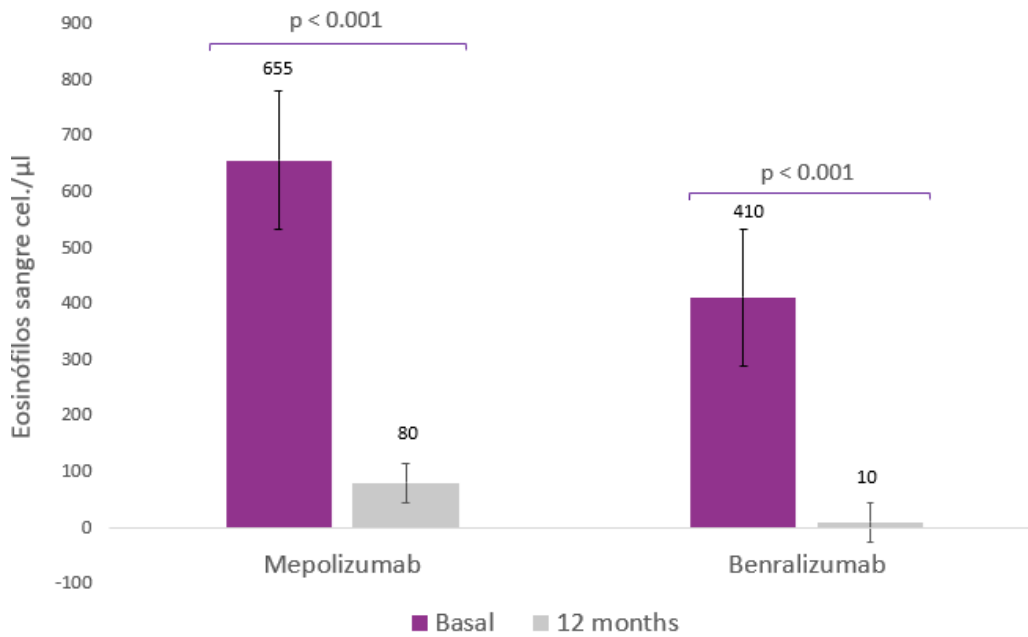


Figura 5. Respuesta clínica a terapias biológicas: eosinófilos en sangre. Eosinófilos medianos antes de la terapia biológica y después de 12 meses de tratamiento.

3.3. Eficacia clínica

3.3.1. Eficacia clínica de mepolizumab

Después de 12 meses de tratamiento con mepolizumab, se logró una reducción mayor o igual al 50% en los ciclos de GCO en el 44.9% (40/89) de los pacientes y el 22.5% (20/89) no requirió ciclos de GCO. Además, el 93.3% (83/89) no requirió GCO de mantenimiento y el 4.5% (4/89) logró una reducción del 50% o más en la dosis de mantenimiento. El 48.1% (38/79) de los pacientes respondieron satisfactoriamente a un aumento del FEV1 de al menos un 10%, y el 67.9% (55/81) obtuvieron valores de FEV1 superiores al 80%. La tasa de exacerbaciones se redujo al menos en un 50% en el 47.2% (42/89) de los casos y el 41.6% (37/89) no sufrió exacerbaciones durante el período de seguimiento. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Eficacia clínica de mepolizumab en pacientes con asma grave no controlada

Definición de respondedor	N	%
Reducción de GCO \geq 50%		
Si	40	44.94
No	29	32.58
No GCO	20	22.47
Reducción de GCO \geq 50% o ausencia		
Si	60	67.42
No	29	32.58
Reducción de GCO de mantenimiento \geq 50%		
Si	4	4.5

No	2	2.2
No GCO	83	93.3
Reducción de GCO de mantenimiento \geq 50% o ausencia		
Si	87	97.8
No	2	2.2
Incremento del FEV1 \geq 10%		
Si	38	48.1
No	41	51.9
Incremento FEV1 \geq 10% o FEV1 \geq 80%		
Si	55	67.9
No	26	32.1
Reducción de exacerbations \geq 50%		
Si	42	47.19
No	10	11.24
No exacerbaciones	37	41.57
Reducción de exacerbaciones \geq 50% o ausencia		
Si	79	88.76
No	10	11.24

OCO: corticosteroides orales; FEV1: volumen espirado máximo en el primer segundo de espiración forzada.

3.3.2. Eficacia clínica de benralizumab

El uso de benralizumab durante 12 meses se tradujo en una reducción de los ciclos de GCO igual o superior al 50% en el 50.9% (29/57) de los casos y el 10.5% (6/57) no precisó de GCO. Además, el 85.9% (49/57) no necesitaron GCO de mantenimiento y el 5.3% (3/57) lograron una reducción del 50% o más en la dosis de mantenimiento. El FEV1 (%) aumentó al menos un 10% en el 52.1% (25/48) de los pacientes y el 71.4% (35/49) alcanzó valores superiores al 80%. La tasa de exacerbaciones mostró una reducción de al menos el 50% en el 42.1% (24/57) de los pacientes y el 52.6% no sufrió ninguna exacerbación que requiriera tratamiento en urgencias y/o hospitalización. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Eficacia clínica de benralizumab en pacientes con asma grave no controlada

Definición de respondedor	N	%
Reducción de GCO \geq 50%		
Si	29	50.9
No	22	38.6
No GCO	6	10.5
Reducción de GCO \geq 50% o ausencia		
Si	35	61.4
No	22	38.6
Reducción de GCO de mantenimiento \geq 50%		
Si	3	5.3
No	5	8.8
No GCO	49	85.9

Reducción de GCO de mantenimiento ≥ 50% o ausencia		
Si	52	91.2
No	5	8.8
Incremento del FEV1 ≥ 10%		
Si	25	52.1
No	23	47.9
Incremento FEV1 ≥ 10% o FEV1 ≥ 80%		
Si	35	71.4
No	14	28.6
Reducción de exacerbations ≥ 50%		
Si	24	42.1
No	3	5.3
No exacerbaciones	30	52.6
Reducción de exacerbaciones ≥ 50% o ausencia		
Si	54	94.7
No	3	5.3

OCO: corticosteroides orales; FEV1: volumen espirado máximo en el primer segundo de espiración forzada.

3.4. Predictores de respuesta a los 12 meses

3.4.1. Predictores de Respuesta a los 12 Meses con Mepolizumab

Respuesta a la reducción de las cicloss de corticosteroides orales (GCO)

El análisis bivariable mostró una respuesta satisfactoria asociada a menores valores de GCI iniciales, ausencia de ciclos de GCO durante el año previo a mepolizumab y menor número de exacerbaciones o ausencia (los valores se muestran en detalle en la Tabla S1). Tras realizar el análisis multivariante se encontró que menores valores iniciales de GCI (OR = 0.99; IC 95% = 0.99–0.99) y la ausencia de exacerbaciones el año previo (OR = 0.47; IC 95% = 0.33–0.70) indicaban una tendencia a una mejor respuesta terapéutica. Los resultados del análisis multivariante se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Predictores de respuesta tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis multivariante).

	B	Odds Ratio	p-valor	IC _{95%}
Predictores de la reducción de GCO				
GCI	-0.0015	0.99	0.037	0.99-0.99
Exacerbación	-0.6993	0.47	<0.001	0.33-0.70
Predictores de la reducción de GCO de mantenimiento				
GCO mantenimiento (mg/día)	-0.3095	0.73	0.008	0.5-0.91
Mejora de la función pulmonar				
SAHS	2.6701	14.44	0.013	2.05-146.15
FEV1	-0.1127	0.89	<0.001	0.84-0.93
Predictores de la reducción de exacerbaciones				
Exacerbación	-1.939	0.14	0.041	0.01-0.82

GCO: corticosteroides orales; FEV1: volumen espirado máximo en el primer segundo de espiración forzada. IC95%, intervalo de confianza del 95%.

Respuesta a la reducción del mantenimiento con corticosteroides orales (GCO)

El análisis bivariado mostró una respuesta satisfactoria asociada con dosis basales más bajas de GCO de mantenimiento o ausencia de GCO de mantenimiento, valores previos de FEV1 <80 % y menos exacerbaciones en el año anterior (los valores se muestran en detalle en la Tabla S2). El análisis multivariado mostró que las dosis más bajas de GCO de mantenimiento indicaron una mejor respuesta terapéutica (OR = 0.73; IC del 95 % = 0.55–0.91; Tabla 6).

Respuesta a la mejora de la función pulmonar (FEV1)

En el análisis bivalente se encontró una mayor mejora de la función pulmonar en pacientes con mayor edad al inicio de la terapia biológica, ausencia de SAHS y menores valores iniciales de FEV1 (los valores se muestran con detalle en la Tabla S3). En el análisis multivariante se encontró una asociación significativa con la ausencia de SAHS (OR = 14.44; IC 95% = 2.05-146.15; tabla 6) y menores valores iniciales de FEV1 (OR = 0.89; IC 95% = 0.84-0.93; Tabla 6).

Respuesta a la reducción de las exacerbaciones

En el análisis bivariado se asoció una mayor reducción de exacerbaciones con la ausencia de exacerbaciones en el año previo a la terapia biológica y pacientes que no habían recibido terapias biológicas previas (los valores se muestran en detalle en la Tabla S4). En el análisis multivariante la respuesta fue mayor en aquellos pacientes que no presentaron exacerbaciones el año previo a la terapia biológica (OR = 0.14; IC 95% = 0.01-0.82; Tabla 6).

3.4.2. Predictores de Respuesta a los 12 Meses con Benralizumab

Respuesta a la reducción de los ciclos de corticosteroides orales (GCO)

En el análisis bivariado la reducción satisfactoria de GCO se relacionó con ausencia de EPOC, menores ciclos de GCO en el año previo a benralizumab y mayores niveles iniciales de eosinófilos en sangre. También se encontró asociación significativa con el sexo del paciente, en concreto con mujeres (los valores se muestran en detalle en la Tabla S5). Tras la realización del análisis multivariante, se encontró una asociación significativa con menos ciclos de GCO durante el año previo a la terapia biológica (OR = 0.74; IC 95% = 0.52-0.93), niveles más altos de eosinófilos en sangre (OR = 1.004; IC 95% = 1-1.01) y mujeres (OR = 5.20; IC 95% = 1.34-23.58). Los resultados del análisis multivariante se muestran en detalle en la Tabla 7.

Tabla 7. Predictores de respuesta tras 12 meses de tratamiento con benralizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis multivariante)

	B	Odds Ratio	p-valor	IC _{95%}
Predictores de la reducción de GCO				
GCO	-0.3049	0.74	0.028	0.52-0.93
Eosinófilos	0.0036	1.01	0.019	1.00-1.01
Sexo	1.6486	5.20	0.002	1.34-23.58
Predictores de la reducción de GCO de mantenimiento				
GCO	-0.3436	0.71	0.016	0.50-0.92
FEV1	-0.0649	0.94	0.05	0.87-0.99
Mejora de la función pulmonar				
FEV1	-0.0453	0.96	0.007	0.92-0.98
Predictores de la reducción de exacerbaciones				
Hábito tabáquico	-1.939	2.89	0.011	1.89-4.30

GCO: corticosteroides orales; FEV1: volumen espirado máximo en el primer segundo de espiración forzada. IC95%, intervalo de confianza del 95%.

Respuesta a la reducción del mantenimiento con corticosteroides orales (GCO)

En el análisis bivariado, se encontró una asociación entre la respuesta exitosa y ciclos de GCO más bajas en el año anterior, valores basales de FEV1 más bajos y ausencia de GCO de mantenimiento (los valores se pueden encontrar en detalle en la Tabla S6). En el análisis multivariado, los valores basales más bajos de FEV1 (OR = 0.94; IC del 95 % = 0.87–0.99; Tabla 7) y menos ciclos de GCO (OR = 0.71; IC del 95 % = 0.50–0.92; Tabla 7) se asociaron como predictores de GCO de mantenimiento reducido.

Respuesta a la función pulmonar (FEV1)

En el análisis bivariado y multivariado se encontró asociación entre la mejoría de la función pulmonar tras 12 meses de tratamiento con benralizumab y valores iniciales de FEV1 más bajos (OR = 0.96; IC 95% = 0.92-0.98; tabla 7). Los valores del análisis bivariado se muestran en detalle en la Tabla S7.

Respuesta a la reducción de las exacerbaciones

El análisis bivariante mostró una asociación estadísticamente significativa entre la reducción de exacerbaciones y los pacientes no fumadores (los valores se encuentran detallados en la Tabla S8. En el análisis multivariado, la asociación se mantuvo significativa (OR = 2.89; IC 95 % = 1.89–4.30; Tabla 7).

4. Discusión

Varios ECA han demostrado que mepolizumab y benralizumab son seguros y eficaces en pacientes con asma grave no controlada [35, 43-46]. Sin embargo, los datos de la vida real pueden diferir de los obtenidos de los ECA debido al énfasis que hacen en la validez interna por la estandarización y los protocolos de control que pueden comprometer la validez externa y, por lo tanto, la extrapolación de los resultados. Los estudios de vida real proporcionan información complementaria a los ECA, lo que apoya la decisión clínica que conduce a una mejor comprensión de la eficacia del fármaco en condiciones reales de práctica clínica y a lograr un enfoque más personalizado.

En este estudio, encontramos que el tratamiento con mepolizumab en el asma grave no controlada fue muy efectivo, reduciendo significativamente los ciclos de GCO por año, los GCO de mantenimiento, los niveles de eosinófilos en sangre, IgE y la tasa anual de exacerbaciones que requieren acudir a emergencias y/u hospitalización. La reducción de los niveles de IgE fue significativa, sin embargo, como era de esperar, no fue un biomarcador de respuesta para esta terapia anti-IL5. Se produjo una mejora significativa en el control del asma, con aumentos en las puntuaciones del cuestionario ACT y FEV1. Los ensayos clínicos MENSA y MUSCA mostraron una reducción clínicamente significativa en las tasas de exacerbación en un 53% y un 58% ($p < 0.001$), respectivamente [43,44]. En nuestro estudio, los ciclos anuales de GCO son un indicador de la tasa general de exacerbaciones y se redujeron significativamente en un 38.5%. La tasa de exacerbaciones que requirieron urgencias u hospitalización en el estudio MENSA se redujo en un 61% y el FEV1 mejoró significativamente ($p = 0.03$) [42]. Los resultados de nuestro estudio se asemejan a estos datos, con una reducción del 74% de las exacerbaciones que requieren urgencias u hospitalización y una mejora significativa del FEV1 medio del 10.3%. Los estudios de la vida real también informaron mejoras en la función pulmonar, control del asma, reducción del uso de ciclos de GCO y GCO de mantenimiento, y disminución de los recuentos de eosinófilos y exacerbaciones [29, 31, 47-52]. Entre estos estudios, encontramos una revisión sistemática de Israel E. et al. (2021) reflejando resultados similares en estudios prospectivos y retrospectivos [47]. De acuerdo con nuestros resultados, los estudios retrospectivos incluidos en la revisión mostraron reducciones significativas del 54% al 94% en los ciclos de GCO ($p < 0.001$ y $p = 0.001$, respectivamente); reducciones del 55% en las exacerbaciones que requieren emergencia u hospitalización ($p < 0.001$). El 73% ($p = 0.004$) y el 83% (p valores no informados) mostraron reducciones en la tasa de exacerbaciones que requirieron hospitalización; Del 27% al 84% habían interrumpido los GCO de mantenimiento y del 32% al 100% habían reducido la dosis de mantenimiento inicial ($p < 0.001$); la función pulmonar mejoró entre un 3% y un 8% ($p < 0.05$); reducciones en los recuentos de eosinófilos en sangre del 69% al 92% ($p < 0.05$); y cambios

en ACT de 5 a 8 puntos [46]. Sin embargo, hay estudios en los que no se logró una mejoría en la función pulmonar, lo que puede deberse a la diferencia en la población, antecedentes de tabaquismo o tamaño de muestra más pequeño [50-52].

Los marcadores asociados significativamente con el efecto ahorrador de corticoides fueron la ausencia de exacerbaciones y niveles más bajos de GCI; la mejoría de la función pulmonar se relacionó con porcentajes iniciales de FEV1 bajos y ausencia de SAHS; y la ausencia de exacerbaciones durante el año previo al tratamiento se asoció con una respuesta positiva a la reducción de las exacerbaciones. Estudios previos relacionan los niveles altos de eosinófilos con una mayor respuesta al tratamiento con mepolizumab [53,54]; estos estudios no son comparables con nuestros resultados ya que evalúan la respuesta global al tratamiento.

Después de 12 meses de tratamiento con benralizumab, se informaron resultados muy prometedores, con reducciones sustanciales en los ciclos de GCO, eosinófilos en sangre y número de exacerbaciones que requirieron atención de emergencia u hospitalización. Además, la función pulmonar y la puntuación ACT experimentaron mejoras significativas. Los resultados presentados están de acuerdo con los ECA ZONDA, SIROCO y CALIMA. En nuestro estudio se observó una reducción significativa de las exacerbaciones que requirieron urgencias u hospitalización del 77%, mientras que los estudios SIROCCO y CALIMA reflejan reducciones del 42% y 36% ($p < 0.001$), respectivamente. Claramente, la reducción es mayor en nuestro estudio, lo que puede deberse a la mayor gravedad de los pacientes incluidos en los ensayos aleatorizados. Nuestros resultados reflejan una reducción del 77% en la tasa de exacerbaciones, similar al estudio ZONDA donde se reflejan reducciones del 70% ($p < 0.001$). Los estudios de la vida real en los últimos años están en línea con nuestra investigación [55-58]. Entre estos estudios, una reciente revisión sistemática y metaanálisis realizada por Charles, D. et al., 2022, muestra que benralizumab produce cambios significativos en la tasa anual de exacerbaciones y porcentaje de FEV1, mejora significativa en los síntomas de asma medidos por ACT y una disminución de la eosinofilia en sangre [32].

Benralizumab se asoció con un mayor ahorro de GCO en mujeres, pacientes con niveles basales de eosinófilos más altos y menos ciclos de GCO durante el año anterior. Al igual que en el caso de las terapias biológicas anteriores, la mejora de la función pulmonar se asoció con niveles iniciales más bajos de FEV1 y una mayor reducción de las exacerbaciones con perfiles de pacientes que nunca fumaron. El principal estudio de vida real que reporta marcadores de respuesta relaciona la ausencia de exacerbaciones y GCO con un fenotipo fuertemente eosinofílico y menor severidad de la enfermedad [59]. Estos marcadores son consistentes con

los obtenidos en nuestro estudio para la ausencia o reducción del GCO tras 12 meses de terapia biológica con benralizumab. Sin embargo, los marcadores no se asemejan a los obtenidos en nuestro estudio para la reducción de las exacerbaciones y la mejora de la función pulmonar. Esto puede deberse a que estos autores analizaron la respuesta total al tratamiento y no distinguieron entre reducción de GCO, reducción de exacerbaciones y mejoría de la función pulmonar, como en nuestro estudio.

Cabe destacar que no encontramos diferencias estadísticamente significativas tras 12 meses de tratamiento en el grupo de pacientes con FEV1 superior al 80% para ninguna de las dos terapias biológicas, lo que sugiere que mejoran la función pulmonar pero que, en la mayoría de los casos, no alcanzan valores superiores al 80% del FEV1 tras el primer año de tratamiento.

La principal limitación de este estudio, como todas las investigaciones de la vida real, es la falta de un grupo de control con placebo. Su ausencia hace que la magnitud de los resultados observados carezca de la firmeza de la comparación con un grupo control. Además, tiene limitaciones propias de una recogida de datos retrospectiva, como la falta de valores relevantes para algunos pacientes como ACT y espirometría basal, el tamaño de la muestra y la imposibilidad de ampliar el estudio con otras terapias anti-IL5, como reslizumab, por la falta de pacientes en el hospital con este tratamiento. Sin embargo, los estudios de la vida real aportan un amplio conocimiento de las terapias biológicas y permiten implementar los hallazgos en la práctica clínica.

5. Conclusiones

La eficacia y la seguridad de las terapias biológicas han sido ampliamente estudiadas y demostradas en ensayos clínicos controlados, pero los resultados informados por este estudio de la vida real son muy prometedores. Mostramos cómo mepolizumab y benralizumab mejoran significativamente la función pulmonar y reducen y/o previenen la presencia de exacerbaciones y el uso de corticoides orales en una gran proporción de pacientes. Además, la búsqueda de factores predictivos de respuesta a terapias biológicas en la vida real puede aportar información para la toma de decisiones sobre su manejo clínico. Por tanto, podemos concluir que las terapias biológicas estudiadas han tenido un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes con asma grave no controlada y la carga sanitaria asociada.

Materiales complementarios

La información de apoyo se puede descargar en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms24032011/s1>.

Contribuciones de autor

SR-T. y CP-R. concibió y diseñó los experimentos; SR-T. realizó los experimentos; SR-T. muestras recolectadas; SR-T. y CP-R. analizó los datos; MVG-G., JAS-M. y GJ-G. aportó materiales y herramientas de análisis; SR-T. preparó el borrador original; CP-R., MVG-G., GJ-G., LEP-L., JMG-N. y SR-T. revisó y editó el borrador; SR-T., CP-R. y CM-G. revisó el análisis y la interpretación; AJ-M. y CM-G. adquisición de fondos supervisados. Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y en la mejora de su contenido intelectual. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Fondos

Fondos FEDER (UE) del Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) apoyados por subvenciones de cofinanciación del Biobanco del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional

Este estudio se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Sistema Andaluz de Salud (código: 1313-N-20).

Declaración de consentimiento informado

Todos los sujetos involucrados en el estudio firmaron el formulario de consentimiento informado por escrito.

Expresiones de gratitud

Los resultados de este estudio forman parte de la tesis doctoral presentada por Susana Rojo Tolosa en la Universidad de Granada.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses. Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, en la recopilación, análisis o interpretación de datos, en la redacción del manuscrito o en la decisión de publicar los resultados.

Referencias

1. GEMA 5.2. *Guía Española para el Manejo del Asma*; Luzán 5 Health Consulting, S.A.: Madrid, Spain, 2020; ISBN 978-84-17372-97-2.
2. GINA Committee Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2022 Update. *Glob. Initiat. Asthma* **2022**, 225.
3. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global Burden of 369 Diseases and Injuries in 204 Countries and Territories, 1990–2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* **2020**, 396, 1204–1222.
4. Chung, K.F.; Wenzel, S.E.; Brozek, J.L.; Bush, A.; Castro, M.; Sterk, P.J.; Adcock, I.M.; Bateman, E.D.; Bel, E.H.; Bleecker, E.R.; et al. International ERS/ATS Guidelines on Definition, Evaluation and Treatment of Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2014**, 43, 343–373.
5. Côté, A.; Godbout, K.; Boulet, L.P. The Management of Severe Asthma in 2020. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, 179, 114112.
6. Abraham, B.; Antó, J.M.; Barreiro, E.; Bel, E.H.D.; Bonsignore, G.; Bousquet, J.; Castellsague, J.; Chanez, P.; Cibella, F.; Cuttitta, G.; et al. The ENFUMOSA Cross-Sectional European Multicentre Study of the Clinical Phenotype of Chronic Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2003**, 22, 470–477.
7. Moore, W.C.; Bleecker, E.R.; Curran-Everett, D.; Erzurum, S.C.; Ameredes, B.T.; Bacharier, L.; Calhoun, W.J.; Castro, M.; Chung, K.F.; Clark, M.P.; et al. Characterization of the Severe Asthma Phenotype by the National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, 119, 405–413.
8. Heaney, L.G.; Brightling, C.E.; Menzies-Gow, A.; Stevenson, M.; Niven, R.M. Refractory Asthma in the UK: Cross-Sectional Findings from a UK Multicentre Registry. *Thorax* **2010**, 65, 787–794.
9. Lieberman, P.; Patterson, R.; Kunske, R. Complications of Long-Term Steroid Therapy for Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1972**, 49, 329–336.
10. Schäcke, H.; Döcke, W.D.; Asadullah, K. Mechanisms Involved in the Side Effects of Glucocorticoids. *Pharmacol. Ther.* **2002**, 96, 23–43.
11. FitzGerald, J.M.; Gibson, P.G. Asthma Exacerbations · 4: Prevention. *Thorax* **2006**, 61, 992–999.
12. Pizzichini, E.; Pizzichini, M.M.M.; Efthimiadis, A.; Dolovich, J.; Hargreave, F.E. Measuring Airway Inflammation in Asthma: Eosinophils and Eosinophilic Cationic Protein in Induced Sputum Compared with Peripheral Blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1997**, 99, 539–544.

13. Jatakanon, A.; Lim, S.; Barnes, P.J. Changes in Sputum Eosinophils Predict Loss of Asthma Control. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 64–72.
14. Jatakanon, A.; Kharitonov, S.; Lim, S.; Barnes, P.J. Effect of Differing Doses of Inhaled Budesonide on Markers of Airway Inflammation in Patients with Mild Asthma. *Thorax* **1999**, *54*, 108–114.
15. Green, R.H.; Brightling, C.E.; McKenna, S.; Hargadon, B.; Parker, D.; Bradding, P.; Wardlaw, A.J.; Pavord, I.D. Asthma Exacerbations and Sputum Eosinophil Counts: A Randomised Controlled Trial. *Lancet* **2002**, *360*, 1715–1721.
16. Pavord, I.D.; Brightling, C.E.; Woltmann, G.; Wardlaw, A.J. Non-Eosinophilic Corticosteroid Unresponsive Asthma. *Lancet* **1999**, *353*, 2213–2214.
17. Pizzichini, E.; Leff, J.A.; Reiss, T.F.; Hendeles, L.; Boulet, L.-P.; Wei, L.X.; Efthimiadis, A.E.; Zhang, J.; Hargreave, F.E. Montelukast Reduces Airway Eosinophilic Inflammation in Asthma: A Randomized, Controlled Trial. *Eur. Respir. J.* **1999**, *14*, 12.
18. Ten Brinke, A.; Sterk, P.J.; Masclee, A.A.M.; Spinhoven, P.; Schmidt, J.T.; Zwinderman, A.H.; Rabe, K.F.; Bel, E.H. Risk Factors of Frequent Exacerbations in Difficult-to-Treat Asthma. *Eur. Respir. J.* **2005**, *26*, 812–818.
19. Custovic, A.; Johnston, S.L.; Pavord, I.; Gaga, M.; Fabbri, L.; Bel, E.H.; Le Souëf, P.; Lötvall, J.; Demoly, P.; Akdis, C.A.; et al. EAACI Position Statement on Asthma Exacerbations and Severe Asthma. *Allergy* **2013**, *68*, 1520–1531.
20. Bousquet, J.; Jeffery, P.K.; Busse, W.W.; Johnson, M.; Vignola, A.M. Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 1720–1745.
21. Hoskins, G.; McCowan, C.; Neville, R.G.; Thomas, G.E.; Smith, B.; Silverman, S. Risk Factors and Costs Associated with an Asthma Attack. *Thorax* **2000**, *55*, 19–24.
22. Lane, S.; Molina, J.; Plusa, T. An International Observational Prospective Study to Determine the Cost of Asthma Exacerbations (COAX). *Respir. Med.* **2006**, *100*, 434–450.
23. Jackson, D.J.; Korn, S.; Mathur, S.K.; Barker, P.; Meka, V.G.; Martin, U.J.; Zangrilli, J.G. Safety of Eosinophil-Depleting Therapy for Severe, Eosinophilic Asthma: Focus on Benralizumab. *Drug Saf.* **2020**, *43*, 409–425.
24. Cushen, B.; Menzies-Gow, A. Benralizumab: An Updated Treatment of Eosinophilic Asthma. *Expert. Rev. Respir. Med.* **2020**, *14*, 435–444.
25. Flood-Page, P.; Menzies-Gow, A.; Phipps, S.; Ying, S.; Wangoo, A.; Ludwig, M.S.; Barnes, N.; Robinson, D.; Kay, A.B. Anti-IL-5 Treatment Reduces Deposition of ECM Proteins in the Bronchial Subepithelial Basement Membrane of Mild Atopic Asthmatics. *J. Clin. Investig.* **2003**, *112*, 1029–1036.
26. Menzies-Gow, A.; Flood-Page, P.; Sehmi, R.; Burman, J.; Hamid, Q.; Robinson, D.S.; Kay,

- A.B.; Denburg, J. Anti-IL-5 (Mepolizumab) Therapy Induces Bone Marrow Eosinophil Maturational Arrest and Decreases Eosinophil Progenitors in the Bronchial Mucosa of Atopic Asthmatics. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2003**, *111*, 714–719.
27. Leckie, M.J.; ten Brinke, A.; Khan, J.; Diamant, Z.; O'Connor, B.J.; Walls, C.M.; Mathur, A.K.; Cowley, H.C.; Chung, K.F.; Djukanovic, R.; et al. Effects of an Interleukin-5 Blocking Monoclonal Antibody on Eosinophils, Airway Hyper-Responsiveness, and the Late Asthmatic Response. *Lancet* **2000**, *356*, 2144–2148.
28. Travers, J.; Marsh, S.; Williams, M.; Weatherall, M.; Caldwell, B.; Shirtcliffe, P.; Aldington, S.; Beasley, R. External Validity of Randomised Controlled Trials in Asthma: To Whom Do the Results of the Trials Apply? *Thorax* **2007**, *62*, 219.
29. Padilla-Galo, A.; Levy-Abitbol, R.; Oliveira, C.; Valencia Azcona, B.; Pérez Morales, M.; Rivas-Ruiz, F.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; Levy-Naon, A. Real-Life Experience with Benralizumab during 6 Months. *BMC Pulm. Med.* **2020**, *20*, 1–12.
30. Kavanagh, J.E.; d'Ancona, G.; Elstad, M.; Green, L.; Fernandes, M.; Thomson, L.; Roxas, C.; Dhariwal, J.; Nanzer, A.M.; Kent, B.D.; et al. Real-World Effectiveness and the Characteristics of a 'Super-Responder' to Mepolizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *Chest* **2020**, *158*, 491–500.
31. Domingo Ribas, C.; Carrillo Díaz, T.; Blanco Aparicio, M.; Martínez Moragón, E.; Banas Conejero, D.; Sánchez Herrero, M.G.; Muñoz, M.; Cabrerizo, H.; Valero, A.; Arismendi, E.; et al. Real World Effectiveness and Safety of Mepolizumab in a Multicentric Spanish Cohort of Asthma Patients Stratified by Eosinophils: The REDES Study. *Drugs* **2021**, *81*, 1763.
32. Charles, D.; Shanley, J.; Temple, S.N.; Rattu, A.; Khaleva, E.; Roberts, G. Real-world Efficacy of Treatment with Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab and Reslizumab for Severe Asthma: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Exp. Allergy* **2022**, *52*, 616.
33. Harvey, E.S.; Langton, D.; Katelaris, C.; Stevens, S.; Farah, C.S.; Gillman, A.; Harrington, J.; Hew, M.; Kritikos, V.; Radhakrishna, N.; et al. Mepolizumab Effectiveness and Identification of Super-Responders in Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, 1902420.
- [
34. Harrison, T.W.; Chanez, P.; Menzella, F.; Canonica, G.W.; Louis, R.; Cosio, B.G.; Lugogo, N.L.; Mohan, A.; Burden, A.; McDermott, L.; et al. Onset of Effect and Impact on Health-Related Quality of Life, Exacerbation Rate, Lung Function, and Nasal Polyposis Symptoms for Patients with Severe Eosinophilic Asthma Treated with Benralizumab (ANDHI): A Randomised, Controlled, Phase 3b Trial. *Lancet Respir. Med.* **2021**, *9*, 260–274.

35. Nair, P.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Bourdin, A.; Lugogo, N.L.; Kuna, P.; Barker, P.; Sproule, S.; Ponnarambil, S.; Goldman, M.; et al. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Benralizumab in Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *376*, 2448–2458.
36. Agache, I.; Rocha, C.; Beltran, J.; Song, Y.; Posso, M.; Solà, I.; Alonso-Coello, P.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canonica, G.W.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab and Omalizumab) for Severe Allergic Asthma: A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1043–1057.
37. Agache, I.; Beltran, J.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canelo-Aybar, C.; Canonica, G.W.; Casale, T.; Chivato, T.; Corren, J.; Del Giacco, S.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab, Omalizumab and Reslizumab) for Severe Eosinophilic Asthma. A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1023–1042.
38. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios FICHA TECNICA Nucala 100 Mg Polvo Para solución Inyectable. Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151043001/FT_1151043001.html (accessed on 5 July 2022).
39. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Tecnica Fasentra 30 Mg solución Inyectable En Jeringa Precargada. Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171252001/FT_1171252001.html (accessed on 5 July 2022).
40. World Health Organization. Obesity and Overweight. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (accessed on 26 December 2022).
41. Vestergaard, P.; Olsen, M.L.; Johnsen, S.P.; Rejnmark, L.; Sørensen, H.T.; Mosekilde, L. Corticosteroid Use and Risk of Hip Fracture: A Population-Based Case–Control Study in Denmark. *J. Intern. Med.* **2003**, *254*, 486–493.
42. Asthma Control Test (ACT). Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 28 May 2022).
43. Ortega, H.G.; Liu, M.C.; Pavord, I.D.; Brusselle, G.G.; FitzGerald, J.M.; Chetta, A.; Humbert, M.; Katz, L.E.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1198–1207.
44. Chupp, G.L.; Bradford, E.S.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Wang-Jairaj, J.; Nelsen, L.M.;

- Trevor, J.L.; Magnan, A.; ten Brinke, A. Efficacy of Mepolizumab Add-on Therapy on Health-Related Quality of Life and Markers of Asthma Control in Severe Eosinophilic Asthma (MUSCA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multicentre, Phase 3b Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2017**, *5*, 390–400.
45. FitzGerald, J.M.; Bleecker, E.R.; Nair, P.; Korn, S.; Ohta, K.; Lommatzsch, M.; Ferguson, G.T.; Busse, W.W.; Barker, P.; Sproule, S.; et al. Benralizumab, an Anti-Interleukin-5 Receptor α Monoclonal Antibody, as Add-on Treatment for Patients with Severe, Uncontrolled, Eosinophilic Asthma (CALIMA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2128–2141.
46. Bleecker, E.R.; FitzGerald, J.M.; Chanez, P.; Papi, A.; Weinstein, S.F.; Barker, P.; Sproule, S.; Gilmartin, G.; Aurivillius, M.; Werkström, V.; et al. Efficacy and Safety of Benralizumab for Patients with Severe Asthma Uncontrolled with High-Dosage Inhaled Corticosteroids and Long-Acting B₂-Agonists (SIROCCO): A Randomised, Multicentre, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2115–2127.
47. Israel, E.; Canonica, G.W.; Brusselle, G.; Yang, S.; Howarth, P.H.; Martin, A.L.; Koufopoulou, M.; Smith, S.G.; Alfonso-Cristancho, R. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Severe Asthma: A Systematic Literature Review. *J. Asthma* **2021**, *59*, 2201–2217.
48. Crimi, C.; Campisi, R.; Cacopardo, G.; Intravaia, R.; Nolasco, S.; Porto, M.; Pelaia, C.; Crimi, N. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Patients with Severe Refractory Eosinophilic Asthma and Multiple Comorbidities. *World Allergy Organ. J.* **2020**, *13*, 100462.
49. Maglio, A.; Vitale, C.; Pellegrino, S.; Calabrese, C.; D'amato, M.; Molino, A.; Pelaia, C.; Triggiani, M.; Pelaia, G.; Stellato, C.; et al. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab on Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of Forced Vital Capacity in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *Biomedicines* **2021**, *9*, 1550.
50. Haldar, P.; Brightling, C.E.; Hargadon, B.; Gupta, S.; Monteiro, W.; Sousa, A.; Marshall, R.P.; Bradding, P.; Green, R.H.; Wardlaw, A.J.; et al. Mepolizumab and Exacerbations of Refractory Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 973.
51. Renner, A.; Marth, K.; Patocka, K.; Idzko, M.; Pohl, W. Effectiveness of Mepolizumab Therapy in Patients with Severe Eosinophilic Asthma: Austrian Real-Life Data. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2020**, *64*, 101946.
52. Brás, R.; Paulino, M.; Varandas, C.; Coutinho, C.; Silva, M.I.; Limão, R.; Costa, C.; Alonso, E.; Pedro, E.; Mendes, A. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma—A One-Year Real Life Portuguese Study. *Pulmonology* **2021**, *27*, 579–581.

53. Ortega, H.; Katz, L.; Gunsoy, N.; Keene, O.; Yancey, S. Blood Eosinophil Counts Predict Treatment Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *136*, 825–826.
54. Yancey, S.W.; Keene, O.N.; Albers, F.C.; Ortega, H.; Bates, S.; Bleecker, E.R.; Pavord, I. Biomarkers for Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2017**, *140*, 1509–1518.
55. Padilla-Galo, A.; García-Ruiz, A.J.; Levy Abitbol, R.C.; Oliveira, C.; Rivas-Ruiz, F.; García-Agua Soler, N.; Pérez Morales, M.; Valencia Azcona, B.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; et al. Real-Life Cost-Effectiveness of Benralizumab in Patients with Severe Asthma. *Respir. Res.* **2021**, *22*, 1–14.
56. Miralles López, J.C.; Escudero Pastor, A.I.; Carbonell Martínez, A.; Navarro Garrido, C.; Bonilla Pacheco, Y.; Petrik Petrik, Y. Benralizumab in Real Life. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2021**, *31*, 87–88.
57. Menzella, F.; Fontana, M.; Galeone, C.; Ghidoni, G.; Capobelli, S.; Ruggiero, P.; Scelfo, C.; Simonazzi, A.; Catellani, C.; Livrieri, F.; et al. Real World Effectiveness of Benralizumab on Respiratory Function and Asthma Control. *Multidiscip. Respir. Med.* **2021**, *16*, 785.
58. Scioscia, G.; Carpagnano, G.E.; Quarato, C.M.I.; Lacedonia, D.; Santamaria, S.; Soccio, P.; Depalo, A.; Fuso, P.; Foschino Barbaro, M.P. Effectiveness of Benralizumab in Improving the Quality of Life of Severe Eosinophilic Asthmatic Patients: Our Real-Life Experience. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 631660.
59. Kavanagh, J.E.; Hearn, A.P.; Dhariwal, J.; d’Ancona, G.; Douiri, A.; Roxas, C.; Fernandes, M.; Verde, L.; Thomson, L.; Nanzer, A.M.; et al. Real-World Effectiveness of Benralizumab in Severe Eosinophilic Asthma (Efectividad en el mundo real de benralizumab en el asma eosinofílica grave). *Cofre* **2021**, *159*, 496–506.

INFLUENCIA DE LA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A OMALIZUMAB EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA DE FENOTIPO ALÉRGICO

Susana Rojo-Tolosa^{1,2,3*}, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Laura Elena Pineda-Lancheros^{2,3}, José María Gálvez-Navas^{2,3}, María Victoria González-Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez-Gálvez¹, Cristina Pérez-Ramírez^{3,*}, Concepción Morales-García^{1,†} and Alberto Jiménez-Morales^{2,†}

1. Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
2. Unidad de Farmacogenética, Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
3. Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

* Autor de correspondencia

† Autor co-senior

Abstract

Omalizumab is a monoclonal antibody indicated for the treatment of severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype. Its effectiveness could be influenced by clinical variables and single nucleotide polymorphisms (SNPs) in one or more of the genes involved in the mechanism of action and process of response to omalizumab, and these could be used as predictive biomarkers of response. We conducted an observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled allergic asthma being treated with omalizumab in a tertiary hospital. Polymorphisms in the FCER1A (rs2251746, rs2427837), FCER1B (rs1441586, rs573790, rs1054485, rs569108), C3 (rs2230199), FCGR2A (rs1801274), FCGR2B (rs3219018, rs1050501), FCGR3A (rs10127939, rs396991), IL1RL1 (rs1420101, rs17026974, rs1921622), and GATA2 (rs4857855) genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction (PCR) using Taqman probes. A total of 110 patients under treatment with omalizumab were recruited. After 12 months of treatment the variables associated with a reduction in exacerbations were absence of polyposis (odds ratio [OR] = 4.22; 95% confidence interval [CI] = 0.95-19.63), IL1RL1 rs17026974-AG (OR = 19.07; 95% CI = 1.27-547), and IL1RL1 rs17026974-GG (OR = 16.76; 95% CI = 1.22-438.76). Reduction in oral corticosteroids (OCS) was associated with age of starting omalizumab treatment (OR = 0.95; 95% CI = 0.91-0.99) and blood eosinophil levels > 300 cells/ μ l (OR = 2.93; 95% CI = 1.01-9.29). Improved lung function showed a relationship to absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) (OR = 12.16; 95% CI = 2.45-79.49), FCGR2B rs3219018-C (OR = 8.6; 95% CI = 1.12-117.15), GATA2 rs4857855-T (OR = 15.98; 95% CI = 1.52-519.57) and FCGR2A rs1801274-G (OR = 13.75; 95% CI = 2.14-142.68; AG vs AA and OR = 7.46; 95% CI = 0.94-89.12; GG vs AA). Meeting 1 response criterion was related to FCER1A rs2251746-TT (OR = 24; 95% CI = 0.77-804.57), meeting 2 to age of asthma diagnosis (OR = 0.93; 95% CI = 0.88-0.99), and meeting 3 to body mass index (BMI) < 25 (OR = 14.23; 95% CI = 3.31-100.77) and C3 rs2230199-C (OR = 3; 95% CI = 1.01-9.92). The results of this study show the possible influence of the polymorphisms studied on the response to omalizumab and the clinical benefit that could be obtained by defining predictive biomarkers of treatment response.

Keywords: severe uncontrolled asthma; omalizumab; effectiveness, polymorphisms.

1 INTRODUCCIÓN

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica que cursa con hiperreactividad bronquial y una obstrucción variable del flujo aéreo, total o parcialmente reversible que puede dar lugar a episodios de disnea, sibilancias y exacerbaciones [1]. El asma constituye un problema de trascendencia global, siendo una de las afecciones médicas más graves que afecta a todos los grupos de edad, estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) revelan que 235 millones de personas se encuentran afectadas por esta enfermedad y cerca de 2.5 millones mueren cada año [2].

El asma es una de las enfermedades pulmonares más relevantes, ya que conlleva una carga global significativa en los sistemas sanitarios y en la sociedad debido a los altos costes que genera y la pérdida de calidad de vida y productividad laboral de los pacientes que cursan la enfermedad moderada-grave [3].

El principal reto del tratamiento del asma reside en su heterogeneidad, que en cierto grado está mediada por factores ambientales y genéticos. Dada la complejidad de la enfermedad y la dificultad de control, las opciones más prometedoras han surgido en la última década con el desarrollo de terapias biológicas como alternativa y/o complemento del tratamiento, en concreto, los anticuerpos monoclonales que tratan la inflamación subyacente mediante el bloqueo de dianas selectivas [4].

Omalizumab (Xolair®) es un anticuerpo monoclonal humanizado (IgG1 kappa) que se une selectivamente a la inmunoglobulina E (IgE) y está indicado para el tratamiento del asma alérgica grave [5]. La estructura molecular de la IgE incluye dos fragmentos variables (Fab) que interactúan con antígenos específicos y una región constante (Fc) que se une a los receptores de IgE. La molécula de IgE está formada por dos cadenas ligeras idénticas que poseen una parte variable y una parte constante, emparejadas con dos cadenas pesadas idénticas con una porción variable de dominio único y por un fragmento constante que incluye cuatro dominios (Cε1, Cε2, Cε3, Cε4) [6]. En el asma alérgica el papel patogénico de la IgE depende de su unión, a través de los dominios Cε3 a receptores de alta afinidad (FcεRI) y baja afinidad (FcεRII/CD23) expresados por muchas células. Omalizumab se une selectivamente a los dominios Cε3, que incluye los sitios de unión tanto para FcεRI como para FcεRII/CD23, de manera que impide la unión de IgE a los receptores de alta y baja afinidad [6]. En consecuencia, omalizumab inhibe todos los procesos celulares dependientes de la interacción de la IgE con sus receptores: desgranulación de mastocitos, expresión de basófilos de receptores de IgE de alta afinidad, supervivencia de eosinófilos, presentación de antígenos a las células T y la síntesis de IgE [7,8].

La función de la región Fc de IgG es mejorar la farmacocinética, aumentando la estabilidad y prolongando la vida media del fármaco [9]. La región Fc de IgG1 se une selectivamente a los receptores Fc-gamma (FcγR), que son glicoproteínas integrales de membrana que exhiben una activación compleja o efectos inhibidores sobre las funciones celulares del anticuerpo tras la agregación a IgG [10,11]. Existen diferentes tipos de FcγR, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16), en los que la afinidad por la región Fc de IgG puede variar modificando la respuesta a terapias biológicas (TBs) [10]. La afinidad de estos receptores por la región Fc de IgG1 de omalizumab podría variar debido a cambios estructurales en el dominio extracelular de los receptores, interfiriendo con la respuesta terapéutica.

El gen receptor de la interleucina 1 tipo I (IL1RL1), ha sido estudiado en múltiples estudios de asociación del genoma completo (GWAS) como gen de susceptibilidad al desarrollo de asma, la respuesta del tratamiento con corticoides inhalados (GCI) y un aumento significativo de la IgE sérica [12–16], pudiendo verse afectada la respuesta a omalizumab.

La proteína de unión a GATA2 (GATA2), miembro de la familia de los factores de transcripción GATA, tiene un papel fundamental en la diferenciación de mastocitos. Los mastocitos presentan FcεRI en la superficie celular que se une selectivamente a la IgE desencadenando la reacción alérgica [17]. GATA2 se unen a la región promotora de FcεRIA (que codifica FcεRIα) y al promotor de MS4A2 (que codifica FcεRIβ), regulando a la expresión FcεRI y la actividad de desgranulación mediada por IgE [18].

Dentro de este marco conceptual, el objetivo del presente estudio es evaluar la participación de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en algunos de los genes involucrados en el mecanismo de acción y el proceso de respuesta a omalizumab (FCERI, FCGR, C3, IL1RL1, GATA2), con el fin de conseguir biomarcadores predictores de la respuesta a esta terapia biológica.

2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Diseño del estudio

Estudio de cohorte observacional retrospectivo.

2.2 Población de estudio

Este estudio incluyó a 110 pacientes mayores de 18 años y de origen caucásico diagnosticados de asma grave no controlada según los criterios de la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA 5.2) [19], reclutados en el Servicio de Neumología del Hospital Universitario Virgen de

las Nieves de Granada entre marzo de 2007 y octubre de 2022. De los 110 pacientes reclutados se evaluó la respuesta a omalizumab en 74 pacientes en el momento previo al inicio del tratamiento y trascurridos 12 meses desde el comienzo de la terapia biológica. El resto de los pacientes no cumplió los criterios de evaluación del estudio. La vía de administración del fármaco fue subcutánea, de 75 a 600 mg de omalizumab en función de la concentración inicial de IgE y el peso del paciente cada 2 o 4 semanas [20].

2.3 Declaraciones Éticas

El estudio se realizó con la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Los sujetos que participaron en el estudio firmaron un consentimiento informado para la recogida y análisis genético de las muestras de saliva y para su donación al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía. Las muestras fueron identificadas por códigos alfanuméricos.

2.4 Variables sociodemográficas y clínicas

Los datos sociodemográficos y clínicos se recogieron mediante la revisión de historias clínicas. Los datos sociodemográficos recogidos fueron edad, sexo, IMC, hábito tabáquico, años con la enfermedad, poliposis nasal, enfermedad respiratoria previa, alergias, reflujo gastroesofágico (RGE), síndrome de apneas-hipopneas del sueño (SAHS), enfermedad obstructiva crónica (EPOC), años de TB, dosis del tratamiento y cambio a otro TB. Las variables clínicas incluyeron ciclos de corticoides orales (GCO) expresado como mg equivalente prednisona e GCI expresado como μg equivalentes de furoato de fluticasona, recuento de eosinófilos en sangre, exacerbaciones con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, IgE, función pulmonar como volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1%) y Asthma Control Test (ACT) [21]. Las variables clínicas se recogieron referentes al año previo del comienzo de la TB y tras cumplir el primer año de tratamiento.

2.5 Variables GENÉTICAS

2.5.1 DNA Isolation

Las muestras de saliva se recogieron en tubos cónicos BD Falcon™ de 50 ml (*BD, Plymouth, Reino Unido*). El ADN se extrajo con el *QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania)*, siguiendo las instrucciones del fabricante para purificar el ADN de la saliva, y se almacenó a -40 °C. La concentración y la pureza del ADN se midieron utilizando un espectrofotómetro *UV NanoDrop 2000* con una relación de absorbancia de 280/260 y 280/230.

2.5.2 Detección de polimorfismos genéticos y control de calidad

Los polimorfismos genéticos se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para discriminación alélica utilizando sondas TaqMan® (*ABI Applied Biosystems, QuantStudio 3 Real-Time PCR System, 96 wells*) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Tabla 1). Los polimorfismos FCGR2B (rs3219018) y FCGR2B (rs1050501) fueron analizados mediante un assay customizado por ThermoFisher Scientific (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) codificados como ANPRZAZ y ANRWUVX, respectivamente. El 10% de los resultados fue confirmado mediante secuenciación Sanger. Real-time PCR and Sanger sequencing were performed in the PharmacogenetGCI Unit of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Los criterios para el control de calidad de los SNP fueron (1) Tasa de genotipos faltantes por SNP < 0.05; (2) Frecuencia de alelos menores (MAF) > 0.01; (3) valor $p > 0.05$ en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg; (4) Tasa de genotipos faltantes entre respondedores y no respondedores < 0.05.

Tabla 1. Polimorfismos genéticos y TaqMan® ID.

Gen	SNP	dbSNP ID	Assay ID
FCER1A (1q23)	T>C	rs2251746	C__1840470_20
	G>A	rs2427837	C__16233438_20
FCER1B (11q12-13)	T>C	rs1441586	C__1842226_10
	T>C	rs573790	C__900105_20
	T>G	rs1054485	C__2932371_10
	A>G	rs569108	C__900116_10
C3 (19p13.3)	G>C	rs2230199	C__26330755_10
FCGR2A (1q23.3)	A>G	rs1801274	C__9077561_20
FCGR2B (1q23.3)	G>C	rs3219018	ANPRZAZ
	T>C	rs1050501	ANRWUVX
FCGR3A (1q23.3)	A>C	rs10127939	C__57480226_10
	A>C	rs396991	C__25815666_10
IL1RL1 (2q12)	C>T	rs1420101	C__8906009_20
	G>A	rs17026974	C__33551182_10
	G>A	rs1921622	C__1226146_10
GATA2 (3q21)	C>T	rs4857855	C__11231076_10

2.6 Variables respuesta

Para evaluar los predictores de respuesta a los 12 meses se tomaron como variables respuesta: la reducción de los ciclos de GCO anuales, considerando respuesta satisfactoria la reducción de al menos el 50% de los ciclos o ausencia de GCO; la mejora de la función pulmonar, considerando respondedores a aquellos que consiguieron un aumento de al menos el 10% del FEV1 tras los 12 meses de tratamiento; y la reducción de las exacerbaciones anuales con requerimiento de

urgencia y/u hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria a aquellos pacientes que lograron una reducción de al menos el 50% de las exacerbaciones o ausencia.

2.7 Análisis estadístico

El análisis descriptivo se realizó mediante el software R 4.2.0. Las variables cuantitativas se expresaron como media (\pm desviación estándar) para aquellas que cumplieran con la normalidad y como mediana y percentiles (25 y 75) para las variables que no seguían una distribución normal. La normalidad se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El análisis bivariado entre la respuesta y las variables genéticas fue realizado con múltiples modelos (genotípico, aditivo, alélico, dominante y recesivo) usando la prueba de chi-cuadrado de Pearson o aplicando la prueba exacta de Fisher para las variables cualitativas. Para las variables cuantitativas se aplicó la prueba t de Student a las variables que cumplieron con la normalidad. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para variables no normales. Los modelos fueron definidos como: alélico (D vs. d), dominante ((DD, Dd) vs. dd), recesivo (DD vs. (Dd, dd) genotípico (DD vs. dd, y Dd vs. dd) y aditivo, siendo D, el alelo menor y d, el alelo mayor.

Se utilizó un análisis multivariado (regresión logística) para calcular la razón de probabilidad ajustada (OR) y el intervalo de confianza del 95 % (IC del 95 %) para los posibles factores pronósticos de respuesta.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg, la frecuencia de haplotipos, y el desequilibrio de ligamiento (LD) a través de los coeficientes D-primo de Lewontin (D') y el coeficiente de desequilibrio de ligamiento (r²).

Todas las pruebas fueron bilaterales con un nivel de significancia de $p < 0.05$, y se realizaron utilizando el software de acceso libre para el análisis de asociación de genoma completo PLINK [22] y el programa estadístico R 4.2.0 [23]. El LD se calculó se realizó con el software Haploview 4.2 [24] y el análisis de haplotipos con SNPStats [25], una herramienta web para el análisis de estudios de asociación.

3 RESULTADOS

3.1 Características de los pacientes

Se incluyó un total de 74 pacientes tratados con omalizumab. Los datos clínicos y sociodemográficos se muestran en la Tabla 2. La edad media del total de pacientes fue de 46.89 ± 16.74 años y el 65.33% (48/74) eran mujeres. El 76.71% (56/74) presentaba un IMC mayor de 25, el 21.33% (16/74) eran exfumadores y un 4% (3/74) fumadores activos. Durante el año previo

al comienzo de omalizumab la mediana de dosis de GCI fue de 500 (250,1000), el 74.67% (56/74) había recibido al menos un ciclo de GCO, el 59.15% (56/74) presentaba un FEV1<80%, el 64% (48/74) había sufrido al menos una exacerbación con requerimiento de urgencia y/u hospitalización y la mediana de IgE en sangre fue de 359 (151,980) IU/ML. La descripción del resto de variables sociodemográficas y clínicas se encuentra en la Tabla 2.

Tabla 2. Características demográficas y clínicas de los pacientes tratados con omalizumab.

	N	%	Mean ± SD/ p50(p25, p75)
Género			
Femenino	48	65.33	
Masculino	26	34.67	
Edad inicio TB (años)	74		46.89 ± 16.74
Duración asma (años)	74		8 (5,14)
IMC (kg/m ²)			
<25	17	23.29	
>25	56	76.71	
Enfermedad pulmonar previa			
Si	19	25.33	
No	55	79.67	
Hábito tabáquico			
No fumador	56	74.67	
Fumador	3	4	
Ex fumador	16	21.33	
Polipos			
Si	18	24	
No	56	76	
Alergias			
Si	58	77.3	
No	16	22.67	
EPOC			
Si	14	18.67	
No	61	81.33	
ERGE			
Si	24	32	
No	51	68	
SASH			
Si	20	22.67	
No	55	77.33	
Edad diagnóstico (años)	74		43 (34,54)
<18	10	13.33	
>18	65	88.67	
GCI previos (µg/día)	74		500 (250,1000)
Ciclos GCO/año previos			
Si	56	74.67	
No	19	25.33	
FEV1 previo			
<80	42	59.15	
>80	29	40.85	
Exacerbaciones/ año previas			
Si	48	64	

	No	27	36	
Eosinofilos sangre previo				
	<300	37	54.41	
	>300	31	45.59	
IgE previa		65		359 (151,980)
Duración del tratamiento (años)				
	<5	52	69.33	
	>5	23	30.67	
TB previa				
	Si	37	49.33	
	No	38	50.67	

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; GCI: corticoides inhalados; GCO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media \pm desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 - p 75).

3.2 Eficacia clínica de omalizumab

La eficacia de omalizumab se evaluó transcurridos 12 meses del inicio de omalizumab. Después de 12 meses de tratamiento el 95.95% (71/74) presento una respuesta satisfactoria a al menos un criterio, el 85.15% (63/74) a al menos dos criterios y el 45.59% (31/74) a los tres criterios de respuesta. El 86.49% (64/74) respondió de forma satisfactoria a la reducción de exacerbaciones, el 76.47% (52/74) a la mejora de la función pulmonar y el 66.22% (49/74) a la reducción de GCO (Tabla 3).

Tabla 3. Eficacia clínica de omalizumab en pacientes con asma grave no controlada y fenotipo alérgico.

Response variable		N	%
Responde a 1 criterio			
	Si	71	95.95
	No	3	4.05
Responde a 2 criterio			
	Si	63	85.15
	No	11	14.86
Responde a 3 criterio			
	Si	31	45.59
	No	37	54.41
Reducción \geq 50% de GCO			
	Si	49	66.22
	No	25	33.78
Reducción \geq 50% de exacerbaciones			
	Si	64	86.49
	No	10	13.51
Incremento \geq 10% del FEV1 o FEV1 \geq 80%			
	Si	52	76.47
	No	16	23.53

GCO: glucocorticosteroides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada.

3.3 Distribución de los genotipos analizados

Las frecuencias genotípicas observadas coincidieron con los valores esperados según el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg (HDW), exceptuando IL1RL1 rs1921622 ($p=0.010$, Tabla S.1). No se encontraron diferencias estadísticas con las descritas en población ibérica para esta variante (IL1RL1 rs1921622 alelo A: 0.649 vs. 0.477; $p = 0.806$) [26]. Los valores de desequilibrio de ligamento D' y r^2 se muestran en la Tabla S2 y la Figura 1 muestra el gráfico de LD. Los siguientes pares de polimorfismos presentaron un fuerte desequilibrio de ligamento: IL1RL1 rs17026974/rs1420101 ($D'=0.94$), IL1RL1 rs1420101/rs1921622 ($D'=0.84$), FCER1B rs573790/rs1441586 ($D'=0.95$) y FCER1A rs2427837/rs2251746 ($D'=1$) (Tabla S2, Figura 1). Todos los polimorfismos mostraron una frecuencia de alelo menor (MAF) superior al 1%, por lo que ninguno de ellos fue excluido para el análisis (Tabla S3). Las frecuencias estimadas de haplotipos se presentan en la Tabla S4, S5, S6, S7, S8 y S9.

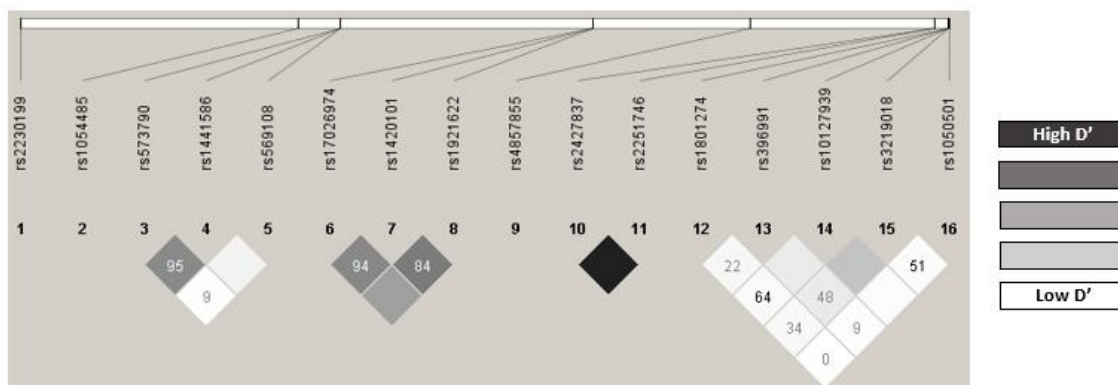


Figura 1. Desequilibrio de ligamento (LD).

3.1 Predictores de respuesta a omalizumab a los 12 meses

3.1.1 Predictores de respuesta a la reducción de las exacerbaciones

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones fueron la ausencia de poliposis (OR=3.92; CI95%=0.96-16.19; $p=0.042$) y SAHS (OR=4.15; CI95%=1.06-17.97; $p=0.034$) (Tabla S10). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo FCER1B rs573790-T (OR=3.92; CI95%=0.96-16.19; $p=0.042$), el alelo C3 rs2230199-C (OR=3.92; CI95%=0.96-16.19; $p=0.042$) y el alelo IL1RL1 rs17026974-G para los modelos genotípico y recesivo (OR=16.67; CI95%=1.25-433.96; $p=0.06$; AG vs AA, OR=15.2; CI95%=1.25-365.47; $p=0.06$; GG vs AA y OR=15.75; CI95%=1.36-362.71; $p=0.046$; G vs AA) (Tabla S11).

El análisis multivariante mostró que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones tras 12 meses de tratamiento con omalizumab fueron la ausencia de poliposis (OR=4.22; CI95%= 0.95-19.63), el genotipo IL1RL1 rs17026974-AG (OR=19.07; CI95%= 1.27-547; AG vs AA) y el genotipo IL1RL1 rs17026974-GG (OR=16.76; CI95%= 1.22-438.76; GG vs AA) (Tabla 4).

3.1.2 Predictores de respuesta a la reducción de GCO

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la reducción de GCO fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.96; CI95%=0.93-1; p=0.039), pacientes con IMC<25 (OR=9.6e8; CI95%=5.7e-35-NA; p<0.001), la edad de diagnóstico de asma (OR=0.96; CI95%=0.92-0.99; p=0.016) y valores de FEV1>80% y eosinófilos >300 cell/μl durante el año previo a recibir omalizumab (OR=2.88; CI95%=1.01-9.11; p=0.052 y OR=2.57; CI95%=0.93-7.54; p=0.071, respectivamente) (Table S12). No se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y ninguna de las variantes genéticas (Table S13).

El análisis multivariante reveló que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO tras 12 meses de tratamiento con omalizumab fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.95; CI95%= 0.0.91-0.99) y niveles de eosinófilos en sangre > 300 cell/μl (OR=2.93; CI95%= 1.01-9.29) (Tabla 4).

3.1.3 Predictores de respuesta a la mejora de la función pulmonar

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.94; CI95%=0.9-0.98; p=0.018), IMC<25 (OR=5.68; CI95%=1-107.39; p=0.076), ausencia de enfermedad respiratoria previa (OR=6.14; CI95%=1.85-21.81; p=0.002), ausencia de EPOC (OR=15.43; CI95%=3.98-71.29; p<0.001) y la edad de diagnóstico de asma (OR=0.95; CI95%=0.91-0.99; p=0.019) (Table S14). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación y/o tendencia entre la respuesta satisfactoria y el alelo FCGR2A rs1801274-G para el modelo genotípico y recesivo (OR=5.25; CI95%=1.42-22.64; p=0.052; AG vs AA, OR=3; CI95%=0.7-16.13; p=0.052; GG vs AA y OR=4.29; CI95%=1.33-14.49; p=0.012; G vs AA), el alelo FCGR2B rs3219018-C (OR=4.37; CI95%=1.07-29.76; p=0.052), con el alelo FCGR3A rs396991-C (OR=4.22; CI95%=1.18-17.63; p=0.072; CA vs AA y OR=1.13; CI95%=0.23-6.35; p=0.072; CC vs AA) y el alelo GATA2 rs4857855-T (OR=6.08; CI95%=1.07-114.8; p=0.062) (Table S15).

El análisis multivariante mostró que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar tras 12 meses de tratamiento con omalizumab

fueron la ausencia de EPOC (OR=12.16; CI95%= 2.45-79.49), FCGR2B rs3219018-C (OR=8.6; CI95%=1.12-117.15), el alelo GATA2 rs4857855-T (OR=15.98; CI95%=1.52-519.57) y el alelo FCGR2A rs1801274-G para el modelo genotípico (OR=13.75; CI95%=2.14-142.68; AG vs AA y OR=7.46; CI95%=0.94-89.12; GG vs AA, respectivamente) (Tabla 4).

3.1.4 Predictores de respuesta a al menos 1 criterio

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a al menos un criterio fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.87; CI95%=0.73-0.98; $p=0.061$), ausencia de GERD (OR=6.3e8; CI95%=1.18e-212-NA; $p=0.006$) y edad de diagnóstico de asma (OR=0.86; CI95%=0.72-0.97; $p=0.036$) (Table S16). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una tendencia entre la respuesta satisfactoria y el alelo FCER1A rs2251746-T para el modelo genotípico y recesivo (OR=10.5; CI95%=0.33-356.19; $p=0.088$; CT vs CC, OR=24; CI95%=0.77-804.57; $p=0.088$; TT vs CC y OR=17.25; CI95%=0.65-291.88; $p=0.008$; G vs AA) (Table S17).

El análisis multivariante la variable independiente que mantuvo asociación con la respuesta satisfactoria a al menos 1 criterio tras 12 meses de tratamiento con omalizumab fue el genotipo FCER1A rs2251746-TT (OR=24; CI95%=0.77-804.57) (Tabla 4).

3.1.5 Predictores de respuesta a al menos 2 criterios

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.94; CI95%=0.88-0.99; $p=0.026$), el IMC<25 (OR=2.8e6; CI95%=9.88e-46-NA; $p=0.045$) y la edad de diagnóstico de asma (OR=0.93; CI95%=0.88-0.99; $p=0.018$) (Table S18). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo GATA2 rs4857855-T (OR=7.8e7; CI95%=1.18e-74-NA; $p=0.35$; T vs CC) (Table S19).

En el análisis multivariante la variable independiente que mantuvo asociación con la respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios tras 12 meses de tratamiento con omalizumab fue la edad de diagnóstico de asma (OR=0.93; CI95%=0.88-0.99) (Tabla 4).

3.1.6 Predictores de respuesta a los 3 criterios

El análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a los 3 criterios fueron la edad de inicio de omalizumab (OR=0.96; CI95%=0.92-0.99; $p=0.01$), el IMC<25 (OR=13.38; CI95%=3.23-92.3; $p<0.001$), ausencia de enfermedad respiratoria previa (OR=4.11; CI95%=1.27-16.1; $p=0.02$), ausencia de poliposis (OR=5.05; CI95%=1.43-23.94; $p=0.014$),

ausencia de GERD (OR=3.46; CI95%=0.94-16.67; p=0.069), ausencia de SAHS (OR=5.74; CI95%=1.8-22.36; p=0.003), ausencia de EPOC (OR=5.05; CI95%=1.43-23.98; p=0.014), la edad diagnóstica de asma (OR=0.953; CI95%=0.92-0.98; p=0.006) y FEV1 previo <80% (OR=3.43; CI95%=1.24-10.06; p=0.069)(Table S20). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo C3 rs2230199-C para el modelo dominante (OR=2.91; CI95%=1.06-8.43; p=0.039; C vs GG) y una tendencia para el modelo genotípico (OR=1.75; CI95%=0.07-43.31; p=0.077; CC vs GG y OR=3.06; CI95%=1.07-9.22; p=0.077; CG vs GG) (Table S21).

En el análisis multivariante reveló que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a los 3 criterios tras 12 meses de tratamiento con omalizumab fueron el IMC<25 (OR=14.23; CI95%=3.31-100.77) y alelo C3 rs2230199-C (OR=3; CI95%=1.01-9.92) (Tabla 4).

Tabla 4. Predictores de respuesta a los 12 meses de tratamiento con omalizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis multivariante).

	OR (IC _{95%})	p-value
Respuesta a la reducción de las exacerbaciones		
Polipos (No)	4.22 (0.95-19.63)	0.050
IL1RL1 rs17026974 (AG vs AA)	19.07 (1.27-547)	0.040
IL1RL1 rs17026974 (GG vs AA)	16.76 (1.22-438.76)	0.041
Respuesta a la reducción de la GCO		
Eosinófilos (>300 cll/μl)	2.93 (1.01-9.29)	0.055
Edad de inicio de omalizumab	0.95 (0.91-0.99)	0.032
Respuesta a la mejora de la función pulmonar		
EPOC (No)	12.16 (2.45-79.49)	0.004
GATA2 rs4857855 (T vs CC)	15.98 (1.52-519.57)	0.052
FCGR2A rs1801274 (AG vs AA)	13.75 (2.14-142.68)	0.012
FCGR2A rs1801274 (GG vs AA)	7.46 (0.94-89.12)	0.076
FCGR2B rs3219018 (C vs GG)	8.6 (1.12-117.15)	0.052
Respuesta a al menos 1 criterio		
FCER1A rs2251746 (TT vs CC)	24 (0.77-804.57)	0.045
Respuesta a al menos 2 criterios		
Edad de diagnóstico	0.93 (0.88-0.99)	0.018
Respuesta a los 3 criterios		
IMC (<25)	14.23 (3.31-100.77)	0.001
C3 rs2230199 (C vs GG)	3 (1.01-9.92)	0.063

OR, odds ratio; IC95%, Intervalo de confianza del 95%.

4 DISCUSIÓN

La respuesta de los pacientes diagnosticados de asma grave no controlada con fenotipo alérgico es variable [27–30]. La búsqueda de biomarcadores predictores de predisposición al asma, exacerbaciones y respuesta al tratamiento con GCI o SABA está siendo el objetivo principal de numerosas investigaciones realizadas en los últimos años. Omalizumab ya ha demostrado su eficacia en la reducción de síntomas y el uso de medicación de rescate, además de le mejora la

calidad de vida del paciente con múltiples ensayos clínicos aleatorizados controlados (EAC) [31,32,41,42,33–40] y estudios en vida real [6,43–47]. Diferentes autores respaldan la gran contribución genética en la predisposición al asma, con estimaciones de hasta un 74% en adultos y un 90% en niños [48–53]. También se ha estudiado la implicación de la farmacogenética en la respuesta al tratamiento con agonistas β_2 adrenérgicos de acción corta inhalados (SABA) [54] y GCI [55–57]. Sin embargo, no existen estudios que reporten biomarcadores genéticos asociados a la respuesta a TBs, como omalizumab, en pacientes asmáticos. Para ello, necesitamos evaluar la efectividad de los tratamientos en diferentes poblaciones y encontrar los biomarcadores que determinan esa efectividad. En nuestro estudio, tras 12 meses de tratamiento con omalizumab se atribuyó el mayor porcentaje de respondedores a aquellos que presentaron una mejora satisfactoria en al menos uno de los criterios de respuesta (95.6%), seguidos de los que consiguieron una reducción $\geq 50\%$ del ratio de exacerbaciones (86.5%), respondedores a al menos dos criterios de respuesta (85.1%), aquellos que consiguieron una mejora $\geq 10\%$ de FEV1 o FEV1 $\geq 80\%$ (76.5%), respondedores a la reducción $\geq 50\%$ de GCO (66.2%) y respondedores a los tres criterios (45.6%). Un estudio realizado por Casale et al. en 806 pacientes blancos (EEUU) con asma y tras 12 meses de tratamiento con omalizumab mostró que el 77,8 % respondió a una reducción de la exacerbación del 50 % o más, en línea con nuestros resultados, el 35,9% a una mejora de 10% o más del FEV1, algo inferior a lo obtenidos en nuestro estudio y el 64.7% mejoró la puntuación en el Asthma Control Test (ACT) [58], variable que no pudimos emplear como criterio de respuesta por la falta de datos previos. En consonancia con nuestros resultados, encontraron que el 86.9% respondía a al menos uno criterios [58]. En nuestro estudio los biomarcadores de respuesta encontrados fueron: la mayor edad de inicio de la TB y de diagnóstico de la enfermedad asociados a una menor probabilidad de respuesta en la mejora de la función pulmonar, y la ausencia de enfermedad pulmonar previa y un IMC <25 con un mayor riesgo de mejora pulmonar; valores de FEV1 previos $>80\%$, eosinófilos en sangre > 300 cel/mL y resultados de IMC <25 se relacionaron con una probabilidad mayor de reducción de los ciclos de GCO; la ausencia de poliposis y ERGE con mejor respuesta a la reducción de exacerbaciones con requerimiento de urgencia. En consonancia con nuestros resultados varios autores reflejan que recuentos de eosinófilos >300 cel/mL se traducen en una mejor respuesta a omalizumab y reducción del número de exacerbaciones, que por consiguiente implica la reducción de ciclos de GCO [59–61]. Casale et al. encontraron relación entre la mejora de la función pulmonar en y un nivel elevado de eosinófilos ($p=0.011$) y un mayor riesgo de exacerbaciones si habían presentado el año previo (OR=2.19; IC95%=1.55-3.08; $p<0.001$), sin embargo, no buscaron biomarcadores asociados con el efecto ahorrador de la GCO [58]. Otros autores que evaluaron la respuesta

global encontraron relación entre valores altos de IgE y eosinófilos en sangre y menores niveles de FEV1 con una mayor respuesta a omalizumab [44,46,47,62].

Entre los resultados reportados hasta el momento, se han identificado varios biomarcadores como posibles predictores de la respuesta a omalizumab. La farmacogenética puede ser la herramienta complementaria perfecta para sacar el máximo partido a la información de la que ya disponemos y acercarnos a la consecución de una medicina personalizada, que podría optimizar el tratamiento del paciente sabiendo de forma previa la respuesta/toxicidad que podría presentar el paciente. Polimorfismos en algunos de los genes involucrados en el mecanismo de acción de omalizumab, como son FCER1, C3, IL1RL1 y GATA2 podrían participar como complemento a estos biomarcadores de respuesta. A día de hoy, ningún estudio ha investigado la participación de estos SNP, ni otros en la respuesta terapéutica a omalizumab.

El gen que codifica la cadena alfa del receptor de alta afinidad para IgE (FCER1A) se encuentra localizado en el cromosoma 1q23. En este gen hay dos SNPs, rs2251746 (T > C) y rs2427837 (C > T), que han sido ampliamente estudiados por su relación con altos niveles de IgE sérica [63–65]. En nuestro estudio encontramos que para el SNP FCER1A rs2251746 los portadores del genotipo CT y TT, y los portadores del alelo T presentaron un mayor riesgo de responder a al menos un criterio que los portadores del genotipo CC. No se ha estudiado previamente su asociación con la respuesta a omalizumab, pero En-Chinh Liao et al. relacionaron los genotipos CT y TT del SNP rs2251746 niveles más elevados de IgE total, IgE específico y células B de secreción de IgE ($p < 0.001$) [63]. Estos resultados son respaldados por otros autores [64,65]. La asociación de este SNP con una predisposición genética niveles más elevados de IgE y con una mayor respuesta a omalizumab está en línea con los biomarcadores que se reportaban previamente [44]. No se encontraron asociaciones entre estos SNPs y ninguna de las otras respuestas evaluadas.

La subunidad beta del receptor épsilon de inmunoglobulina de alta afinidad es una proteína que en humanos está codificada por el gen FCER1B, que está localizado en el cromosoma 11q12-13. En este gen se han descrito los SNPs rs1441586 (T>C), rs573790 (T>C), rs1054485 (T>G) y rs569108 (A>G), comunes en la patología asmática, atopía y relacionados con altos niveles de IgE [66–70]. En nuestro estudio solo se encontró una asociación significativa entre el genotipo FCER1B rs573790-CC y una mayor probabilidad de respuesta a la reducción de exacerbaciones con respecto al alelo T. No se han reportados estudios que estudien la asociación de este SNP con la respuesta a omalizumab, pero si se ha reportado la presencia del genotipo rs573790-CC en pacientes con enfermedad respiratoria exacerbada por aspirina (AERD) y asma [71].

El polimorfismo C3 rs2230199 (G>C) produce un cambio de Arginina (Arg) por Glicina (Gly) (p.Arg102Gly), dando lugar a una variante sin sentido que altera parcialmente la funcionalidad del complemento en el asma [72]. En nuestro estudio encontramos asociación entre el alelo C3 rs2230199-C y una mayor probabilidad de respuesta a la reducción de exacerbaciones con el uso de omalizumab. También se vinculó el genotipo C3 rs2230199-CC y CG con mayor predisposición en la respuesta a tres criterios. No se ha estudiado previamente la relación de este SNP con la respuesta a omalizumab, pero si hay autores que asocian cambios en la funcionalidad del gen con una alteración en la producción de interleucina-4 (IL4) y las respuestas IgE e IgG específicas [72], lo que nos hace pensar que si se altera la funcionalidad del gen también podría verse alterada la unión de omalizumab a IgE.

En los receptores FcγR, se han estudiado SNPs que podrían afectar a la estabilidad de unión de la región Fc de omalizumab en los genes FCGR2A, FCGR2B y FCGR3A, localizados en el cromosoma 1q23.3. Nuestros resultados solo reportaron asociaciones significativas de los SNPs en estos genes con la respuesta a la mejora de la función pulmonar. Los alelos FCGR2A rs1801274-G, FCGR2B rs3219018-C y FCGR3A rs396991-C fueron los que se vincularon con una mayor respuesta. El SNP FCGR2A rs1801274 (A > G) da lugar a una sustitución de histidina (His) por Arg (His131Arg) [73,74]. Estudios previos en otras patologías mostraron que el FCGR2A con His en lugar de Arg en la posición 131 se traducía en una mayor afinidad por IgG1 [75], lo que puede explicar la asociación del alelo G con la respuesta. El receptor FcγRIIb, es un receptor inhibitorio de IgG, cuyos SNPs que se han correlacionado con la regulación negativa de la expresión de FcγRIIb en las células B y la regulación positiva de las respuestas de anticuerpos IgG [76,77]. Esto podría explicar la asociación del alelo C del SNP FCGR2B rs3219018 (G > C) con una mejor respuesta, en este caso correspondiéndose a la regulación positiva de IgG. El SNP FCGR3A rs396991 (A > C) produce una sustitución de fenilalanina (Phe) por valina (Val) (Phe158Val). En estudios previos con otras TBs muestran que la variante de baja afinidad FCGR3A-p.158Phe se asocia con un menor aclaramiento de la TB y consecuentemente con una mejor respuesta terapéutica [75].

El gen IL1RL1 se encuentra en el cromosoma 2q12. Estudios previos indican que los SNPs estudiados (rs1420101, rs17026974, rs1921622) podrían actuar como promotores de la respuesta inflamatoria de tipo 2 en las vías respiratorias, con mayores recuentos de IgE sérica, alta eosinofilia y menor reversibilidad de FEV1, sin embargo no se ha estudiado su relación con la respuesta a TBs [12,13,78]. En nuestro estudio solo se encontró asociación positiva entre el alelo IL1RL1 rs17026974-G y la reducción de exacerbaciones.

El gen GATA2 se encuentra localizado en el cromosoma 3q21. Nuestros resultados reportan asociación significativa del alelo GATA2 rs4857855-T con la mejora de la función pulmonar y la respuesta a al menos dos parámetros. Investigaciones previas remarcan el importante papel de GATA2 en el desarrollo de células hematopoyéticas y células Th2, asociando este SNP con recuentos elevados de eosinófilos [13,79], pero no ha sido estudiado su papel en la respuesta a TBs.

La principal limitación de este estudio fue el tamaño de la muestra, que puede ser responsable de la pérdida de asociación estadísticamente significativa de alguna de las variables genéticas y los tipos de respuesta analizados. Para controlar la homogeneidad y fiabilidad de las variables recogidas, todos los pacientes se reclutaron de la misma cohorte hospitalaria, con los mismos procedimientos y a través del mismo personal. Otra limitación inherente a un estudio retrospectivo es la falta de algunos datos clínicos de interés para algunos de los pacientes. A pesar de ello, los efectos observados fueron concisos, aunque se requieren estudios que valoren el factor pronóstico de estos polimorfismos en cohortes más grandes.

5 CONCLUSIONES

En conclusión, este estudio muestra polimorfismos con un potencial valor pronóstico de la respuesta al tratamiento con omalizumab. Sin embargo, aún se desconoce la implicación funcional de la mayoría de los loci del asma. Por ello, se necesita más estudios para aumentar la comprensión del impacto de estos genes y la susceptibilidad a la respuesta a las terapias biológicas, como omalizumab, para conseguir su uso en la práctica clínica futura y encaminarnos hacia una medicina más personalizada.

Materiales complementarios: Table S1. Hardy-Weinberg equilibrium for the SNPs included in the study; Table S2. Linkage disequilibrium of the studied SNPs; Table S3. Minor allele frequencies for the SNPs studied; Table S4. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations; Table S5. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S6. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement; Table S7. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion; Table S8. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria; Table S9. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria; Table S10. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with reduced and/or no exacerbations; Table S11. Association of omalizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of

exacerbations; Table S12. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S13. Association of omalizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S14. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S15. Association of omalizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S16. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with response to at least one criterion; Table S17. Association of omalizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S18. Association of clinical characteristics of patients treated with omalizumab with response on at least 2 criteria; Table S19. Association of omalizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S20. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S21. Association of omalizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria.

Contribuciones de los autores: S.R.T. y C.P.R. concibieron y diseñaron los experimentos; S.R.T. realizó los experimentos; S.R.T. recogió muestras; S.R.T. y C.P.R. analizaron los datos; M.V.G.G., J.A.S.M., L.E.P.L, J.M.G.N y G.J.G. contribuyeron con materiales y herramientas de análisis; S.R.T. preparó el borrador original; C.P.R., A.J.M. y S.R.T. revisaron y editaron el borrador; S.R.T., C.P.R., A.J.M. y C.M.G. revisaron de nuevo el análisis y la interpretación; A.J.M. y C.M.G. supervisaron la obtención de fondos. Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y en la mejora de su contenido intelectual. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: Este estudio se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Sistema Andaluz de Salud (código: 1313-N-20).

Declaración de consentimiento informado: Todos los participantes en el estudio firmaron el consentimiento informado por escrito.

Agradecimientos: Los resultados de este estudio forman parte de la tesis doctoral presentada por Susana Rojo Tolosa en la Universidad.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica Actualización de La Guía Española Para El Manejo de Asma GEMA 5.2. **2022.**

2. Abbafati, C.; Abbas, K.M.; Abbasi-Kangevari, M.; Abd-Allah, F.; Abdelalim, A.; Abdollahi, M.; Abdollahpour, I.; Abegaz, K.H.; Abolhassani, H.; Aboyans, V.; et al. Global Burden of 369 Diseases and Injuries in 204 Countries and Territories, 1990-2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)* **2020**, *396*, 1204–1222, doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
3. Williams, S.A.; Wagner, S.; Kannan, H.; Bolge, S.C. The Association Between Asthma Control and Health Care Utilization, Work Productivity Loss and Health-Related Quality of Life. *J. Occup. Environ. Med.* **2009**, *51*, 780–785, doi:10.1097/JOM.0b013e3181abb019.
4. Bobolea, D.I. Fenotipos Del Asma Grave Del Adulto : Las Claves Para La Medicina Personalizada.
5. Carretero Colomer, M. Omalizumab. Tratamiento Del Asma Alérgica Grave. *Offarm* **2007**, *26*, 120–122.
6. Pelaia, C.; Calabrese, C.; Terracciano, R.; de Blasio, F.; Vatrella, A.; Pelaia, G. Omalizumab, the First Available Antibody for Biological Treatment of Severe Asthma: More than a Decade of Real-Life Effectiveness. *Ther. Adv. Respir. Dis.* **2018**, *12*, doi:10.1177/1753466618810192.
7. Chang, T.W.; Wu, P.C.; Hsu, C.L.; Hung, A.F. Anti-IgE Antibodies for the Treatment of IgE-Mediated Allergic Diseases. *Adv. Immunol.* **2007**, *93*, 63–119, doi:10.1016/S0065-2776(06)93002-8.
8. Presta, L.; Shields, R.; O'Connell, L.; Lahr, S.; Porter, J.; Gorman, C.; Jardieu, P. The Binding Site on Human Immunoglobulin E for Its High Affinity Receptor. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 26368–26373.
9. Lobo, E.D.; Hansen, R.J.; Balthasar, J.P. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2645–2668, doi:10.1002/JPS.20178.
10. Nimmerjahn, F.; Ravetch, J. V. Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members. *Immunity* **2006**, *24*, 19–28, doi:10.1016/J.IMMUNI.2005.11.010.
11. Tracey, D.; Klareskog, L.; Sasso, E.H.; Salfeld, J.G.; Tak, P.P. Tumor Necrosis Factor Antagonist Mechanisms of Action: A Comprehensive Review. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *117*, 244–279, doi:10.1016/J.PHARMTHERA.2007.10.001.
12. Inoue, H.; Ito, I.; Niimi, A.; Matsumoto, H.; Oguma, T.; Tajiri, T.; Iwata, T.; Nagasaki, T.; Kanemitsu, Y.; Morishima, T.; et al. Association of Interleukin 1 Receptor-like 1 Gene

- Polymorphisms with Eosinophilic Phenotype in Japanese Adults with Asthma. *Respir. Investig.* **2017**, *55*, 338–347, doi:10.1016/J.RESINV.2017.08.006.
13. Gudbjartsson, D.F.; Bjornsdottir, U.S.; Halapi, E.; Helgadottir, A.; Sulem, P.; Jonsdottir, G.M.; Thorleifsson, G.; Helgadottir, H.; Steinthorsdottir, V.; Stefansson, H.; et al. Sequence Variants Affecting Eosinophil Numbers Associate with Asthma and Myocardial Infarction. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 342–347, doi:10.1038/ng.323.
 14. Dijk, F.N.; Vijverberg, S.J.; Hernandez-Pacheco, N.; Repnik, K.; Karimi, L.; Mitratza, M.; Farzan, N.; Nawijn, M.C.; Burchard, E.G.; Engelkes, M.; et al. IL1RL1 Gene Variations Are Associated with Asthma Exacerbations in Children and Adolescents Using Inhaled Corticosteroids. *Allergy* **2020**, *75*, 984, doi:10.1111/ALL.14125.
 15. Ketelaar, M.E.; Westerlaken – van Ginkel, C.D.; Nawijn, M.C.; EJ Dubois, A.; Koppelman, G.H. IL-1RL1a Serum Levels and IL1RL1 SNPs in the Prediction of Food Allergy. *Clin. Exp. Allergy* **2021**, *51*, 614, doi:10.1111/CEA.13802.
 16. Akhabir, L.; Sandford, A. Genetics of Interleukin 1 Receptor-Like 1 in Immune and Inflammatory Diseases. *Curr. Genomics* **2010**, *11*, 591, doi:10.2174/138920210793360907.
 17. Li, Y.; Liu, B.; Harmacek, L.; Long, Z.; Liang, J.; Lukin, K.; Leach, S.M.; O'Connor, B.; Gerber, A.N.; Hagman, J.; et al. The Transcription Factors GATA2 and MITF Regulate Gene Expression in Mast Cells and Are Required for IgE/Mast Cell-Mediated Anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *142*, 1173, doi:10.1016/J.JACI.2017.10.043.
 18. Ohmori, S.; Ishijima, Y.; Numata, S.; Takahashi, M.; Sekita, M.; Sato, T.; Chugun, K.; Yamamoto, M.; Ohneda, K. GATA2 and PU.1 Collaborate To Activate the Expression of the Mouse Ms4a2 Gene, Encoding FcεRIβ, through Distinct Mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* **2019**, *39*, doi:10.1128/MCB.00314-19.
 19. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica *Gema 5.2. Guía Española Para El Manejo Del Asma*; 2022; ISBN 9788419069139.
 20. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica XOLAIR 150 Mg Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/p/05319008/P_05319008.html (accessed on 12 February 2023).
 21. Asthma Control Test (ACT) Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php>

(accessed on 4 May 2022).

22. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; De Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575, doi:10.1086/519795.
23. R Core Team, R. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **2013**.
24. Barrett, J.C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M.J. Haploview: Analysis and Visualization of LD and Haplotype Maps. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 263–265, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTH457.
25. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A Web Tool for the Analysis of Association Studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTL268.
26. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flicek, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, *526*, 68, doi:10.1038/NATURE15393.
27. Tabatabaian, F.; Ledford, D.K. Omalizumab for Severe Asthma: Toward Personalized Treatment Based on Biomarker Profile and Clinical History. *J. Asthma Allergy* **2018**, *11*, 53, doi:10.2147/JAA.S107982.
28. Bourdin, A.; Molinari, N.; Vachier, I.; Varrin, M.; Marin, G.; Gamez, A.S.; Paganin, F.; Chanez, P. Prognostic Value of Cluster Analysis of Severe Asthma Phenotypes. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2014**, *134*, 1043–1050, doi:10.1016/J.JACI.2014.04.038.
29. Chung, K.F. Managing Severe Asthma in Adults: Lessons from the ERS/ATS Guidelines. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2015**, *21*, 8–15, doi:10.1097/MCP.0000000000000116.
30. Fajt, M.L.; Wenzel, S.E. Development of New Therapies for Severe Asthma. *Allergy. Asthma Immunol. Res.* **2017**, *9*, 3–14, doi:10.4168/AAIR.2017.9.1.3.
31. Hanania, N.A.; Alpan, O.; Hamilos, D.L.; Condemi, J.J.; Reyes-Rivera, I.; Zhu, J.; Rosen, K.E.; Eisner, M.D.; Wong, D.A.; Busse, W. Omalizumab in Severe Allergic Asthma Inadequately Controlled with Standard Therapy: A Randomized Trial. *Ann. Intern. Med.* **2011**, *154*, 573–582, doi:10.7326/0003-4819-154-9-201105030-00002.
32. Solèr, M.; Matz, J.; Townley, R.; Buhl, R.; O’Brien, J.; Fox, H.; Thirlwell, J.; Gupta, N.; Della Cioppa, G. The Anti-IgE Antibody Omalizumab Reduces Exacerbations and Steroid

- Requirement in Allergic Asthmatics. *Eur. Respir. J.* **2001**, *18*, 254–261, doi:10.1183/09031936.01.00092101.
33. Busse, W.; Corren, J.; Lanier, B.Q.; McAlary, M.; Fowler-Taylor, A.; Cioppa, G. Della; Gupta, N. Omalizumab, Anti-IgE Recombinant Humanized Monoclonal Antibody, for the Treatment of Severe Allergic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2001**, *108*, 184–190, doi:10.1067/MAI.2001.117880.
34. Normansell, R.; Walker, S.; Milan, S.J.; Walters, E.H.; Nair, P. Omalizumab for Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, *2014*, doi:10.1002/14651858.CD003559.PUB4.
35. Holguin, F.; Cardet, J.C.; Chung, K.F.; Diver, S.; Ferreira, D.S.; Fitzpatrick, A.; Gaga, M.; Kellermeyer, L.; Khurana, S.; Knight, S.; et al. Management of Severe Asthma: A European Respiratory Society/American Thoracic Society Guideline. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, doi:10.1183/13993003.00588-2019.
36. Adachi, M.; Kozawa, M.; Yoshisue, H.; Lee Milligan, K.; Nagasaki, M.; Sasajima, T.; Miyamoto, T.; Ohta, K. Real-World Safety and Efficacy of Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma: A Long-Term Post-Marketing Study in Japan. *Respir. Med.* **2018**, *141*, 56–63, doi:10.1016/J.RMED.2018.06.021.
37. Paganin, F.; Mangiapan, G.; Proust, A.; Prudhomme, A.; Attia, J.; Marchand-Adam, S.; Pellet, F.; Milhe, F.; Melloni, B.; Bernady, A.; et al. Lung Function Parameters in Omalizumab Responder Patients: An Interesting Tool? *Allergy* **2017**, *72*, 1953–1961, doi:10.1111/ALL.13202.
38. Verma, P.; Randhawa, I.; Klaustermeier, W.B. Clinical Efficacy of Omalizumab in an Elderly Veteran Population with Severe Asthma. *Allergy asthma Proc.* **2011**, *32*, 346–350, doi:10.2500/AAP.2011.32.3467.
39. Humbert, M.; Beasley, R.; Ayres, J.; Slavin, R.; Hébert, J.; Bousquet, J.; Beeh, K.M.; Ramos, S.; Canonica, G.W.; Hedgecock, S.; et al. Benefits of Omalizumab as Add-on Therapy in Patients with Severe Persistent Asthma Who Are Inadequately Controlled despite Best Available Therapy (GINA 2002 Step 4 Treatment): INNOVATE. *Allergy* **2005**, *60*, 309–316, doi:10.1111/J.1398-9995.2004.00772.X.
40. Ortega, H.; Katz, L.; Gunsoy, N.; Keene, O.; Yancey, S. Blood Eosinophil Counts Predict Treatment Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *136*, 825–826, doi:10.1016/J.JACI.2015.05.039.

41. Humbert, M.; Taillé, C.; Mala, L.; Le Gros, V.; Just, J.; Molimard, M.; Agossou, M.; Appere De Vecchi, C.; Barbare, E.; Barbry, M.; et al. Omalizumab Effectiveness in Patients with Severe Allergic Asthma According to Blood Eosinophil Count: The STELLAIR Study. *Eur. Respir. J.* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02523-2017.
42. Harrison, T.W.; Chanez, P.; Menzella, F.; Canonica, G.W.; Louis, R.; Cosio, B.G.; Lugogo, N.L.; Mohan, A.; Burden, A.; McDermott, L.; et al. Onset of Effect and Impact on Health-Related Quality of Life, Exacerbation Rate, Lung Function, and Nasal Polyposis Symptoms for Patients with Severe Eosinophilic Asthma Treated with Benralizumab (ANDHI): A Randomised, Controlled, Phase 3b Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2021**, *9*, 260–274, doi:10.1016/S2213-2600(20)30414-8.
43. Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M. V; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Pharmaceutics* **2023**, *15*.
44. Sheehan, W.J.; Krouse, R.Z.; Calatroni, A.; Gergen, P.J.; Gern, J.E.; Gill, M.A.; Gruchalla, R.S.; Khurana Hershey, G.K.; Kattan, M.; Kercksmar, C.M.; et al. Aeroallergen Sensitization, Serum IgE, and Eosinophilia as Predictors of Response to Omalizumab Therapy During the Fall Season Among Children with Persistent Asthma. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2020**, *8*, 3021-3028.e2, doi:10.1016/J.JAIP.2020.03.051.
45. Bousquet, J.; Humbert, M.; Gibson, P.G.; Kostikas, K.; Jaumont, X.; Pfister, P.; Nissen, F. Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 2702–2714, doi:10.1016/J.JAIP.2021.01.011.
46. Kallieri, M.; Papaioannou, A.I.; Papathanasiou, E.; Ntontsi, P.; Papiris, S.; Loukides, S. Predictors of Response to Therapy with Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma – a Real Life Study. <http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2017.1321945> **2017**, *129*, 598–604, doi:10.1080/00325481.2017.1321945.
47. Caminati, M.; Vianello, A.; Chieco Bianchi, F.; Festi, G.; Guarnieri, G.; Marchi, M.R.; Micheletto, C.; Olivieri, M.; Tognella, S.; Guerriero, M.; et al. Relevance of TH2 Markers in the Assessment and Therapeutic Management of Severe Allergic Asthma: A Real-Life Perspective. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2020**, *30*, 35–41, doi:10.18176/JIACI.0379.

48. Ullemar, V.; Magnusson, P.K.E.; Lundholm, C.; Zettergren, A.; Melén, E.; Lichtenstein, P.; Almqvist, C. Heritability and Confirmation of Genetic Association Studies for Childhood Asthma in Twins. *Allergy* **2016**, *71*, 230–238, doi:<https://doi.org/10.1111/all.12783>.
49. Ober, C.; Yao, T.-C. The Genetics of Asthma and Allergic Disease: A 21st Century Perspective. *Immunol. Rev.* **2011**, *242*, 10–30, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01029.x>.
50. Thomsen, S.F.; Ulrik, C.S.; Kyvik, K.O.; Ferreira, M.A.R.; Backer, V. Multivariate Genetic Analysis of Atopy Phenotypes in a Selected Sample of Twins. *Clin. Exp. Allergy* **2006**, *36*, 1382–1390, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2006.02512.x>.
51. Wang, K.; Gaitsch, H.; Poon, H.; Cox, N.J.; Rzhetsky, A. Classification of Common Human Diseases Derived from Shared Genetic and Environmental Determinants. *Nat. Genet.* **2017**, *49*, 1319–1325, doi:10.1038/ng.3931.
52. Witte, J.S.; Visscher, P.M.; Wray, N.R. The Contribution of Genetic Variants to Disease Depends on the Ruler. *Nat. Rev. Genet.* **2014**, *15*, 765–776, doi:10.1038/nrg3786.
53. Rojo-Tolosa, S.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M. V; Fernández-Alonso, A.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C. Association between Single Nucleotide Polymorphisms Related to Vitamin D Metabolism and the Risk of Developing Asthma. *Nutrients* **2023**, *15*.
54. Spear, M.L.; Hu, D.; Pino-Yanes, M.; Huntsman, S.; Eng, C.; Levin, A.M.; Ortega, V.E.; White, M.J.; McGarry, M.E.; Thakur, N.; et al. A Genome-Wide Association and Admixture Mapping Study of Bronchodilator Drug Response in African Americans with Asthma. *Pharmacogenomics J.* **2018**, *19*, 249–259, doi:10.1038/s41397-018-0042-4.
55. Vijverberg, S.J. Realizing Personalized Medicine in Asthmatic Children Requires Large-Scale Collaboration. *Pediatr. Ther.* **2015**, *05*, doi:10.4172/2161-0665.1000e127.
56. Farzan, N.; Vijverberg, S.J.H.; Arets, H.G.; Raaijmakers, J.A.M.; Maitland-van der Zee, A.H. Pharmacogenomics of Inhaled Corticosteroids and Leukotriene Modifiers: A Systematic Review. *Clin. Exp. Allergy* **2017**, *47*, 271–293, doi:10.1111/CEA.12844.
57. Vijverberg, S.J.; Raaijmakers, J.A.; Maitland-Van Der Zee, A.H. ADRB2 Arg16 and the Need for Collaboration in Childhood Asthma Pharmacogenomics. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs.13.195> **2013**, *14*, 1937–1939, doi:10.2217/PGS.13.195.
58. Casale, T.B.; Luskin, A.T.; Busse, W.; Zeiger, R.S.; Trzaskoma, B.; Yang, M.; Griffin, N.M.; Chipps, B.E. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma:

- Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 156-164.e1, doi:10.1016/j.jaip.2018.04.043.
59. Ledford, D.; Busse, W.; Trzaskoma, B.; Omachi, T.A.; Rosén, K.; Chipps, B.E.; Luskin, A.T.; Solari, P.G. A Randomized Multicenter Study Evaluating Xolair Persistence of Response after Long-Term Therapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2017**, *140*, 162-169.e2, doi:10.1016/J.JACI.2016.08.054.
60. Busse, W.; Spector, S.; Rosén, K.; Wang, Y.; Alpan, O. High Eosinophil Count: A Potential Biomarker for Assessing Successful Omalizumab Treatment Effects. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2013**, *132*, doi:10.1016/J.JACI.2013.02.032.
61. Casale, T.B.; Chipps, B.E.; Rosén, K.; Trzaskoma, B.; Haselkorn, T.; Omachi, T.A.; Greenberg, S.; Hanania, N.A. Response to Omalizumab Using Patient Enrichment Criteria from Trials of Novel Biologics in Asthma. *Allergy* **2018**, *73*, 490–497, doi:10.1111/ALL.13302.
62. Marzano, A. V.; Genovese, G.; Casazza, G.; Fierro, M.T.; Dapavo, P.; Crimi, N.; Ferrucci, S.; Pepe, P.; Liberati, S.; Pigatto, P.D.; et al. Predictors of Response to Omalizumab and Relapse in Chronic Spontaneous Urticaria: A Study of 470 Patients. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **2019**, *33*, 918–924, doi:10.1111/JDV.15350.
63. Liao, E.C.; Chang, C.Y.; Hsieh, C.W.; Yu, S.J.; Yin, S.C.; Tsai, J.J. An Exploratory Pilot Study of Genetic Marker for IgE-Mediated Allergic Diseases with Expressions of FcεR1α and Cε. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 9504, doi:10.3390/IJMS16059504.
64. Amo, G.; García-Menaya, J.; Campo, P.; Cordobés, C.; Serón, M.C.P.; Ayuso, P.; Esguevillas, G.; Blanca, M.; Agúndez, J.A.G.; García-Martín, E. A Nonsynonymous FCER1B SNP Is Associated with Risk of Developing Allergic Rhinitis and with IgE Levels. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, doi:10.1038/SREP19724.
65. Dar, S.A.; Rai, G.; Ansari, M.A.; Akhter, N.; Gupta, N.; Sharma, S.; Haque, S.; Ramachandran, V.G.; Wahid, M.; Rudramurthy, S.M.; et al. FcεR1α Gene Polymorphism Shows Association with High IgE and Anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4142–4149, doi:10.1002/JCB.26619.
66. Sharma, S.; Ghosh, B. Promoter Polymorphism in the MS4A2 Gene and Asthma in the Indian Population. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2009**, *149*, 208–218, doi:10.1159/000199716.
67. Green, S.L.; Gaillard, M.C.; Song, E.; Dewar, J.B.; Halkas, A. Polymorphisms of the Beta

- Chain of the High-Affinity Immunoglobulin E Receptor (Fepsilon RI-Beta) in South African Black and White Asthmatic and Nonasthmatic Individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1998**, *158*, 1487–1492, doi:10.1164/AJRCCM.158.5.9707099.
68. Li, A.; Hopkin, J.M. Atopy Phenotype in Subjects with Variants of the Beta Subunit of the High Affinity IgE Receptor. *Thorax* **1997**, *52*, 654–655, doi:10.1136/THX.52.7.654.
69. Kim, Y.K.; Park, H.W.; Yang, J.S.; Oh, S.Y.; Chang, Y.S.; Shin, E.S.; Lee, J.E.; Kim, S.; Gho, Y.S.; Cho, S.H.; et al. Association and Functional Relevance of E237G, a Polymorphism of the High-Affinity Immunoglobulin E-Receptor Beta Chain Gene, to Airway Hyper-Responsiveness. *Clin. Exp. Allergy* **2007**, *37*, 592–598, doi:10.1111/J.1365-2222.2007.02680.X.
70. Shirakawa, T.; Mao, X.; Sasaki, S.; Enomoto, T.; Kawai, M.; Morimoto, K.; Hopkin, J. Association between Atopic Asthma and a Coding Variant of FcεRIβ in a Japanese Population. *Hum. Mol. Genet.* **1996**, *5*.
71. Pavón-Romero, G.F.; Pérez-Rubio, G.; Ramírez-Jiménez, F.; Ambrocio-Ortiz, E.; Bañuelos-Ortiz, E.; Alvarado-Franco, N.; Xochipa-Ruiz, K.E.; Hernández-Juárez, E.; Flores-García, B.A.; Camarena, Á.E.; et al. MS4A2-Rs573790 Is Associated with Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease: Replicative Study Using a Candidate Gene Strategy. *Front. Genet.* **2018**, *9*, 363, doi:10.3389/FGENE.2018.00363/FULL.
72. Drouin, S.M.; Corry, D.B.; Kildsgaard, J.; Wetzel, R.A. Cutting Edge: The Absence of C3 Demonstrates a Role for Complement in Th2 Effector Functions in a Murine Model of Pulmonary Allergy. *J. Immunol.* **2001**, *167*, 4141–4145, doi:10.4049/JIMMUNOL.167.8.4141.
73. Van Der Pol, W.L.; Van De Winkel, J.G.J. IgG Receptor Polymorphisms: Risk Factors for Disease. *Immunogenetics* **1998**, *48*, 222–232, doi:10.1007/S002510050426.
74. Chai, L.; Song, Y.Q.; Leung, W.K. Genetic Polymorphism Studies in Periodontitis and Fcy Receptors. *J. Periodontal Res.* **2012**, *47*, 273–285, doi:10.1111/J.1600-0765.2011.01437.X.
75. Cañete, J.D.; Suárez, B.; Hernández, M. V.; Sanmartí, R.; Rego, I.; Celis, R.; Moll, C.; Pinto, J.A.; Blanco, F.J.; Lozano, F. Influence of Variants of Fcy Receptors IIA and IIIA on the American College of Rheumatology and European League Against Rheumatism Responses to Anti-Tumour Necrosis Factor α Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2009**, *68*, 1547–1552, doi:10.1136/ARD.2008.096982.

76. Dharajiya, N.; Vaidya, S. V.; Murai, H.; Cardenas, V.; Kurosky, A.; Boldogh, I.; Sur, S.A. FcγRIIb Inhibits Allergic Lung Inflammation in a Murine Model of Allergic Asthma. *PLoS One* **2010**, *5*, 9337, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0009337.
77. Jiang, Y.; Hirose, S.; Abe, M.; Sanokawa-Akakura, R.; Ohtsuji, M.; Mi, X.; Li, N.; Xiu, Y.; Zhang, D.; Shirai, J.; et al. Polymorphisms in IgG Fc Receptor IIB Regulatory Regions Associated with Autoimmune Susceptibility. *Immunogenetics* **2000**, *51*, 429–435, doi:10.1007/S002510050641/METRICS.
78. Gordon, E.D.; Palandra, J.; Wesolowska-Andersen, A.; Ringel, L.; Rios, C.L.; Lachowicz-Scroggins, M.E.; Sharp, L.Z.; Everman, J.L.; MacLeod, H.J.; Lee, J.W.; et al. IL1RL1 Asthma Risk Variants Regulate Airway Type 2 Inflammation. *JCI Insight* **2016**, *1*, 87871, doi:10.1172/JCI.INSIGHT.87871.
79. Hirasawa, R.; Shimizu, R.; Takahashi, S.; Osawa, M.; Takayanagi, S.; Kato, Y.; Onodera, M.; Minegishi, N.; Yamamoto, M.; Fukao, K.; et al. Essential and Instructive Roles of GATA Factors in Eosinophil Development. *J. Exp. Med.* **2002**, *195*, 1379–1386, doi:10.1084/JEM.20020170.

INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A MEPOLIZUMAB Y BENRALIZUMAB EN PACIENTES CON ASMA GRAVE NO CONTROLADA CON FENOTIPO EOSINOFÍLICO

Susana Rojo-Tolosa ^{1,2,3*}, José Antonio Sánchez-Martínez¹, María Victoria González-Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez-Gálvez¹, Laura Elena Pineda-Lancheros^{2,3,*}, Concepción Morales-García^{1,†}, Cristina Pérez-Ramírez^{3,†}, and Alberto Jiménez-Morales ^{2,†}

1. Servicio de Neumología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
2. Unidad de Farmacogenética, Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada, España.
3. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

* Autor de correspondencia

† Autor co-senior

Abstract

The most promising treatment options for severe uncontrolled asthma (SUA) have emerged in recent years with the development of monoclonal antibodies for blocking selective targets responsible for the underlying inflammation. Variability of response to mepolizumab and benralizumab could be influenced by single-nucleotide polymorphisms (SNPs), and it would be useful to detect these and use them as predictive biomarkers of response. We conducted an observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled eosinophilic asthma being treated with mepolizumab and benralizumab in a tertiary hospital. Polymorphisms in the IL5 (rs4143832, rs17690122), RAD50 (rs11739623, rs4705959), IL1RL1 (rs1420101, rs17026974, rs1921622), GATA2 (rs4857855), IKZF2 (rs12619285), FCGR2A (rs1801274), FCGR2B (rs3219018, rs1050501), FCGR3A (rs10127939, rs396991), FCER1A (rs2251746, rs2427837), and FCER1B (rs1441586, rs573790, rs1054485, rs569108) genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction (PCR) using Taqman probes. A total of 188 patients under treatment with mepolizumab and benralizumab were recruited. After 12 months of treatment, FCER1B rs1054485-T (OR = 5.33; 95% CI = 1.06–30.02) was associated with a reduction in exacerbations with mepolizumab. Reduction in oral corticosteroids (OCS) was associated with IL5 rs4143832-T (OR = 3.89; 95% CI = 1.03-19.22), IKZF2 rs12619285-A (OR = 3.72; 95% CI = 0.79-20.43), FCER1B rs569108-AA (OR = 8.86; 95% CI = 1.18–181.94), and FCGR2A rs1801274-GG (OR = 7.73; 95% CI = 1.29–148.9) in patients treated with benralizumab. Improvement in lung function showed a relationship with IL1RL1 rs1921622-A (OR = 4.53; 95% CI = 1.11–30.89), IL1RL1 rs1420101-C (OR = 6.1e7; 95% CI = 1.35e–61–NA), FCER1B rs1441586-TT (OR = 3.71; 95% CI = 0.9–25.47), and FCER1A rs2427837-A (OR = 3.7; 95% CI = 1.16–14.73) in treatment with mepolizumab and IKZF2 rs12619285-AA (OR = 5; 95% CI = 1.22–26.05), FCER1A rs2427837-A (OR = 5; 95% CI = 1.1–36.02), and FCER1B rs1441586-C (OR = 6.9; 95% CI = 1.38–40.98) in benralizumab. The results of this study show the potential influence of the polymorphisms studied on the response to mepolizumab and benralizumab and the clinical benefit that could be obtained by defining predictive biomarkers of treatment response.

Keywords: severe uncontrolled asthma; mepolizumab; benralizumab; effectiveness, polymorphisms.

1 INTRODUCCIÓN

El asma grave no controlada (AGNC) se caracteriza por la necesidad de utilizar múltiples fármacos y a altas dosis para su tratamiento, escalones 5-6 de Guía Española para el manejo del asma (GEMA) y 5 de Global Initiative for Asthma (GINA) [1,2]. La respuesta inmune tipo 2 tiene un papel crucial en la patogénesis del asma grave, involucrando distintos tipos de células, entre las que destacan las células T helper tipo 2 (Th2) y las células linfoides innatas tipo 2 (ILC2) [3].

La interleucina 5 (IL-5) es una potente citocina proinflamatoria responsable de la maduración, proliferación, activación, migración y supervivencia de eosinófilos. Es producida por diferentes elementos celulares, incluidos los linfocitos Th2, las ILC2, los mastocitos y los eosinófilos. La exposición a alérgenos activa las células Th2 que producen y secretan IL-5. La presencia de IL-4 es esencial debido a su requerimiento para activar las células Th2 a través de la estimulación de factores de transcripción clave. La liberación de IL-5 de ILC2 depende de la activación de GATA3 inducida por las citocinas innatas epiteliales, incluidas IL-25, IL-33 y especialmente la linfopoyetina del estroma tímico (TSLP) [4].

Las opciones de tratamiento más prometedoras para el AGNC han surgido en los últimos años con el desarrollo de anticuerpos monoclonales para el bloqueo de dianas selectivas responsables de la inflamación subyacente [5].

Mepolizumab (Nucala®) es un anticuerpo monoclonal humanizado (IgG1, kappa) que actúa uniéndose a la IL-5 con alta afinidad y especificidad. Mepolizumab inhibe la bioactividad de la IL-5, mediante el bloqueo de su unión a la cadena alfa del complejo receptor IL-5 (IL-5R α) expresado en la superficie celular del eosinófilo, inhibiendo de este modo la señal de IL-5 y reduciendo la producción y la supervivencia de los eosinófilos [6].

Benralizumab (Fasenra®) es un anticuerpo monoclonal humanizado y afucosilado (IgG1, kappa). Se une con gran afinidad y especificidad a la subunidad alfa del receptor de IL-5R α . El receptor IL-5 se expresa específicamente en la superficie de eosinófilos y basófilos. La ausencia de fucosa en el dominio constante (Fc) de benralizumab determina una gran afinidad por los receptores Fc-gamma III (Fc γ RIII) en células efectoras inmunitarias como los linfocitos citolíticos naturales (células NK). Esto causa apoptosis de eosinófilos y basófilos mediante un refuerzo de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, lo que reduce la inflamación eosinofílica [7].

Las inmunoglobulinas (Ig) están formadas por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras unidas por puentes disulfuro. Ambas cadenas constan de dos partes, el dominio Fc, y una región variable (Fab). La función de la región Fc de IgG es mejorar la farmacocinética, aumentando la

estabilidad y prolongando la vida media del fármaco [8]. La región Fc de IgG1 se une selectivamente a los receptores FcγR, glicoproteínas integrales de membrana que producen una activación compleja o la inhibición sobre las funciones celulares del anticuerpo tras la agregación a IgG [9,10]. Existen diferentes tipos de FcγR, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16), en los que la afinidad por la región Fc de IgG puede variar modificando la respuesta a terapias biológicas (TBs) [9].

Existen estudios que asocian polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en el gen de IL5 con asma atópica, un aumento de la expresión de ARNm de IL5, una función disminuida de la función pulmonar y con el recuento eosinofílico [11,12]

La IL-1 es una citocina proinflamatoria de los linfocitos Th2 y su expresión se encuentra aumentada en asma ya que promueve la activación de los linfocitos T y por consiguiente, la promoción en el recuento de eosinófilos [13]. Recientemente se ha informado que IL-33 pertenece a la familia de las IL-1, con capacidad para la producción de Th2. Sus funciones están mediadas por el receptor de IL1 (IL1RL1), que da lugar a la liberación de mediadores alérgicos y eosinófilos, como IL-5 e IL-13, lo que tiene como resultado un aumento del recuento de eosinófilos y la inflamación eosinofílica [14], pudiendo verse afectada la respuesta a estas TBs.

El gen IKZF2 pertenece a la familia IKAROS de proteínas zinc-finger. Los miembros de esta familia son factores de transcripción hematopoyéticos específicos del desarrollo de linfocitos [15]. Estudios asocian la presencia de SNPS en este gen con el recuento de eosinófilos en asma [11,16].

El gen GATA2 codifica al factor de transcripción involucrado en el desarrollo y la proliferación de células hematopoyéticas y se define como factor crítico para el desarrollo de eosinófilos [17]. Estudios asocian la presencia de SNPS en este gen con el recuento de eosinófilos en asma [11].

La IL-5 es fundamental para la maduración y diferenciación de eosinófilos. Por el contrario, los gránulos específicos de eosinófilos pueden almacenar IL-5, lo que indica que estas células también podrían contribuir a aumentar los niveles circulantes de IL-5 [18,19]. Otros autores plantearon que RAD50 podría actuar como factor común regulando los niveles de IL-5. Se han detectado SNPs en este gen fuertemente ligados a los niveles de IL-5 y eosinofilia [20], lo que podría afectar a la respuesta terapéutica.

FcεRI activa mastocitos y basófilos mediante la interacción de los receptores FcεRI con dímeros de IgE unidos por un antígeno multivalente [21]. El complejo Ag-IgE-FcεRI activa una proteína G y estimula un complejo procesos que tiene como resultado final la síntesis y secreción de

citocinas como IL-1, IL-4 y IL-5 [22–25]. La presencia de SNPs en este gen podría modificar este proceso pudiendo afectar a la respuesta a estas TBs.

En la actualidad no existen estudios de asociación de SNPs con la respuesta a estas TBs. Dentro de este marco conceptual, el objetivo del presente estudio fue evaluar la implicación SNPs en algunos de los genes involucrados en el mecanismo de acción y el proceso de respuesta a mepolizumab y benralizumab (FCGR3, IL-5, FCER1, IL1RL1, IKZF2, GATA2, RAD50), con el fin de conseguir biomarcadores predictores de respuesta a las TBs.

2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Diseño del estudio

Estudio de cohorte observacional retrospectivo.

2.2 Población de estudio

Este estudio incluyó a 188 pacientes mayores de 18 años y de origen caucásico diagnosticados de asma grave no controlada según los criterios de la Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA 5.2) [1], reclutados en el Servicio de Neumología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada entre abril de 2014 y abril de 2022. De los 188 pacientes reclutados se evaluó la respuesta a mepolizumab en 73 pacientes y a benralizumab en 51 pacientes en el momento previo al inicio del tratamiento y transcurridos 12 meses desde el comienzo de la terapia biológica. El resto de los pacientes no cumplió los criterios de evaluación del estudio. La vía de administración del fármaco fue subcutánea: 100 mg de mepolizumab cada 4 semanas y 30 mg de benralizumab cada 4 semanas para las 3 primeras dosis y posteriormente cada 8 semanas [6,7].

2.3 Declaraciones éticas

El estudio se realizó con la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Los sujetos que participaron en el estudio firmaron un consentimiento informado para la recogida y análisis genético de las muestras de saliva y para su donación al Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía. Las muestras fueron identificadas por códigos alfanuméricos.

2.4 Variables sociodemográficas y clínicas

Los datos sociodemográficos y clínicos se recogieron mediante la revisión de historias clínicas. Los datos sociodemográficos recogidos fueron edad, sexo, IMC, hábito tabáquico, años con la

enfermedad, poliposis nasal, enfermedad respiratoria previa, alergias, reflujo gastroesofágico (RGE), síndrome de apneas-hipoapneas del sueño (SAHS), enfermedad obstructiva crónica (EPOC), años de TB, dosis del tratamiento y cambio a otro TB. Las variables clínicas incluyeron ciclos de corticoides orales (GCO) expresado como mg equivalente prednisona e GCI expresado como μg equivalentes de furoato de fluticasona, recuento de eosinófilos en sangre, exacerbaciones con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, IgE, función pulmonar como volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1%) y Asthma Control Test (ACT) [26]. Las variables clínicas se recogieron referentes al año previo del comienzo de la TB y tras cumplir el primer año de tratamiento.

2.5 Variables genéticas

2.5.1 Aislamiento del ADN

Las muestras de saliva se recogieron en tubos cónicos BD Falcon™ de 50 ml (BD, Plymouth, Reino Unido). El ADN se extrajo con el QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante para purificar el ADN de la saliva, y se almacenó a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. La concentración y la pureza del ADN se midieron utilizando un espectrofotómetro UV NanoDrop 2000 con una relación de absorbancia de 280/260 y 280/230.

2.5.2 Detección de polimorfismos genéticos y control de calidad

Los polimorfismos genéticos se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para discriminación alélica utilizando sondas TaqMan® (*ABI Applied Biosystems, QuantStudio 3 Real-Time PCR System, 96 wells*) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Tabla 1). Los polimorfismos FCGR2B (rs3219018) y FCGR2B (rs1050501) fueron analizados mediante un assay customizado por ThermoFisher Scientific (Waltham, Massachusetts, Estados Unidos) codificados como ANPRZAZ y ANRWUVX, respectivamente. El 10% de los resultados fue confirmado mediante secuenciación Sanger. La PCR a tiempo real y la secuenciación Sanger se realizaron en la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Los criterios para el control de calidad de los SNP fueron (1) tasa de genotipos faltantes por SNP < 0.05 ; (2) frecuencia de alelos menores > 0.01 ; (3) valor $p > 0.05$ en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg; (4) tasa de genotipos faltantes entre respondedores y no respondedores < 0.05 .

Tabla 1. Polimorfismos genéticos y TaqMan® ID.

Gene	SNP	dbSNP ID	Assay ID
IL5 (5q31)	T>G	rs4143832	C_28028637_10
	A>G	rs17690122	C_33291516_10

<i>RAD50</i> (5q31.1)	C>T	rs11739623	C__31237883_10
	T>C	rs4705959	C__2549990_10
<i>FCER1A</i> (1q23)	T>C	rs2251746	C__1840470_20
	G>A	rs2427837	C__16233438_20
<i>FCER1B</i> (11q12-13)	T>C	rs1441586	C__1842226_10
	T>C	rs573790	C__900105_20
	T>G	rs1054485	C__2932371_10
	A>G	rs569108	C__900116_10
<i>IKZF22</i> (2q13)	A>G	rs12619285	C__1861821_10
<i>FCGR2A</i> (1q23.3)	A>G	rs1801274	C__9077561_20
<i>FCGR2B</i> (1q23.3)	G>C	rs3219018	ANPRZAZ
	T>C	rs1050501	ANRWUVX
<i>FCGR3A</i> (1q23.3)	A>C	rs10127939	C__57480226_10
	A>C	rs396991	C__25815666_10
<i>IL1RL1</i> (2q12)	C>T	rs1420101	C__8906009_20
	G>A	rs17026974	C__33551182_10
	G>A	rs1921622	C__1226146_10
<i>GATA2</i> (3q21)	C>T	rs4857855	C__11231076_10

2.6 Variables de respuesta

Se tomaron como variables respuesta para evaluar los predictores de respuesta a los 12 meses: la reducción de los ciclos de GCO anuales, considerando respuesta satisfactoria la reducción de al menos el 50% de los ciclos o ausencia de GCO; la mejora de la función pulmonar, considerando respondedores a aquellos que consiguieron un aumento de al menos el 10% del FEV1 o un FEV1>80% tras los 12 meses de tratamiento; y la reducción de las exacerbaciones anuales con requerimiento de urgencia y/u hospitalización, tomando como respuesta satisfactoria a aquellos pacientes que lograron una reducción de al menos el 50% de las exacerbaciones o ausencia.

2.7 Análisis estadístico

El análisis descriptivo se realizó mediante el software R 4.2.0. Las variables cuantitativas se expresaron como media (\pm desviación estándar) para aquellas que cumplieran con la normalidad y como mediana y percentiles (25 y 75) para las variables que no seguían una distribución normal. La normalidad se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El análisis bivariado entre la respuesta y las variables genéticas fue realizado con múltiples modelos (genotípico, aditivo, alélico, dominante y recesivo) usando la prueba de chi-cuadrado de Pearson o aplicando la prueba exacta de Fisher para las variables cualitativas. Para las variables cuantitativas se aplicó la prueba t de Student a las variables que cumplieron con la normalidad. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para variables no normales. Los modelos fueron

definidos como: alélico (D vs. d), dominante ((DD, Dd) vs. dd), recesivo (DD vs. (Dd, dd) genotípico (DD vs. dd, y Dd vs. dd) y aditivo, siendo D, el alelo menor y d, el alelo mayor.

Se utilizó un análisis multivariado (regresión logística) para calcular la razón de probabilidad ajustada (OR) y el intervalo de confianza del 95 % (IC del 95 %) para los posibles factores pronósticos de respuesta.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg, la frecuencia de haplotipos, y el desequilibrio de ligamiento (LD) a través de los coeficientes D-primo de Lewontin (D') y el coeficiente de desequilibrio de ligamiento (r²).

Todas las pruebas fueron bilaterales con un nivel de significancia de $p < 0.05$, y se realizaron utilizando el software de acceso libre para el análisis de asociación de genoma completo PLINK [27] y el programa estadístico R 4.2.0 [28]. El LD se calculó se realizó con el software Haploview 4.2 [29] y el análisis de haplotipos con SNPStats [30], una herramienta web para el análisis de estudios de asociación.

3 RESULTADOS

3.1 Características de los pacientes

3.1.1 Características de los pacientes tratados con mepolizumab.

Se incluyó un total de 73 pacientes tratados con mepolizumab. Los datos clínicos y sociodemográficos se muestran en la Tabla 2. La mediana de edad de inicio de la TB de los pacientes fue de 53 [45,61] años y el 67.1% (49/73) eran mujeres. El 74% (54/73) presentaba un IMC mayor de 25 y el 83.6% (61/73) eran exfumadores. Durante el año previo al comienzo de mepolizumab la mediana de dosis de GCI fue de 500 [500,1000], el 79.4% (58/73) había recibido al menos un ciclo de GCO, el 68.6% (48/73) presentaba un FEV₁<80%, el 65.7% (48/73) había sufrido al menos una exacerbación con requerimiento de urgencia y/u hospitalización y el 77.6% (55/73) presentó valores superiores a 300 cell/mcl de eosinófilos en sangre. La descripción del resto de variables sociodemográficas y clínicas se encuentra en la Tabla 2.

Tabla 2. Características demográficas y clínicas de los pacientes tratados con mepolizumab.

	N	%	Media ± DE/ p50(p25, p75)
Género			
Femenino	49	67.12	
Masculino	24	32.88	
Edad inicio TB (años)	73		53 [45,61]
Duración asma (años)	73		7 [3,11]

IMC (kg/m ²)			
	<25	19	26.03
	>25	54	73.97
Enfermedad pulmonar previa			
	Si	34	46.58
	No	39	53.42
Hábito tabáquico			
	No fumador	12	16.44
	Fumador	61	83.56
	Ex fumador	0	0
Polipos			
	Si	33	45.21
	No	40	54.79
Alergias			
	Si	37	50.68
	No	36	49.32
EPOC			
	Si	32	73.84
	No	41	56.16
ERGE			
	Si	15	20.55
	No	58	79.45
SASH			
	Si	13	17.81
	No	60	82.19
Edad diagnóstico (años)		73	48.59 ± 14.45
	<18	2	2.74
	>18	71	97.26
GCI previos (µg/día)		73	500 [500,1000]
Cliclos GCO/año previos			
	Si	58	79.45
	No	15	20.55
FEV1 previo			
	<80	48	68.57
	>80	22	31.43
Exacerbaciones/ año previas			
	Si	48	65.75
	No	25	34.25
Eosinofilos sangre previo			
	<300	16	22.54
	>300	55	77.46
IgE previa		39	132.6 [38.35,349.35]
TB previa			
	Si	21	28.77
	No	52	71.23

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; GCI: corticoides inhalados; GCO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media ± desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 -p 75).

3.1.2 Características de los pacientes tratados con benralizumab.

Se incluyó un total de 51 pacientes tratados con benralizumab. Los datos clínicos y sociodemográficos se muestran en la Tabla 3. La media de edad de inicio de la TB de los pacientes fue de 57.6 ± 15.4 años y el 66.7% (34/51) eran mujeres. El 82.3% (42/51) presentó un IMC mayor de 25, el 19.6% (10/51) eran exfumadores y el 3.9% (2/51) fumadores activos. Durante el año previo al comienzo de benralizumab la mediana de dosis de GCI fue de 1000 (500,1000), el 7.8% (4/51) había recibido al menos un ciclo de GCO, el 66.7% (34/51) presentaba un FEV1<80%, el 43.1% (22/51) había sufrido al menos una exacerbación con requerimiento de urgencia y/u hospitalización y el 58.8% (30/51) presentó valores superiores a 300 cell/mcl de eosinófilos en sangre. La descripción del resto de variables sociodemográficas y clínicas se encuentra en la Tabla 3.

Tabla 3. Características demográficas y clínicas de los pacientes tratados con benralizumab.

	N	%	Media \pm DE/ p50(p25, p75)
Género			
Femenino	34	66.7	
Masculino	17	33.3	
Edad inicio TB (años)	51		57.6 \pm 15.4
Duración asma (años)	51		6 [3.5-10]
IMC (kg/m ²)			
<25	9	17.7	
>25	42	82.3	
Enfermedad pulmonar previa			
Si	24	47.1	
No	27	52.9	
Hábito tabáquico			
No fumador	39	76.5	
Fumador	2	3.9	
Ex fumador	10	19.6	
Polipos			
Si	20	39.2	
No	31	60.8	
Alergias			
Si	33	64.7	
No	18	35.3	
EPOC			
Si	22	43.1	
No	29	56.9	
ERGE			
Si	10	19.6	
No	41	80.4	
SASH			
Si	10	19.6	
No	41	80.4	
Edad diagnóstico (años)	51		51.9 \pm 15.2
<18	1	2	

>18	50	98	
GCI previos ($\mu\text{g}/\text{día}$)	51		1000 [500-1000]
Cliclos GCO/año previos			
Si	4	7.8	
No	47	92.2	
FEV1 previo			
<80	34	66.7	
>80	17	33.3	
Exacerbaciones/ año previas			
Si	22	43.1	
No	29	56.9	
Eosinofilos sangre previo			
<300	21	41.2	
>300	30	58.8	
IgE previa	16		110 [47.5-692]
TB previo			
Si	20	39.2	
No	31	60.8	

IMC: índice de masa corporal; ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico; SAHS: síndrome de apnea-hipopnea del sueño; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; GCI: corticoides inhalados; GCO: corticoides orales; FEV1: volumen espiratorio máximo en el primer segundo de espiración forzada; IgE: inmunoglobulina E; TB: terapia biológica. Las variables cualitativas se muestran como números (porcentaje, %). Las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media \pm desviación estándar (DE). Las variables cuantitativas con una distribución no normal se muestran como p 50 (p 25 -p 75).

3.2 Eficacia clínica

La eficacia se evaluó transcurridos 12 meses del inicio de mepolizumab y benralizumab. Después de 12 meses de tratamiento el 97.2% (70/72) y el 97.9% (47/48) mostraron una respuesta satisfactoria a al menos un criterio, el 77.8% (56/72) y 83.3% (40/48) a al menos dos criterios, y el 48.5% (32/66) y el 47.6% (20/44) a los tres criterios de respuesta, respectivamente. El 90.3% (65/72) y el 94% (47/50) respondieron de forma satisfactoria a la reducción de exacerbaciones, el 70.8% (46/65) y el 72.7% (32/44) a la mejora de la función pulmonar y el 66.7% (48/72) y el 64% (32/50) a la reducción de GCO, respectivamente (Tabla 4).

Table 4. Eficacia clínica de mepolizumab y benralizumab en pacientes con asma grave no controlada y fenotipo eosinofílico.

Variable respuesta	Mepolizumab		Benralizumab	
	N	%	N	%
Responde a 1 criterio				
Si	70	97.2	47	97.9
No	2	2.8	1	2.1
Responde a 2 criterio				
Si	56	77.8	40	83.3
No	16	22.2	8	16.7
Responde a 3 criterio				
Si	32	48.5	20	47.6
No	34	51.5	22	52.4
Reducción de GCO \geq 50%				

	Si	48	66.7	32	64
	No	24	33.3	18	36
Reducción de exacerbaciones ≥ 50%					
	Si	65	90.3	47	94
	No	7	9.7	3	6
Incremento de %FEV1 ≥ 10% o %FEV1 ≥ 80%					
	Si	46	70.8	32	72.7
	No	19	29.2	12	27.3

GCO: corticosteroides orales; %FEV1: porcentaje máximo de volumen espiratorio en el primer segundo de espiración forzada.

3.3 Distribución de los genotipos analizados

Las frecuencias genotípicas observadas coincidieron con los valores esperados según el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg (HDW), exceptuando FCGR2A rs1801274 y FCGR3A rs10127939 ($p=0.016$ y $p=0.014$, respectivamente, Tabla S.1). No se encontraron diferencias estadísticas con las descritas en población ibérica para estas variantes (FCGR2A rs1801274 alelo A: 0.653 vs. 0.472; $p = 0.797$ y FCGR3A rs10127939 alelo A: 0.889 vs. 0.897; $p = 0.864$) [31]. Los valores de desequilibrio de ligamento D' y r^2 se muestran en la Tabla S2 y la Figura 1 muestra el gráfico de LD. Los siguientes pares de polimorfismos presentaron un fuerte desequilibrio de ligamento: FCER1A rs2427837/rs2251746 ($r^2=0.9$, $D'=0.96$) y RAD50 rs11739623/rs4705959 ($r^2=0.84$, $D'=0.96$) (Tabla S2, Figura 1). Todos los polimorfismos mostraron una frecuencia de alelo menor (MAF) superior al 1%, por lo que ninguno de ellos fue excluido para el análisis (Tabla S3). Las frecuencias estimadas de haplotipos se presentan en las Tablas S4-S15. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre ningún haplotipo con la respuesta.

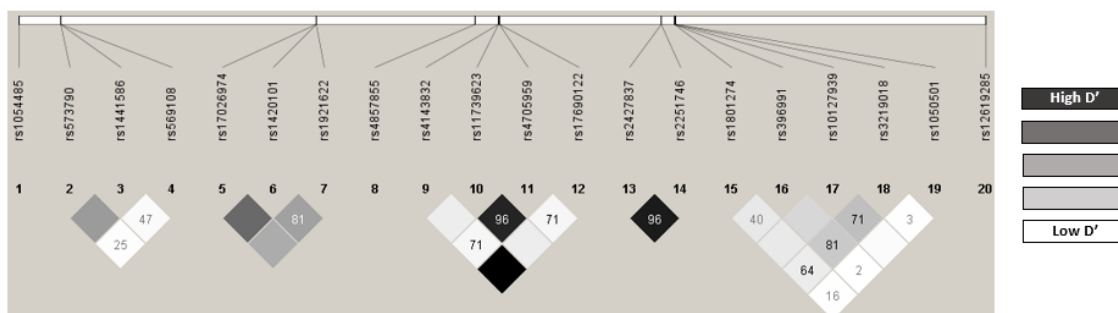


Figura 1. Desequilibrio de ligamento (LD).

3.4 Predictores de respuesta al mepolizumab a los 12 meses

3.4.1 Predictores de respuesta a la reducción de las exacerbaciones

El análisis bivariado reportó que la variable asociada con una respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones fue la ausencia de enfermedad respiratoria previa (OR=7.93; CI95%=1.26-154.29; $p=0.047$) (Tabla S16). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se

encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y los portadores del alelo FCER1B rs1054485-T (OR=5.33; CI95%=1.06-30.02; p=0.028) (Table S17).

El análisis multivariante reveló que la variable independiente asociada con la respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab fue la presencia del alelo FCER1B rs1054485-T (OR=5.33; CI95%=1.06-30.02) (Tabla 5).

3.4.2 Predictores de respuesta a la reducción de GCO

En el análisis bivariado la variable que se asoció con una respuesta satisfactoria a la reducción de GCO fue la ausencia de exacerbaciones en el año previo al comienzo del tratamiento (OR=3.89; CI95%=1.24-14.92; p=0.023) (Table S18). No se reportaron asociaciones entre la respuesta satisfactoria y ninguna de las variantes genéticas (Table S19).

En el análisis multivariante se mantuvo esta asociación (OR=3.89; CI95%=1.24-14.92) (Tabla 5).

3.4.3 Predictores de respuesta a la mejora de la función pulmonar

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar fueron la edad de inicio de mepolizumab (OR=1.05; CI95%=1.01-1.10; p=0.032), años con asma (OR=89; CI95%=0.79-0.98; p=0.023) y la edad de diagnóstico (OR=1.06; CI95%=1.02-1.12; p=0.007) (Table S20). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación y/o tendencia entre la respuesta satisfactoria y los portadores del alelo IL1RL1 rs1921622-A para el modelo genotípico y recesivo (OR=6.67; CI95%=1.11-56.45; p=0.082; AA vs GG, OR=4; CI95%=0.79-20.32; p=0.002; AG vs GG y OR=4.53; CI95%=1.11-30.89; p=0.047; AA vs G), el alelo IL1RL1 rs1420101-C (OR=6.1e7; CI95%=1.35e-61-NA; p=0.027), con el genotipo FCER1B rs1441586-TT (OR=3.71; CI95%=0.9-25.47 p=0.09) y el alelo FCER1A rs2427837-A para el modelo dominante y recesivo (OR=3.7; CI95%=1.16-14.73; p=0.031; A vs GG y OR=1.9e7; CI95%=9.3e-92-NA; p=0.031; AA vs G) (Table S21).

El análisis multivariante mostró que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab fueron la edad de diagnóstico (OR=1.07; CI95%= 1.03-1.14) y el alelo FCER1A rs2427837-A (OR=5.29; CI95%=1.4-23.31) (Tabla 5).

3.4.4 Predictores de respuesta a al menos 1 criterio.

En el análisis bivariado ninguna de las variables sociodemográficas y clínicas se asociaron con una respuesta satisfactoria a al menos un criterio (Table S22). Se encontró una tendencia a la

asociación estadística entre la respuesta satisfactoria y los portadores del alelo GATA2 rs4857855-C (OR=34; CI95%=1.1-1136.7; p=0.082) (Table S23).

El análisis multivariante la variable independiente que mantuvo asociación con la respuesta satisfactoria a al menos 1 criterio tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab fue el alelo GATA2 rs4857855-C (OR=34; CI95%=1.1-1136.7) (Tabla 5).

3.4.5 Predictores de respuesta a al menos 2 criterios

En el análisis bivariado la variable que se relacionó con una respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios fue la ausencia de exacerbaciones en el año previo (OR=0.4.88; CI95%=1.21-32.99; p=0.034) (Table S24). En cuanto a las variables farmacogenéticas, se encontró asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo FCER1A rs2427837-A para el modelo genotípico y dominante (OR=5.34; CI95%=1.30-36.42; p=0.059; AG vs GG OR=2.32; CI95%=0.33-46.86; p=0.059; AA vs GG y OR=4.33; CI95%=1.23-20.42; p=0.026; A vs GG) y el genotipo FCER1B rs569108-AA (OR=5.91; CI95%=1.36-27.51; p=0.010; AA vs AG y AA vs G) (Table S25).

En el análisis multivariante las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab fueron la ausencia de exacerbaciones en el año previo (OR=6.1; CI95%=1.32-47.63), el genotipo FCER1A rs2427837-AG (OR=8.52; CI95%=1.69-79.63) y el genotipo FCER1B rs569108-AA (OR=11.57; CI95%=1.87-107.57) (Tabla 5).

3.4.6 Predictores de respuesta a los 3 criterios

El análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a los 3 criterios fueron la edad de inicio de mepolizumab (OR=1.04; CI95%=1.01-1.09; p=0.059) y la edad de diagnóstico (OR=1.04; CI95%=1.01-1.08; p=0.062) (Table S26). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el genotipo IL1RL1 rs1921622-AA (OR=3.97; CI95%=1.27-14.08; p=0.018; AA vs G) y el genotipo FCER1B rs569108-AA (OR=5.04e7; CI95%=3.93e-51-NA; p=0.011; AA vs AG y AA vs G) (Table S27).

En el análisis multivariante la variable que mantuvo la asociación con la respuesta satisfactoria a los 3 criterios tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab fue el genotipo IL1RL1 rs1921622-AA (OR=3.97; CI95%=1.27-14.08) (Tabla 5).

Table 5. Predictors of response at 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	OR (IC _{95%})	p-value
Respuesta a la reducción de las exacerbaciones		
FCER1B rs1054485 (T vs GG)	5.33 (1.06-30.02)	0.042
Respuesta a la reducción de la GCO		
Exacerbación en el año previo (No)	3.89 (1.24-14.92)	0.029
Respuesta a la mejora de la función pulmonar		
Edad de diagnóstico (años)	1.07 (1.03-1.14)	0.004
FCER1A rs2427837 (A vs GG)	5.29 (1.4-23.31)	0.023
Respuesta a al menos 1 criterio		
GATA 2 rs4857855 (C vs TT)	34 (1.1-1136.7)	0.026
Respuesta a al menos 2 criterios		
Exacerbación en el año previo (No)	6.1 (1.32-47.63)	0.039
FCER1A rs2427837 (AG vs GG)	8.52 (1.69-79.63)	0.023
FCER1B rs569108 (AA vs AG)	11.57 (1.87-107.57)	0.014
Respuesta a los 3 criterios		
IL1RL1 rs1921622 (AA vs G)	3.97 (1.27-14.08)	0.022

OR, odds ratio; IC_{95%}, Intervalo de confianza del 95%.

3.5 Predictores de respuesta a benralizumab a los 12 meses

3.5.1 Predictores de respuesta a la reducción de las exacerbaciones

En el análisis bivariado la variable que mostró una tendencia a una respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones fue la ausencia de exacerbaciones en el año previo (OR=13.5e7; CI95%=6.7e-19-NA; p=0.079) (Table S28). No se reportaron asociaciones estadísticas entre la respuesta satisfactoria y ninguna de las variantes genéticas (Table S29).

El análisis multivariante se mantuvo la asociación de la respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones tras 12 meses de tratamiento con benralizumab fueron la ausencia de exacerbaciones en el año previo (OR=13.5e7; CI95%=6.7e-19-NA) (Tabla 6).

3.5.2 Predictores de respuesta a la reducción de GCO

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la reducción de GCO fueron el sexo femenino (OR=3.57; CI95%=1.04-12.97; p=0.041), presencia de alergia (OR=4.46; CI95%=1.31-16.42; p=0.016) y la ausencia de EPOC (OR=4.83; CI95%=1.09-26.03; p=0.016) (Table S30). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación y/o tendencia entre la respuesta satisfactoria y el alelo IL5 rs4143832-T (OR=3.89; CI95%=1.03-19.22; p=0.052), el alelo IKZF2 rs12619285-A (OR=3.72; CI95%=0.79-20.43; p=0.088), el genotipo FCER1B rs569108-AA para el modelo genotípico y recesivo (OR=8.86; CI95%=1.18-181.94; p=0.05; AA vs AG y AA vs G) y el genotipo FCGR2A rs1801274-GG (OR=7.73; CI95%=1.29-148.9; p=0.035) (Table S31).

El análisis multivariante reveló que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO tras 12 meses de tratamiento con benralizumab fueron el

sexo femenino (OR=8.4; CI95%= 1.53-70.23), la presencia de alergias (OR=767; CI95%=1.39-66.09), la ausencia de EPOC (OR=23.25; CI95%=2.12-696.71), el genotipo FCGR2A rs1801274-GG (OR=187.69; CI95%=6.14-2310.39) y el genotipo FCER1B rs569108-AA (OR=66.26; CI95%= 2.05-273.71) (Tabla 6).

3.5.3 Predictores de respuesta a la mejora de la función pulmonar

En el análisis bivariado las variables que se asociaron con una respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar fueron la presencia de pólipos (OR=5.67; CI95%=1.24-40.86; p=0.029), FEV1>80% (OR=6.6; CI95%=1.07-128.37; p=0.059) y la ausencia de exacerbaciones en el año previo (OR=3.82; CI95%=0.98-17.1; p=0.054) (Table S32). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación y/o tendencia entre la respuesta satisfactoria y el alelo IKZF2 rs12619285-AA (OR=5; CI95%=1.22-26.05; p=0.027), el alelo FCER1A rs2427837-A (OR=5; CI95%=1.1-36.02; p=0.045) y el alelo FCER1B rs1441586-C para el modelo genotípico y dominante (OR=15; CI95%=1.6-359.68; p=0.047; CC vs TT, OR=5.56; CI95%=1.06-34.43; p=0.047; CT vs TT y OR=6.9; CI95%=1.38-40.98; p=0.013; C vs TT) (Table S33).

El análisis multivariante mostró que las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar tras 12 meses de tratamiento con benralizumab fueron el FEV1>80% previo (OR=11.44; CI95%=0.90-368.56), FCER1A rs2427837-A (OR=7.39; CI95%=0.86-116.86), IKZF2 rs12619285-AA (OR=9.37; CI95%=1.16-173.06), FCER1B rs1441586-CC (OR=290.21; CI95%=7.13-464.67) y FCER1B rs1441586-CT (OR=46.08; CI95%=288-215.17) (Tabla 6).

3.5.4 Predictores de respuesta a al menos 1 criterio

En el análisis bivariado no se encontró asociación entre las variables clínicas, sociodemográficas y genéticas, y la respuesta satisfactoria a al menos un criterio (Table S34 y S35).

3.5.5 Predictores de respuesta a al menos 2 criterios

En el análisis bivariado la variable que se mostró tendencia a la asociación con una respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios fue la ausencia de EPOC (OR=4.2; CI95%=0.7-23.64; p=0.026) (Table S36). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo IKZF2 rs12619285-A para el modelo genotípico y recesivo (OR=9.2; CI95%=0.74-22.9; p=0.052; AA vs GG y OR=9.47; CI95%=1.49-184.89; p=0.048; AA vs G) (Table S37).

En el análisis multivariante las variables independientes asociadas con la respuesta satisfactoria a al menos 2 criterios tras 12 meses de tratamiento con benralizumab fueron la ausencia de EPOC (OR=5.7; CI95%=0.78-50.8) y el genotipo IKZF2 rs12619285-AA (OR=11.46; CI95%=1.64-246.17) (Tabla 6).

3.5.6 Predictores de respuesta a los 3 criterios

El análisis bivariado no mostró asociación entre las variables sociodemográficas y clínicas y la respuesta satisfactoria a los 3 criterios (Table S38). Con respecto a las variables farmacogenéticas, se encontró una asociación entre la respuesta satisfactoria y el alelo IL5 rs4143832-T para el modelo genotípico y recesivo (OR=4.8; CI95%=1.11-25.96; p=0.075; GT vs GG, OR=3.6; CI95%=0.31-83.36; p=0.075; TT vs GG y OR=4.5; CI95%=1.17-20.08; p=0.029; T vs GG) y el genotipo RAD50 rs4705959-TT (OR=4.08; CI95%=1.16-15.81; p=0.029) (Table S39).

En el análisis multivariante reveló que la variable independiente que se mantuvo asociada con la respuesta satisfactoria a los 3 criterios tras 12 meses de tratamiento con benralizumab fue IL5 rs4143832-T (OR=4.5; CI95%=1.18-20.08) (Tabla 6).

Table 6. Predictores de respuesta a los 12 meses de tratamiento con benralizumab en pacientes con asma grave no controlada (análisis multivariante).

	OR (IC _{95%})	p-value
Response to exacerbation reduction		
Exacerbación en el año previo (No)	13.5e ⁷ (6.7e ⁻¹⁹ -NA)	0.079
Response to the reduction of GCO		
Sexo (Femenino)	8.4 (1.53-70.23)	0.024
Alergias (Si)	7.67 (1.39-66.09)	0.031
EPOC (No)	23.25 (2.12-696.71)	0.024
FCGR2A rs1801274 (GG vs A)	187.69 (6.14-2310.39)	0.011
FCER1B rs569108 (AA vs G)	66.26 (2.05-273.71)	0.056
Response to improved lung function		
FEV1 previo (>80%)	11.44 (0.90-368.56)	0.093
FCER1A rs2427837 (A vs GG)	7.39 (0.86-116.86)	0.098
IKZF2 rs12619285 (AA vs G)	9.37 (1.16-173.06)	0.065
FCER1B rs1441586 (CC vs TT)	290.21 (7.13-464.67)	0.014
FCER1B rs1441586 (CT vs TT)	46.08 (2.88-215.17)	0.020
Response to at least 1 criterion		
-	-	-
Response to at least 2 criteria		
EPOC (No)	5.7 (0.78-50.8)	0.086
IKZF2 rs12619285 (AA vs G)	11.46 (1.64-246.17)	0.038
Response to the 3 criteria		
IL5 rs4143832 (T vs GG)	4.5 (1.18-20.08)	0.034

OR, odds ratio; IC_{95%}, Intervalo de confianza del 95%.

4 DISCUSIÓN

La respuesta de los pacientes diagnosticados con AGNC con fenotipo eosinofílico es variable. Mepolizumab y benralizumab han demostrado una alta eficacia mejorando sintomatología y la calidad de vida y reduciendo el uso de medicación de rescate, en múltiples ensayos clínicos aleatorizados controlados [32–38] y estudios en vida real [39–47]. Autores previos respaldan la importante contribución genética en la predisposición al asma y respuesta al tratamiento con GCI y agonistas β_2 adrenérgicos de acción corta inhalados, siendo este el principal objetivo de sus investigaciones [48–51]. A pesar de ello, aun no se han reportado biomarcadores genéticos asociados a la respuesta a estas TBs, en pacientes asmáticos. Por ello, se necesita evaluar la efectividad de estas TBs en diferentes grupos poblacionales y localizar biomarcadores que puedan predecir la efectividad. En nuestro estudio, tras 12 meses de tratamiento con mepolizumab o benralizumab se consiguieron reducciones $\geq 50\%$ del ratio de exacerbaciones en el 90.28% y 94% de los pacientes, respectivamente. La mejora $\geq 10\%$ de FEV1 o FEV1 $\geq 80\%$ se produjo en un 70.77% y 72.73%, respectivamente, y el 66.67% y 64%, presentaron una reducción satisfactoria del $\geq 50\%$ de GCO, respectivamente. Nuestros resultados se asemejan a los reportados por estudios en vida real que informaron de reducción de los ciclos de GCO, exacerbaciones y mejora de la función pulmonar (29,31,42-47). De acuerdo con nuestros resultados, una revisión sistemática publicada en 2021 informó que entre 73-83% de los pacientes redujeron exacerbaciones con requerimiento de urgencia y/o hospitalización, entre el 54-94% redujeron ciclos de GCO y se mejoró la función pulmonar entre un 3 y un 8% [44].

Los resultados que se conocen hasta el momento han identificado varios biomarcadores clínicos como posibles predictores de la respuesta a mepolizumab y benralizumab. Sin embargo, el asma es una enfermedad muy heterogénea y el uso farmacogenética como herramienta complementaria podría ser útil para encaminarnos hacia la medicina personalizada, pudiendo saber de forma previa la respuesta del paciente a estas TBs, con la suma de biomarcadores genéticos y clínicos optimizando así el tratamiento. Polimorfismos en algunos de los genes involucrados en el mecanismo de acción de mepolizumab y benralizumab, como son FCGR, IL5, FCERI, IL1RL1, IKZF2, GATA2 y RAD50, podrían ser útiles como complemento a estos biomarcadores de respuesta. Hoy en día, ningún estudio ha investigado la participación de estos SNP, ni otros en la respuesta terapéutica a mepolizumab o benralizumab.

En los receptores Fc γ R, se han estudiado SNPs que podrían afectar a la estabilidad de unión de la región Fc de IgG1 en los genes FCGR2A, FCGR2B y FCGR3A, localizados en el cromosoma 1q23.3. En nuestro estudio se encontró una asociación significativa entre el genotipo FCGR2A

rs1801274-GG y una respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones con benralizumab. El SNP FCGR2A rs1801274 (A > G) produce un cambio de histidina (His) por Arg (His131Arg) [52,53]. En consonancia, previamente se informó que la variante FCGR2A-H131 presentaba una menor afinidad que FCGR2A-R131 por IgG1 [54], lo que podría explicar la asociación del alelo G con la respuesta satisfactoria. No se encontraron asociaciones con el resto de SNPs estudiados entre los receptores FcγR y la respuesta.

El gen IL5 se encuentra en el cromosoma 5q31. En este gen se reconocen dos SNPs, rs4143832 (G > T) y rs17690122 (A > G) relacionados con el recuento de eosinófilos y los niveles de IL-5, pero se desconoce su papel en la respuesta a estas TBs [16]. Nuestros resultados reportaron una asociación significativa del alelo IL5 rs4143832-T con una respuesta satisfactoria a la reducción de GCO y a los 3 criterios en los pacientes tratados con benralizumab.

El gen IL1RL1 se ubica en el cromosoma 2q12. Investigaciones previas informan que los SNPs estudiados (rs1420101, rs17026974, rs1921622) podrían actuar como promotores de la respuesta inflamatoria de tipo 2 en las vías respiratorias, con alta eosinofilia, mayores recuentos de IgE sérica, y menor reversibilidad de FEV1, sin embargo, no se ha estudiado su relación con la respuesta a TBs [52,53,55]. Nuestro estudio mostró una asociación positiva entre el alelo IL1RL1 rs1921622-G y una respuesta satisfactoria en la mejora de la función pulmonar y a los 3 criterios en los pacientes tratados con mepolizumab. Además, se observó que el alelo IL1RL1 rs1420101-C se relacionaba significativamente con la mejora de la función pulmonar en pacientes tratados con mepolizumab.

El gen GATA2 se encuentra en el cromosoma 3q21. Nuestros resultados reportan asociación significativa del alelo GATA2 rs4857855-C con la respuesta a al menos 1 criterio en pacientes tratados con mepolizumab. Estudios previos remarcan el importante papel de GATA2 como factor de transcripción que actúa regulando la hematopoyesis, participando principalmente en la diferenciación de células Th2. Este SNP se asocia con recuentos elevados de eosinófilos [54,55], pero no ha sido estudiado su papel en la respuesta a TBs.

IKZF2 se ubica en el cromosoma 2q13. Este gen no se ha relacionado con la biología de eosinófilos, pero es un regulador del desarrollo y diferenciación de linfocitos a través de la regulación transcripcional [56]. En nuestro estudio se reportó una asociación significativa entre el alelo IKZF2 rs12619285-A y una respuesta satisfactoria a la mejora de la función pulmonar, la reducción de GCO y la respuesta a al menos 2 criterios en pacientes tratados con benralizumab. De forma previa se ha asociado este SNP con elevados recuentos de eosinófilos en sangre [16], pero se desconoce su influencia en la respuesta a TBs.

El gen RAD50 se ubica en el cromosoma 5q31.1, en él se han estudiado dos SNPs, rs11739623 (C > T) y rs4705959 (T > C), en los que se postula un posible efecto sobre la expresión de RAD50, lo que podría influir en los niveles de IL-5 y eosinófilos [20]. Nuestros informan de una mayor probabilidad de respuesta a los 3 criterios en los pacientes tratados con benralizumab portadores del genotipo RAD50 rs4705959-TT y RAD50 rs11739623-CC. No se ha estudiado su asociación con la respuesta a benralizumab, pero un estudio previo mostró asociación del alelo RAD50 rs4705959-T con niveles aumentados de eosinófilos y menores niveles de IL-5, lo que podría justificar una mejor respuesta a benralizumab [20].

El gen FCER1A se encuentra localizado en el cromosoma 1q23. No se ha estudiado previamente su relación con la respuesta a estas terapias, sin embargo, hay dos SNPs en este gen, rs2251746 (T > C) y rs2427837 (G > A), que se han relacionado con altos niveles de IgE sérica [48,49,57], lo que estimula el entrecruzamiento IgE-FcεRI liberando citocinas proinflamatorias como IL-5 [58]. En nuestro estudio se encontró una correlación significativa entre los portadores del alelo FCER1A rs2427837-A y una respuesta satisfactoria en la mejora de la función pulmonar y la respuesta a al menos 2 criterios en los pacientes tratados con mepolizumab. En los pacientes que revieron benralizumab también se observó la asociación de este alelo con la mejora de la función pulmonar.

En el gen FCER1B, localizado en el cromosoma 11q12-13, se han descrito los SNPs rs1441586 (T>C), rs573790 (T>C), rs1054485 (T>G) y rs569108 (A>G), comunes en la patología asmática, atopía y relacionados con altos niveles de IgE [52,55]. En nuestro estudio se encontró una asociación significativa en los pacientes tratados con mepolizumab entre el genotipo FCER1B rs569108-AA y una mayor probabilidad de respuesta a 2 y 3 criterios y mejora de le función pulmonar. Además, el alelo FCER1B rs1054485-T se asoció con una respuesta satisfactoria en la reducción de exacerbaciones. Respecto a los pacientes tratados con benralizumab, mostraron una respuesta satisfactoria a la reducción de GCO los portadores y mejora de la función pulmonar del genotipo FCER1B rs569108-AA y los portadores del alelo FCER1B rs1441586-C, respectivamente. No se han reportados estudios que estudien la asociación de estos SNPs con la respuesta a estas TBs, pero si se ha reportado que la presencia de los alelos FCER1B rs569108-G y FCER1B rs1441586-T se asociaron con un riesgo aumentado de asma, lo que podría explicar la asociación de los alelos de menor riesgo con mejor pronóstico a estas TBs [59–62]. Por otro lado, el alelo FCER1B rs1054485-G se relacionó con recuentos de eosinófilos significativamente elevados y asma [63,64].

Una de las limitaciones inherentes a un estudio retrospectivo es la falta de recogida de datos clínicos de interés para algunos de los pacientes y la principal limitación del estudio fue el tamaño muestral, ya que es probable responsable de la pérdida de asociación estadística de alguna de las variables genéticas y los tipos de respuesta analizados. Sin embargo, se garantizó la homogeneidad y fiabilidad de las variables recogidas, reclutando a todos los pacientes de la misma cohorte hospitalaria, a través de los mismos procedimientos y del mismo personal. A pesar de ello, los efectos observados fueron concisos, aunque se requieren estudios que valoren el factor pronóstico de estos polimorfismos en cohortes más grandes.

5 CONCLUSIONES

En conclusión, este estudio muestra polimorfismos con un potencial valor pronóstico de la respuesta al tratamiento con mepolizumab y benralizumab. Sin embargo, aún se desconoce la implicación funcional de la mayoría de los loci del asma. Por ello, se necesita más estudios para aumentar la comprensión del impacto de estos genes y la susceptibilidad a la respuesta a las terapias biológicas, para conseguir su uso en la práctica clínica futura y encaminarnos hacia una medicina más personalizada.

Materiales complementarios: Table S1. Hardy-Weinberg equilibrium for the SNPs included in the study; Table S2. Linkage disequilibrium of the studied SNPs; Table S3. Minor allele frequencies for the SNPs studied; Table S4. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion in patients treated with mepolizumab; Table S5. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria in patients treated with mepolizumab; Table S6. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria in patients treated with mepolizumab; Table S7. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations in patients treated with mepolizumab; Table S8. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement in patients treated with mepolizumab; Table S9. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids in patients treated with mepolizumab; Table S10. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion in patients treated with benralizumab; Table S11. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria in patients treated with benralizumab; Table S12. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria in patients treated with benralizumab; Table S13. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations in patients treated with benralizumab; Table S14. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement in patients treated with benralizumab; Table S15. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids in patients treated with benralizumab; Table S16. Association of

clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with reduced and/or no exacerbations; Table S17. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of exacerbations; Table S18. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S19. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S20. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S21. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S22. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with response to at least one parameter; Table S23. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S24. Association of clinical characteristics of patients treated with mepolizumab with response on at least 2 criteria; Table S25. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S26. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S27. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria; Table S28. Association of clinical characteristics of patients treated with benralizumab with reduction and/or absence of exacerbations; Table S29. Association of benralizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of exacerbations; Table S30. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S31. Association of benralizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S32. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S33. Association of benralizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S34. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with response to at least one parameter; Table S35. Association of benralizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S36. Association of clinical characteristics of patients treated with benralizumab with response on at least 2 parameters; Table S37. Association of benralizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S38. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S39. Association of benralizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria.

Contribuciones de los autores: S.R.T. y C.P.R. concibieron y diseñaron los experimentos; S.R.T. realizó los experimentos; S.R.T. recogió muestras; S.R.T. y C.P.R. analizaron los datos; M.V.G.G., J.A.S.M., L.E.P.L y G.J.G. contribuyeron con materiales y herramientas de análisis; S.R.T. preparó el borrador original; C.P.R., A.J.M. y S.R.T. revisaron y editaron el borrador; S.R.T., C.P.R., A.J.M. y C.M.G. revisaron de nuevo el análisis y la interpretación; A.J.M. y C.M.G. supervisaron la

obtención de fondos. Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y en la mejora de su contenido intelectual. Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: Este estudio se realizó de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Sistema Andaluz de Salud (código: 1313-N-20).

Declaración de consentimiento informado: Todos los participantes en el estudio firmaron el consentimiento informado por escrito.

Agradecimientos: Los resultados de este estudio forman parte de la tesis doctoral presentada por Susana Rojo Tolosa en la Universidad.

Conflicto de interés: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica Gema 5.2. Guía Española Para El Manejo Del Asma; 2022; ISBN 9788419069139.
2. GINA 2022. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention.; 2022;
3. Caminati, M.; Pham, D. Le; Bagnasco, D.; Canonica, G.W. Type 2 Immunity in Asthma. *World Allergy Organ. J.* **2018**, *11*, doi:10.1186/S40413-018-0192-5.
4. Pelaia, C.; Paoletti, G.; Puggioni, F.; Racca, F.; Pelaia, G.; Canonica, G.W.; Heffler, E. Interleukin-5 in the Pathophysiology of Severe Asthma. *Front. Physiol.* **2019**, *10*, 1514, doi:10.3389/FPHYS.2019.01514/BIBTEX.
5. Bobolea, D.I. Fenotipos Del Asma Grave Del Adulto : Las Claves Para La Medicina Personalizada.
6. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Nucala 100 Mg Polvo Para Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151043001/FT_1151043001.html (accessed on 5 April 2022).
7. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Fasentra 30 Mg Solucion Inyectable En Jeringa Precargada Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171252001/FT_1171252001.html (accessed on 5 April 2022).

8. Lobo, E.D.; Hansen, R.J.; Balthasar, J.P. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2645–2668, doi:10.1002/JPS.20178.
9. Nimmerjahn, F.; Ravetch, J. V. Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members. *Immunity* **2006**, *24*, 19–28, doi:10.1016/J.IMMUNI.2005.11.010.
10. Tracey, D.; Klareskog, L.; Sasso, E.H.; Salfeld, J.G.; Tak, P.P. Tumor Necrosis Factor Antagonist Mechanisms of Action: A Comprehensive Review. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *117*, 244–279, doi:10.1016/J.PHARMTHERA.2007.10.001.
11. March, M.E.; Sleiman, P.M.; Hakonarson, H. Genetic Polymorphisms and Associated Susceptibility to Asthma. *Int. J. Gen. Med.* **2013**, *6*, 253, doi:10.2147/IJGM.S28156.
12. Kabesch, M.; Depner, M.; Dahmen, I.; Weiland, S.K.; Vogelberg, C.; Niggemann, B.; Lau, S.; Illig, T.; Klopp, N.; Wahn, U.; et al. Polymorphisms in Eosinophil Pathway Genes, Asthma and Atopy. *Allergy* **2007**, *62*, 423–428, doi:10.1111/J.1398-9995.2006.01300.X.
13. Padrón Morales, J.R. Estudio de Polimorfismos e Interacciones Génicas de Los Genes IL1A, IL1B, IL1R, IL1RA, IL4R A, IL12, IFNG, TGFB1, TNFA, IL2, IL4, IL6, IL10 En Pacientes Con Asma;
14. Zhang, G.; Lu, J.; Yin, X.; Sun, Y.; Li, S. Association of IL-33, IL1RL1 Gene Polymorphisms with Serum IL-33 Levels and Risk of Asthma in Adults and Asthmatic Bronchitis in Children (Chinese). *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2018**, *32*, doi:https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1471361.
15. IKZF2 IKAROS Family Zinc Finger 2 [Homo Sapiens (Human)] - Gene - NCBI Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/22807> (accessed on 15 February 2023).
16. Gudbjartsson, D.F.; Bjornsdottir, U.S.; Halapi, E.; Helgadottir, A.; Sulem, P.; Jonsdottir, G.M.; Thorleifsson, G.; Helgadottir, H.; Steinthorsdottir, V.; Stefansson, H.; et al. Sequence Variants Affecting Eosinophil Numbers Associate with Asthma and Myocardial Infarction. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 342–347, doi:10.1038/ng.323.
17. Akhbari, L.; Sandford, A.J. Genome-Wide Association Studies for Discovery of Genes Involved in Asthma. *Respirology* **2011**, *16*, 396–406, doi:10.1111/J.1440-1843.2011.01939.X.
18. Blanchard, C.; Rothenberg, M.E. Chapter 3 Biology of the Eosinophil. *Adv. Immunol.* **2009**, *101*, 81–121, doi:10.1016/S0065-2776(08)01003-1.
19. Melo, R.C.N.; Spencer, L.A.; Dvorak, A.M.; Weller, P.F. Mechanisms of Eosinophil Secretion: Large Vesiculotubular Carriers Mediate Transport and Release of Granule-Derived Cytokines and Other Proteins. *J. Leukoc. Biol.* **2008**, *83*, 229–236, doi:10.1189/JLB.0707503.

20. McLeod, O.; Silveira, A.; Valdes-Marquez, E.; Björkbacka, H.; Almgren, P.; Gertow, K.; Gådin, J.R.; Bäcklund, A.; Sennblad, B.; Baldassarre, D.; et al. Genetic Loci on Chromosome 5 Are Associated with Circulating Levels of Interleukin-5 and Eosinophil Count in a European Population with High Risk for Cardiovascular Disease. *Cytokine* **2016**, *81*, 1–9, doi:10.1016/J.CYTO.2016.01.007.
21. Beaven, M.A.; Metzger, H. Signal Transduction by Fc Receptors: The Fc Epsilon RI Case. *Immunol. Today* **1993**, *14*, 222–226, doi:10.1016/0167-5699(93)90167-J.
22. Salmon, J.E.; Brogle, N.L.; Edberg, J.C.; Kimberly, R.P. Fc Gamma Receptor III Induces Actin Polymerization in Human Neutrophils and Primes Phagocytosis Mediated by Fc Gamma Receptor II. *J. Immunol.* **1991**, *146*, 997–1004, doi:10.4049/JIMMUNOL.146.3.997.
23. Narasimhanl, V.; Holowkag, D.; Bairdql, B. A Guanine Nucleotide-Binding Protein Participates in IgE Receptor-Mediated Activation of Endogenous and Reconstituted Phospholipase A2 in a Permeabilized Cell System*. *Journof Biol. Chem.* **1990**, *264*, 1459–1464, doi:10.1016/S0021-9258(19)40038-0.
24. Ravetch, J. V.; Bolland, S. IgG Fc Receptors. *Annu. Rev. Immunol.* **2001**, *19*, 275–290, doi:10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.19.1.275.
25. van de Winkel, J.G.J.; Capel, P.J.A. Human IgG Fc Receptor Heterogeneity: Molecular Aspects and Clinical Implications. *Immunol. Today* **1993**, *14*, 215–221, doi:10.1016/0167-5699(93)90166-I.
26. Asthma Control Test (ACT) Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 4 May 2022).
27. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; De Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575, doi:10.1086/519795.
28. R Core Team, R. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2013.
29. Barrett, J.C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M.J. Haploview: Analysis and Visualization of LD and Haplotype Maps. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 263–265, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTH457.
30. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A Web Tool for the Analysis of Association Studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTL268.

31. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flicek, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, 526, 68, doi:10.1038/NATURE15393.
32. Nair, P.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Bourdin, A.; Lugogo, N.L.; Kuna, P.; Barker, P.; Sproule, S.; Ponnarambil, S.; Goldman, M. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Benralizumab in Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2017**, 376, 2448–2458, doi:10.1056/NEJMOA1703501.
33. Chupp, G.L.; Bradford, E.S.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Wang-Jairaj, J.; Nelsen, L.M.; Trevor, J.L.; Magnan, A.; ten Brinke, A. Efficacy of Mepolizumab Add-on Therapy on Health-Related Quality of Life and Markers of Asthma Control in Severe Eosinophilic Asthma (MUSCA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multicentre, Phase 3b Trial. *Lancet Respir. Med.* **2017**, 5, 390–400, doi:10.1016/S2213-2600(17)30125-X.
34. Ortega, H.G.; Liu, M.C.; Pavord, I.D.; Brusselle, G.G.; FitzGerald, J.M.; Chetta, A.; Humbert, M.; Katz, L.E.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, 371, 1198–1207, doi:10.1056/NEJMOA1403290/SUPPL_FILE/NEJMOA1403290_DISCLOSURES.PDF.
35. Agache, I.; Rocha, C.; Beltran, J.; Song, Y.; Posso, M.; Solà, I.; Alonso-Coello, P.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canonica, G.W.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab and Omalizumab) for Severe Allergic Asthma: A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, 75, 1043–1057, doi:10.1111/ALL.14235.
36. FitzGerald, J.M.; Bleecker, E.R.; Nair, P.; Korn, S.; Ohta, K.; Lommatzsch, M.; Ferguson, G.T.; Busse, W.W.; Barker, P.; Sproule, S.; et al. Benralizumab, an Anti-Interleukin-5 Receptor α Monoclonal Antibody, as Add-on Treatment for Patients with Severe, Uncontrolled, Eosinophilic Asthma (CALIMA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, 388, 2128–2141, doi:10.1016/S0140-6736(16)31322-8.
37. Agache, I.; Beltran, J.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canelo-Aybar, C.; Canonica, G.W.; Casale, T.; Chivato, T.; Corren, J.; Del Giacco, S.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab, Omalizumab and Reslizumab) for Severe Eosinophilic Asthma. A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, 75, 1023–1042, doi:10.1111/ALL.14221.

38. Bleecker, E.R.; FitzGerald, J.M.; Chanez, P.; Papi, A.; Weinstein, S.F.; Barker, P.; Sproule, S.; Gilmartin, G.; Aurivillius, M.; Werkström, V.; et al. Efficacy and Safety of Benralizumab for Patients with Severe Asthma Uncontrolled with High-Dosage Inhaled Corticosteroids and Long-Acting B2-Agonists (SIROCCO): A Randomised, Multicentre, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2115–2127, doi:10.1016/S0140-6736(16)31324-1.
39. Crimi, C.; Campisi, R.; Cacopardo, G.; Intravaia, R.; Nolasco, S.; Porto, M.; Pelaia, C.; Crimi, N. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Patients with Severe Refractory Eosinophilic Asthma and Multiple Comorbidities. *World Allergy Organ. J.* **2020**, *13*, doi:10.1016/J.WAOJOU.2020.100462.
40. Maglio, A.; Vitale, C.; Pellegrino, S.; Calabrese, C.; D'amato, M.; Molino, A.; Pelaia, C.; Triggiani, M.; Pelaia, G.; Stellato, C.; et al. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab on Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of Forced Vital Capacity in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *Biomedicines* **2021**, *9*, doi:10.3390/BIOMEDICINES9111550.
41. Haldar, P.; Brightling, C.E.; Hargadon, B.; Gupta, S.; Monteiro, W.; Sousa, A.; Marshall, R.P.; Bradding, P.; Green, R.H.; Wardlaw, A.J.; et al. Mepolizumab and Exacerbations of Refractory Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 973–984, doi:10.1056/NEJMOA0808991.
42. Renner, A.; Marth, K.; Patocka, K.; Idzko, M.; Pohl, W. Effectiveness of Mepolizumab Therapy in Patients with Severe Eosinophilic Asthma: Austrian Real-Life Data. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2020**, *64*, doi:10.1016/J.PUPT.2020.101946.
43. Brás, R.; Paulino, M.; Varandas, C.; Coutinho, C.; Silva, M.I.; Limão, R.; Costa, C.; Alonso, E.; Pedro, E.; Mendes, A. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma – A One-Year Real Life Portuguese Study. *Pulmonology* **2021**, *27*, 579–581, doi:10.1016/J.PULMOE.2021.05.007.
44. Israel, E.; Canonica, G.W.; Brusselle, G.; Yang, S.; Howarth, P.H.; Martin, A.L.; Koufopoulou, M.; Smith, S.G.; Alfonso-Cristancho, R. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Severe Asthma: A Systematic Literature Review. *J. Asthma* **2022**, *59*, 2201–2217, doi:10.1080/02770903.2021.2008431.
45. Padilla-Galo, A.; Levy-Abitbol, R.; Oliveira, C.; Valencia Azcona, B.; Pérez Morales, M.; Rivas-Ruiz, F.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; Levy-Naon, A. Real-Life Experience with Benralizumab during 6 Months. *BMC Pulm. Med.* **2020**, *20*, 1–12, doi:10.1186/S12890-020-01220-9/TABLES/6.

46. Kavanagh, J.E.; d’Ancona, G.; Elstad, M.; Green, L.; Fernandes, M.; Thomson, L.; Roxas, C.; Dhariwal, J.; Nanzer, A.M.; Kent, B.D.; et al. Real-World Effectiveness and the Characteristics of a “Super-Responder” to Mepolizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *Chest* **2020**, *158*, 491–500, doi:10.1016/J.CHEST.2020.03.042.
47. Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, Vol. 24, Page 2011 2023, 24, 2011, doi:10.3390/IJMS24032011.
48. Farzan, N.; Vijverberg, S.J.H.; Arets, H.G.; Raaijmakers, J.A.M.; Maitland-van der Zee, A.H. Pharmacogenomics of Inhaled Corticosteroids and Leukotriene Modifiers: A Systematic Review. *Clin. Exp. Allergy* **2017**, *47*, 271–293, doi:10.1111/CEA.12844.
49. Vijverberg, S.J.; Raaijmakers, J.A.; Maitland-Van Der Zee, A.H. ADRB2 Arg16 and the Need for Collaboration in Childhood Asthma Pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* **2013**, *14*, 1937–1939, doi:10.2217/PGS.13.195.
50. Pijnenburg, M.W.; Szeffler, S. Personalized Medicine in Children with Asthma. *Paediatr. Respir. Rev.* **2015**, *16*, 101–107, doi:10.1016/J.PRRV.2014.10.003.
51. Rojo-Tolosa, S.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Fernández-Alonso, A.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C. Association between Single Nucleotide Polymorphisms Related to Vitamin D Metabolism and the Risk of Developing Asthma. *Nutr.* **2023**, Vol. 15, Page 823 2023, 15, 823, doi:10.3390/NU15040823.
52. Amo, G.; García-Menaya, J.; Campo, P.; Cordobés, C.; Serón, M.C.P.; Ayuso, P.; Esguevillas, G.; Blanca, M.; Agúndez, J.A.G.; García-Martín, E. A Nonsynonymous FCER1B SNP Is Associated with Risk of Developing Allergic Rhinitis and with IgE Levels. *Sci. Reports* **2016** *6* 2016, 6, 1–7, doi:10.1038/srep19724.
53. Dar, S.A.; Rai, G.; Ansari, M.A.; Akhter, N.; Gupta, N.; Sharma, S.; Haque, S.; Ramachandran, V.G.; Wahid, M.; Rudramurthy, S.M.; et al. FcεR1α Gene Polymorphism Shows Association with High IgE and Anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4142–4149, doi:10.1002/JCB.26619.
54. Sharma, S.; Ghosh, B. Promoter Polymorphism in the MS4A2 Gene and Asthma in the Indian Population. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2009**, *149*, 208–218, doi:10.1159/000199716.

55. Liao, E.C.; Chang, C.Y.; Hsieh, C.W.; Yu, S.J.; Yin, S.C.; Tsai, J.J. An Exploratory Pilot Study of Genetic Marker for IgE-Mediated Allergic Diseases with Expressions of FcεR1α and Cε. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, Vol. 16, Pages 9504-9519 2015, 16, 9504–9519, doi:10.3390/IJMS16059504.
56. Rebollo, A.; Schmitt, C. Ikaros, Aiolos and Helios: Transcription Regulators and Lymphoid Malignancies. *Immunol. Cell Biol.* **2003**, 81, 171–175, doi:10.1046/J.1440-1711.2003.01159.X.
57. Spear, M.L.; Hu, D.; Pino-Yanes, M.; Huntsman, S.; Eng, C.; Levin, A.M.; Ortega, V.E.; White, M.J.; McGarry, M.E.; Thakur, N.; et al. A Genome-Wide Association and Admixture Mapping Study of Bronchodilator Drug Response in African Americans with Asthma. *Pharmacogenomics J.* **2018** 193 2018, 19, 249–259, doi:10.1038/s41397-018-0042-4.
58. Kim, Y.Y.; Hur, G.; Lee, S.W.; Lee, S.J.; Lee, S.; Kim, S.H.; Rho, M.C. AGK2 Ameliorates Mast Cell-Mediated Allergic Airway Inflammation and Fibrosis by Inhibiting FcεRI/TGF-β Signaling Pathway. *Pharmacol. Res.* **2020**, 159, 105027, doi:10.1016/J.PHRS.2020.105027.
59. Yang, H.J.; Zheng, L.; Zhang, X.F.; Yang, M.; Huang, X. Association of the MS4A2 Gene Promoter C-109T or the 7th Exon E237G Polymorphisms with Asthma Risk: A Meta-Analysis. *Clin. Biochem.* **2014**, 47, 605–611, doi:10.1016/J.CLINBIOCHEM.2014.01.022.
60. Bai, S.; Hua, L.; Wang, X.; Liu, Q.; Bao, Y. Association of a 4-Locus Gene Model Including IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 with the Asthma Predictive Index and Atopy in Chinese Han Children. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2018**, 28, 407–413, doi:10.18176/JIACI.0272.
61. Hua, L.; Zuo, X.B.; Bao, Y.X.; Liu, Q.H.; Li, J.Y.; Lv, J.; Fang, D.Z.; Lin, Q.; Bao, J.; Ji, R.X. Four-Locus Gene Interaction between IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 for Asthma in Chinese Han Children. *Pediatr. Pulmonol.* **2016**, 51, 364–371, doi:10.1002/PPUL.23322.
62. Ramphul, K.; Lv, J.; Hua, L.; Liu, Q.H.; Fang, D.Z.; Ji, R.X.; Bao, Y.X. Single Nucleotide Polymorphisms Predisposing to Asthma in Children of Mauritian Indian and Chinese Han Ethnicity. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **2014**, 47, 394–397, doi:10.1590/1414-431X20143751.
63. Green, S.L.; Gaillard, M.C.; Song, E.; Dewar, J.B.; Halkas, A. Polymorphisms of the Beta Chain of the High-Affinity Immunoglobulin E Receptor (Fc ε RI- β) in South

African Black and White Asthmatic and Nonasthmatic Individuals. **2012**, *158*, 1487–1492, doi:10.1164/AJRCCM.158.5.9707099.

64. Li, A.; Hopkin, J.M. Atopy Phenotype in Subjects with Variants of the Beta Subunit of the High Affinity IgE Receptor. *Thorax* **1997**, *52*, 654, doi:10.1136/THX.52.7.654



CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- I. El tratamiento con omalizumab durante 12 meses derivó en mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y reducción de los niveles de eosinófilos en sangre.
- II. El tratamiento con mepolizumab durante 12 meses logró mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y una reducción de los niveles de eosinófilos en sangre, número de exacerbaciones y uso de GCO.
- III. El tratamiento con benralizumab durante 12 meses logró mejoras significativas de la función pulmonar, control de la sintomatología del asma y una reducción de los niveles de eosinófilos en sangre, número de exacerbaciones y uso de GCO.
- IV. Las puntuaciones bajas de ACT fueron el predictor clínico de respuesta satisfactoria a la reducción de GCO con omalizumab.
- V. Los niveles previos más bajos de FEV1 y la ausencia de EPOC resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar con omalizumab.
- VI. Los valores previos de FEV1 > 80% y la ausencia de ERGE actuaron como predictores clínicos de respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones con omalizumab.
- VII. Las dosis bajas de GCI y la ausencia de exacerbaciones resultaron ser predictores clínicos de la respuesta favorable a la reducción de GCO con mepolizumab.
- VIII. Los niveles previos más bajos de FEV1 y la ausencia de SAHS resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar con mepolizumab.
- IX. El menor número de exacerbaciones en el año previo actuó como predictor clínico de respuesta favorable a la reducción de exacerbaciones con mepolizumab.
- X. El sexo femenino, la mayor eosinofilia en sangre y el menor número de los ciclos de GCO previos resultaron ser predictores clínicos de la respuesta satisfactoria a la reducción de GCO en benralizumab.
- XI. Los niveles previos más bajos de FEV1 resultaron predictores clínicos de la mejora de la función pulmonar en benralizumab.
- XII. La ausencia de hábito tabáquico a lo largo de la vida resultó ser el predictor clínico de la respuesta favorable a la reducción de exacerbaciones con benralizumab.
- XIII. Los alelos FCGR2B rs3219018-C, GATA2 rs4857855-T y el genotipo FCGR2A rs1801274-AG se asociaron con la mejora de la función pulmonar en omalizumab.
- XIV. Se observó una tendencia entre el genotipo FCGR2A rs1801274-GG y la mejora de la función pulmonar en omalizumab.
- XV. Los genotipos IL1RL1 rs17026974-AG y IL1RL1 rs17026974-GG mostraron una asociación con la respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones en omalizumab.

- XVI. El alelo FCER1A rs2427837-A mostró asociación con la mejora de la función pulmonar en mepolizumab.
- XVII. El alelo FCER1B rs1054485-T se mostró como predictor de respuesta satisfactoria a la reducción de exacerbaciones en mepolizumab.
- XVIII. Los genotipos FCER1B rs569108-AA y FCGR2A rs1801274-GG se vincularon con la respuesta favorable a la reducción de GCO en benralizumab.
- XIX. El alelo FCER1B rs1441586-C mostró una asociación con la mejora de la función pulmonar en benralizumab.
- XX. Se encontró una tendencia entre el genotipo IKZF2 rs12619285-AA y mejora de la función pulmonar en benralizumab.



REFERENCIAS

8. REFERENCIAS

1. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica *Actualización de La Guía Española Para El Manejo de Asma GEMA 4.4*; 2022; ISBN 978-84-19069-13-9.
2. *GINA 2022. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention.*; 2022;
3. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica *Gema 5.2. Guía Española Para El Manejo Del Asma*; 2022; ISBN 9788419069139.
4. Chung, K.F.; Wenzel, S.E.; Brozek, J.L.; Bush, A.; Castro, M.; Sterk, P.J.; Adcock, I.M.; Bateman, E.D.; Bel, E.H.; Bleecker, E.R.; et al. International ERS/ATS Guidelines on Definition, Evaluation and Treatment of Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2014**, *43*, 343–373, doi:10.1183/09031936.00202013.
5. Soriano, J.B.; Abajobir, A.A.; Abate, K.H.; Abera, S.F.; Agrawal, A.; Ahmed, M.B.; Aichour, A.N.; Aichour, I.; Eddine Aichour, M.T.; Alam, K.; et al. Global, Regional, and National Deaths, Prevalence, Disability-Adjusted Life Years, and Years Lived with Disability for Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet. Respir. Med.* **2017**, *5*, 691–706, doi:10.1016/S2213-2600(17)30293-X.
6. Lundbäck, B.; Backman, H.; Lötvall, J.; Rönmark, E. Is Asthma Prevalence Still Increasing? *Expert Rev. Respir. Med.* **2016**, *10*, 39–51, doi:10.1586/17476348.2016.1114417.
7. Organización Mundial de La Salud Available online: <https://www.who.int/es> (accessed on 3 February 2020).
8. D’Amato, G.; Vitale, C.; Molino, A.; Stanziola, A.; Sanduzzi, A.; Vatrella, A.; Mormile, M.; Lanza, M.; Calabrese, G.; Antonicelli, L.; et al. Asthma-Related Deaths. *Multidiscip. Respir. Med.* **2016**, *11*, 1–5, doi:10.1186/S40248-016-0073-0/TABLES/1.
9. Rehman, A.; Amin, F.; Sadeeqa, S. Prevalence of Asthma and Its Management: A Review. *J. Pak. Med. Assoc.* **2018**, *68*, 1823–1827.
10. Bobolea, I. Fenotipos Del Asma Grave Del Adulto: Las Claves Para La Medicina Personalizada.
11. Humbert, M.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Yancey, S.W.; Liu, M.C.; Hozawa, S.; Llanos, J.P.; Kwon, N. Effect of Mepolizumab in Severe Eosinophilic Asthma According to Omalizumab

- Eligibility. *Respir. Med.* **2019**, *154*, 69–75, doi:10.1016/J.RMED.2019.06.004.
12. Willis-Owen, S.A.G.; Cookson, W.O.C.; Moffatt, M.F. The Genetics and Genomics of Asthma. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **2018**, *19*, 223–246, doi:10.1146/ANNUREV-GENOM-083117-021651.
 13. GWAS Catalog Available online: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> (accessed on 25 February 2023).
 14. MacArthur, J.; Bowler, E.; Cerezo, M.; Gil, L.; Hall, P.; Hastings, E.; Junkins, H.; McMahon, A.; Milano, A.; Morales, J.; et al. The New NHGRI-EBI Catalog of Published Genome-Wide Association Studies (GWAS Catalog). *Nucleic Acids Res.* **2017**, *45*, D896–D901, doi:10.1093/NAR/GKW1133.
 15. Gref, A.; Merid, S.K.; Gruzieva, O.; Ballereau, S.; Becker, A.; Bellander, T.; Bergström, A.; Bossé, Y.; Bottai, M.; Chan-Yeung, M.; et al. Genome-Wide Interaction Analysis of Air Pollution Exposure and Childhood Asthma with Functional Follow-Up. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2017**, *195*, 1373–1383, doi:10.1164/RCCM.201605-1026OC.
 16. Guarnieri, M.; Balmes, J.R. Outdoor Air Pollution and Asthma. *Lancet (London, England)* **2014**, *383*, 1581–1592, doi:10.1016/S0140-6736(14)60617-6.
 17. Burbank, A.J.; Peden, D.B. Assessing the Impact of Air Pollution on Childhood Asthma Morbidity: How, When, and What to Do. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *18*, 124–131, doi:10.1097/ACI.0000000000000422.
 18. Korten, I.; Ramsey, K.; Latzin, P. Air Pollution during Pregnancy and Lung Development in the Child. *Paediatr. Respir. Rev.* **2017**, *21*, 38–46, doi:10.1016/J.PRRV.2016.08.008.
 19. Stern, J.; Pier, J.; Litonjua, A.A. Asthma Epidemiology and Risk Factors. *Semin. Immunopathol.* **2020**, *42*, 5–15, doi:10.1007/S00281-020-00785-1/FIGURES/2.
 20. Chowdhury, N.U.; Guntur, V.P.; Newcomb, D.C.; Wechsler, M.E. Sex and Gender in Asthma. *Eur. Respir. Rev.* **2021**, *30*, doi:10.1183/16000617.0067-2021.
 21. Lötvall, J.; Akdis, C.A.; Bacharier, L.B.; Bjermer, L.; Casale, T.B.; Custovic, A.; Lemanske, R.F.; Wardlaw, A.J.; Wenzel, S.E.; Greenberger, P.A. Asthma Endotypes: A New Approach to Classification of Disease Entities within the Asthma Syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2011**, *127*, 355–360, doi:10.1016/J.JACI.2010.11.037.
 22. Bousquet, J.; Mantzouranis, E.; Cruz, A.A.; Ait-Khaled, N.; Baena-Cagnani, C.E.; Bleecker,

- E.R.; Brightling, C.E.; Burney, P.; Bush, A.; Busse, W.W.; et al. Uniform Definition of Asthma Severity, Control, and Exacerbations: Document Presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, 126, 926–938.
23. Haldar, P.; Pavord, I.D.; Shaw, D.E.; Berry, M.A.; Thomas, M.; Brightling, C.E.; Wardlaw, A.J.; Green, R.H. Cluster Analysis and Clinical Asthma Phenotypes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2008**, 178, 218–224, doi:10.1164/rccm.200711-1754OC.
 24. Anderson, G.P. Endotyping Asthma: New Insights into Key Pathogenic Mechanisms in a Complex, Heterogeneous Disease. *Lancet (London, England)* **2008**, 372, 1107–1119, doi:10.1016/S0140-6736(08)61452-X.
 25. Moore, W.C.; Meyers, D.A.; Wenzel, S.E.; Teague, W.G.; Li, H.; Li, X.; D’Agostino, R.J.; Castro, M.; Curran-Everett, D.; Fitzpatrick, A.M.; et al. Identification of Asthma Phenotypes Using Cluster Analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2010**, 181, 315–323, doi:10.1164/rccm.200906-0896OC.
 26. Bhakta, N.R.; Woodruff, P.G. Human Asthma Phenotypes: From the Clinic, to Cytokines, and Back Again. *Immunol. Rev.* **2011**, 242, 220–232, doi:10.1111/j.1600-065X.2011.01032.x.
 27. Agache, I.O. From Phenotypes to Endotypes to Asthma Treatment. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **2013**, 13, 249–256, doi:10.1097/ACI.0b013e32836093dd.
 28. Fitzpatrick, A.M.; Moore, W.C. Severe Asthma Phenotypes - How Should They Guide Evaluation and Treatment? *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2017**, 5, 901–908, doi:10.1016/j.jaip.2017.05.015.
 29. Ilmarinen, P.; Tuomisto, L.E.; Niemelä, O.; Tommola, M.; Haanpää, J.; Kankaanranta, H. Cluster Analysis on Longitudinal Data of Patients with Adult-Onset Asthma. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2017**, 5, 967-978.e3, doi:10.1016/j.jaip.2017.01.027.
 30. Darveaux, J.; Busse, W.W. Biologics in Asthma--the next Step toward Personalized Treatment. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2015**, 3, 152–160; quiz 161, doi:10.1016/j.jaip.2014.09.014.
 31. Wenzel, S.E. Asthma Phenotypes: The Evolution from Clinical to Molecular Approaches. *Nat. Med.* **2012**, 18, 716–725, doi:10.1038/nm.2678.
 32. Israel, E.; Reddel, H.K. Severe and Difficult-to-Treat Asthma in Adults. *N. Engl. J. Med.*

- 2017**, 377, 965–976, doi:10.1056/NEJMra1608969.
33. Carr, T.F.; Kraft, M. Use of Biomarkers to Identify Phenotypes and Endotypes of Severe asthma. *Ann. allergy, asthma Immunol. Off. Publ. Am. Coll. Allergy, Asthma, Immunol.* **2018**, *121*, 414–420, doi:10.1016/j.anai.2018.07.029.
 34. Pelaia, C.; Calabrese, C.; Terracciano, R.; de Blasio, F.; Vatrella, A.; Pelaia, G. Omalizumab, the First Available Antibody for Biological Treatment of severe Asthma: More than a Decade of Real-Life Effectiveness. *Ther. Adv. Respir. Dis.* **2018**, *12*, doi:10.1177/1753466618810192.
 35. Chung, K.F. Precision Medicine in Asthma: Linking Phenotypes to Targeted Treatments. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2018**, *24*, 4–10, doi:10.1097/MCP.0000000000000434.
 36. Takhar, P.; Corrigan, C.J.; Smurthwaite, L.; O'Connor, B.J.; Durham, S.R.; Lee, T.H.; Gould, H.J. Class Switch Recombination to IgE in the Bronchial Mucosa of Atopic and Nonatopic Patients with Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *119*, 213–218, doi:10.1016/J.JACI.2006.09.045.
 37. Gounni, A.S.; Wellemans, V.; Yang, J.; Bellesort, F.; Kassiri, K.; Gangloff, S.; Guenounou, M.; Halayko, A.J.; Hamid, Q.; Lamkhieoued, B. Human Airway Smooth Muscle Cells Express the High Affinity Receptor for IgE (Fc Epsilon RI): A Critical Role of Fc Epsilon RI in Human Airway Smooth Muscle Cell Function. *J. Immunol.* **2005**, *175*, 2613–2621, doi:10.4049/JIMMUNOL.175.4.2613.
 38. Campbell, A.M.; Vachier, I.; Chanez, P.; Vignola, A.M.; Lebel, B.; Kochan, J.; Godard, P.; Bousquet, J. Expression of the High-Affinity Receptor for IgE on Bronchial Epithelial Cells of Asthmatics. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **1998**, *19*, 92–97, doi:10.1165/AJRCMB.19.1.2648.
 39. Dullaers, M.; De Bruyne, R.; Ramadani, F.; Gould, H.J.; Gevaert, P.; Lambrecht, B.N. The Who, Where, and When of IgE in Allergic Airway Disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2012**, *129*, 635–645, doi:10.1016/J.JACI.2011.10.029.
 40. Gould, H.J.; Sutton, B.J. IgE in Allergy and Asthma Today. *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 205–217, doi:10.1038/NRI2273.
 41. Gilfillan, A.M.; Tkaczyk, C. Integrated Signalling Pathways for Mast-Cell Activation. *Nat. Rev. Immunol.* **2006**, *6*, 218–230, doi:10.1038/NRI1782.
 42. Holgate, S.T. Pathogenesis of Asthma. *Clin. Exp. Allergy* **2008**, *38*, 872–897,

- doi:10.1111/J.1365-2222.2008.02971.X.
43. Cruse, G.; Kaur, D.; Yang, W.; Duffy, S.M.; Brightling, C.E.; Bradding, P. Activation of Human Lung Mast Cells by Monomeric Immunoglobulin E. *Eur. Respir. J.* **2005**, *25*, 858–863, doi:10.1183/09031936.05.00091704.
 44. Cruse, G.; Cockerill, S.; Bradding, P. IgE Alone Promotes Human Lung Mast Cell Survival through the Autocrine Production of IL-6. *BMC Immunol.* **2008**, *9*, 2, doi:10.1186/1471-2172-9-2.
 45. Acharya, M.; Borland, G.; Edkins, A.L.; MacLellan, L.M.; Matheson, J.; Ozanne, B.W.; Cushley, W. CD23/FcεRII: Molecular Multi-Tasking. *Clin. Exp. Immunol.* **2010**, *162*, 12, doi:10.1111/J.1365-2249.2010.04210.X.
 46. Campbell, A.M.; Vignola, A.M.; Chanez, P.; Godard, P.; Bousquet, J. Low-Affinity Receptor for IgE on Human Bronchial Epithelial Cells in Asthma. *Immunology* **1994**, *82*, 506–508.
 47. Saini, S.S.; Klion, A.D.; Holland, S.M.; Hamilton, R.G.; Bochner, B.S.; Macglashan, D.W.J. The Relationship between Serum IgE and Surface Levels of FcεRI on Human Leukocytes in Various Diseases: Correlation of Expression with FcεRI on Basophils but Not on Monocytes or Eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *106*, 514–520, doi:10.1067/mai.2000.108431.
 48. Borkowski, T.A.; Jouvin, M.H.; Lin, S.Y.; Kinet, J.P. Minimal Requirements for IgE-Mediated Regulation of Surface Fc Epsilon RI. *J. Immunol.* **2001**, *167*, 1290–1296, doi:10.4049/jimmunol.167.3.1290.
 49. Yamaguchi, M.; Lantz, C.S.; Oettgen, H.C.; Katona, I.M.; Fleming, T.; Miyajima, I.; Kinet, J.P.; Galli, S.J. IgE Enhances Mouse Mast Cell FcεRI Expression In Vitro and In Vivo: Evidence for a Novel Amplification Mechanism in IgE-Dependent Reactions. *J. Exp. Med.* **1997**, *185*, 663, doi:10.1084/JEM.185.4.663.
 50. Lynch, J.P.; Mazzone, S.B.; Rogers, M.J.; Arikatt, J.J.; Loh, Z.; Pritchard, A.L.; Upham, J.W.; Phipps, S. The Plasmacytoid Dendritic Cell: At the Cross-Roads in Asthma. *Eur. Respir. J.* **2014**, *43*, 264–275, doi:10.1183/09031936.00203412.
 51. Kim, I.S.; Kim, M.J.; Kim, D.H.; Choi, E.; Lee, J.-S. Different Anti-Apoptotic Effects of Normal and Asthmatic Serum on Normal Eosinophil Apoptosis Depending on House Dust Mite-Specific IgE. *Mol. Biol. Rep.* **2013**, *40*, 5875–5881, doi:10.1007/s11033-013-2695-z.
 52. Smith, S.J.; Ying, S.; Meng, Q.; Sullivan, M.H.; Barkans, J.; Kon, O.M.; Sihra, B.; Larché, M.;

- Levi-Schaffer, F.; Kay, A.B. Blood Eosinophils from Atopic Donors Express Messenger RNA for the Alpha, Beta, and Gamma Subunits of the High-Affinity IgE Receptor (Fc Epsilon RI) and Intracellular, but Not Cell Surface, Alpha Subunit Protein. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2000**, *105*, 309–317, doi:10.1016/s0091-6749(00)90081-2.
53. Rajakulasingham, K.; Durham, S.R.; O'Brien, F.; Humbert, M.; Barata, L.T.; Reece, L.; Kay, A.B.; Grant, J.A. Enhanced Expression of High-Affinity IgE Receptor (Fc Epsilon RI) Alpha Chain in Human Allergen-Induced Rhinitis with Co-Localization to Mast Cells, Macrophages, Eosinophils, and Dendritic Cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1997**, *100*, 78–86, doi:10.1016/s0091-6749(97)70198-2.
54. Gounni, A.S.; Lamkhioued, B.; Ochiai, K.; Tanaka, Y.; Delaporte, E.; Capron, A.; Kinet, J.P.; Capron, M. High-Affinity IgE Receptor on Eosinophils Is Involved in Defence against Parasites. *Nature* **1994**, *367*, 183–186, doi:10.1038/367183a0.
55. Pelaia, G.; Vatrella, A.; Busceti, M.T.; Gallelli, L.; Terracciano, R.; Maselli, R. Anti-IgE Therapy with Omalizumab for Severe Asthma: Current Concepts and Potential Developments. *Curr. Drug Targets* **2015**, *16*, 171–178, doi:10.2174/1389450116666141219122157.
56. Redhu, N.S.; Gounni, A.S. The High Affinity IgE Receptor (FcεRI) Expression and Function in Airway Smooth Muscle. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2013**, *26*, 86–94, doi:10.1016/j.pupt.2012.04.004.
57. Roth, M.; Zhong, J.; Zumkeller, C.; S'ng, C.T.; Goulet, S.; Tamm, M. The Role of IgE-Receptors in IgE-Dependent Airway Smooth Muscle Cell Remodelling. *PLoS One* **2013**, *8*, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0056015.
58. Bochner, B.S.; Gleich, G.J. What Targeting Eosinophils Has Taught Us about Their Role in Diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2010**, *126*, 16–25, doi:10.1016/J.JACI.2010.02.026.
59. Bousquet, J.; Chanez, P.; Lacoste, J.Y.; Barnéon, G.; Ghavanian, N.; Enander, I.; Venge, P.; Ahlstedt, S.; Simony-Lafontaine, J.; Godard, P.; et al. Eosinophilic Inflammation in Asthma. *N. Engl. J. Med.* **1990**, *323*, 1033–1039, doi:10.1056/NEJM199010113231505.
60. PC, F.; ME, R. Targeting Eosinophils in Allergy, Inflammation and Beyond. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, doi:10.1038/NRD3838.
61. STIRLING, R.G.; VAN RENSEN, E.L.J.; BARNES, P.J.; FAN CHUNG, K. Interleukin-5 Induces CD34(+) Eosinophil Progenitor Mobilization and Eosinophil CCR3 Expression in Asthma.

- Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2001**, *164*, 1403–1409, doi:10.1164/AJRCCM.164.8.2010002.
62. G, V.; GW, C. The Role of Interleukin 5 in Asthma. *Expert Rev. Clin. Immunol.* **2016**, *12*, doi:10.1080/1744666X.2016.1208564.
63. Heffler, E.; Malvezzi, L.; Boita, M.; Brussino, L.; De Virgilio, A.; Ferrando, M.; Puggioni, F.; Racca, F.; Stomeo, N.; Spriano, G.; et al. Immunological Mechanisms Underlying Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Expert Rev. Clin. Immunol.* **2018**, *14*, 731–737, doi:10.1080/1744666X.2018.1512407.
64. Ahern, S.; Cervin, A. Inflammation and Endotyping in Chronic Rhinosinusitis-A Paradigm Shift. *Medicina (Kaunas)*. **2019**, *55*, 95, doi:10.3390/MEDICINA55040095.
65. Yanagibashi, T.; Satoh, M.; Nagai, Y.; Koike, M.; Takatsu, K. Allergic Diseases: From Bench to Clinic - Contribution of the Discovery of Interleukin-5. *Cytokine* **2017**, *98*, 59–70, doi:10.1016/j.cyto.2016.11.011.
66. Lambrecht, B.N.; Hammad, H.; Fahy, J. V The Cytokines of Asthma. *Immunity* **2019**, *50*, 975–991, doi:10.1016/j.immuni.2019.03.018.
67. Woodruff, P.G.; Modrek, B.; Choy, D.F.; Jia, G.; Abbas, A.R.; Ellwanger, A.; Koth, L.L.; Arron, J.R.; Fahy, J. V T-Helper Type 2-Driven Inflammation Defines Major Subphenotypes of Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2009**, *180*, 388–395, doi:10.1164/rccm.200903-0392OC.
68. Smith, S.G.; Chen, R.; Kjarsgaard, M.; Huang, C.; Oliveria, J.-P.; O’Byrne, P.M.; Gauvreau, G.M.; Boulet, L.-P.; Lemiere, C.; Martin, J.; et al. Increased Numbers of Activated Group 2 Innate Lymphoid Cells in the Airways of Patients with Severe Asthma and Persistent Airway Eosinophilia. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2016**, *137*, 75-86.e8, doi:10.1016/j.jaci.2015.05.037.
69. Walker, J.A.; Barlow, J.L.; McKenzie, A.N.J. Innate Lymphoid Cells--How Did We Miss Them? *Nat. Rev. Immunol.* **2013**, *13*, 75–87, doi:10.1038/nri3349.
70. Brusselle, G.G.; Maes, T.; Bracke, K.R. Eosinophils in the Spotlight: Eosinophilic Airway Inflammation in Nonallergic Asthma. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 977–979, doi:10.1038/nm.3300.
71. Lambrecht, B.N.; Hammad, H. The Immunology of Asthma. *Nat. Immunol.* **2015**, *16*, 45–56, doi:10.1038/ni.3049.

72. Hogan, S.P.; Rosenberg, H.F.; Moqbel, R.; Phipps, S.; Foster, P.S.; Lacy, P.; Kay, A.B.; Rothenberg, M.E. Eosinophils: Biological Properties and Role in Health and Disease. *Clin. Exp. allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* 2008, **38**, 709–750.
73. Sakuishi, K.; Oki, S.; Araki, M.; Porcelli, S.A.; Miyake, S.; Yamamura, T. Invariant NKT Cells Biased for IL-5 Production Act as Crucial Regulators of Inflammation. *J. Immunol.* **2007**, *179*, 3452–3462, doi:10.4049/jimmunol.179.6.3452.
74. Shakoory, B.; Fitzgerald, S.M.; Lee, S.A.; Chi, D.S.; Krishnaswamy, G. The Role of Human Mast Cell-Derived Cytokines in Eosinophil Biology. *J. Interf. cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interf. Cytokine Res.* **2004**, *24*, 271–281, doi:10.1089/107999004323065057.
75. Galdiero, M.R.; Varricchi, G.; Seaf, M.; Marone, G.; Levi-Schaffer, F.; Marone, G. Bidirectional Mast Cell-Eosinophil Interactions in Inflammatory Disorders and Cancer. *Front. Med.* **2017**, *4*, 103, doi:10.3389/fmed.2017.00103.
76. Minai-Fleminger, Y.; Elishmereni, M.; Vita, F.; Soranzo, M.R.; Mankuta, D.; Zabucchi, G.; Levi-Schaffer, F. Ultrastructural Evidence for Human Mast Cell-Eosinophil Interactions in Vitro. *Cell Tissue Res.* **2010**, *341*, 405–415, doi:10.1007/s00441-010-1010-8.
77. Murphy, J.M.; Young, I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF Signaling: Crystal Structure of the Human Beta-Common Receptor. *Vitam. Horm.* **2006**, *74*, 1–30, doi:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
78. Rossjohn, J.; McKinstry, W.J.; Woodcock, J.M.; McClure, B.J.; Hercus, T.R.; Parker, M.W.; Lopez, A.F.; Bagley, C.J. Structure of the Activation Domain of the GM-CSF/IL-3/IL-5 Receptor Common Beta-Chain Bound to an Antagonist. *Blood* **2000**, *95*, 2491–2498.
79. Broughton, S.E.; Dhagat, U.; Hercus, T.R.; Nero, T.L.; Grimbaldeston, M.A.; Bonder, C.S.; Lopez, A.F.; Parker, M.W. The GM-CSF/IL-3/IL-5 Cytokine Receptor Family: From Ligand Recognition to Initiation of Signaling. *Immunol. Rev.* **2012**, *250*, 277–302, doi:10.1111/j.1600-065X.2012.01164.x.
80. Varricchi, G.; Bagnasco, D.; Borriello, F.; Heffler, E.; Canonica, G.W. Interleukin-5 Pathway Inhibition in the Treatment of Eosinophilic Respiratory Disorders: Evidence and Unmet Needs. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* **2016**, *16*, 186–200, doi:10.1097/ACI.0000000000000251.
81. Kouro, T.; Takatsu, K. IL-5- and Eosinophil-Mediated Inflammation: From Discovery to Therapy. *Int. Immunol.* **2009**, *21*, 1303–1309, doi:10.1093/intimm/dxp102.

82. Ishino, T.; Harrington, A.E.; Gopi, H.; Chaiken, I. Structure-Based Rationale for Interleukin 5 Receptor Antagonism. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 1231–1239, doi:10.2174/138161208784246144.
83. Johanson, K.; Appelbaum, E.; Doyle, M.; Hensley, P.; Zhao, B.; Abdel-Meguid, S.S.; Young, P.; Cook, R.; Carr, S.; Matico, R. Binding Interactions of Human Interleukin 5 with Its Receptor Alpha Subunit. Large Scale Production, Structural, and Functional Studies of Drosophila-Expressed Recombinant Proteins. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 9459–9471, doi:10.1074/jbc.270.16.9459.
84. Molfino, N.A.; Gossage, D.; Kolbeck, R.; Parker, J.M.; Geba, G.P. Molecular and Clinical Rationale for Therapeutic Targeting of Interleukin-5 and Its Receptor. *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* **2012**, *42*, 712–737, doi:10.1111/j.1365-2222.2011.03854.x.
85. Amruta, N. Apoptosis of Inflammatory Cells in Asthma. **2018**, doi:10.5281/ZENODO.2530304.
86. Sano, M.; Leff, A.R.; Myou, S.; Boetticher, E.; Meliton, A.Y.; Learoyd, J.; Lambertino, A.T.; Munoz, N.M.; Zhu, X. Regulation of Interleukin-5-Induced Beta2-Integrin Adhesion of Human Eosinophils by Phosphoinositide 3-Kinase. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2005**, *33*, 65–70, doi:10.1165/rcmb.2005-0076OC.
87. Pelaia, G.; Cuda, G.; Vatrella, A.; Gallelli, L.; Caraglia, M.; Marra, M.; Abbruzzese, A.; Caputi, M.; Maselli, R.; Costanzo, F.S.; et al. Mitogen-Activated Protein Kinases and Asthma. *J. Cell. Physiol.* **2005**, *202*, 642–653, doi:10.1002/jcp.20169.
88. Adachi, T.; Alam, R. The Mechanism of IL-5 Signal Transduction. *Am. J. Physiol.* **1998**, *275*, C623–33, doi:10.1152/ajpcell.1998.275.3.C623.
89. Bates, M.E.; Green, V.L.; Bertics, P.J. ERK1 and ERK2 Activation by Chemotactic Factors in Human Eosinophils Is Interleukin 5-Dependent and Contributes to Leukotriene C(4) Biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 10968–10975, doi:10.1074/jbc.275.15.10968.
90. Takatsu, K.; Nakajima, H. IL-5 and Eosinophilia. *Curr. Opin. Immunol.* **2008**, *20*, 288–294, doi:10.1016/j.coi.2008.04.001.
91. Thompson-Souza, G.A.; Gropillo, I.; Neves, J.S. Cysteinyl Leukotrienes in Eosinophil Biology: Functional Roles and Therapeutic Perspectives in Eosinophilic Disorders. *Front. Med.* **2017**, *4*, 106, doi:10.3389/fmed.2017.00106.

92. Adachi, T.; Choudhury, B.K.; Stafford, S.; Sur, S.; Alam, R. The Differential Role of Extracellular Signal-Regulated Kinases and P38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Eosinophil Functions. *J. Immunol.* **2000**, *165*, 2198–2204, doi:10.4049/jimmunol.165.4.2198.
93. Bhalla, A.; Mukherjee, M.; Nair, P. Airway Eosinophilopoietic and Autoimmune Mechanisms of Eosinophilia in Severe Asthma. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* **2018**, *38*, 639–654, doi:10.1016/j.iac.2018.06.003.
94. Dorman, S.C.; Efthimiadis, A.; Babirad, I.; Watson, R.M.; Denburg, J.A.; Hargreave, F.E.; O’Byrne, P.M.; Sehmi, R. Sputum CD34+IL-5Ralpha+ Cells Increase after Allergen: Evidence for in Situ Eosinophilopoiesis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2004**, *169*, 573–577, doi:10.1164/rccm.200307-1004OC.
95. Wood, L.J.; Sehmi, R.; Dorman, S.; Hamid, Q.; Tulic, M.K.; Watson, R.M.; Foley, R.; Wasi, P.; Denburg, J.A.; Gauvreau, G.; et al. Allergen-Induced Increases in Bone Marrow T Lymphocytes and Interleukin-5 Expression in Subjects with Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2002**, *166*, 883–889, doi:10.1164/rccm.2108015.
96. Greenfeder, S.; Umland, S.P.; Cuss, F.M.; Chapman, R.W.; Egan, R.W. Th2 Cytokines and Asthma. The Role of Interleukin-5 in Allergic Eosinophilic Disease. *Respir. Res.* **2001**, *2*, 71–79, doi:10.1186/rr41.
97. Kandikattu, H.K.; Upparahalli Venkateshaiah, S.; Mishra, A. Synergy of Interleukin (IL)-5 and IL-18 in Eosinophil Mediated Pathogenesis of Allergic Diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2019**, *47*, 83–98, doi:10.1016/j.cytogfr.2019.05.003.
98. Park, S.W.; Kim, D.J.; Chang, H.S.; Park, S.J.; Lee, Y.M.; Park, J.S.; Chung, I.Y.; Lee, J.H.; Park, C.-S. Association of Interleukin-5 and Eotaxin with Acute Exacerbation of Asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2003**, *131*, 283–290, doi:10.1159/000072140.
99. Xu, J.; Jiang, F.; Nayeri, F.; Zetterström, O. Apoptotic Eosinophils in Sputum from Asthmatic Patients Correlate Negatively with Levels of IL-5 and Eotaxin. *Respir. Med.* **2007**, *101*, 1447–1454, doi:10.1016/j.rmed.2007.01.026.
100. Ilmarinen, P.; Moilanen, E.; Kankaanranta, H. Regulation of Spontaneous Eosinophil Apoptosis-a Neglected Area of Importance. *J. Cell Death* **2014**, *7*, 1–9, doi:10.4137/JCD.S13588.
101. Johansson, M.W. Eosinophil Activation Status in Separate Compartments and Association

- with Asthma. *Front. Med.* **2017**, *4*, 75, doi:10.3389/fmed.2017.00075.
102. Kay, A.B.; Phipps, S.; Robinson, D.S. A Role for Eosinophils in Airway Remodelling in Asthma. *Trends Immunol.* **2004**, *25*, 477–482, doi:10.1016/j.it.2004.07.006.
 103. Cho, J.Y.; Miller, M.; Baek, K.J.; Han, J.W.; Nayar, J.; Lee, S.Y.; McElwain, K.; McElwain, S.; Friedman, S.; Broide, D.H. Inhibition of Airway Remodeling in IL-5-Deficient Mice. *J. Clin. Invest.* **2004**, *113*, 551–560, doi:10.1172/JCI19133.
 104. British Thoracic Society SIGN 158. British Guideline on the Management of Asthma. NHS Scotland. **2019**, *21*, 1–9.
 105. O’Byrne, P.M.; Jenkins, C.; Bateman, E.D. The Paradoxes of Asthma Management: Time for a New Approach? *Eur. Respir. J.* **2017**, *50*, 1701103, doi:10.1183/13993003.01103-2017.
 106. Burke, W.; Fesinmeyer, M.; Reed, K.; Hampson, L.; Carlsten, C. Family History as a Predictor of Asthma Risk. *Am. J. Prev. Med.* **2003**, *24*, 160–169, doi:10.1016/S0749-3797(02)00589-5.
 107. Bel, E.H. Clinical Phenotypes of Asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2004**, *10*, 44–50, doi:10.1097/00063198-200401000-00008.
 108. Tomita, K.; Sano, H.; Chiba, Y.; Sato, R.; Sano, A.; Nishiyama, O.; Iwanaga, T.; Higashimoto, Y.; Haraguchi, R.; Tohda, Y. A Scoring Algorithm for Predicting the Presence of Adult Asthma: A Prospective Derivation Study. *Prim. Care Respir. J.* **2013**, *22*, 51–58, doi:10.4104/pcrj.2013.00005.
 109. NICE Guideline. Asthma: Diagnosis, Monitoring and Chronic Asthma Management NICE Guideline. **2017**.
 110. Pellegrino, R.; Viegi, G.; Brusasco, V.; Crapo, R.O.; Burgos, F.; Casaburi, R.; Coates, A.; van der Grinten, C.P.M.; Gustafsson, P.; Hankinson, J.; et al. Interpretative Strategies for Lung Function Tests. *Eur. Respir. J.* **2005**, *26*, 948–968, doi:10.1183/09031936.05.00035205.
 111. Kitch, B.T.; Paltiel, A.D.; Kuntz, K.M.; Dockery, D.W.; Schouten, J.P.; Weiss, S.T.; Fuhlbrigge, A.L. A Single Measure of FEV1 Is Associated with Risk of Asthma Attacks in Long-Term Follow-Up. *Chest* **2004**, *126*, 1875–1882, doi:10.1378/chest.126.6.1875.
 112. Phillips, K.; Osborne, J.; Lewis, S.; Harrison, T.W.; Tattersfield, A.E. Time Course of Action of Two Inhaled Corticosteroids, Fluticasone Propionate and Budesonide. *Thorax* **2004**,

- 59, 26–30, doi:10.1136/thx.2003.015297.
113. Boezen, H.M.; Schouten, J.P.; Postma, D.S.; Rijcken, B. Distribution of Peak Expiratory Flow Variability by Age, Gender and Smoking Habits in a Random Population Sample Aged 20-70 Yrs. *Eur. Respir. J.* **1994**, *7*, 1814–1820, doi:10.1183/09031936.94.07101814.
 114. Dekker, F.W.; Schrier, A.C.; Sterk, P.J.; Dijkman, J.H. Validity of Peak Expiratory Flow Measurement in Assessing Reversibility of Airflow Obstruction. *Thorax* **1992**, *47*, 162–166, doi:10.1136/thx.47.3.162.
 115. Cockcroft, D.W. Bronchoprovocation Methods: Direct Challenges. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **2003**, *24*, 19–26, doi:10.1385/CRIAI:24:1:19.
 116. Crapo, R.O.; Casaburi, R.; Coates, A.L.; Enright, P.L.; Hankinson, J.L.; Irvin, C.G.; MacIntyre, N.R.; McKay, R.T.; Wanger, J.S.; Anderson, S.D.; et al. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing-1999. This Official Statement of the American Thoracic Society Was Adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 309–329, doi:10.1164/ajrccm.161.1.ats11-99.
 117. Perpiñá Tordera, M.; García Río, F.; Álvarez Gutierrez, F.J.; Cisneros Serrano, C.; Compte Borrero, L.; Entrenas Costa, L.M.; Melero Moreno, C.; Rodríguez Nieto, M.J.; Torrego Fernández, A. Guidelines for the Study of Nonspecific Bronchial Hyperresponsiveness in Asthma. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR). *Arch. Bronconeumol.* **2013**, *49*, 432–446, doi:10.1016/j.arbres.2013.05.001.
 118. Coates, A.L.; Wanger, J.; Cockcroft, D.W.; Culver, B.H.; Diamant, Z.; Gauvreau, G.; Hall, G.L.; Hallstrand, T.S.; Horvath, I.; de Jongh, F.H.C.; et al. ERS Technical Standard on Bronchial Challenge Testing: General Considerations and Performance of Methacholine Challenge Tests. *Eur. Respir. J.* **2017**, *49*, doi:10.1183/13993003.01526-2016.
 119. Kuo, C.R.; Spears, M.; Haughney, J.; Smith, A.; Miller, J.; Bradshaw, T.; Murray, L.; Williamson, P.; Lipworth, B. Scottish Consensus Statement on the Role of FeNO in Adult Asthma. *Respir. Med.* **2019**, *155*, 54–57, doi:10.1016/j.rmed.2019.07.010.
 120. Smith, A.D.; Cowan, J.O.; Filsell, S.; McLachlan, C.; Monti-Sheehan, G.; Jackson, P.; Taylor, D.R. Diagnosing Asthma: Comparisons between Exhaled Nitric Oxide Measurements and Conventional Tests. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2004**, *169*, 473–478, doi:10.1164/rccm.200310-1376OC.
 121. Taylor, D.R.; Pijnenburg, M.W.; Smith, A.D.; De Jongste, J.C. Exhaled Nitric Oxide

- Measurements: Clinical Application and Interpretation. *Thorax* **2006**, *61*, 817–827, doi:10.1136/thx.2005.056093.
122. Ojeda, P.; Sastre, J.; Olaguibel, J.M.; Chivato, T. Alergológica 2015: A National Survey on Allergic Diseases in the Adult Spanish Population. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2018**, *28*, 151–164, doi:10.18176/jiacci.0264.
 123. Bousquet, J.; Heinzerling, L.; Bachert, C.; Papadopoulos, N.G.; Bousquet, P.J.; Burney, P.G.; Canonica, G.W.; Carlsen, K.H.; Cox, L.; Haahtela, T.; et al. Practical Guide to Skin Prick Tests in Allergy to Aeroallergens. *Allergy* **2012**, *67*, 18–24, doi:10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x.
 124. Moreno, C.; Justicia, J.L.; Quiralte, J.; Moreno-Ancillo, A.; Iglesias-Cadarso, A.; Torrecillas, M.; Labarta, N.; García, M.A.; Dávila, I. Olive, Grass or Both? Molecular Diagnosis for the Allergen Immunotherapy Selection in Polysensitized Pollinic Patients. *Allergy* **2014**, *69*, 1357–1363, doi:10.1111/all.12474.
 125. González-Mancebo, E.; Domínguez-Ortega, J.; Blanco-Bermejo, S.; González-Seco, E.; Trujillo, M.J.; de la Torre, F. Comparison of Two Diagnostic Techniques, Skin-Prick Test and Component Resolved Diagnosis in the Follow-up of a Cohort of Paediatric Patients with Pollinosis. Multicentre Pilot Study in a Highly Exposed Allergenic Area. *Allergol. Immunopathol. (Madr)*. **2017**, *45*, 121–126, doi:10.1016/j.aller.2016.04.005.
 126. Bernstein, I.L.; Li, J.T.; Bernstein, D.I.; Hamilton, R.; Spector, S.L.; Tan, R.; Sicherer, S.; Golden, D.B.K.; Khan, D.A.; Nicklas, R.A.; et al. Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* **2008**, *100*, S1–S148, doi:10.1016/S1081-1206(10)60305-5.
 127. NAEP-EP 2007 National Asthma Education and Prevention Program. Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. Bethesda: NHLBI, NIH. 2007. Available online: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/guidelines-for-diagnosis-management-of-asthma> (accessed on 15 February 2023).
 128. Institute, N.H.L. and B. GINA 2019. Global Strategy for Asthma Management and Prevention : NHLBI/WHO Workshop Report. <http://www.ginasthma.com/> **2006**, *21*, 635–648, doi:10.3388/JSPACI.21.635.
 129. Dusser, D.; Montani, D.; Chanez, P.; de Blic, J.; Delacourt, C.; Deschildre, A.; Devillier, P.; Didier, A.; Leroyer, C.; Marguet, C.; et al. Mild Asthma: An Expert Review on

- Epidemiology, Clinical Characteristics and Treatment Recommendations. *Allergy* **2007**, *62*, 591–604, doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01394.x.
130. Stoloff, S.W.; Boushey, H.A. Severity, Control, and Responsiveness in Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2006**, *117*, 544–548, doi:10.1016/j.jaci.2006.01.005.
131. Taylor, D.R.; Bateman, E.D.; Boulet, L.-P.; Boushey, H.A.; Busse, W.W.; Casale, T.B.; Chanez, P.; Enright, P.L.; Gibson, P.G.; de Jongste, J.C.; et al. A New Perspective on Concepts of Asthma Severity and Control. *Eur. Respir. J.* **2008**, *32*, 545–554, doi:10.1183/09031936.00155307.
132. Reddel, H.K.; Taylor, D.R.; Bateman, E.D.; Boulet, L.-P.; Boushey, H.A.; Busse, W.W.; Casale, T.B.; Chanez, P.; Enright, P.L.; Gibson, P.G.; et al. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Asthma Control and Exacerbations: Standardizing Endpoints for Clinical Asthma Trials and Clinical Practice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2009**, *180*, 59–99, doi:10.1164/rccm.200801-060ST.
133. Bateman, E.D.; Boushey, H.A.; Bousquet, J.; Busse, W.W.; Clark, T.J.H.; Pauwels, R.A.; Pedersen, S.E. Can Guideline-Defined Asthma Control Be Achieved? The Gaining Optimal Asthma Control Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2004**, *170*, 836–844, doi:10.1164/rccm.200401-033OC.
134. Nathan, R.A.; Sorkness, C.A.; Kosinski, M.; Schatz, M.; Li, J.T.; Marcus, P.; Murray, J.J.; Pendergraft, T.B. Development of the Asthma Control Test: A Survey for Assessing Asthma Control. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2004**, *113*, 59–65, doi:10.1016/j.jaci.2003.09.008.
135. Vega, J.M.; Badia, X.; Badiola, C.; López-Viña, A.; Olaguíbel, J.M.; Picado, C.; Sastre, J.; Dal-Ré, R. Validation of the Spanish Version of the Asthma Control Test (ACT). *J. asthma Off. J. Assoc. Care Asthma* **2007**, *44*, 867–872, doi:10.1080/02770900701752615.
136. Juniper, E.F.; O'Byrne, P.M.; Guyatt, G.H.; Ferrie, P.J.; King, D.R. Development and Validation of a Questionnaire to Measure Asthma Control. *Eur. Respir. J.* **1999**, *14*, 902–907, doi:10.1034/j.1399-3003.1999.14d29.x.
137. Picado, C.; Badiola, C.; Perulero, N.; Sastre, J.; Olaguíbel, J.M.; López Viña, A.; Vega, J.M. Validation of the Spanish Version of the Asthma Control Questionnaire. *Clin. Ther.* **2008**, *30*, 1918–1931, doi:10.1016/j.clinthera.2008.10.005.
138. Barnes, P.J. Biochemical Basis of Asthma Therapy. *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 32899–32905,

- doi:10.1074/JBC.R110.206466.
139. Domínguez-Ortega, J.; Delgado Romero, J.; Muñoz Gall, X.; Marco, A.; Blanco-Aparicio, M. Uso de Glucocorticoides Sistémicos Para El Tratamiento Del Asma Grave: Consenso Multidisciplinar Español. *Open Respir. Arch.* **2022**, *4*, 100202, doi:https://doi.org/10.1016/j.opresp.2022.100202.
 140. Álvarez, F. Información Terapéutica Del Sistema Nacional de Salud. 26.
 141. Kemp, J.P.; Korenblat, P.E.; Scherger, J.E.; Minkwitz, M. Zafirlukast in Clinical Practice: Results of the Accolate Clinical Experience and Pharmacoepidemiology Trial (ACCEPT) in Patients with Asthma. *J. Fam. Pract.* **1999**, *48*, 425–432.
 142. Hui, K.P.; Barnes, N.C. Lung Function Improvement in Asthma with a Cysteinyl-Leukotriene Receptor Antagonist. *Lancet (London, England)* **1991**, *337*, 1062–1063, doi:10.1016/0140-6736(91)91709-4.
 143. García-Marcos, L.; Schuster, A. Antileukotrienes in Asthma: Present Situation. *Expert Opin. Pharmacother.* **2001**, *2*, 441–466, doi:10.1517/14656566.2.3.441.
 144. Henderson, W.R.J.; Tang, L.-O.; Chu, S.-J.; Tsao, S.-M.; Chiang, G.K.S.; Jones, F.; Jonas, M.; Pae, C.; Wang, H.; Chi, E.Y. A Role for Cysteinyl Leukotrienes in Airway Remodeling in a Mouse Asthma Model. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2002**, *165*, 108–116, doi:10.1164/ajrccm.165.1.2105051.
 145. Knorr, B.; Franchi, L.M.; Bisgaard, H.; Vermeulen, J.H.; LeSouef, P.; Santanello, N.; Michele, T.M.; Reiss, T.F.; Nguyen, H.H.; Bratton, D.L. Montelukast, a Leukotriene Receptor Antagonist, for the Treatment of Persistent Asthma in Children Aged 2 to 5 Years. *Pediatrics* **2001**, *108*, E48, doi:10.1542/peds.108.3.e48.
 146. Bisgaard, H.; Loland, L.; Oj, J.A. NO in Exhaled Air of Asthmatic Children Is Reduced by the Leukotriene Receptor Antagonist Montelukast. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1999**, *160*, 1227–1231, doi:10.1164/ajrccm.160.4.9903004.
 147. O’Sullivan, S.; Akveld, M.; Burke, C.M.; Poulter, L.W. Effect of the Addition of Montelukast to Inhaled Fluticasone Propionate on Airway Inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2003**, *167*, 745–750, doi:10.1164/rccm.200208-783OC.
 148. Garcia Marcos, L.; Gonzalez, E. Antileucotrienos En El Tratamiento Del Asma. *An Pediatr Contin* **2003**, 1–23.

149. Salpeter, S.R.; Buckley, N.S.; Ormiston, T.M.; Salpeter, E.E. Meta-Analysis: Effect of Long-Acting Beta-Agonists on Severe Asthma Exacerbations and Asthma-Related Deaths. *Ann. Intern. Med.* **2006**, *144*, 904–912, doi:10.7326/0003-4819-144-12-200606200-00126.
150. Weatherall, M.; Wijesinghe, M.; Perrin, K.; Harwood, M.; Beasley, R. Meta-Analysis of the Risk of Mortality with Salmeterol and the Effect of Concomitant Inhaled Corticosteroid Therapy. *Thorax* **2010**, *65*, 39–43, doi:10.1136/thx.2009.116608.
151. Rodrigo, G.J.; Moral, V.P.; Marcos, L.G.; Castro-Rodriguez, J.A. Safety of Regular Use of Long-Acting Beta Agonists as Monotherapy or Added to Inhaled Corticosteroids in Asthma. A Systematic Review. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2009**, *22*, 9–19, doi:10.1016/j.pupt.2008.10.008.
152. Janjua, S.; Schmidt, S.; Ferrer, M.; Cates, C.J. Inhaled Steroids with and without Regular Formoterol for Asthma: Serious Adverse Events. *Cochrane database Syst. Rev.* **2019**, *9*, CD006924, doi:10.1002/14651858.CD006924.pub4.
153. González Bueno, J.; Sevilla Sánchez, D. GENESIS-SEFH Programa MADRE Versión 4.0 Informe Base. **2016**.
154. Asthma Tiotropium (Spiriva Respimat); National Institute for Health and Care Excellence | Guidance | NICE. **2015**.
155. Kerstjens, H.A.M.; Engel, M.; Dahl, R.; Paggiaro, P.; Beck, E.; Vandewalker, M.; Sigmund, R.; Seibold, W.; Moroni-Zentgraf, P.; Bateman, E.D. Tiotropium in Asthma Poorly Controlled with Standard Combination Therapy. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *367*, 1198–1207, doi:10.1056/NEJMoa1208606.
156. Befekadu, E.; Onofrei, C.; Colice, G.L. Tiotropium in Asthma: A Systematic Review. *J. Asthma Allergy* **2014**, *7*, 11–21, doi:10.2147/JAA.S38841.
157. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios FICHA TECNICA XOLAIR 150 Mg SOLUCION INYECTABLE Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/05319008/FT_05319008.html#10-fecha-de-la-revisi-n-del-texto (accessed on 5 April 2022).
158. Normansell, R.; Walker, S.; Milan, S.J.; Walters, E.H.; Nair, P. Omalizumab for Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, *2014*, doi:10.1002/14651858.CD003559.PUB4.
159. Solèr, M.; Matz, J.; Townley, R.; Buhl, R.; O'Brien, J.; Fox, H.; Thirlwell, J.; Gupta, N.; Della

- Cioppa, G. The Anti-IgE Antibody Omalizumab Reduces Exacerbations and Steroid Requirement in Allergic Asthmatics. *Eur. Respir. J.* **2001**, *18*, 254–261, doi:10.1183/09031936.01.00092101.
160. Hanania, N.A.; Alpan, O.; Hamilos, D.L.; Condemi, J.J.; Reyes-Rivera, I.; Zhu, J.; Rosen, K.E.; Eisner, M.D.; Wong, D.A.; Busse, W. Omalizumab in Severe Allergic Asthma Inadequately Controlled with Standard Therapy: A Randomized Trial. *Ann. Intern. Med.* **2011**, *154*, 573–582, doi:10.7326/0003-4819-154-9-201105030-00002.
161. Holguin, F.; Cardet, J.C.; Chung, K.F.; Diver, S.; Ferreira, D.S.; Fitzpatrick, A.; Gaga, M.; Kellermeyer, L.; Khurana, S.; Knight, S.; et al. Management of Severe Asthma: A European Respiratory Society/American Thoracic Society Guideline. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, doi:10.1183/13993003.00588-2019.
162. Busse, W.; Corren, J.; Lanier, B.Q.; McAlary, M.; Fowler-Taylor, A.; Cioppa, G. Della; Gupta, N. Omalizumab, Anti-IgE Recombinant Humanized Monoclonal Antibody, for the Treatment of Severe Allergic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2001**, *108*, 184–190, doi:10.1067/MAI.2001.117880.
163. Sheehan, W.J.; Krouse, R.Z.; Calatroni, A.; Gergen, P.J.; Gern, J.E.; Gill, M.A.; Gruchalla, R.S.; Khurana Hershey, G.K.; Kattan, M.; Kercksmar, C.M.; et al. Aeroallergen Sensitization, Serum IgE, and Eosinophilia as Predictors of Response to Omalizumab Therapy During the Fall Season Among Children with Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2020**, *8*, 3021-3028.e2, doi:10.1016/J.JAIP.2020.03.051.
164. Marzano, A. V; Genovese, G.; Casazza, G.; Fierro, M.T.; Dapavo, P.; Crimi, N.; Ferrucci, S.; Pepe, P.; Liberati, S.; Pigatto, P.D.; et al. Predictors of Response to Omalizumab and Relapse in Chronic Spontaneous Urticaria: A Study of 470 Patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2019**, *33*, 918–924, doi:10.1111/jdv.15350.
165. Kallieri, M.; Papaioannou, A.I.; Papathanasiou, E.; Ntontsi, P.; Papiris, S.; Loukides, S. Predictors of Response to Therapy with Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma - a Real Life Study. *Postgrad. Med.* **2017**, *129*, 598–604, doi:10.1080/00325481.2017.1321945.
166. Casale, T.B.; Luskin, A.T.; Busse, W.; Zeiger, R.S.; Trzaskoma, B.; Yang, M.; Griffin, N.M.; Chipps, B.E. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 156-164.e1, doi:10.1016/j.jaip.2018.04.043.

167. Bousquet, J.; Humbert, M.; Gibson, P.G.; Kostikas, K.; Jaumont, X.; Pfister, P.; Nissen, F. Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 2702–2714, doi:10.1016/j.jaip.2021.01.011.
168. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Nucala 100 Mg Polvo Para Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151043001/FT_1151043001.html (accessed on 5 April 2022).
169. Pavord, I.D.; Korn, S.; Howarth, P.; Bleecker, E.R.; Buhl, R.; Keene, O.N.; Ortega, H.; Chanez, P. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma (DREAM): A Multicentre, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Lancet (London, England)* **2012**, *380*, 651–659, doi:10.1016/S0140-6736(12)60988-X.
170. Ortega, H.G.; Liu, M.C.; Pavord, I.D.; Brusselle, G.G.; FitzGerald, J.M.; Chetta, A.; Humbert, M.; Katz, L.E.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1198–1207, doi:10.1056/NEJMoa1403290.
171. Ortega, H.G.; Yancey, S.W.; Mayer, B.; Gunsoy, N.B.; Keene, O.N.; Bleecker, E.R.; Brightling, C.E.; Pavord, I.D. Severe Eosinophilic Asthma Treated with Mepolizumab Stratified by Baseline Eosinophil Thresholds: A Secondary Analysis of the DREAM and MENSA Studies. *Lancet. Respir. Med.* **2016**, *4*, 549–556, doi:10.1016/S2213-2600(16)30031-5.
172. Nair, P.; Pizzichini, M.M.M.; Kjarsgaard, M.; Inman, M.D.; Efthimiadis, A.; Pizzichini, E.; Hargreave, F.E.; O’Byrne, P.M. Mepolizumab for Prednisone-Dependent Asthma with Sputum Eosinophilia. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 985–993, doi:10.1056/NEJMoa0805435.
173. Haldar, P.; Brightling, C.E.; Hargadon, B.; Gupta, S.; Monteiro, W.; Sousa, A.; Marshall, R.P.; Bradding, P.; Green, R.H.; Wardlaw, A.J.; et al. Mepolizumab and Exacerbations of Refractory Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 973–984, doi:10.1056/NEJMoa0808991.
174. Bel, E.H.; Wenzel, S.E.; Thompson, P.J.; Prazma, C.M.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; Ortega, H.G.; Pavord, I.D. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Mepolizumab in Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1189–1197, doi:10.1056/NEJMoa1403291.

175. Domingo Ribas, C.; Carrillo Díaz, T.; Blanco Aparicio, M.; Martínez Moragón, E.; Banas Conejero, D.; Sánchez Herrero, M.G. REal World Effectiveness and Safety of Mepolizumab in a Multicentric Spanish Cohort of Asthma Patients Stratified by Eosinophils: The REDES Study. *Drugs* **2021**, *81*, 1763–1774, doi:10.1007/s40265-021-01597-9.
176. Lugogo, N.; Domingo, C.; Chanez, P.; Leigh, R.; Gilson, M.J.; Price, R.G.; Yancey, S.W.; Ortega, H.G. Long-Term Efficacy and Safety of Mepolizumab in Patients With Severe Eosinophilic Asthma: A Multi-Center, Open-Label, Phase IIIb Study. *Clin. Ther.* **2016**, *38*, 2058-2070.e1, doi:10.1016/j.clinthera.2016.07.010.
177. Khatri, S.; Moore, W.; Gibson, P.G.; Leigh, R.; Bourdin, A.; Maspero, J.; Barros, M.; Buhl, R.; Howarth, P.; Albers, F.C.; et al. Assessment of the Long-Term Safety of Mepolizumab and Durability of Clinical Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2019**, *143*, 1742-1751.e7, doi:10.1016/j.jaci.2018.09.033.
178. Renner, A.; Marth, K.; Patocka, K.; Idzko, M.; Pohl, W. Effectiveness of Mepolizumab Therapy in Patients with Severe Eosinophilic Asthma: Austrian Real-Life Data. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2020**, *64*, 101946, doi:10.1016/j.pupt.2020.101946.
179. Padilla-Galo, A.; Levy-Abitbol, R.; Oliveira, C.; Valencia Azcona, B.; Pérez Morales, M.; Rivas-Ruiz, F.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; Levy-Naon, A. Real-Life Experience with Benralizumab during 6 Months. *BMC Pulm. Med.* **2020**, *20*, 184, doi:10.1186/s12890-020-01220-9.
180. Maglio, A.; Vitale, C.; Pellegrino, S.; Calabrese, C.; D’Amato, M.; Molino, A.; Pelaia, C.; Triggiani, M.; Pelaia, G.; Stellato, C.; et al. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab on Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of Forced Vital Capacity in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *Biomedicines* **2021**, *9*, doi:10.3390/biomedicines9111550.
181. Israel, E.; Canonica, G.W.; Brusselle, G.; Yang, S.; Howarth, P.H.; Martin, A.L.; Koufopoulou, M.; Smith, S.G.; Alfonso-Cristancho, R. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Severe Asthma: A Systematic Literature Review. *J. Asthma* **2022**, *59*, 2201–2217, doi:10.1080/02770903.2021.2008431.
182. Domingo Ribas, C.; Carrillo Díaz, T.; Blanco Aparicio, M.; Martínez Moragón, E.; Banas Conejero, D.; Sánchez Herrero, M.G. Correction to: REal World Effectiveness and Safety of Mepolizumab in a Multicentric Spanish Cohort of Asthma Patients Stratified by Eosinophils: The REDES Study. *Drugs* **2021**, *81*, 1949–1951.

183. Crimi, C.; Campisi, R.; Cacopardo, G.; Intravaia, R.; Nolasco, S.; Porto, M.; Pelaia, C.; Crimi, N. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Patients with Severe Refractory Eosinophilic Asthma and Multiple Comorbidities. *World Allergy Organ. J.* **2020**, *13*, 100462, doi:10.1016/j.waojou.2020.100462.
184. Brás, R.; Paulino, M.; Varandas, C.; Coutinho, C.; Silva, M.I.; Limão, R.; Costa, C.; Alonso, E.; Pedro, E.; Mendes, A. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma - A One-Year Real Life Portuguese Study. *Pulmonology* 2021, *27*, 579–581.
185. Chapman, K.R.; Albers, F.C.; Chipps, B.; Muñoz, X.; Devouassoux, G.; Bergna, M.; Galkin, D.; Azmi, J.; Mouneimne, D.; Price, R.G.; et al. The Clinical Benefit of Mepolizumab Replacing Omalizumab in Uncontrolled Severe Eosinophilic Asthma. *Allergy* **2019**, *74*, 1716–1726, doi:10.1111/all.13850.
186. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios Ficha Técnica CINQAERO 10 Mg/ML Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/p/1161125001/P_1161125001.html (accessed on 28 February 2023).
187. Castro, M.; Zangrilli J, Wechsler ME, Bateman ED, Brusselle GG, Bardin P, et al Reslizumab for Inadequately Controlled Asthma with Elevated Blood Eosinophil Counts: Result from Two Multicenter, Parallel, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Trials. *Lancet Respir Med* **2015**, *3*, 355–366.
188. Castro, M.; Mathur, S.; Hargreave, F.; Boulet, L.-P.; Xie, F.; Young, J.; Wilkins, H.J.; Henkel, T.; Nair, P. Reslizumab for Poorly Controlled, Eosinophilic Asthma: A Randomized, Placebo-Controlled Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2011**, *184*, 1125–1132, doi:10.1164/rccm.201103-0396OC.
189. Corren, J.; Weinstein, S.; Janka, L.; Zangrilli, J.; Garin, M. Phase 3 Study of Reslizumab in Patients With Poorly Controlled Asthma: Effects Across a Broad Range of Eosinophil Counts. *Chest* **2016**, *150*, 799–810, doi:10.1016/j.chest.2016.03.018.
190. Murphy, K.; Jacobs, J.; Bjermer, L.; Fahrenholz, J.M.; Shalit, Y.; Garin, M.; Zangrilli, J.; Castro, M. Long-Term Safety and Efficacy of Reslizumab in Patients with Eosinophilic Asthma. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2017**, *5*, 1572-1581.e3, doi:10.1016/j.jaip.2017.08.024.
191. Pérez de Llano, L.A.; Cosío, B.G.; Domingo, C.; Urrutia, I.; Bobolea, I.; Valero, A.; Entrenas

- Costa, L.M.; Quirce, S.; Barranco, P.; Marina Malanda, N.; et al. Efficacy and Safety of Reslizumab in Patients with Severe Asthma with Inadequate Response to Omalizumab: A Multicenter, Open-Label Pilot Study. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 2277-2283.e2, doi:10.1016/j.jaip.2019.01.017.
192. Mukherjee, M.; Aleman Paramo, F.; Kjarsgaard, M.; Salter, B.; Nair, G.; LaVigne, N.; Radford, K.; Sehmi, R.; Nair, P. Weight-Adjusted Intravenous Reslizumab in Severe Asthma with Inadequate Response to Fixed-Dose Subcutaneous Mepolizumab. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2018**, *197*, 38–46, doi:10.1164/rccm.201707-1323OC.
193. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Fasentra 30 Mg Solución Inyectable En Jeringa Precargada Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171252001/FT_1171252001.html (accessed on 5 April 2022).
194. Bleecker, E.R.; FitzGerald, J.M.; Chanez, P.; Papi, A.; Weinstein, S.F.; Barker, P.; Sproule, S.; Gilmartin, G.; Aurivillius, M.; Werkström, V.; et al. Efficacy and Safety of Benralizumab for Patients with Severe Asthma Uncontrolled with High-Dosage Inhaled Corticosteroids and Long-Acting B2-Agonists (SIROCCO): A Randomised, Multicentre, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2115–2127, doi:10.1016/S0140-6736(16)31324-1.
195. FitzGerald, J.M.; Bleecker, E.R.; Nair, P.; Korn, S.; Ohta, K.; Lommatzsch, M.; Ferguson, G.T.; Busse, W.W.; Barker, P.; Sproule, S.; et al. Benralizumab, an Anti-Interleukin-5 Receptor α Monoclonal Antibody, as Add-on Treatment for Patients with Severe, Uncontrolled, Eosinophilic Asthma (CALIMA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2128–2141, doi:10.1016/S0140-6736(16)31322-8.
196. Padilla-Galo, A.; García-Ruiz, A.J.; Levy Abitbol, R.C.; Oliveira, C.; Rivas-Ruiz, F.; García-Agua Soler, N.; Pérez Morales, M.; Valencia Azcona, B.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; et al. Real-Life Cost-Effectiveness of Benralizumab in Patients with Severe Asthma. *Respir. Res.* **2021**, *22*, 163, doi:10.1186/s12931-021-01758-0.
197. Scioscia, G.; Carpagnano, G.E.; Quarato, C.M.I.; Lacedonia, D.; Santamaria, S.; Soccio, P.; Depalo, A.; Fuso, P.; Foschino Barbaro, M.P. Effectiveness of Benralizumab in Improving the Quality of Life of Severe Eosinophilic Asthmatic Patients: Our Real-Life Experience. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 631660, doi:10.3389/fphar.2021.631660.
198. Miralles López, J.C.; Escudero Pastor, A.I.; Carbonell Martínez, A.; Navarro Garrido, C.;

- Bonilla Pacheco, Y.; Petrik Petrik, Y. Benralizumab in Real Life. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2021, 31, 87–88.
199. Menzella, F.; Fontana, M.; Galeone, C.; Ghidoni, G.; Capobelli, S.; Ruggiero, P.; Scelfo, C.; Simonazzi, A.; Catellani, C.; Livrieri, F.; et al. Real World Effectiveness of Benralizumab on Respiratory Function and Asthma Control. *Multidiscip. Respir. Med.* **2021**, 16, 785, doi:10.4081/mrm.2021.785.
200. Kavanagh, J.E.; Hearn, A.P.; Dhariwal, J.; d’Ancona, G.; Douiri, A.; Roxas, C.; Fernandes, M.; Green, L.; Thomson, L.; Nanzer, A.M.; et al. Real-World Effectiveness of Benralizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *Chest* **2021**, 159, 496–506, doi:10.1016/J.CHEST.2020.08.2083.
201. Castro, M.; Corren, J.; Pavord, I.D.; Maspero, J.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Busse, W.W.; Ford, L.; Sher, L.; FitzGerald, J.M.; et al. Dupilumab Efficacy and Safety in Moderate-to-Severe Uncontrolled Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2018**, 378, 2486–2496, doi:10.1056/NEJMoa1804092.
202. Wenzel, S.; Ford, L.; Pearlman, D.; Spector, S.; Sher, L.; Skobieranda, F.; Wang, L.; Kirkesseli, S.; Rocklin, R.; Bock, B.; et al. Dupilumab in Persistent Asthma with Elevated Eosinophil Levels. *N. Engl. J. Med.* **2013**, 368, 2455–2466, doi:10.1056/NEJMoa1304048.
203. Wenzel, S.; Castro, M.; Corren, J.; Maspero, J.; Wang, L.; Zhang, B.; Pirozzi, G.; Sutherland, E.R.; Evans, R.R.; Joish, V.N.; et al. Dupilumab Efficacy and Safety in Adults with Uncontrolled Persistent Asthma despite Use of Medium-to-High-Dose Inhaled Corticosteroids plus a Long-Acting B2 Agonist: A Randomised Double-Blind Placebo-Controlled Pivotal Phase 2b Dose-Ranging Trial. *Lancet (London, England)* **2016**, 388, 31–44, doi:10.1016/S0140-6736(16)30307-5.
204. Rabe, K.F.; Nair, P.; Brusselle, G.; Maspero, J.F.; Castro, M.; Sher, L.; Zhu, H.; Hamilton, J.D.; Swanson, B.N.; Khan, A.; et al. Efficacy and Safety of Dupilumab in Glucocorticoid-Dependent Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2018**, 378, 2475–2485, doi:10.1056/NEJMoa1804093.
205. Zayed, Y.; Kheiri, B.; Banifadel, M.; Hicks, M.; Aburahma, A.; Hamid, K.; Bachuwa, G.; Chandran, A. Dupilumab Safety and Efficacy in Uncontrolled Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *J. asthma Off. J. Assoc. Care Asthma* **2019**, 56, 1110–1119, doi:10.1080/02770903.2018.1520865.

206. del Arco Ortiz de Zárate, J. Curso Básico. El Paciente Asmático En Farmacia Comunitaria. *Farm. Prof.* **2012**, *26*, 38–44.
207. Torrego, A.; Picado, C. Manejo Terapéutico a Largo Plazo Del Asma. *Med. Integr.* **2012**, *26*, 208–216.
208. Reddel, H.K.; FitzGerald, J.M.; Bateman, E.D.; Bacharier, L.B.; Becker, A.; Brusselle, G.; Buhl, R.; Cruz, A.A.; Fleming, L.; Inoue, H.; et al. GINA 2019: A Fundamental Change in Asthma Management. *Eur. Respir. J.* **2019**, *53*, 1901046, doi:10.1183/13993003.01046-2019.
209. Janson, C.; Menzies-Gow, A.; Nan, C.; Nuevo, J.; Papi, A.; Quint, J.K.; Quirce, S.; Vogelmeier, C.F. SABINA: An Overview of Short-Acting B2-Agonist Use in Asthma in European Countries. *Adv. Ther.* **2020**, *37*, 1124–1135, doi:10.1007/s12325-020-01233-0.
210. Quint, J.K.; Arnetorp, S.; Kocks, J.W.H.; Kupczyk, M.; Nuevo, J.; Plaza, V.; Cabrera, C.; Raheison-Semjen, C.; Walker, B.; Penz, E.; et al. Short-Acting Beta-2-Agonist Exposure and Severe Asthma Exacerbations: SABINA Findings From Europe and North America. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2022**, *10*, 2297-2309.e10, doi:https://doi.org/10.1016/j.jaip.2022.02.047.
211. Nwaru, B.I.; Ekström, M.; Hasvold, P.; Wiklund, F.; Telg, G.; Janson, C. Overuse of Short-Acting B2-Agonists in Asthma Is Associated with Increased Risk of Exacerbation and Mortality: A Nationwide Cohort Study of the Global SABINA Programme. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, 1901872, doi:10.1183/13993003.01872-2019.
212. Bloom, C.I.; Cabrera, C.; Arnetorp, S.; Coulton, K.; Nan, C.; van der Valk, R.J.P.; Quint, J.K. Asthma-Related Health Outcomes Associated with Short-Acting B2-Agonist Inhaler Use: An Observational UK Study as Part of the SABINA Global Program. *Adv. Ther.* **2020**, *37*, 4190–4208, doi:10.1007/s12325-020-01444-5.
213. Lugogo, N.; Gilbert, I.; Tkacz, J.; Gandhi, H.; Goshi, N.; Lanz, M.J. Real-World Patterns and Implications of Short-Acting B2-Agonist Use in Patients with Asthma in the United States. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* **2021**, *126*, 681-689.e1, doi:https://doi.org/10.1016/j.anai.2021.01.024.
214. Shen, S.-Y.; Chen, C.-W.; Liu, T.-C.; Wang, C.-Y.; Chiu, M.-H.; Chen, Y.-J.; Lan, C.-C.; Shieh, J.-M.; Lin, C.-M.; Wu, S.-H.; et al. SABA Prescriptions and Asthma Management Practices in Patients Treated by Specialists in Taiwan: Results from the SABINA III Study. *J. Formos.*

- Med. Assoc.* **2022**, *121*, 2527–2537, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2022.05.014>.
215. Gosens, R.; Zaagsma, J.; Meurs, H.; Halayko, A.J. Muscarinic Receptor Signaling in the Pathophysiology of Asthma and COPD. *Respir. Res.* **2006**, *7*, 73, doi:[10.1186/1465-9921-7-73](https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-73).
 216. Kistemaker, L.E.M.; Gosens, R. Acetylcholine beyond Bronchoconstriction: Roles in Inflammation and Remodeling. *Trends Pharmacol. Sci.* **2015**, *36*, 164–171, doi:[10.1016/j.tips.2014.11.005](https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.11.005).
 217. Klein, J.O. History of Macrolide Use in Pediatrics. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **1997**, *16*, 427–431, doi:[10.1097/00006454-199704000-00025](https://doi.org/10.1097/00006454-199704000-00025).
 218. Sevilla-Sánchez, D.; Soy-Muner, D.; Soler-Porcar, N. Utilidad de Los Macrólidos Como Antiinflamatorios En Las Enfermedades Respiratorias. *Arch. Bronconeumol.* **2010**, *46*, 244–254, doi:[10.1016/j.arbres.2009.10.008](https://doi.org/10.1016/j.arbres.2009.10.008).
 219. Vega B, L.E.; Platzer M, L.; Sánchez D, I. Efecto Inmunomodulador de Los Macrólidos En Las Enfermedades Pulmonares. *Rev. Chil. pediatría* **2005**, *76*, 559–566, doi:[10.4067/S0370-41062005000600002](https://doi.org/10.4067/S0370-41062005000600002).
 220. Castro-Rodriguez, J.A.; Abarca, K.; Forno, E. Asthma and the Risk of Invasive Pneumococcal Disease: A Meta-Analysis. *Pediatrics* **2020**, *145*, doi:[10.1542/peds.2019-1200](https://doi.org/10.1542/peds.2019-1200).
 221. Sheikh, A.; Alves, B.; Dhami, S. Pneumococcal Vaccine for Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2001**, CD002165, doi:[10.1002/14651858.CD002165](https://doi.org/10.1002/14651858.CD002165).
 222. Christy, C.; Aligne, C.A.; Auinger, P.; Pulcino, T.; Weitzman, M. Effectiveness of Influenza Vaccine for the Prevention of Asthma Exacerbations. *Arch. Dis. Child.* **2004**, *89*, 734–735, doi:[10.1136/adc.2003.030999](https://doi.org/10.1136/adc.2003.030999).
 223. Abadoğlu, O.; Mungan, D.; Paşaoglu, G.; Celik, G.; Misirligil, Z. Influenza Vaccination in Patients with Asthma: Effect on the Frequency of Upper Respiratory Tract Infections and Exacerbations. *J. asthma Off. J. Assoc. Care Asthma* **2004**, *41*, 279–283, doi:[10.1081/jas-120026084](https://doi.org/10.1081/jas-120026084).
 224. Wechsler, M.E.; Laviolette, M.; Rubin, A.S.; Fiterman, J.; Lapa e Silva, J.R.; Shah, P.L.; Fiss, E.; Olivenstein, R.; Thomson, N.C.; Niven, R.M.; et al. Bronchial Thermoplasty: Long-Term Safety and Effectiveness in Patients with Severe Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2013**, *132*, 1295–1302, doi:[10.1016/j.jaci.2013.08.009](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.08.009).

225. Goorsenberg, A.W.M.; d'Hooghe, J.N.S.; Srikanthan, K.; Ten Hacken, N.H.T.; Weersink, E.J.M.; Roelofs, J.J.T.H.; Kemp, S. V; Bel, E.H.; Shah, P.L.; Annema, J.T.; et al. Bronchial Thermoplasty Induced Airway Smooth Muscle Reduction and Clinical Response in Severe Asthma. The TASMA Randomized Trial. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2021**, *203*, 175–184, doi:10.1164/rccm.201911-2298OC.
226. Chaudhuri, R.; Rubin, A.; Sumino, K.; Lapa E Silva, J.R.; Niven, R.; Siddiqui, S.; Klooster, K.; McEvoy, C.; Shah, P.L.; Simoff, M.; et al. Safety and Effectiveness of Bronchial Thermoplasty after 10 Years in Patients with Persistent Asthma (BT10+): A Follow-up of Three Randomised Controlled Trials. *Lancet. Respir. Med.* **2021**, *9*, 457–466, doi:10.1016/S2213-2600(20)30408-2.
227. Thomson, N.C.; Rubin, A.S.; Niven, R.M.; Corris, P.A.; Siersted, H.C.; Olivenstein, R.; Pavord, I.D.; McCormack, D.; Laviolette, M.; Shargill, N.S.; et al. Long-Term (5 Year) Safety of Bronchial Thermoplasty: Asthma Intervention Research (AIR) Trial. *BMC Pulm. Med.* **2011**, *11*, 8, doi:10.1186/1471-2466-11-8.
228. Abramson, M.J.; Puy, R.M.; Weiner, J.M. Injection Allergen Immunotherapy for Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2010**, CD001186, doi:10.1002/14651858.CD001186.pub2.
229. Dhami, S.; Kakourou, A.; Asamoah, F.; Agache, I.; Lau, S.; Jutel, M.; Muraro, A.; Roberts, G.; Akdis, C.A.; Bonini, M.; et al. Allergen Immunotherapy for Allergic Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Allergy* **2017**, *72*, 1825–1848, doi:10.1111/all.13208.
230. Adkinson, N.F.J.; Eggleston, P.A.; Eney, D.; Goldstein, E.O.; Schuberth, K.C.; Bacon, J.R.; Hamilton, R.G.; Weiss, M.E.; Arshad, H.; Meinert, C.L.; et al. A Controlled Trial of Immunotherapy for Asthma in Allergic Children. *N. Engl. J. Med.* **1997**, *336*, 324–331, doi:10.1056/NEJM199701303360502.
231. Pitsios, C.; Demoly, P.; Bilò, M.B.; Gerth van Wijk, R.; Pfaar, O.; Sturm, G.J.; Rodriguez del Rio, P.; Tsoumani, M.; Gawlik, R.; Paraskevopoulos, G.; et al. Clinical Contraindications to Allergen Immunotherapy: An EAACI Position Paper. *Allergy* **2015**, *70*, 897–909, doi:10.1111/all.12638.
232. Kim, D.K.; Riley, L.E.; Harriman, K.H.; Hunter, P.; Bridges, C.B.; Woods, L.; Wilson, A. Recommended Immunization Schedule for Adults Aged 19 Years or Older, United States, 2017. *Ann. Intern. Med.* **2017**, *166*, 209–219, doi:10.7326/M16-2936.

233. Klemets, P.; Lyytikäinen, O.; Ruutu, P.; Ollgren, J.; Kaijalainen, T.; Leinonen, M.; Pekka Nuorti, J. Risk of Invasive Pneumococcal Infections among Working Age Adults with Asthma. *Thorax* **2010**, *65*, 698 LP – 702, doi:10.1136/thx.2009.132670.
234. Talbot, T.R.; Hartert, T. V; Mitchel, E.; Halasa, N.B.; Arbogast, P.G.; Poehling, K.A.; Schaffner, W.; Craig, A.S.; Griffin, M.R. Asthma as a Risk Factor for Invasive Pneumococcal Disease. *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 2082–2090, doi:10.1056/NEJMoa044113.
235. Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Grupo de Trabajo Vacunación Frente a Neumococo En Grupos de Riesgo 2015 de La Ponencia de Programas y Registro de Vacunaciones. Utilización de La Vacuna Frente a Neumococo En Grupos de Riesgo.
236. Picazo, J.; González-Romo, F.; García, A.; Pérez-Trallero, E.; Gil, P.; De la Cámara, R.; Al, E. Consenso Sobre La Vacunacion Anti-Neumococica En El Adulto Con Patologia de Base. *Rev Esp Quim.* **2013**, *26*, 232–252.
237. Tan, R.A.; Spector, S.L. Exercise-Induced Asthma: Diagnosis and Management. *Ann. allergy, asthma Immunol. Off. Publ. Am. Coll. Allergy, Asthma, Immunol.* **2002**, *89*, 226–227,297, doi:10.1016/S1081-1206(10)61948-5.
238. Beasley, R.; Holliday, M.; Reddel, H.K.; Braithwaite, I.; Ebmeier, S.; Hancox, R.J.; Harrison, T.; Houghton, C.; Oldfield, K.; Papi, A.; et al. Controlled Trial of Budesonide-Formoterol as Needed for Mild Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *380*, 2020–2030, doi:10.1056/NEJMoa1901963.
239. Haahtela, T.; Tamminen, K.; Malmberg, L.P.; Zetterström, O.; Karjalainen, J.; Ylä-Outinen, H.; Svahn, T.; Ekström, T.; Selroos, O. Formoterol as Needed with or without Budesonide in Patients with Intermittent Asthma and Raised NO Levels in Exhaled Air: A SOMA Study. *Eur. Respir. J.* **2006**, *28*, 748–755, doi:10.1183/09031936.06.00128005.
240. Cockcroft, D.W. As-Needed Inhaled Beta2-Adrenoceptor Agonists in Moderate-to-Severe Asthma: Current Recommendations. *Treat. Respir. Med.* **2005**, *4*, 169–174, doi:10.2165/00151829-200504030-00002.
241. Pauwels, R.A.; Pedersen, S.; Busse, W.W.; Tan, W.C.; Chen, Y.-Z.; Ohlsson, S. V; Ullman, A.; Lamm, C.J.; O’Byrne, P.M. Early Intervention with Budesonide in Mild Persistent Asthma: A Randomised, Double-Blind Trial. *Lancet (London, England)* **2003**, *361*, 1071–1076, doi:10.1016/S0140-6736(03)12891-7.

242. Zeiger, R.S.; Baker, J.W.; Kaplan, M.S.; Pearlman, D.S.; Schatz, M.; Bird, S.; Hustad, C.; Edelman, J. Variability of Symptoms in Mild Persistent Asthma: Baseline Data from the MIAMI Study. *Respir. Med.* **2004**, *98*, 898–905, doi:10.1016/j.rmed.2004.02.016.
243. Adams, N.P.; Bestall, J.C.; Lasserson, T.J.; Jones, P.W.; Cates, C. Fluticasone versus Placebo for Chronic Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2005**, CD003135, doi:10.1002/14651858.CD003135.pub3.
244. Adams, N.P.; Bestall, J.B.; Malouf, R.; Lasserson, T.J.; Jones, P.W. Inhaled Beclomethasone versus Placebo for Chronic Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2005**, *2005*, CD002738, doi:10.1002/14651858.CD002738.pub2.
245. Koh, M.S.; Irving, L.B. Evidence-Based Pharmacologic Treatment for Mild Asthma. *Int. J. Clin. Pract.* **2007**, *61*, 1375–1379, doi:10.1111/j.1742-1241.2007.01410.x.
246. Reddel, H.K.; Belousova, E.G.; Marks, G.B.; Jenkins, C.R. Does Continuous Use of Inhaled Corticosteroids Improve Outcomes in Mild Asthma? A Double-Blind Randomised Controlled Trial. *Prim. Care Respir. J.* **2008**, *17*, 39–45, doi:10.3132/pcrj.2008.00014.
247. O’Byrne, P.M.; Bisgaard, H.; Godard, P.P.; Pistolesi, M.; Palmqvist, M.; Zhu, Y.; Ekström, T.; Bateman, E.D. Budesonide/Formoterol Combination Therapy as Both Maintenance and Reliever Medication in Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2005**, *171*, 129–136, doi:10.1164/rccm.200407-884OC.
248. Suissa, S.; Ernst, P. Inhaled Corticosteroids: Impact on Asthma Morbidity and Mortality. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2001**, *107*, 937–944, doi:10.1067/mai.2001.115653.
249. Bateman, E.D.; Reddel, H.K.; O’Byrne, P.M.; Barnes, P.J.; Zhong, N.; Keen, C.; Jorup, C.; Lamarca, R.; Siwek-Posluszna, A.; FitzGerald, J.M. As-Needed Budesonide-Formoterol versus Maintenance Budesonide in Mild Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 1877–1887, doi:10.1056/NEJMoa1715275.
250. Daley-Yates, P.; Brealey, N.; Thomas, S.; Austin, D.; Shabbir, S.; Harrison, T.; Singh, D.; Barnes, N. Therapeutic Index of Inhaled Corticosteroids in Asthma: A Dose-Response Comparison on Airway Hyperresponsiveness and Adrenal Axis Suppression. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2021**, *87*, 483–493, doi:10.1111/bcp.14406.
251. Busse, W.W.; Casale, T.B.; Dykewicz, M.S.; Meltzer, E.O.; Bird, S.R.; Hustad, C.M.; Grant, E.; Zeldin, R.K.; Edelman, J.M. Efficacy of Montelukast during the Allergy Season in Patients with Chronic Asthma and Seasonal Aeroallergen Sensitivity. *Ann. allergy*,

- asthma Immunol. Off. Publ. Am. Coll. Allergy, Asthma, Immunol.* **2006**, *96*, 60–68, doi:10.1016/S1081-1206(10)61041-1.
252. Price, D.B.; Swern, A.; Tozzi, C.A.; Philip, G.; Polos, P. Effect of Montelukast on Lung Function in Asthma Patients with Allergic Rhinitis: Analysis from the COMPACT Trial. *Allergy* **2006**, *61*, 737–742, doi:10.1111/j.1398-9995.2006.01007.x.
253. Woolcock, A.; Lundback, B.; Ringdal, N.; Jacques, L.A. Comparison of Addition of Salmeterol to Inhaled Steroids with Doubling of the Dose of Inhaled Steroids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1996**, *153*, 1481–1488, doi:10.1164/ajrccm.153.5.8630590.
254. Pauwels, R.A.; Löfdahl, C.G.; Postma, D.S.; Tattersfield, A.E.; O’Byrne, P.; Barnes, P.J.; Ullman, A. Effect of Inhaled Formoterol and Budesonide on Exacerbations of Asthma. Formoterol and Corticosteroids Establishing Therapy (FACET) International Study Group. *N. Engl. J. Med.* **1997**, *337*, 1405–1411, doi:10.1056/NEJM199711133372001.
255. Shrewsbury, S.; Pyke, S.; Britton, M. Meta-Analysis of Increased Dose of Inhaled Steroid or Addition of Salmeterol in Symptomatic Asthma (MIASMA). *BMJ* **2000**, *320*, 1368–1373, doi:10.1136/bmj.320.7246.1368.
256. Greenstone, I.R.; Ni Chroinin, M.N.; Masse, V.; Danish, A.; Magdalinos, H.; Zhang, X.; Ducharme, F.M. Combination of Inhaled Long-Acting Beta2-Agonists and Inhaled Steroids versus Higher Dose of Inhaled Steroids in Children and Adults with Persistent Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2005**, CD005533, doi:10.1002/14651858.CD005533.
257. Sobieraj, D.M.; Weeda, E.R.; Nguyen, E.; Coleman, C.I.; White, C.M.; Lazarus, S.C.; Blake, K. V; Lang, J.E.; Baker, W.L. Association of Inhaled Corticosteroids and Long-Acting β -Agonists as Controller and Quick Relief Therapy With Exacerbations and Symptom Control in Persistent Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA* **2018**, *319*, 1485–1496, doi:10.1001/jama.2018.2769.
258. Papi, A.; Corradi, M.; Pigeon-Francisco, C.; Baronio, R.; Siergiejk, Z.; Petruzzelli, S.; Fabbri, L.M.; Rabe, K.F. Beclometasone-Formoterol as Maintenance and Reliever Treatment in Patients with Asthma: A Double-Blind, Randomised Controlled Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2013**, *1*, 23–31, doi:10.1016/S2213-2600(13)70012-2.
259. Kew, K.M.; Karner, C.; Mindus, S.M.; Ferrara, G. Combination Formoterol and Budesonide as Maintenance and Reliever Therapy versus Combination Inhaler Maintenance for Chronic Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2013**, *2013*,

- CD009019, doi:10.1002/14651858.CD009019.pub2.
260. Kuna, P.; Peters, M.J.; Manjra, A.I.; Jorup, C.; Naya, I.P.; Martínez-Jimenez, N.E.; Buhl, R. Effect of Budesonide/Formoterol Maintenance and Reliever Therapy on Asthma Exacerbations. *Int. J. Clin. Pract.* **2007**, *61*, 725–736, doi:10.1111/j.1742-1241.2007.01338.x.
 261. Bousquet, J.; Boulet, L.-P.; Peters, M.J.; Magnussen, H.; Quiralte, J.; Martinez-Aguilar, N.E.; Carlsheimer, A. Budesonide/Formoterol for Maintenance and Relief in Uncontrolled Asthma vs. High-Dose Salmeterol/Fluticasone. *Respir. Med.* **2007**, *101*, 2437–2446, doi:10.1016/j.rmed.2007.07.014.
 262. Vogelmeier, C.; D'Urzo, A.; Pauwels, R.; Merino, J.M.; Jaspal, M.; Boutet, S.; Naya, I.; Price, D. Budesonide/Formoterol Maintenance and Reliever Therapy: An Effective Asthma Treatment Option? *Eur. Respir. J.* **2005**, *26*, 819–828, doi:10.1183/09031936.05.00028305.
 263. Rabe, K.F.; Pizzichini, E.; Ställberg, B.; Romero, S.; Balanzat, A.M.; Atienza, T.; Lier, P.A.; Jorup, C. Budesonide/Formoterol in a Single Inhaler for Maintenance and Relief in Mild-to-Moderate Asthma: A Randomized, Double-Blind Trial. *Chest* **2006**, *129*, 246–256, doi:10.1378/chest.129.2.246.
 264. Rabe, K.F.; Atienza, T.; Magyar, P.; Larsson, P.; Jorup, C.; Laloo, U.G. Effect of Budesonide in Combination with Formoterol for Reliever Therapy in Asthma Exacerbations: A Randomised Controlled, Double-Blind Study. *Lancet (London, England)* **2006**, *368*, 744–753, doi:10.1016/S0140-6736(06)69284-2.
 265. Szeffler, S.J.; Martin, R.J.; King, T.S.; Boushey, H.A.; Cherniack, R.M.; Chinchilli, V.M.; Craig, T.J.; Dolovich, M.; Drazen, J.M.; Fagan, J.K.; et al. Significant Variability in Response to Inhaled Corticosteroids for Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2002**, *109*, 410–418, doi:10.1067/mai.2002.122635.
 266. Powell, H.; Gibson, P.G. Inhaled Corticosteroid Doses in Asthma: An Evidence-Based Approach. *Med. J. Aust.* **2003**, *178*, 223–225, doi:10.5694/j.1326-5377.2003.tb05167.x.
 267. Ducharme, F.M.; Ni Chroinin, M.; Greenstone, I.; Lasserson, T.J. Addition of Long-Acting Beta2-Agonists to Inhaled Steroids versus Higher Dose Inhaled Steroids in Adults and Children with Persistent Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2010**, CD005533, doi:10.1002/14651858.CD005533.pub2.

268. Pieters, W.R.; Wilson, K.K.; Smith, H.C.E.; Tamminga, J.J.; Sondhi, S. Salmeterol/Fluticasone Propionate versus Fluticasone Propionate plus Montelukast: A Cost-Effective Comparison for Asthma. *Treat. Respir. Med.* **2005**, *4*, 129–138, doi:10.2165/00151829-200504020-00007.
269. Joos, S.; Miksch, A.; Szecsenyi, J.; Wieseler, B.; Grouven, U.; Kaiser, T.; Schneider, A. Montelukast as Add-on Therapy to Inhaled Corticosteroids in the Treatment of Mild to Moderate Asthma: A Systematic Review. *Thorax* **2008**, *63*, 453–462, doi:10.1136/thx.2007.081596.
270. Ram, F.S.F.; Cates, C.J.; Ducharme, F.M. Long-Acting Beta2-Agonists versus Anti-Leukotrienes as Add-on Therapy to Inhaled Corticosteroids for Chronic Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2005**, CD003137, doi:10.1002/14651858.CD003137.pub2.
271. Chauhan, B.F.; Ducharme, F.M. Addition to Inhaled Corticosteroids of Long-Acting Beta2-Agonists versus Anti-Leukotrienes for Chronic Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, CD003137, doi:10.1002/14651858.CD003137.pub5.
272. Chauhan, B.F.; Jeyaraman, M.M.; Singh Mann, A.; Lys, J.; Abou-Setta, A.M.; Zarychanski, R.; Ducharme, F.M. Addition of Anti-Leukotriene Agents to Inhaled Corticosteroids for Adults and Adolescents with Persistent Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2017**, *3*, CD010347, doi:10.1002/14651858.CD010347.pub2.
273. Woodcock, A.; Vestbo, J.; Bakerly, N.D.; New, J.; Gibson, J.M.; McCorkindale, S.; Jones, R.; Collier, S.; Lay-Flurrie, J.; Frith, L.; et al. Effectiveness of Fluticasone Furoate plus Vilanterol on Asthma Control in Clinical Practice: An Open-Label, Parallel Group, Randomised Controlled Trial. *Lancet (London, England)* **2017**, *390*, 2247–2255, doi:10.1016/S0140-6736(17)32397-8.
274. van Zyl-Smit, R.N.; Krüll, M.; Gessner, C.; Gon, Y.; Noga, O.; Richard, A.; de Los Reyes, A.; Shu, X.; Pethe, A.; Tanase, A.-M.; et al. Once-Daily Mometasone plus Indacaterol versus Mometasone or Twice-Daily Fluticasone plus Salmeterol in Patients with Inadequately Controlled Asthma (PALLADIUM): A Randomised, Double-Blind, Triple-Dummy, Controlled Phase 3 Study. *Lancet. Respir. Med.* **2020**, *8*, 987–999, doi:10.1016/S2213-2600(20)30178-8.
275. Ni Chroinin, M.; Greenstone, I.; Lasserson, T.J.; Ducharme, F.M. Addition of Inhaled Long-Acting Beta2-Agonists to Inhaled Steroids as First Line Therapy for Persistent Asthma in Steroid-Naive Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2009**, CD005307,

- doi:10.1002/14651858.CD005307.pub2.
276. Bateman, E.D.; Harrison, T.W.; Quirce, S.; Reddel, H.K.; Buhl, R.; Humbert, M.; Jenkins, C.R.; Peterson, S.; Ostlund, O.; O'Byrne, P.M.; et al. Overall Asthma Control Achieved with Budesonide/Formoterol Maintenance and Reliever Therapy for Patients on Different Treatment Steps. *Respir. Res.* **2011**, *12*, 38, doi:10.1186/1465-9921-12-38.
 277. Zeiger, R.S.; Bird, S.R.; Kaplan, M.S.; Schatz, M.; Pearlman, D.S.; Orav, E.J.; Hustad, C.M.; Edelman, J.M. Short-Term and Long-Term Asthma Control in Patients with Mild Persistent Asthma Receiving Montelukast or Fluticasone: A Randomized Controlled Trial. *Am. J. Med.* **2005**, *118*, 649–657, doi:10.1016/j.amjmed.2005.03.003.
 278. Inoue, H.; Komori, M.; Matsumoto, T.; Fukuyama, S.; Matsumura, M.; Nakano, T.; Tsuda, M.; Matsumoto, K.; Kanaya, A.; Moriwaki, A.; et al. Effects of Salmeterol in Patients with Persistent Asthma Receiving Inhaled Corticosteroid plus Theophylline. *Respiration.* **2007**, *74*, 611–616, doi:10.1159/000095678.
 279. Virchow, J.C.J.; Prasse, A.; Naya, I.; Summerton, L.; Harris, A. Zafirlukast Improves Asthma Control in Patients Receiving High-Dose Inhaled Corticosteroids. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *162*, 578–585, doi:10.1164/ajrccm.162.2.9905041.
 280. Tonelli, M.; Zingoni, M.; Bacci, E.; Dente, F.L.; Di Franco, A.; Giannini, D.; Taccola, M.; Vagaggini, B.; Paggiaro, P.L. Short-Term Effect of the Addition of Leukotriene Receptor Antagonists to the Current Therapy in Severe Asthmatics. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2003**, *16*, 237–240, doi:10.1016/S1094-5539(03)00054-3.
 281. Kim, L.H.Y.; Saleh, C.; Whalen-Browne, A.; O'Byrne, P.M.; Chu, D.K. Triple vs Dual Inhaler Therapy and Asthma Outcomes in Moderate to Severe Asthma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA* **2021**, *325*, 2466–2479, doi:10.1001/jama.2021.7872.
 282. Gessner, C.; Kornmann, O.; Maspero, J.; van Zyl-Smit, R.; Krüll, M.; Salina, A.; Gupta, P.; Bostel, S.; Fucile, S.; Conde, L.G.; et al. Fixed-Dose Combination of Indacaterol/Glycopyrronium/Mometasone Furoate Once-Daily versus Salmeterol/Fluticasone Twice-Daily plus Tiotropium Once-Daily in Patients with Uncontrolled Asthma: A Randomised, Phase IIIb, Non-Inferiority Study (ARGON). *Respir. Med.* **2020**, *170*, 106021, doi:10.1016/j.rmed.2020.106021.
 283. Kerstjens, H.A.M.; Maspero, J.; Chapman, K.R.; van Zyl-Smit, R.N.; Hosoe, M.; Tanase, A.-M.; Lavecchia, C.; Pethe, A.; Shu, X.; D'Andrea, P. Once-Daily, Single-Inhaler

- Mometasone-Indacaterol-Glycopyrronium versus Mometasone-Indacaterol or Twice-Daily Fluticasone-Salmeterol in Patients with Inadequately Controlled Asthma (IRIDIUM): A Randomised, Double-Blind, Controlled Phase 3 Study. *Lancet. Respir. Med.* **2020**, *8*, 1000–1012, doi:10.1016/S2213-2600(20)30190-9.
284. Singh, D.; Virchow, J.C.; Canonica, G.W.; Vele, A.; Kots, M.; Georges, G.; Papi, A. Extrafine Triple Therapy in Patients with Asthma and Persistent Airflow Limitation. *Eur. Respir. J.* **2020**, *56*.
285. Busse, W.W.; Massanari, M.; Kianifard, F.; Geba, G.P. Effect of Omalizumab on the Need for Rescue Systemic Corticosteroid Treatment in Patients with Moderate-to-Severe Persistent IgE-Mediated Allergic Asthma: A Pooled Analysis. *Curr. Med. Res. Opin.* **2007**, *23*, 2379–2386, doi:10.1185/030079907X226258.
286. Humbert, M.; Berger, W.; Rapatz, G.; Turk, F. Add-on Omalizumab Improves Day-to-Day Symptoms in Inadequately Controlled Severe Persistent Allergic Asthma. *Allergy* **2008**, *63*, 592–596, doi:10.1111/j.1398-9995.2008.01654.x.
287. Humbert, M.; Beasley, R.; Ayres, J.; Slavin, R.; Hébert, J.; Bousquet, J.; Beeh, K.M.; Ramos, S.; Canonica, G.W.; Hedgecock, S.; et al. Benefits of Omalizumab as Add-on Therapy in Patients with Severe Persistent Asthma Who Are Inadequately Controlled despite Best Available Therapy (GINA 2002 Step 4 Treatment): INNOVATE. *Allergy* **2005**, *60*, 309–316, doi:10.1111/J.1398-9995.2004.00772.X.
288. Torrego, A.; Solà, I.; Munoz, A.M.; Roqué I Figuls, M.; Yepes-Nuñez, J.J.; Alonso-Coello, P.; Plaza, V. Bronchial Thermoplasty for Moderate or Severe Persistent Asthma in Adults. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, *2014*, CD009910, doi:10.1002/14651858.CD009910.pub2.
289. Mash, B.; Bheekie, A.; Jones, P.W. Inhaled vs Oral Steroids for Adults with Chronic Asthma. *Cochrane database Syst. Rev.* **2001**, CD002160, doi:10.1002/14651858.CD002160.
290. Fahy, J. V; Fleming, H.E.; Wong, H.H.; Liu, J.T.; Su, J.Q.; Reimann, J.; Fick, R.B.J.; Boushey, H.A. The Effect of an Anti-IgE Monoclonal Antibody on the Early- and Late-Phase Responses to Allergen Inhalation in Asthmatic Subjects. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1997**, *155*, 1828–1834, doi:10.1164/ajrccm.155.6.9196082.
291. Pelaia, G.; Vatrella, A.; Maselli, R. The Potential of Biologics for the Treatment of Asthma.

- Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11*, 958–972, doi:10.1038/nrd3792.
292. Price, D. The Use of Omalizumab in Asthma. *Prim. Care Respir. J.* **2008**, *17*, 62–72, doi:10.3132/pcrj.2008.00031.
293. Vignola, A.M.; Humbert, M.; Bousquet, J.; Boulet, L.-P.; Hedgecock, S.; Blogg, M.; Fox, H.; Surrey, K. Efficacy and Tolerability of Anti-Immunoglobulin E Therapy with Omalizumab in Patients with Concomitant Allergic Asthma and Persistent Allergic Rhinitis: SOLAR. *Allergy* **2004**, *59*, 709–717, doi:10.1111/j.1398-9995.2004.00550.x.
294. Holgate, S.T.; Chuchalin, A.G.; Hébert, J.; Lötvall, J.; Persson, G.B.; Chung, K.F.; Bousquet, J.; Kerstjens, H.A.; Fox, H.; Thirlwell, J.; et al. Efficacy and Safety of a Recombinant Anti-Immunoglobulin E Antibody (Omalizumab) in Severe Allergic Asthma. *Clin. Exp. allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* **2004**, *34*, 632–638, doi:10.1111/j.1365-2222.2004.1916.x.
295. Ayres, J.G.; Higgins, B.; Chilvers, E.R.; Ayre, G.; Blogg, M.; Fox, H. Efficacy and Tolerability of Anti-Immunoglobulin E Therapy with Omalizumab in Patients with Poorly Controlled (Moderate-to-Severe) Allergic Asthma. *Allergy* **2004**, *59*, 701–708, doi:10.1111/J.1398-9995.2004.00533.X.
296. Tsubouri, S.; Tseretopoulou, X.; Priftis, K.; Ntzani, E.E. Omalizumab for the Treatment of Inadequately Controlled Allergic Rhinitis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2014**, *2*, 332-40.e1, doi:10.1016/j.jaip.2014.02.001.
297. Rodrigo, G.J.; Neffen, H.; Castro-Rodriguez, J.A. Efficacy and Safety of Subcutaneous Omalizumab vs Placebo as Add-on Therapy to Corticosteroids for Children and Adults with Asthma: A Systematic Review. *Chest* **2011**, *139*, 28–35, doi:10.1378/chest.10-1194.
298. Alhossan, A.; Lee, C.S.; MacDonald, K.; Abraham, I. ‘Real-Life’ Effectiveness Studies of Omalizumab in Adult Patients with Severe Allergic Asthma: Meta-Analysis. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2017**, *5*, 1362-1370.e2, doi:10.1016/j.jaip.2017.02.002.
299. Abraham, I.; Alhossan, A.; Lee, C.S.; Kutbi, H.; MacDonald, K. ‘Real-Life’ Effectiveness Studies of Omalizumab in Adult Patients with Severe Allergic Asthma: Systematic Review. *Allergy* **2016**, *71*, 593–610, doi:10.1111/all.12815.
300. Chupp, G.L.; Bradford, E.S.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Wang-Jairaj, J.; Nelsen, L.M.; Trevor, J.L.; Magnan, A.; ten Brinke, A. Efficacy of Mepolizumab Add-on Therapy on

- Health-Related Quality of Life and Markers of Asthma Control in Severe Eosinophilic Asthma (MUSCA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multicentre, Phase 3b Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2017**, *5*, 390–400, doi:10.1016/S2213-2600(17)30125-X.
301. Nair, P.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Bourdin, A.; Lugogo, N.L.; Kuna, P.; Barker, P.; Sproule, S.; Ponnarambil, S.; Goldman, M. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Benralizumab in Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *376*, 2448–2458, doi:10.1056/NEJMOA1703501.
302. Charles, D.; Shanley, J.; Temple, S.N.; Rattu, A.; Khaleva, E.; Roberts, G. Real-world Efficacy of Treatment with Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab and Reslizumab for Severe Asthma: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Exp. Allergy* **2022**, *52*, 616, doi:10.1111/CEA.14112.
303. Tabatabaian, F.; Ledford, D.K. Omalizumab for Severe Asthma: Toward Personalized Treatment Based on Biomarker Profile and Clinical History. *J. Asthma Allergy* **2018**, *11*, 53–61, doi:10.2147/JAA.S107982.
304. Hanania, N.A.; Wenzel, S.; Roseń, K.; Hsieh, H.J.; Mosesova, S.; Choy, D.F.; Lal, P.; Arron, J.R.; Harris, J.M.; Busse, W. Exploring the Effects of Omalizumab in Allergic Asthma: An Analysis of Biomarkers in the EXTRA Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2013**, *187*, 804–811, doi:10.1164/RCCM.201208-1414OC.
305. Humbert, M.; Taillé, C.; Mala, L.; Le Gros, V.; Just, J.; Molimard, M. Omalizumab Effectiveness in Patients with Severe Allergic Asthma According to Blood Eosinophil Count: The STELLAIR Study. *Eur. Respir. J.* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02523-2017.
306. Casale, T.B.; Luskin, A.T.; Busse, W.; Zeiger, R.S.; Trzaskoma, B.; Yang, M.; Griffin, N.M.; Chipps, B.E. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 156-164.e1, doi:10.1016/J.JAIP.2018.04.043.
307. Humbert, M.; Taillé, C.; Mala, L.; Le Gros, V.; Just, J.; Molimard, M.; Agossou, M.; Appere De Vecchi, C.; Barbare, E.; Barbry, M.; et al. Omalizumab Effectiveness in Patients with Severe Allergic Asthma According to Blood Eosinophil Count: The STELLAIR Study. *Eur. Respir. J.* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02523-2017.
308. Bousquet, J.; Rabe, K.; Humbert, M.; Chung, K.F.; Berger, W.; Fox, H.; Ayre, G.; Chen, H.; Thomas, K.; Blogg, M.; et al. Predicting and Evaluating Response to Omalizumab in

- Patients with Severe Allergic Asthma. *Respir. Med.* **2007**, *101*, 1483–1492, doi:<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2007.01.011>.
309. Hearn, A.P.; Kavanagh, J.; d’Ancona, G.; Roxas, C.; Green, L.; Thomson, L.; Fernandes, M.; Kent, B.D.; Dhariwal, J.; Nanzer, A.M.; et al. The Relationship between FENO and Effectiveness of Mepolizumab and Benralizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 2093–2096.e1, doi:[10.1016/j.jaip.2021.01.008](https://doi.org/10.1016/j.jaip.2021.01.008).
310. Watanabe, S.; Suzukawa, M.; Tashimo, H.; Ohshima, N.; Asari, I.; Imoto, S.; Kobayashi, N.; Tohma, S.; Nagase, T.; Ohta, K. High Serum Cytokine Levels May Predict the Responsiveness of Patients with Severe Asthma to Benralizumab. *J. Asthma* **2022**, *59*, 1604–1612, doi:[10.1080/02770903.2021.1942039](https://doi.org/10.1080/02770903.2021.1942039).
311. Ketelaar, M.E.; Westerlaken – van Ginkel, C.D.; Nawijn, M.C.; EJ Dubois, A.; Koppelman, G.H. IL-1RL1a Serum Levels and IL1RL1 SNPs in the Prediction of Food Allergy. *Clin. Exp. Allergy* **2021**, *51*, 614, doi:[10.1111/CEA.13802](https://doi.org/10.1111/CEA.13802).
312. Dijk, F.N.; Vijverberg, S.J.; Hernandez-Pacheco, N.; Repnik, K.; Karimi, L.; Mitratza, M.; Farzan, N.; Nawijn, M.C.; Burchard, E.G.; Engelkes, M.; et al. IL1RL1 Gene Variations Are Associated with Asthma Exacerbations in Children and Adolescents Using Inhaled Corticosteroids. *Allergy* **2020**, *75*, 984, doi:[10.1111/ALL.14125](https://doi.org/10.1111/ALL.14125).
313. Gudbjartsson, D.F.; Bjornsdottir, U.S.; Halapi, E.; Helgadottir, A.; Sulem, P.; Jonsdottir, G.M.; Thorleifsson, G.; Helgadottir, H.; Steinthorsdottir, V.; Stefansson, H.; et al. Sequence Variants Affecting Eosinophil Numbers Associate with Asthma and Myocardial Infarction. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 342–347, doi:[10.1038/ng.323](https://doi.org/10.1038/ng.323).
314. Inoue, H.; Ito, I.; Niimi, A.; Matsumoto, H.; Oguma, T.; Tajiri, T.; Iwata, T.; Nagasaki, T.; Kanemitsu, Y.; Morishima, T.; et al. Association of Interleukin 1 Receptor-like 1 Gene Polymorphisms with Eosinophilic Phenotype in Japanese Adults with Asthma. *Respir. Investig.* **2017**, *55*, 338–347, doi:[10.1016/j.resinv.2017.08.006](https://doi.org/10.1016/j.resinv.2017.08.006).
315. Akhabir, L.; Sandford, A. Genetics of Interleukin 1 Receptor-like 1 in Immune and Inflammatory Diseases. *Curr. Genomics* **2010**, *11*, 591–606, doi:[10.2174/138920210793360907](https://doi.org/10.2174/138920210793360907).
316. Akhabir, L.; Sandford, A.J. Genome-Wide Association Studies for Discovery of Genes Involved in Asthma. *Respirology* **2011**, *16*, 396–406, doi:[10.1111/J.1440-1843.2011.01939.X](https://doi.org/10.1111/J.1440-1843.2011.01939.X).

317. Niwa, Y.; Potaczek, D.P.; Kanada, S.; Takagi, A.; Shimokawa, N.; Lto, T.; Mitsuishi, K.; Okubo, Y.; Tajima, M.; Hobo, A.; et al. FcεRIα Gene (FCER1A) Promoter Polymorphisms and Total Serum IgE Levels in Japanese Atopic Dermatitis Patients. *Int. J. Immunogenet.* **2010**, *37*, 139–141, doi:10.1111/j.1744-313X.2010.00901.x.
318. Bae, J.-S.; Kim, S.-H.; Ye, Y.-M.; Yoon, H.J.; Suh, C.-H.; Nahm, D.-H.; Park, H.-S. Significant Association of FcεRIα Promoter Polymorphisms with Aspirin-Intolerant Chronic Urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *119*, 449–456, doi:https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.10.006.
319. WILLIAMS, H.C.; JBURNEY, P.G.; PEMBROKE, A.C.; HAY, R.J.; Party, A.D.D.C.W. The U.K. Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis. III. Independent Hospital Validation. *Br. J. Dermatol.* **1994**, *131*, 406–416, doi:10.1111/j.1365-2133.1994.tb08532.x.
320. Sanak, M.; Potaczek, D.P.; Mastalerz, L.; Nizankowska, E.; Szczeklik, A. FCERIA Gene Promoter Polymorphisms: Lack of Association with Aspirin Hypersensitivity in Whites. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *119*, 1280–1281, doi:https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.01.030.
321. Liao, E.C.; Chang, C.Y.; Hsieh, C.W.; Yu, S.J.; Yin, S.C.; Tsai, J.J. An Exploratory Pilot Study of Genetic Marker for IgE-Mediated Allergic Diseases with Expressions of FcεR1α and Cε. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 9504, doi:10.3390/IJMS16059504.
322. Amo, G.; García-Menaya, J.; Campo, P.; Cordobés, C.; Plaza Serón, M.C.; Ayuso, P.; Esguevillas, G.; Blanca, M.; Agúndez, J.A.G.; García-Martín, E. A Nonsynonymous FCER1B SNP Is Associated with Risk of Developing Allergic Rhinitis and with IgE Levels. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 19724, doi:10.1038/srep19724.
323. Dar, S.A.; Rai, G.; Ansari, M.A.; Akhter, N.; Gupta, N.; Sharma, S.; Haque, S.; Ramachandran, V.G.; Wahid, M.; Rudramurthy, S.M.; et al. FcεR1α Gene Polymorphism Shows Association with High IgE and Anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4142–4149, doi:10.1002/JCB.26619.
324. Kim, Y.-Y.; Hur, G.; Lee, S.W.; Lee, S.-J.; Lee, S.; Kim, S.-H.; Rho, M.-C. AGK2 Ameliorates Mast Cell-Mediated Allergic Airway Inflammation and Fibrosis by Inhibiting FcεRI/TGF-β Signaling Pathway. *Pharmacol. Res.* **2020**, *159*, 105027, doi:10.1016/j.phrs.2020.105027.
325. Shirakawa, T.; Mao, X.Q.; Sasaki, S.; Enomoto, T.; Kawai, M.; Morimoto, K.; Hopkin, J.

- Association between Atopic Asthma and a Coding Variant of Fc Epsilon RI Beta in a Japanese Population. *Hum. Mol. Genet.* **1996**, *5*, 1129–1130, doi:10.1093/hmg/5.8.1129.
326. Kim, Y.-K.; Park, H.-W.; Yang, J.-S.; Oh, S.-Y.; Chang, Y.-S.; Shin, E.-S.; Lee, J.-E.; Kim, S.; Gho, Y.S.; Cho, S.-H.; et al. Association and Functional Relevance of E237G, a Polymorphism of the High-Affinity Immunoglobulin E-Receptor Beta Chain Gene, to Airway Hyper-Responsiveness. *Clin. Exp. allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *37*, 592–598, doi:10.1111/j.1365-2222.2007.02680.x.
327. Li, A.; Hopkin, J.M. Atopy Phenotype in Subjects with Variants of the Beta Subunit of the High Affinity IgE Receptor. *Thorax* **1997**, *52*, 654–655, doi:10.1136/thx.52.7.654.
328. Green, S.L.; Gaillard, M.C.; Song, E.; Dewar, J.B.; Halkas, A. Polymorphisms of the Beta Chain of the High-Affinity Immunoglobulin E Receptor (Fcεpsilon RI-Beta) in South African Black and White Asthmatic and Nonasthmatic Individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1998**, *158*, 1487–1492, doi:10.1164/ajrccm.158.5.9707099.
329. Sharma, S.; Ghosh, B. Promoter Polymorphism in the MS4A2 Gene and Asthma in the Indian Population. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2009**, *149*, 208–218, doi:10.1159/000199716.
330. Nishiyama, C.; Akizawa, Y.; Nishiyama, M.; Tokura, T.; Kawada, H.; Mitsuishi, K.; Hasegawa, M.; Ito, T.; Nakano, N.; Okamoto, A.; et al. Polymorphisms in the Fc Epsilon RI Beta Promoter Region Affecting Transcription Activity: A Possible Promoter-Dependent Mechanism for Association between Fc Epsilon RI Beta and Atopy. *J. Immunol.* **2004**, *173*, 6458–6464, doi:10.4049/jimmunol.173.10.6458.
331. Hill, M.R.; Cookson, W.O.C.M. A New Variant of the β Subunit of the High-Affinity Receptor for Immunoglobulin E (FcεRI-β E237G): Associations with Measures of Atopy and Bronchial Hyper-Responsiveness. *Hum. Mol. Genet.* **1996**, *5*, 959–962, doi:10.1093/hmg/5.7.959.
332. Pavón-Romero, G.F.; Pérez-Rubio, G.; Ramírez-Jiménez, F.; Ambrocio-Ortiz, E.; Merino-Camacho, C.R.; Falfán-Valencia, R.; Teran, L.M. IL10 Rs1800872 Is Associated with Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs Exacerbated Respiratory Disease in Mexican-Mestizo Patients. *Biomolecules* **2020**, *10*, doi:10.3390/biom10010104.
333. Ramphul, K.; Lv, J.; Hua, L.; Liu, Q.H.; Fang, D.Z.; Ji, R.X.; Bao, Y.X. Single Nucleotide Polymorphisms Predisposing to Asthma in Children of Mauritian Indian and Chinese Han

- Ethnicity. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **2014**, *47*, 394–397, doi:10.1590/1414-431x20143751.
334. Hua, L.; Zuo, X.-B.; Bao, Y.-X.; Liu, Q.-H.; Li, J.-Y.; Lv, J.; Fang, D.-Z.; Lin, Q.; Bao, J.; Ji, R.-X. Four-Locus Gene Interaction between IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 for Asthma in Chinese Han Children. *Pediatr. Pulmonol.* **2016**, *51*, 364–371, doi:10.1002/ppul.23322.
335. Bai, S.; Hua, L.; Wang, X.; Liu, Q.; Bao, Y. Association of a 4-Locus Gene Model Including IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 With the Asthma Predictive Index and Atopy in Chinese Han Children. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2018**, *28*, 134–407, doi:10.18176/jiaci.0272.
336. Yang, H.-J.; Zheng, L.; Zhang, X.-F.; Yang, M.; Huang, X. Association of the MS4A2 Gene Promoter C-109T or the 7th Exon E237G Polymorphisms with Asthma Risk: A Meta-Analysis. *Clin. Biochem.* **2014**, *47*, 605–611, doi:10.1016/j.clinbiochem.2014.01.022.
337. Lobo, E.D.; Hansen, R.J.; Balthasar, J.P. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2645–2668, doi:10.1002/JPS.20178.
338. Tracey, D.; Klareskog, L.; Sasso, E.H.; Salfeld, J.G.; Tak, P.P. Tumor Necrosis Factor Antagonist Mechanisms of Action: A Comprehensive Review. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *117*, 244–279, doi:10.1016/j.pharmthera.2007.10.001.
339. Nimmerjahn, F.; Ravetch, J. V Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members. *Immunity* **2006**, *24*, 19–28, doi:10.1016/j.immuni.2005.11.010.
340. Davis, P.M.; Abraham, R.; Xu, L.; Nadler, S.G.; Suchard, S.J. Abatacept Binds to the Fc Receptor CD64 but Does Not Mediate Complement-Dependent Cytotoxicity or Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity. *J. Rheumatol.* **2007**, *34*, 2204–2210.
341. Beenhouwer, D.; Wallis, R.; Broder, M.; Furst, D.E. Mechanisms of Action of Tumor Necrosis Factor Antagonist and Granulomatous Infections. *J. Rheumatol.* **2004**, *31*, 1888–1892.
342. Zhu, X.; Meng, G.; Dickinson, B.L.; Li, X.; Mizoguchi, E.; Miao, L.; Wang, Y.; Robert, C.; Wu, B.; Smith, P.D.; et al. MHC Class I-Related Neonatal Fc Receptor for IgG Is Functionally Expressed in Monocytes, Intestinal Macrophages, and Dendritic Cells. *J. Immunol.* **2001**, *166*, 3266–3276, doi:10.4049/jimmunol.166.5.3266.
343. Van Der Pol, W.L.; Van De Winkel, J.G.J. IgG Receptor Polymorphisms: Risk Factors for Disease. *Immunogenetics* **1998**, *48*, 222–232, doi:10.1007/S002510050426.

344. Chai, L.; Song, Y.Q.; Leung, W.K. Genetic Polymorphism Studies in Periodontitis and Fcγ Receptors. *J. Periodontal Res.* **2012**, *47*, 273–285, doi:10.1111/J.1600-0765.2011.01437.X.
345. Cañete, J.D.; Suárez, B.; Hernández, M. V.; Sanmartí, R.; Rego, I.; Celis, R.; Moll, C.; Pinto, J.A.; Blanco, F.J.; Lozano, F. Influence of Variants of Fc Gamma Receptors IIA and IIIA on the American College of Rheumatology and European League Against Rheumatism Responses to Anti-Tumour Necrosis Factor Alpha Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2009**, *68*, 1547–1552, doi:10.1136/ARD.2008.096982.
346. Dharajiya, N.; Vaidya, S. V; Murai, H.; Cardenas, V.; Kurosky, A.; Boldogh, I.; Sur, S.A. FcγRIIb Inhibits Allergic Lung Inflammation in a Murine Model of Allergic Asthma. *PLoS One* **2010**, *5*, e9337, doi:10.1371/journal.pone.0009337.
347. Jiang, Y.; Hirose, S.; Abe, M.; Sanokawa-Akakura, R.; Ohtsuji, M.; Mi, X.; Li, N.; Xiu, Y.; Zhang, D.; Shirai, J.; et al. Polymorphisms in IgG Fc Receptor IIB Regulatory Regions Associated with Autoimmune Susceptibility. *Immunogenetics* **2000**, *51*, 429–435, doi:10.1007/s002510050641.
348. Jiménez Morales, A.; Maldonado-Montoro, M.; Martínez de la Plata, J.E.; Pérez Ramírez, C.; Daddaoua, A.; Alarcón Payer, C.; Expósito Ruiz, M.; García Collado, C. FCGR2A/FCGR3A Gene Polymorphisms and Clinical Variables as Predictors of Response to Tocilizumab and Rituximab in Patients With Rheumatoid Arthritis. *J. Clin. Pharmacol.* **2019**, *59*, 517–531, doi:10.1002/jcph.1341.
349. Dong, C.; Ptacek, T.S.; Redden, D.T.; Zhang, K.; Brown, E.E.; Edberg, J.C.; McGwin, G.J.; Alarcón, G.S.; Ramsey-Goldman, R.; Reveille, J.D.; et al. Fcγ Receptor IIIa Single-Nucleotide Polymorphisms and Haplotypes Affect Human IgG Binding and Are Associated with Lupus Nephritis in African Americans. *Arthritis Rheumatol. (Hoboken, N.J.)* **2014**, *66*, 1291–1299, doi:10.1002/art.38337.
350. Reyes Padrón Morales, J. Estudio de Polimorfismos e Interacciones Génicas de Los Genes IL1A, IL1B, IL1R, IL1RA, IL4R A, IL12, IFNG, TGFB1, TNFA, IL2, IL4, IL6, IL10 En Paciente. In: Reyes Padrón Morales, J., Ed.; Salamanca, 2010.
351. Zhang, G.; Lu, J.; Yin, X.; Sun, Y.; Li, S. Association of IL-33, IL1RL1 Gene Polymorphisms with Serum IL-33 Levels and Risk of Asthma in Adults and Asthmatic Bronchitis in Children (Chinese). <http://mc.manuscriptcentral.com/tbeq> **2018**, *32*, 1251–1256, doi:10.1080/13102818.2018.1471361.

352. Gordon, E.D.; Palandra, J.; Wesolowska-Andersen, A.; Ringel, L.; Rios, C.L.; Lachowicz-Scroggins, M.E.; Sharp, L.Z.; Everman, J.L.; MacLeod, H.J.; Lee, J.W.; et al. IL1RL1 Asthma Risk Variants Regulate Airway Type 2 Inflammation. *JCI insight* **2016**, *1*, e87871, doi:10.1172/jci.insight.87871.
353. Hakonarson, H.; March; Sleiman Genetic Polymorphisms and Associated Susceptibility to Asthma. *Int. J. Gen. Med.* **2013**, *6*, 253, doi:10.2147/ijgm.s28156.
354. Kabesch, M.; Depner, M.; Dahmen, I.; Weiland, S.K.; Vogelberg, C.; Niggemann, B.; Lau, S.; Illig, T.; Klopp, N.; Wahn, U.; et al. Polymorphisms in Eosinophil Pathway Genes, Asthma and Atopy. *Allergy* **2007**, *62*, 423–428, doi:10.1111/J.1398-9995.2006.01300.X.
355. Blanchard, C.; Rothenberg, M.E. Biology of the Eosinophil. *Adv. Immunol.* **2009**, *101*, 81–121, doi:10.1016/S0065-2776(08)01003-1.
356. Melo, R.C.N.; Spencer, L.A.; Dvorak, A.M.; Weller, P.F. Mechanisms of Eosinophil Secretion: Large Vesiculotubular Carriers Mediate Transport and Release of Granule-Derived Cytokines and Other Proteins. *J. Leukoc. Biol.* **2008**, *83*, 229–236, doi:10.1189/jlb.0707503.
357. McLeod, O.; Silveira, A.; Valdes-Marquez, E.; Björkbacka, H.; Almgren, P.; Gertow, K.; Gådin, J.R.; Bäcklund, A.; Sennblad, B.; Baldassarre, D.; et al. Genetic Loci on Chromosome 5 Are Associated with Circulating Levels of Interleukin-5 and Eosinophil Count in a European Population with High Risk for Cardiovascular Disease. *Cytokine* **2016**, *81*, 1–9, doi:10.1016/j.cyto.2016.01.007.
358. Drouin, S.M.; Corry, D.B.; Kildsgaard, J.; Wetsel, R.A. Cutting Edge: The Absence of C3 Demonstrates a Role for Complement in Th2 Effector Functions in a Murine Model of Pulmonary Allergy. *J. Immunol.* **2001**, *167*, 4141–4145, doi:10.4049/jimmunol.167.8.4141.
359. Li, Y.; Liu, B.; Harmacek, L.; Long, Z.; Liang, J.; Lukin, K.; Leach, S.M.; O'Connor, B.; Gerber, A.N.; Hagman, J.; et al. The Transcription Factors GATA2 and Microphthalmia-Associated Transcription Factor Regulate Hdc Gene Expression in Mast Cells and Are Required for IgE/Mast Cell-Mediated Anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *142*, 1173–1184, doi:10.1016/j.jaci.2017.10.043.
360. Ohmori, S.; Ishijima, Y.; Numata, S.; Takahashi, M.; Sekita, M.; Sato, T.; Chugun, K.; Yamamoto, M.; Ohneda, K. GATA2 and PU.1 Collaborate To Activate the Expression of

- the Mouse Ms4a2 Gene, Encoding FcεRIβ, through Distinct Mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* **2019**, *39*, doi:10.1128/MCB.00314-19.
361. National Center for Biotechnology Information IKZF2 IKAROS Family Zinc Finger 2 [Homo Sapiens (Humano)] - Gen Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=22807> (accessed on 5 March 2023).
362. Rebollo, A.; Schmitt, C. Ikaros, Aiolos and Helios: Transcription Regulators and Lymphoid Malignancies. *Immunol. Cell Biol.* **2003**, *81*, 171–175, doi:10.1046/J.1440-1711.2003.01159.X.
363. R Core Team, R. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **2013**.
364. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; de Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575, doi:10.1086/519795.
365. Barrett, J.C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M.J. Haploview: Analysis and Visualization of LD and Haplotype Maps. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 263–265, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTH457.
366. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A Web Tool for the Analysis of Association Studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTL268.



ANEXOS

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1. Aprobación del Comité de Ética del Proyecto “Influencia genética en la respuesta a mepolizumab, reslizumab y benralizumab”

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE SALUD Y FAMILIAS

DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/Dª. Carlos García Pérez como secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocio

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Influencia genética en la respuesta a mepolizumab, reslizumab y benralizumab en pacientes con asma eosinofílica grave
 Protocolo, Versión: 00
 HIP, Versión: 01
 CI, Versión: 01

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Sevilla a 08/10/2020

D/Dª. Carlos García Pérez, como Secretario/a del CEI de los hospitales universitarios Virgen Macarena-Virgen del Rocio



Código Seguro De Verificación:	e2df654092b2c9ec7fe997d82584306e8b9ec78a	Fecha:	08/10/2020		
Normativa:	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.				
Firmado Por:	Carlos García Pérez				
Url De Verificación:	http://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeticas/xhtml/ayuda/verifica?firmaDocumento.iface/code/e2df654092b2c9ec7fe997d82584306e8b9ec78a		Página:		1/2

9.2 ANEXO 2. Solicitud de modificaciones mayores: “Ampliación del protocolo a omalizumab”

Sevilla, 18 de marzo 2021

MODIFICACIONES RELEVANTES:

Las modificaciones relevantes realizadas en el proyecto: Influencia genética en la respuesta a mepolizumab, reslizumab y benralizumab en pacientes con asma eosinofílica grave y CÓDIGO del estudio: 1313-M1-21; han sido las siguientes:

- AMPLIAR EL PROTOCOLO A OTRO FÁRMACO BIOLÓGICO (OMALIZUMAB).
- ACTUALIZACIÓN DE LA HOJA DE INFORMACION Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

En espera de su resolución, quedo atenta a sus noticias.

Un saludo,

PEREZ
RAMIREZ
CRISTINA -
75134079W

Firmado digitalmente por PEREZ RAMIREZ CRISTINA - 75134079W
Fecha: 2021.03.18 11:59:09 +01'00'

Cristina Pérez Ramírez

Investigadora Principal del proyecto

9.3 ANEXO 3. Aprobación de la Solicitud de Ampliación de Protocolo



Informe Dictamen Modificación Favorable
Proyecto Investigación Biomédica

C.P. FG-ASMA-2020 - C.I. 1313-N-20

17 de mayo de 2021

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

D. Carlos García Pérez
Secretario del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 22/04/2021, acta CEI VM-VR_07/2021 ha evaluado la propuesta del promotor para que se realice la **Modificación relevante nº 1 de fecha de entrada 18/03/2021** en el estudio:

Título: Influencia genética en la respuesta a mepolizumab, reslizumab y benralizumab en pacientes con asma eosinofílica grave

Código Promotor: FG-ASMA-2020 Código Interno: 1313-N-20

Promotor: Investigador

Versión Hoja Información al Paciente Evaluada: HIP-CI / versión 02 de fecha 18/03/2021

2º. La **Modificación relevante nº 1 de fecha de entrada 18/03/2021**, de tipo **Relevante**, con fecha de registro **18/04/2021** solicita:

Mod. Documentación: Hoja Información Paciente (HIP)	
Versión HIP	HIP-CI / versión 02 de fecha 18/03/2021

3º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

4º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE A LA MODIFICACIÓN**.

5º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío
Cristina Pérez Ramírez
(Farmacia Hospitalaria) Hospital Universitario Virgen Macarena

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena – Virgen del Rocío de Sevilla
Avda. Dr. Fedriani, 3 - Unidad de Investigación 2ª planta Sevilla 41071 Sevilla España
Tel. 600 162 458 Fax. Correo electrónico administracion.eecc.hvm.sspa@juntadeandalucia.es

Página 1 de 2

Es copia auténtica de documento electrónico

FIRMADO POR	JOSE CARLOS GARCIA PEREZ	19/05/2021 08:19:11	PÁGINA 1/2
VERIFICACIÓN	UUM32CN57B6724F4327PG8LC25N1YFG	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

ANEXO 3. (Continuación)



**Informe Dictamen Modificación Favorable
Proyecto Investigación Biomédica**

C.P. FG-ASMA-2020 - C.I. 1313-N-20

17 de mayo de 2021

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Lo que firmo en Sevilla, a 17 de mayo de 2021

Fdo:

D. Carlos García Pérez
Secretario del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío


CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena – Virgen del Rocío de Sevilla
Avda. Dr. Fedriani, 3 - Unidad de Investigación 2ª planta Sevilla 41071 Sevilla España
Tel. 600 162 458 Fax. Correo electrónico administracion.eecc.hvm.sspa@juntadeandalucia.es

Página 2 de 2

Es copia auténtica de documento electrónico


FIRMADO POR	JOSE CARLOS GARCIA PEREZ	19/05/2021 08:19:11	PÁGINA 2/2
VERIFICACIÓN	UUM32CN57867Z4Fk3Z7PG8LC25N/FG	https://ws050.juntadeandalucia.es/verificarFirma/	

9.4 ANEXO 4. Documento de información al paciente



Servicio Andalúz de Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES
Unidad de Farmacogenética
Servicio de Farmacia. HMI 4ª planta.
Avda. Fuerzas Armadas, nº 2.
T: 958 020 108; F: 901 021 804
farmacogenetica.hvn.sspa@juntadeandalucia.es



**DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE
PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS**

Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A TERAPIA BIOLÓGICA EN PACIENTES CON ASMA EOSINOFÍLICA GRAVE

PROMOTOR DEL PROYECTO: Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia

INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO: Cristina Pérez Ramírez

Objetivos: Evaluar la implicación de la farmacogenética en el manejo de la eficacia y seguridad de la terapia biológica en pacientes con asma eosinofílica grave.

Procedimientos: Deseo participar en este estudio y conozco que:

- Tendré 1 cita con el investigador, coincidiendo con una de mis citas de seguimiento clínico.
- Se me realizará una extracción ADN a partir de una muestra de saliva, para analizar los marcadores farmacogenéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.
- En caso de no autorizar la cesión de las muestras al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Respuesta Negativa al Punto 2 del Consentimiento Informado), esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de esta investigación.
- En caso de autorizar que los remanentes de las muestras pasen a formar parte del Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Respuesta Positiva al Punto 2 del Consentimiento Informado), la muestra sólo podrá ser utilizada en proyectos de investigación científicamente avalados, que cumplan las exigencias legales y los principios éticos que rigen la investigación en salud (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica) y que sean autorizados por los órganos competentes, de conformidad con lo establecido en la normativa vigente. En este caso, se renuncia a cualquier derecho de naturaleza económica, patrimonial o potestativa sobre los resultados o potenciales beneficios que puedan derivarse de manera directa o indirecta de las investigaciones que se lleven a cabo con la muestra que cede para investigación.

Beneficios: Pueden no obtenerse beneficios directos con la participación en este proyecto. En caso de autorizar la cesión de remanentes de muestras al Biobanco, es posible que la información obtenida de las investigaciones en las que se utilicen sus muestras no le genere un beneficio directo, pero habrá contribuido al avance de la medicina y del conocimiento de diversas enfermedades, lo que repercutirá en un beneficio para la sociedad.

Riesgos: Para el estudio Farmacogenético, es necesario una muestra de saliva, por lo que no existe riesgo ninguno.



Lugar de realización del análisis y destino de la muestra al término de la investigación: Los análisis farmacogenéticos de este estudio se llevarán a cabo en la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Al término de la investigación, se cederán al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves las muestras de aquellos pacientes que así lo hayan autorizado con una Respuesta Positiva al Punto 2 del Consentimiento Informado. Las muestras de aquellos pacientes que sólo acepten participar en este estudio, pero no autoricen la donación de su muestra al Biobanco (Respuesta Negativa al Punto 2 del Consentimiento Informado) se considerarán destinadas exclusivamente a fines de investigación, y por tanto se conservarán únicamente en tanto sean necesarias para los fines que justificaron su recogida. Por tanto, serán destruidas a la finalización del mismo. Los datos genéticos de carácter personal de estos pacientes se conservarán durante un período mínimo de cinco años desde la fecha en que fueron obtenidos, transcurrido el cual el interesado podrá solicitar su cancelación, de acuerdo con la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica.

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS | F-PO-F-12-68

Servicio de Farmacia
Hospitalario Universitario Virgen de las Nieves de Granada

Edición: 01
Aprobación:

ANEXO 4. (Continuación)

 Servicio Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE CALIDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES	HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES Unidad de Farmacogenética Servicio de Farmacia. HMI 4ª planta. Avda. Fuerzas Armadas, nº 2. T: 958 020 108; F: 901 021 804 farmacogenetica.hvn.sspa@juntadeandalucia.es	
DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS		
Título del proyecto: INFLUENCIA GENÉTICA EN LA RESPUESTA A TERAPIA BIOLÓGICA EN PACIENTES CON ASMA EOSINOFÍLICA GRAVE		
PROMOTOR DEL PROYECTO: Unidad de Farmacogenética – Servicio de Farmacia INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL PROYECTO: Cristina Pérez Ramírez		
<p>Posibilidad de ponerse nuevamente en contacto: Puede que sea necesario ponerse en contacto nuevamente con usted, con el fin de recabar datos o muestras adicionales, o proporcionarle la información relevante para su salud, salvo que haya solicitado que las muestras sean anonimizadas.</p>		
<p>Confidencialidad: Toda la información obtenida en este estudio es confidencial y será estrictamente utilizada para fines de investigación. Los datos personales que se recojan son confidenciales y serán procesados de acuerdo con el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos, así como con la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.</p>		
<p>La información clínica, epidemiológica, de las muestras biológicas y los resultados de los análisis genéticos pasarán a formar parte de un fichero interno de acceso restringido a usuarios debidamente identificados e implicados en el proyecto durante el tiempo necesario para el cumplimiento de los fines de esta investigación. Dichos datos serán tratados y cedidos con la única y exclusiva finalidad de llevar a cabo la investigación biomédica descrita en este documento.</p>		
<p>Información sobre resultados del Estudio: Los resultados de la investigación, conforme normativa vigente, se harán públicos mediante difusión y posterior publicación en prensa científica, sin que se facilite ningún dato que identifique al paciente. Los datos se presentarán de manera conjunta y nunca referida a un individuo.</p>		
<p>En el caso de cesión al Biobanco, éste tendrá a disposición del donante toda la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilice su muestra. El comité de ética externo del biobanco o el Comité de Ética de la Investigación que evaluó el proyecto de investigación decidirán en qué casos será imprescindible que se envíe la información de manera individualizada.</p>		
<p>Derecho de recusa o desistencia: La participación en el estudio es totalmente voluntaria, siendo libre para retirarse de la investigación en cualquier momento sin que afecte o ponga en riesgo su asistencia médica.</p>		
<p>El consentimiento prestado para cesión de muestras al Biobanco podrá ser retirado o revocado en cualquier momento, excepto si las muestras se encuentran anonimizadas. Para ello, deberá dirigirse al Biobanco, pudiendo solicitar la eliminación o la anonimización de las muestras. Los efectos de esta revocación no se extenderán a los resultados de las investigaciones llevadas a cabo con anterioridad.</p>		
<p>Para consultas relacionadas con el Biobanco, podrá dirigirse al Biobanco de Células, Tejidos y Tumores del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, o a su Representante Legal. En caso de producirse un eventual cierre del Biobanco o revocación de la autorización para su constitución y funcionamiento, la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras.</p>		
DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS F-PO-F-12-68		
Servicio de Farmacia Hospitalario Universitario Virgen de las Nieves de Granada	Edición: 02 Aprobación:	



PUBLICACIONES

10. PUBLICACIONES

Los resultados de esta Tesis han sido estructurados en cuatro artículos originales, dos de ellos publicados y dos pendientes de publicación. Las revistas seleccionadas para su publicación han sido: *Pharmaceutics* (JCR Factor de impacto 2021: 6.525; Categoría: “Pharmacy and Pharmacology” 39/279, Cuartil 1 (Q1)) e *International Journal of Molecular Sciences* (JCR Factor de impacto 2021: 6.208; Categoría: “Biochemistry and Molecular Biology” 69/279, Cuartil 1 (Q1)).

Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. **Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study.** *Pharmaceutics* 2023, 15, 523. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020523>. Received: 2 Diciembre 2022/ Revised: 4 Enero 2023 / Accepted: 2 Febrero 2023 / Published: 4 Febrero 2023.

Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. **Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms24032011>. Received: 2 Diciembre 2022/ Revised: 9 Enero 2023 / Accepted: 13 Enero 2023 / Published: 19 Enero 2023.

Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A. **Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023. *(Pendiente de publicación)*

Rojo-Tolosa, S.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Morales-García, C.; Pérez-Ramírez, C.; Jiménez-Morales, A. **Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype.** *Pharmaceutics* 2023. *(Pendiente de publicación)*.

Pharmaceutics **2023**, *15*(2), 523; <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020523>

Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study

Susana Rojo-Tolosa^{1,2,*}, María Victoria González-Gutiérrez¹, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Gonzalo Jiménez Gálvez¹, Laura Elena Pineda Lancheros^{2,*}, José María Gálvez Navas^{2,*}, Alberto Jiménez Morales^{2,†}, Cristina Pérez Ramírez^{3,†} and Concepción Morales-García^{1,†}

¹ Respiratory Medicine Department. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; gjimenezgalvez@gmail.com (G.J.G.); mvglezgut@hotmail.com (M.V.G.G.); josebaza@hotmail.com (J.A.S.M.); concepcion.morales.sspa@juntadeandalucia.es (C.M.G.).

² Pharmacy Service, Pharmacogenetics Unit. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; alberto.jimenez.morales.sspa@juntadeandalucia.es (A.J.M.).

³ Center of Biomedical Research, Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix”, University of Granada, Avda. del Conocimiento s/n., 18016 Granada, Spain; cperezramirez87@ugr.es (C.P.R.).

* Correspondence: e-mail@e-mail.com; susanarojotolosa@gmail.com (S.R.T.); lepinedal@unal.edu.co (L.E.P.L.); jmgalna7@gmail.com (J.M.G.N.).

† Co-senior authors.

Abstract: Most patients with asthma can control their symptoms with a basic standard of medical care and with maintenance and rescue medication. However, between 5% and 10% of asthmatics worldwide do not achieve control of symptoms and have recurrent exacerbations and respiratory difficulties. The objective of the study was real-life evaluation of the clinical improvement of patients with severe eosinophilic asthma treated with omalizumab, together with the search for biomarkers associated with the response. An observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled allergic asthma being treated with omalizumab. Three types of response were evaluated: lower use of oral corticosteroids, improvement in lung function and reduction of exacerbations. A total of 110 patients under treatment with omalizumab were included, with a mean age of 48 ± 16 years. After 12 months had elapsed, significant reductions were found in the number of exacerbations, use of oral cortico-steroids and doses of inhaled corticosteroids ($p < 0.001$). Lung function and asthma control improved with significant ($p < 0.001$; $p = 0.004$) and eosinophil levels were significantly reduced ($p = 0.004$). Low scores in the Asthma Control Test were associated with the oral corticosteroid-saving effect; lower previous FEV1 levels and absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were related to improvement in lung function, and prior FEV1 values higher than 80% and absence of gastroesophageal reflux disease (GERD) with reduction of exacerbations. The results of this study confirm the clinical benefit obtained after the introduction of omalizumab and the possible predictive biomarkers of response to the treatment.

Keywords: Severe uncontrolled asthma; omalizumab; effectiveness; biomarkers.

1. Introduction

Asthma is a chronic respiratory disease with a high incidence worldwide, characterized by a chronic obstruction of the airways which causes patterns of inflammation and bronchial remodelling [1–3]. Most patients with asthma can control their symptoms with a basic standard that includes control and maintenance medication, administered over prolonged periods, including inhaled corticosteroids (ICS), leukotriene receptor antagonists and long-acting β_2 adrenergic agonists, and rescue medication, used on demand to provide fast relief or prevent bronchoconstriction [4–7]. However, despite adaptation of standard therapy to the patient’s

needs, between 5% and 10% of asthmatics worldwide do not achieve control of symptoms and suffer recurrent exacerbations and a lack of control of respiratory symptoms [8,9]. The Spanish Asthma Management Guidelines (GEMA) and the Global Initiative for Asthma (GINA) consider these patients as cases of severe uncontrolled asthma (SUA) and according to their treatment indications, GEMA step 6 and GINA step 5, the introduction of biological therapies suited to the patient's phenotype/endotype is advised to increase overall control of the disease [6,7].

Immunoglobulin E (IgE) is a type of antibody related to hypersensitivity and allergic reactions, which causes an immune response by binding to the high-affinity receptor FcεRI located on the surface of mast cells and basophils, promoting the release of inflammatory mediators [10].

Omalizumab (Xolair®) is a humanized monoclonal antibody that binds selectively to IgE and prevents it from binding to the FcεRI receptor in basophils and mast cells, thereby reducing the amount of free IgE available to trigger the allergic cascade [11,12]. By blocking IgE from binding to FcεRI receptors, omalizumab achieves a 97% reduction in expression of these receptors on the surface of mast cells and basophils [13]. Moreover, because of the binding of omalizumab to free IgE, blood IgE levels decrease by between 96% and 99%, and as a result of the depletion of free IgE, the plasma membrane FcεRI receptors of basophils are transferred to the cytoplasm and are not resynthesized [14,15].

Although multiple randomized controlled clinical trials have been conducted that have demonstrated the efficacy and safety of omalizumab [16-30], they do not reflect the situations that arise in common clinical practice, as they were developed in optimum conditions with strict inclusion and exclusion criteria. Consequently, real-life studies have become increasingly important to support the results reported by clinical trials. There are now real-life studies demonstrating the efficacy of omalizumab [31-36]. These studies include diverse groups of participants, so accurate pooled estimates are needed to assess efficacy and determine biomarker predictors of response in specific populations. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of omalizumab treatment and identify predictive markers of response in Caucasian patients in southern Spain.

2. Materials and Methods

We conducted a real-life observational retrospective cohort study.

2.1 Study population

This study included 113 patients aged over 18 years and of Caucasian origin diagnosed with SUA according to GEMA 5.1 criteria, recruited in the Respiratory Medicine Department of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (Spain) between March 2007 and April 2022. Out of the 113 patients recruited, the response was evaluated in 110 patients treated with omalizumab, prior to beginning treatment and when 12 months had elapsed from the start of the biological therapy. The administration route of the drug was subcutaneous, with doses of 75 mg to 600 mg, depending on the initial IgE concentration and the patient's weight, every 2 or 4 weeks [37]. The remaining patients did not meet the study's evaluation criteria.

2.2 Socio-demographic and clinical variables

The socio-demographic variables included age, sex, body mass index (BMI), smoking status, years with the disease, nasal polyps, previous respiratory disease, allergies, gastroesophageal reflux disease (GERD), sleep apnoea-hypopnoea syndrome (SAHS), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), years with omalizumab, treatment dose, and change to another monoclonal antibody therapy.

The clinical variables were collected according to the 12 months prior to starting omalizumab treatment and after completing the first year of treatment. They included oral corticosteroid (OCS) and ICS doses, blood eosinophil count, exacerbations requiring emergency treatment and/or hospitalization, IgE, lung function as percentage forced expiratory volume in the first second (%FEV1), and Asthma Control Test (ACT) [38].

2.3 Statistical analysis

The quantitative variables were expressed as mean (\pm standard deviation) for those that complied with normality and as median and percentiles (25 and 75) for those that did not follow a normal distribution. Normality was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test.

The clinical variables responsible for the response were compared before and after treatment using the McNemar test for qualitative variables. For quantitative variables that complied with normality we used the t test for paired data and the Mann-Whitney U test (Wilcoxon rank sum test) for non-normal variables. The results were considered significant when the p value was less than 0.05.

To evaluate the predictors of response at 12 months, the following were taken as response variables: reduction of OCS cycles per year, considering a reduction of at least 50% in the cycles or absence of OCS as a satisfactory response; improvement of lung function, considering those that achieved an increase of at least 10% in FEV1 after 12 months' treatment as responsive; and reduction of exacerbations per year requiring emergency treatment and/or hospitalization, taking a reduction of at least 50% or absence of exacerbations as a satisfactory response. The bivariate analysis between the response and socio-demographic and clinical variables was performed using Pearson's chi-squared test or applying Fisher's exact test for the qualitative variables. For the quantitative variables, Student's t-test was applied to the variables that complied with normality. The Mann-Whitney U test was applied for non-normal variables. A multivariate (logistic or linear regression) analysis was used to calculate the adjusted odds ratio (OR) and the 95% confidence interval (CI) for the possible prognostic factors of response to OCS, lung function and exacerbations. All the tests were 2-sided, with a probability of 0.05 or less considered statistically significant and were performed with the R 4.2.0 free software.

3. Results

3.1 Characteristics of the patients treated with omalizumab

The clinical and demographic characteristics of the 110 patients treated with omalizumab are described in Table 1. In total, 61.82% of the patients were women (68/110); their mean age was 48.48 ± 16.08 years, with a median of 8.5 [5–13.75] years with the disease and 2.5 [1–5] years under treatment with omalizumab. Most of the patients were overweight or obese, 40% (44/110) and 34.55% (38/110) respectively, and 4.55% were smokers (5/110). There were 20.91% (23/110) who had had some previous respiratory disease, 19.09% (21/110) with nasal polyps, 75.45% (83/110) with allergies, 27.27% (30/110) with GERD, 18.18% (20/110) with SAHS and 14.55% (16/110) with COPD.

All the patients had required ICS in the year before beginning the treatment, with a median of 320 [184–640] mg/day, and 77.27% (85/110) needed OCS, with a median of 2 [1–3] cycles. Mean %FEV1 was 76.12 ± 21.68 , and a median blood eosinophil count of 250 [127.5–485] cells/ μ L was recorded, and IgE of 310.45 [142.5–716.25] IU/mL. There were 61.82% (68/110) who suffered at least one exacerbation during the year prior to the treatment and the median ACT score was 12 [10–16] points. Of the 110 patients, 42.73% required changing to another monoclonal therapy for asthma control.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of patients treated with omalizumab.

	N	%	Mean \pm SD/ p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)
Age	110		48.48 \pm 16.08
Sex			
Women	68	61.82	
Men	42	38.18	
BMI			
Underweight	1	0.91	
Normal weight	27	24.55	
Overweight	44	40	
Obesity	38	34.55	

Tobacco consumption			
	Non-smoker	77	70
	Former smoker	28	25.45
	Current smoker	5	4.55
Previous respiratory disease			
	Yes	23	20.91
	No	87	79.09
Polyps			
	Yes	21	19.09
	No	89	80.91
Allergies			
	Yes	83	75.45
	No	27	24.55
GERD			
	Yes	30	27.27
	No	80	72.73
SAHS			
	Yes	20	18.18
	No	90	81.82
COPD			
	Yes	16	14.55
	No	94	85.45
Years with EA		110	8.5 [5–13.75]
ICS (mg/day)		110	320 [184–640]
OCS cycles per year		110	2 [1–3]
	Yes	85	77.27
	No	25	22.73
Baseline %FEV1		106	76.12 ± 21.68
	<80	62	58.49
	>80	44	41.51
Baseline ACT		25	12 [10–16]
Exacerbation in previous year		110	1 [0–2]
	Yes	68	61.82
	No	42	38.18
Baseline blood eosinophil count (cells/ μ L)		100	250 [127.5–485]
Baseline IgE (IU/mL)		96	310.45 [142.5–716.25]
Years with omalizumab		110	2.5 [1–5]
Omalizumab dose (mg/4 weeks)		110	450 [300–600]
Change of BT			
	Yes	47	42.73
	No	63	57.27

BMI: body mass index; GERD: gastroesophageal reflux disease; SAHS: sleep apnoea-hypopnoea syndrome; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; EA: eosinophilic asthma; ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; %FEV1: percentage forced expiratory volume in the first second; ACT: Asthma Control Test; IgE: immunoglobulin E; BT: biological therapy. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean \pm standard deviation (SD). Quantitative variables with non-normal distribution are shown as p50 (p25–p75).

3.2 Clinical effectiveness of omalizumab

The effectiveness of omalizumab was assessed in 110 (97.35%) patients of the 113 candidates for the study (Table 2). The treatment was suspended in 2.65% of the patients (3/113) due to the presence of adverse effects.

Table 2. Clinical efficacy of omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma.

Response definition	N	%
OCS reduction \geq 50%		
Yes	56	50.91
No	37	33.63
No OCS	17	15.45
OCS reduction \geq 50% or absence		
Yes	71	64.55
No	39	35.45
FEV1 increase \geq 10%		
Yes	42	46.15
No	49	53.85
FEV1 increase \geq 10% or FEV1 \geq 80%		
Yes	71	75.53
No	23	24.47
Exacerbation reduction \geq 50%		
Yes	54	49.09
No	18	16.36
No exacerbations	38	34.55
Exacerbation reduction \geq 50% or absence		
Yes	90	81.82
No	20	18.18

OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum forced expiratory volume in the first second.

After a year of treatment with omalizumab the 50% reduction in OCS was satisfactory in 51.38% (56/110) of the patients and 14.68% (16/110) did not require OCS during the first 12 months of biological therapy. The %FEV1 increased by at least 10% in 46.15% (42/91) of cases and 75.53% (71/94) showed FEV1 values higher than 80%. The reduction of at least 50% in exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization was satisfactory in 49.09% (54/110) of the patients and 34.55% (38/110) had no exacerbations.

3.3 Comparison of clinical variables before and after treatment

3.3.1 Daily dose of ICS

After 12 months of biological therapy with omalizumab, daily doses of ICS showed significant reductions of 42.50% ($p < 0.001$). The results of the comparative analysis are shown in Table 3.

Table 3. Changes in baseline variables after 12 months of biological therapy.

Independent variable	Biological therapy with omalizumab
ICS dose (mg/day)	
Baseline, p50(p25, p75)	320 [184–640]
Follow-up, p50(p25, p75)	184 [92.75–400]
Change from baseline	$p < 0.001$

Use of OCS (Yes/No)	
Baseline, n (%)	85 (77.27)
Follow-up, n (%)	63 (57.27)
Change from baseline	p < 0.001
Cycles of OCS per year	
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	2 [1–3]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0–2]
Change from baseline	p < 0.001
Patients with FEV1 > 80%	
Baseline, n (%)	44 (41.51)
Follow-up, n (%)	53 (56.38)
Change from baseline	p = 0.745
%FEV1	
Baseline, mean (SD)	76.12 ± 21.68
Follow-up (SD)	85.53 ± 20.10
Change from baseline	p < 0.001
ACT	
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	12 [10–16]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	20.5 [16–23]
Change from baseline	p = 0.004
Presence of exacerbations (Yes/No)	
Baseline, n (%)	68 (61.82)
Follow-up, n (%)	27 (24.55)
Change from baseline	p = 0.071
Exacerbations per year	
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0–2]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0–0]
Change from baseline	p < 0.001
Blood eosinophils (cell/μL)	
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	250 [127.5–485]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	215 [120–327.5]
Change from baseline	p = 0.004
IgE (IU/mL)	
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	310.45 [142.5–716.25]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	496 [191–852]
Change from baseline	p = 0.888

ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; %FEV1: percentage forced maximum expiratory volume in the first second; ACT: Asthma Control Test; IgE: immunoglobulin E. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean ± standard deviation (SD). Quantitative variables with a non-normal distribution are shown as p₅₀ (p₂₅–p₇₅).

3.3.2 OCS cycles per year

During the year prior to starting biological therapy, high use of OCS was recorded among the patients in the study: 77.27% of them had needed at least one cycle of OCS. After a year with omalizumab, use of OCS had fallen significantly, by 25.88% (p < 0.001, Table 3, Figure 1) and in parallel with this a significant reduction occurred in the median doses of OCS recorded (p < 0.001, Table 3, Figure 1).

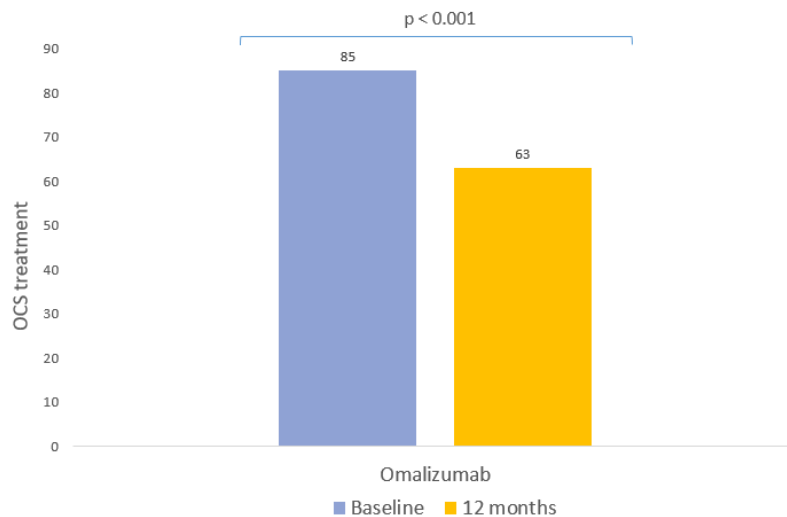


Figure 1. Clinical response to omalizumab: OCS. Patients with oral corticosteroid requirements during the 12 months prior to starting omalizumab and at the follow-up evaluation after 12 months of therapy.

3.3.3 Lung function

Lung function had improved significantly after 12 months with omalizumab, showing an increase of 9.41% in mean FEV1 ($p < 0.001$, Table 3, Figure 2). However, there were no statistically significant differences in the group of patients with FEV1 values greater than 80%.

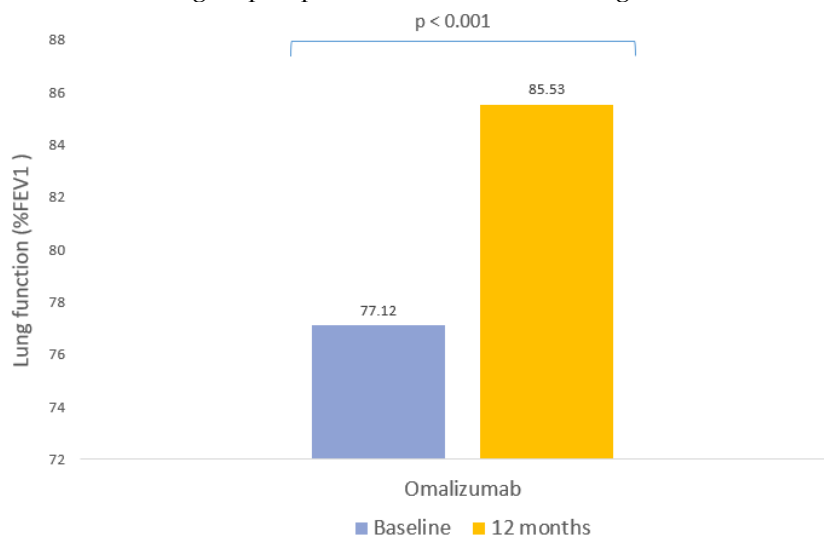


Figure 2. Clinical response to omalizumab: lung function. Mean percentage forced expiratory volume in the first second (%FEV1) before omalizumab and after 12 months of treatment.

3.3.4 Asthma control test ACT

After the administration of omalizumab, patients had a significant increase of 8.5 in median ACT score (12 to 20.5; $p < 0.004$, Table 3).

3.3.5 Frequency of severe exacerbations

The percentage of patients with exacerbations decreased from 61.82% to 24.55% after a year of omalizumab treatment ($p = 0.071$, Table 3, Figure 3); the median number of exacerbations also decreased ($p < 0.001$, Table 3).

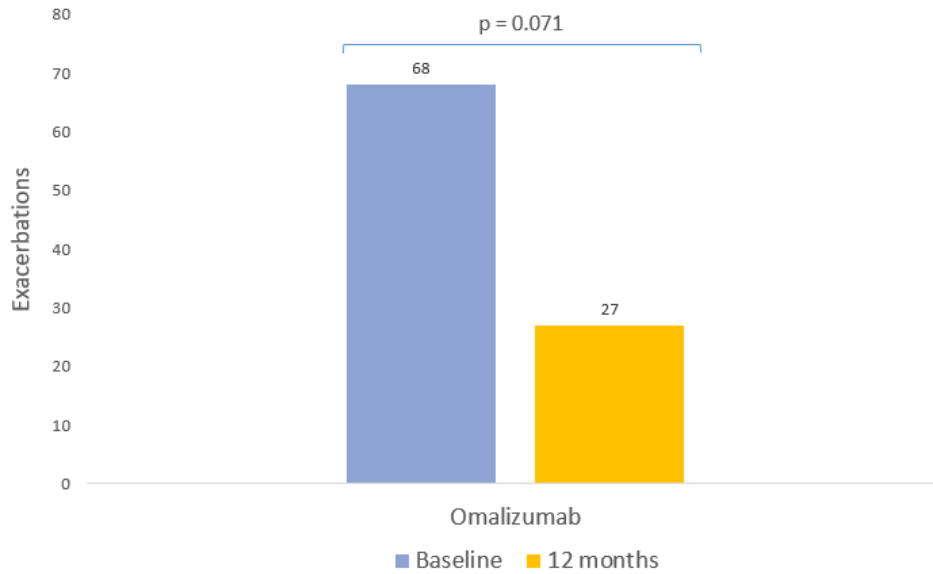


Figure 3. Clinical response to omalizumab: exacerbations. Patients with exacerbations in the 12 months prior to starting omalizumab and after 12 months of therapy.

3.3.6 Inflammatory markers

Omalizumab was associated with a significant reduction of 14% in blood eosinophil counts ($p = 0.004$, Table 3, Figure 4).

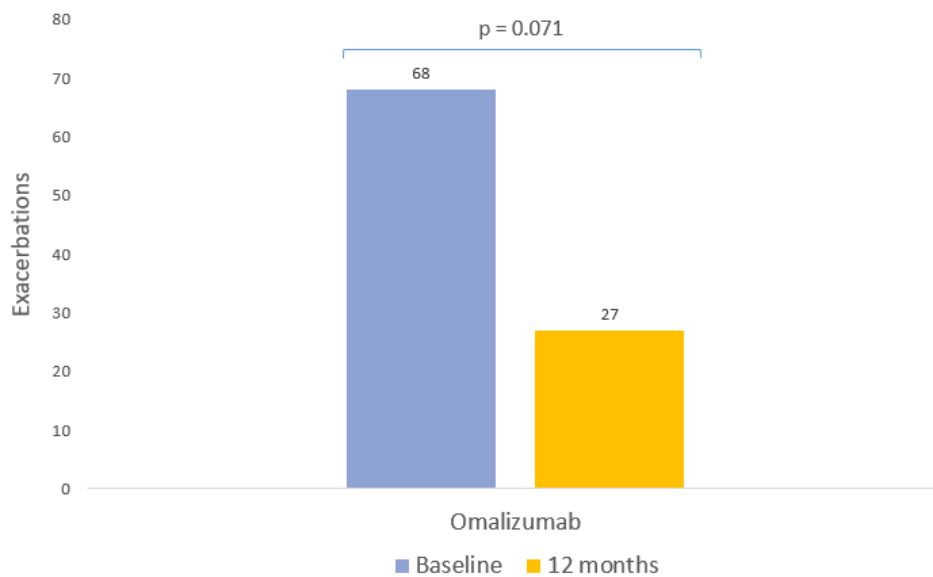


Figure 4. Clinical response to omalizumab: blood eosinophils. Median eosinophils prior to omalizumab and after 12 months of treatment.

3.3.7 Immunoglobulin E

No statistically significant changes in IgE levels were found after 12 months of treatment with omalizumab ($p = 0.888$, Table 3).

3.4 Predictors of response at 12 months

3.4.1 Response to reduction of oral corticosteroids (OCS)

In the bivariate analysis a greater response to OCS was found in patients with lower baseline ACT values, higher blood eosinophil levels and lower treatment doses every 4 weeks (Table S1).

The multivariate analysis showed that the independent variable associated with OCS response at 12 months was lower baseline ACT values (OR = 0.74; 95% CI = 0.53–0.97). The results of the multivariate analysis are shown in Table 4.

Table 4. Response predictors after 12 months of treatment with omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	B	Odds ratio	P-value	95% CI
OCS reduction predictors				
ACT	-0.2994	0.74	0.045	0.53–0.97
Lung improvement predictors				
FEV1	-0.0719	0.93	<0.001	0.90–0.96
COPD	3.5341	34.26	0.001	5.20–395.88
Exacerbation reduction predictors				
GERD	1.1238	3.08	0.033	1.09–8.
FEV1 (>80)	1.1759	3.24	0.054	1.06–12.23

OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum forced expiratory volume in the first second; ACT: Asthma Control Test; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; GERD: gastroesophageal reflux disease. CI: confidence interval.

The multivariate analysis has been adjusted by: ACT, eosinophil levels and omalizumab dose for predictors of OCS reduction; sex, COPD and previous FEV1 value for predictors of lung improvement; polyps and GERD for predictors of exacerbation reduction.

3.4.2 Lung function response (FEV1)

In the bivariate analysis, satisfactory lung function response was associated with women, absence of COPD linked to asthma and lower prior FEV1 values (the values are shown in detail in Table S2). After the multivariate analysis was performed we found that lower initial FEV1 values (OR = 0.93; 95% CI = 0.90–0.96; Table 4) and absence of COPD (OR = 34.26; 95% CI = 5.20–395.88; Table 4) indicated greater improvement in lung function.

5.4.3 Response to reduction of exacerbations

The bivariate analysis associated the absence of polyps and GERD and higher previous FEV1 values (the values are shown in detail in Table S3). In the multivariate analysis a significant association with response was found in the absence of GERD (OR = 3.08; 95% CI = 1.09–8.77; Table 4) and higher previous FEV1 values (OR = 3.24; 95% CI = 1.06–12.23; Table 4).

4. Discussion

In this study, omalizumab was associated with a significant improvement in lung function (FEV1) and control of asthma symptoms, evaluated using the ACT questionnaire, and significant reductions in the rate of severe exacerbations per year, blood eosinophil level, OCS cycles per year and ICS doses. The response to treatment with omalizumab achieved in our study is in line with the previous published real-life studies, collected by Jean Bousquet et al. in their meta-analysis published in 2021, which found significant improvements in lung function (95% CI: 0.03–0.48; $p = 0.02$), annual exacerbation rate (risk ratio [RR]: 0.41; 95% CI: 0.30–0.56; $p < 0.01$), ACT questionnaire score (mean difference [MD]: 6.47; 95% CI: 4.76–8.18) and in the proportion of patients that received OCS, which fell significantly (RR: 0.59; 95% CI: 0.47–0.75; $p < 0.01$) [33]. It should be noted that we found no statistically significant differences in the group of patients with FEV1 values over 80% after 12 months of treatment with omalizumab, which may indicate that this biological therapy achieves improvements in lung function, but in many cases, with very low baseline FEV1 values, a very significant increase is not achieved in the first year of biological therapy. As for biomarkers, the multivariate analysis indicated that having a positive response of reduction in OCS was more likely if the subject had lower initial ACT values. As lung function response markers, it was found that the absence of COPD and lower prior %FEV1 values led to a better response, and finally, the absence of GERD and higher prior %FEV1 values were the

markers associated with a positive response of reduction in exacerbations. The previous literature shows different results. Casale et al. associated improved lung function in those patients with a high level of eosinophils ($p = 0.011$) and a higher risk of exacerbations with omalizumab if they had been suffered the previous year (OR: 2.19; 95% CI: 1.55–3.08; $p < 0.001$), which is in line with our study, and they did not look for biomarkers associated with the OCS-saving effect [34] Other authors associate biomarkers with overall response and consider lower FEV1 levels, a higher eosinophil count or higher IgE levels as predictors of response to omalizumab [35–38].

This study, being a real-life investigation, lacks a placebo control group, and this could be considered its main limitation. The absence of a control group means that the magnitude of the results observed lacks the firmness of a comparison with a control group. Another inherent limitation of retrospective studies is the lack of data collection, such as in the ACT, and the sample size. Nevertheless, although randomized clinical trials remain the gold standard, this type of study makes it possible to extrapolate those results to uncontrolled and heterogeneous settings.

5. Conclusions

Omalizumab was the first biological therapy approved for the treatment of asthma and has brought about a great improvement in the quality of life of patients with severe allergic asthma. Its efficacy and safety have been demonstrated in numerous controlled clinical trials and the results attained in this study show very promising data in real life. Omalizumab achieved significant improvements in the three responses evaluated, reducing the use of oral corticosteroids, improving lung **function**, and decreasing and/or preventing the presence of exacerbations in many of the patients studied. In addition, response markers could be a useful tool for making decisions in clinical practice.

Supplementary Materials: Table S1: Predictors of oral corticosteroid reduction at 12 months of omalizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S2: Predictors of lung function improvement at 12 months of omalizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S3: Predictors of exacerbation reduction at 12 months of omalizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis).

Author Contributions: S.R.T. and C.P.R. conceived and designed the experiments; S.R.T. performed the experiments; S.R.T. collected samples; S.R.T. and C.P.R. analyzed the data; M.V.G.G., J.A.S.M. and G.J.G. contributed materials and analysis tools; S.R.T. prepared the original draft; C.P.R., L.E.P.L., J.M.G.N. and S.R.T. reviewed and edited the draft; S.R.T., C.P.R., and C.M.G. reviewed the analysis and interpretation; A.J.M. and C.M.G. supervised funding acquisition. All the authors participated in critically reviewing the manuscript and improving its intellectual content. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding: ERDF funds (EU) from the Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) supported by co-funding grants from the Biobank of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics and Research Committee of the Sistema Andaluz de Salud (code: 1313-N-20).

Informed Consent Statement: All subjects involved in the study signed the written informed consent form.

Acknowledgments: The results of this study are part of the doctoral thesis presented by Susana Rojo Tolosa at the University of Granada.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Papi, A.; Brightling, C.; Pedersen, S.E.; Reddel, H.K. *Asthma*. *Lancet* **2018**, *391*, 783–800, doi:10.1016/S0140-6736(17)33311-1.
2. Pavord, I.D.; Beasley, R.; Agustí, A.; Anderson, G.P.; Bel, E.; Brusselle, G.; Cullinan, P.; Custovic, A.; Ducharme, F.M.; Fahy, J. V.; et al. After Asthma: Redefining Airways Diseases. *Lancet* **2018**, *391*, 350–400, doi:10.1016/S0140-6736(17)30879-6.

3. Carr, T.F.; Zeki, A.A.; Kraft, M. Eosinophilic and Noneosinophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* **2018**, *197*, 22-37, doi: 10.1164/rccm.201611-2232PP.
4. Vitale, C.; Maglio, A.; Pelaia, C.; Vatrella, A. Long-term treatment in pediatric asthma: an update on chemical pharmacotherapy. *Expert Opin Pharmacother* **2017**, *18*, 667-676. doi: 10.1080/14656566.2017.1317747.
5. Mandlik, D.S.; Mandlik, S.K. New perspectives in bronchial asthma: pathological, immunological alterations, biological targets, and pharmacotherapy. *Immunopharmacol Immunotoxicol* **2020**, *42*, 521-544, doi: 10.1080/08923973.2020.1824238.
6. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2019. Available online: URL <https://ginasthma.org/>
7. Gema 5.2. Guía Española para el Manejo del Asma. Luzán 5 Health Consulting, S.A.: Madrid, Spain, 2022.
8. Vatrella, A.; Maglio, A.; Pellegrino, S.; Pelaia, C.; Stellato, C.; Pelaia, G.; Vitale, C. Phenotyping severe asthma: a rationale for biologic therapy. *Expert Rev. Precis. Med. Drug Dev* **2020**, *5*, 265-274. doi:10.1080/23808993.2020.1776106.
9. Viswanathan, R.K.; Busse, W.W. Biologic Therapy and Asthma. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* **2018**, *39*, 100-114, doi:10.1055/S-0037-1606218.
10. Dullaers, M.; De Bruyne, R.; Ramadani, F.; Gould, H.J.; Gevaert, P.; Lambrecht, B.N. The Who, Where, and When of IgE in Allergic Airway Disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2012**, *129*, 635-645, doi: 10.1016/j.jaci.2011.10.029.
11. Lin, H.; Boesel, K.M.; Griffith, D.T.; Prussin, C.; Foster, B.; Romero, F.; Townley, R.; Casale, T.B. Omalizumab Rapidly Decreases Nasal Allergic Response and FcεRI on Basophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2004**, *113*, 297-302, doi: 10.1016/j.jaci.2003.11.044.
12. Loureiro, C.C.; Amaral, L.; Ferreira, J.A.; Lima, R.; Pardal, C.; Fernandes, I.; Semedo, L.; Arrobas, A. Omalizumab for Severe Asthma: Beyond Allergic Asthma. *Biomed Res. Int.* **2018**, *2018*, doi:10.1155/2018/3254094.
13. Spector, S. Omalizumab: Efficacy in Allergic Disease. *Panminerva Med.* **2004**, *46*, 141-148.
14. Domingo, C. Omalizumab for Severe Asthma: Efficacy beyond the Atopic Patient? *Drugs* **2014**, *74*, 521-533, doi:10.1007/s40265-014-0203-y.
15. Holgate, S.; Casale, T.; Wenzel, S.; Bousquet, J.; Deniz, Y.; Reisner, C. The Anti-Inflammatory Effects of Omalizumab Confirm the Central Role of IgE in Allergic Inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2005**, *115*, 459-465, doi: 10.1016/j.jaci.2004.11.053.
16. Menzies-Gow, A.; Flood-Page, P.; Sehmi, R.; Burman, J.; Hamid, Q.; Robinson, D.S.; Kay, A.B.; Denburg, J. Anti-IL-5 (Mepolizumab) Therapy Induces Bone Marrow Eosinophil Maturational Arrest and Decreases Eosinophil Progenitors in the Bronchial Mucosa of Atopic Asthmatics. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2003**, *111*, 714-719, doi:10.1067/mai.2003.1382.
17. Verma, P.; Randhawa, I.; Klaustermeier, W.B. Clinical Efficacy of Omalizumab in an Elderly Veteran Population with Severe Asthma. *Allergy Asthma Proc.* **2011**, *32*, 346-350, doi:10.2500/aap.2011.32.3467.
18. Paganin, F.; Mangiapan, G.; Proust, A.; Prudhomme, A.; Attia, J.; Marchand-Adam, S.; Pellet, F.; Milhe, F.; Melloni, B.; Bernady, A.; et al. Lung Function Parameters in Omalizumab Responder Patients: An Interesting Tool? *Allergy* **2017**, *72*, 1953-1961, doi:10.1111/all.13202.
19. Adachi, M.; Kozawa, M.; Yoshisue, H.; Lee Milligan, K.; Nagasaki, M.; Sasajima, T.; Miyamoto, T.; Ohta, K. Real-World Safety and Efficacy of Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma: A Long-Term Post-Marketing Study in Japan. *Respir. Med.* **2018**, *141*, 56-63, doi: 10.1016/j.rmed.2018.06.021.
20. Normansell, R.; Walker, S.; Milan, S.J.; Walters, E.H.; Nair, P. Omalizumab for Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, *2014*, doi: 10.1002/14651858.cd003559.pub4
21. Yancey, S.W.; Keene, O.N.; Albers, F.C.; Ortega, H.; Bates, S.; Bleecker, E.R.; Pavord, I. Biomarkers for Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2017**, *140*, 1509-1518, doi:10.1016/j.jaci.2017.10.005.
22. Ortega, H.; Katz, L.; Gunsoy, N.; Keene, O.; Yancey, S. Blood Eosinophil Counts Predict Treatment Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *136*, 825-826, doi:10.1016/j.jaci.2015.05.039.
23. Harrison, T.W.; Chanez, P.; Menzella, F.; Canonica, G.W.; Louis, R.; Cosio, B.G.; Lugogo, N.L.; Mohan, A.; Burden, A.; McDermott, L.; et al. Onset of Effect and Impact on Health-Related Quality of Life, Exacerbation Rate, Lung Function, and Nasal Polyposis Symptoms for Patients with Severe Eosinophilic Asthma Treated with Benralizumab (ANDHI): A Randomised, Controlled, Phase 3b Trial. *Lancet Respir. Med.* **2021**, *9*, 260-274, doi:10.1016/S2213-2600(20)30414-8.

24. Humbert, M.; Taillé, C.; Mala, L.; Le Gros, V.; Just, J.; Molimard, M.; Agossou, M.; Appere De Vecchi, C.; Barbare, E.; Barbry, M.; et al. Omalizumab Effectiveness in Patients with Severe Allergic Asthma According to Blood Eosinophil Count: The STELLAIR Study. *Eur. Respir. J.* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02523-2017.
25. Gevaert, P.; Omachi, T.A.; Corren, J.; Mullol, J.; Han, J.; Lee, S.E.; Kaufman, D.; Ligueros-Saylan, M.; Howard, M.; Zhu, R.; et al. Efficacy and Safety of Omalizumab in Nasal Polyposis: 2 Randomized Phase 3 Trials. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2020**, *146*, 595–605, doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.032.
26. Humbert, M.; Beasley, R.; Ayres, J.; Slavin, R.; Hébert, J.; Bousquet, J.; Beeh, K.M.; Ramos, S.; Canonica, G.W.; Hedgcock, S.; et al. Benefits of Omalizumab as Add-on Therapy in Patients with Severe Persistent Asthma Who Are Inadequately Controlled despite Best Available Therapy (GINA 2002 Step 4 Treatment): INNOVATE. *Allergy* **2005**, *60*, 309–316, doi:10.1111/j.1398-9995.2004.00772.x.
27. Chan, S.; Cornelius, V.; Cro, S.; Harper, J.I.; Lack, G. Treatment Effect of Omalizumab on Severe Pediatric Atopic Dermatitis: The ADAPT Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* **2020**, *174*, 29–37, doi:10.1001/jamapediatrics.2019.4476.
28. Hanania, N.A.; Wenzel, S.; Roseñ, K.; Hsieh, H.J.; Mosesova, S.; Choy, D.F.; Lal, P.; Arron, J.R.; Harris, J.M.; Busse, W. Exploring the Effects of Omalizumab in Allergic Asthma: An Analysis of Biomarkers in the EXTRA Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2013**, *187*, 804–811, doi:10.1164/rccm.201208-1414oc.
29. Damask, C.; Chen, M.; Holweg, C.T.J.; Yoo, B.; Millette, L.A.; Franzese, C. Defining the Efficacy of Omalizumab in Nasal Polyposis: A POLYP 1 and POLYP 2 Subgroup Analysis. *Am. J. Rhinol. Allergy* **2022**, *36*, 135–141, doi:10.1177/19458924211030486.
30. Gevaert, P.; Saenz, R.; Corren, J.; Han, J.K.; Mullol, J.; Lee, S.E.; Ow, R.A.; Zhao, R.; Howard, M.; Wong, K.; et al. Long-Term Efficacy and Safety of Omalizumab for Nasal Polyposis in an Open-Label Extension Study. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2022**, *149*, 957-965.e3, doi:10.1016/j.jaci.2021.07.045.
31. Bousquet, J.; Humbert, M.; Gibson, P.G.; Kostikas, K.; Jaumont, X.; Pfister, P.; Nissen, F. Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 2702–2714, doi: 10.1016/j.jaip.2021.01.011.
32. Casale, T.B.; Luskin, A.T.; Busse, W.; Zeiger, R.S.; Trzaskoma, B.; Yang, M.; Griffin, N.M.; Chipps, B.E. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 156-164, doi:10.1016/j.jaip.2018.04.043.
33. Caminati, M.; Vianello, A.; Chieco Bianchi, F.; Festi, G.; Guarnieri, G.; Marchi, M.R.; Micheletto, C.; Olivieri, M.; Tognella, S.; Guerriero, M.; et al. Relevance of TH2 Markers in the Assessment and Therapeutic Management of Severe Allergic Asthma: A Real-Life Perspective. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2020**, *30*, 35–41, doi:10.18176/jiaci.0379.
34. Marzano, A. V.; Genovese, G.; Casazza, G.; Fierro, M.T.; Dapavo, P.; Crimi, N.; Ferrucci, S.; Pepe, P.; Liberati, S.; Pigatto, P.D.; et al. Predictors of Response to Omalizumab and Relapse in Chronic Spontaneous Urticaria: A Study of 470 Patients. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **2019**, *33*, 918–924, doi:10.1111/jdv.15350.
35. Sheehan, W.J.; Krouse, R.Z.; Calatroni, A.; Gergen, P.J.; Gern, J.E.; Gill, M.A.; Gruchalla, R.S.; Khurana Hershey, G.K.; Kattan, M.; Kercksmar, C.M.; et al. Aeroallergen Sensitization, Serum IgE, and Eosinophilia as Predictors of Response to Omalizumab Therapy During the Fall Season Among Children with Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2020**, *8*, 3021-3028.e2, doi: 10.1016/j.jaip.2020.03.051.
36. Kallieri, M.; Papaioannou, A.I.; Papathanasiou, E.; Ntontsi, P.; Papiris, S.; Loukides, S. Predictors of Response to Therapy with Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma - a Real Life Study. *Postgrad. Med.* **2017**, *129*, 598–604, doi:10.1080/00325481.2017.1321945.
37. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios FICHA TECNICA XOLAIR 150 Mg SOLUCION INYECTABLE Available online: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/05319008/FT_05319008.html#10-fecha-de-la-revisi-n-del-texto (accessed on 5 April 2022).
38. Asthma Control Test (ACT). Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 4 May 2022).

Int. J. Mol. Sci. **2023**, *24*(3), 2011; <https://doi.org/10.3390/ijms24032011>

Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study

Susana Rojo-Tolosa ^{1,2,*}, María Victoria González-Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez Gálvez¹, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Laura Elena Pineda Lancheros^{2,*}, José María Gálvez Navas^{2,3,*}, Alberto Jiménez Morales ^{2,†}, Cristina Pérez Ramírez^{3,†} and Concepción Morales-García^{1,†}

¹ Respiratory Medicine Department. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; gjimenezgalvez@gmail.com (G.J.G.); mvglezgut@hotmail.com (M.V.G.G.); josebaza@hotmail.com (J.A.S.M.); concepcion.morales.sspa@juntadeandalucia.es (C.M.G.).

² Pharmacy Service, Pharmacogenetics Unit. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; alberto.jimenez.morales.sspa@juntadeandalucia.es (A.J.M.).

³ Center of Biomedical Research, Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix”, University of Granada, Avda. del Conocimiento s/n., 18016 Granada, Spain; cperezramirez87@ugr.es (C.P.R.).

* Correspondence: susanarojotolosa@gmail.com (S.R.T.); lepinedal@unal.edu.co (L.E.P.L.);

† Co-senior authors.

Abstract: Severe Uncontrolled Asthma (SUA) counts for more than 25% of cases of severe asthma. The main factors that impair the quality of life of these patients are high doses of oral corticosteroids, the presence of exacerbations and reduced lung function. The objective of this study was to evaluate, in real life, the clinical improvement of patients with SUA treated with anti-interleukin 5 (IL5) therapies: mepolizumab and benralizumab, together with the search for biomarkers associated with the response. We conducted a retrospective observational cohort study that included patients with severe uncontrolled eosinophilic asthma in a tertiary hospital receiving biological therapies. Three types of response were evaluated: improvement in lung function, reduction in exacerbations and decrease in the use of oral corticosteroids. After 12 months of treatment, significant reductions were found in the number of exacerbations, the use of oral corticosteroids and blood eosinophil levels for both biological therapies ($p < 0.001$). Lung function improved, achieving a significant improvement in %FEV1 ($p < 0.001$), as well as asthma control, with a significant increase in asthma control test (ACT) scores in both therapies. The markers associated with the corticosteroid-saving effect were the low doses of oral corticosteroids and absence of exacerbations for mepolizumab, and higher blood eosinophilia, absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and reduction in oral corticosteroid cycles for benralizumab. The greatest improvement in lung function in both therapies was linked to lower previous FEV1 levels and absence of other respiratory diseases. The reduction in exacerbations was associated with absence of exacerbations the previous year for mepolizumab and never smokers for benralizumab. The results of this real-life study confirm the clinical benefit obtained after the introduction of an anti-IL5 biological therapy and the possible predictive biomarkers of response to treatment.

Keywords: Severe uncontrolled asthma; mepolizumab; benralizumab; effectiveness; biomarkers

1. Introduction

Asthma is a chronic and heterogeneous inflammatory disease of the airways, in which various cells and inflammatory mediators are involved, partly determined by genetic factors, resulting in bronchial hyperreactivity and restriction of airflow, which give rise to recurrent episodes of wheezing, dyspnoea and exacerbations [1,2].

It is one of the main non-transmissible diseases affecting children and adults. The most recent World Health Organization (WHO) estimates indicate that in 2019 262 million people were

affected by asthma worldwide and 461 000 deaths due to lack of diagnosis and/or treatment were recorded that year [3]. As it is a chronic condition, the objective pursued in addressing it is to achieve control of the disease and prevention of future risk, since it can be life-threatening and generate significant welfare costs [2].

According to the European Respiratory Society (ERS) and the American Thoracic Society (ATS), severe uncontrolled asthma (SUA) represents between 5% and 10% of asthma cases, making it a constant challenge to maintain this control [4]. Data reported by the ARS/ATS, along with European studies from recent years, show that more than 50% of asthma patients are uncontrolled [5].

Between 30% and 40% of patients with severe asthma also require regular use of oral corticosteroids (OCS) to control their asthma [6-8], with the risk that this involves of presenting serious and often irreversible adverse effects [9,10].

The Global Strategy for the Management and Prevention of Asthma (GINA) defines asthmatic exacerbation as episodes characterized by a progressive increase in symptoms of shortness of breath, cough, wheezing or chest tightness and progressive decrease in lung function, i.e., they represent a change from the patient's usual status that is sufficient to require a change in treatment [2]. Exacerbations differ from the usual symptoms of asthma in the lack of response to the inhaled corticosteroids (ICS) in common use and are strongly related to increased inflammation of the airways. They can trigger fatal results and are more common and more severe when the asthma is uncontrolled [11]. They are often related to eosinophilic airway inflammation, since the markers of eosinophilic inflammation are increased prior to the onset of exacerbations [12-14]. Furthermore, strategies for the control of eosinophilic airway inflammation are associated with a reduction of exacerbations [15-17].

Lack of prevention and/or treatment of exacerbations, together with the presence of potentiating risk factors, such as deficient treatment adherence, incorrect inhaler technique, comorbidities, exposure to toxins or allergens and reduced lung function, represent a major problem in the clinical management of asthma, associated with increased morbidity and risk of death, which could as much as triple healthcare costs due to increased medication requirements, need for visits to emergency departments and in many cases hospitalization [2,18-22].

The development of new anti-interleukin-5 (IL5) biological therapies such as mepolizumab and benralizumab for managing asthma represents a major advance in addressing it. Mepolizumab and benralizumab are humanized monoclonal antibodies which respectively act against IL5 and its receptor (IL5R), selectively and effectively inhibiting the eosinophilic cascade [23-27]. These biologic therapies have been shown to be effective in randomized controlled trials (RCTs). However, it is known that only a minority of patients with severe asthma would meet the inclusion criteria of an RCT [28]. Consequently, doubts have been raised about the use of these results in clinical practice, and real-life studies have become more influential in supporting the results of RCTs. There are previous efficacy studies demonstrating a significant reduction in blood eosinophil count and exacerbation rate with mepolizumab and benralizumab [29-37]. These studies include diverse groups of participants, so precise pooled estimates are needed to assess efficacy and determine biomarker predictors of response in specific populations. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of treatment with mepolizumab and benralizumab and to identify markers predictive of response in Caucasian patients from southern Spain.

2. Results

2.1. *Characteristics of the patients*

2.1.1. Characteristics of patients treated with mepolizumab

A total of 89 patients receiving mepolizumab as treatment were included in the study. Their clinical and demographic characteristics are shown in Table 1. The mean recorded age was 55.8 ± 13.1 years, with 65.2% women (58/89). The median time in treatment with mepolizumab was 2 [1-4] years, change to another monoclonal antibody therapy was recorded in 22.2% (18/89), and 74.2% (66/89) had had no previous biological therapies. Most of the patients were overweight or obese: 42.7% (38/89) and 31.5% (28/89) respectively. Only one case of an active smoker was

recorded, representing 1.1%. There were 42.7% (38/89) who had had some previous respiratory disease, 42.7% (38/89) with nasal polyps, 49.4% (44/89) with allergies, 39.3% (35/89) with gastroesophageal reflux disease (GERD), 18% (16/89) with sleep apnoea-hypopnoea syndrome (SAHS) and 15.7% (14/89) with chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

During the previous year, all the patients had required ICS, with a median of 500 [500–1000] µg/day, 73.9% (65/89) needed bursts of OCS, with a median of 2 [0–4] cycles and 6.7% (6/89) required maintenance OCS. Mean %FEV1 was 71.1 ± 23.7 , a median baseline blood eosinophil count of 655 [330–905] cells/µL was recorded and baseline IgE of 122.55 [30.25–179.75] IU/mL. There were 60.2% (53/89) who suffered at least one exacerbation during the year before the treatment and the median ACT score was 12.5 [9–15.8] points.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of patients treated with mepolizumab.

	N	n (%)
Age	89	55.8 ± 13.1
Sex	89	
Women		58 (65.2)
Men		31 (34.8)
BMI	89	
Underweight		4 (4.5)
Normal weight		19 (21.3)
Overweight		38 (42.7)
Obese		28 (31.5)
Tobacco consumption	89	
Non-smoker		74 (83.2)
Former smoker		14 (15.7)
Current smoker		1 (1.1)
Previous respiratory disease	89	
Yes		38 (42.7)
No		51 (57.3)
Polyps	89	
Yes		38 (42.7)
No		51 (57.3)
Allergies	89	
Yes		44 (49.4)
No		45 (50.6)
GERD	89	
Yes		35 (39.3)
No		54 (60.7)
SAHS	89	
Yes		16 (18)
No		73 (82)
COPD	89	
Yes		14 (15.7)
No		75 (84.3)
Years with EA	89	5 [3–10]
ICS (µg/day)	89	500 [500–1000]
Bursts of OCS per year	89	2 [0–4]
Yes		65 (73)
No		24 (27)
Bursts of OCS (Yes)	65	3 [2–5]
Maintenance OCS (mg/day)	89	0 [0–0]

Yes		6 (6.7)
No		83 (93.3)
Maintenance OCS (Yes)	6	11.3 [5.6-15]
Baseline %FEV1	85	71.1 ± 23.7
<80		60 (70.6)
>80		25 (29.4)
Baseline ACT	28	12.5[9–15.8]
Exacerbation in previous year	89	1 [0–2]
Yes		53 (60.2)
No		35 (39.8)
Exacerbation in previous year (Yes)	53	2 [1-3]
Baseline blood eosinophil count (cells/μL)	89	655 [330-905]
Baseline IgE (IU/mL)	54	112.6 [30.3–279.8]
Years with mepolizumab	89	2 [1–4]
Previous BT	89	
Yes		23 (25.8)
No		66 (74.2)
Change of BT	89	
Yes		18 (22.2)
No		71 (79.8)

BMI: body mass index; GERD: gastroesophageal reflux disease; SAHS: sleep apnoea-hypopnoea syndrome; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; EA: eosinophilic asthma; ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expiratory volume in the first second of forced expiration; ACT: asthma control test; IgE: immunoglobulin E; BT: biological therapy. ICS dose is expressed as μg/day fluticasone equivalents. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean ± standard deviation (SD). Quantitative variables with non-normal distribution are shown as p50 (p25–p75).

2.1.2. . Characteristics of patients treated with benralizumab

Table 2 describes the demographic and clinical characteristics of the 57 patients treated with benralizumab. Their mean age was 58.4 ± 4.3 years, with 64.9% women (37/57), a median duration of the disease of 7 [4–9] years, a median of 2 [1–3] years in treatment with benralizumab. They had a low rate of change of biological therapy, 8.8% (5/57), and 66.7% (38/57) had had some previous biological therapy. Most of the patients were overweight or obese: 33.3% (19/57) and 45.6% (26/57) respectively, 24.7% (14/57) were former smokers and there was only 1 active smoker (1.7%). A total of 45.6% (26/57) had had some previous respiratory disease, 38.6% (22/57) had nasal polyps, 61.4% (35/57) allergies, 40.4% (23/57) GERD, 17.5% (10/57) SAHS and 19.3% (11/57) COPD.

During the year before treatment with benralizumab all the patients had received ICS, with a median of 1000 [500–1000] μg/day, 87.7% (50/57) had required bursts of OCS, with a median of 2 [1–4] cycles and 8.8% (5/57) required maintenance OCS. Mean %FEV1 was 71.7 ± 22.52 a median baseline blood eosinophil count of 410 [230–570] cells/μL was recorded and baseline IgE of 137.7 [50–758] IU/mL. There were 45.6% (26/57) who suffered at least one exacerbation during the year before the treatment and the median ACT score was 13 [9.5–15.5] points.

Table 2. Demographic and clinical characteristics of patients treated with benralizumab.

	N	n (%)
Age	57	58.4 ± 14.3
Sex	57	
Women		37 (64.9)
Men		20 (35.1)
BMI	57	

Underweight		0 (0)
Normal weight		12 (21.1)
Overweight		19 (33.3)
Obese		26 (45.6)
Tobacco consumption	57	
Non-smoker		42 (73.7)
Former smoker		14 (24.6)
Current smoker		1 (1.7)
Previous respiratory disease	57	
Yes		26 (45.6)
No		31 (54.4)
Polyyps	57	
Yes		22 (38.6)
No		35 (61.4)
Allergies	57	
Yes		35 (61.4)
No		22 (38.6)
GERD	57	
Yes		23 (40.4)
No		34 (59.6)
SAHS	57	
Yes		10 (17.5)
No		47 (82.5)
COPD	57	
Yes		11 (19.3)
No		46 (80.7)
Years with EA	57	7 [4–9]
ICS (µg/day)	57	1000 [500–1000]
Bursts of OCS per year	57	2 [1–4]
Yes		50 (87.7)
No		7 (12.3)
Bursts of OCS per year (Yes)	50	3 [1.3–4]
Maintenance OCS (mg/day)	57	0 [0–0]
Yes		5 (8.8)
No		52 (91.2)
Maintenance OCS (Yes)	5	10 [10–15]
Baseline %FEV1	57	71.7 ± 22.5
<80		38 (66.7)
>80		19 (33.3)
Baseline ACT	27	13 [9.5–15.5]
Exacerbation in previous year	57	0 [0–1]
Yes		26 (45.6)
No		31 (54.4)
Exacerbation in previous year (Yes)	26	1 [1–2]
Baseline blood eosinophil count (cells/µL)	57	410 [230–570]
Baseline IgE (IU/mL)	45	137.7 [50–758]
Years with mepolizumab	57	2 [1–3]
Previous BT	57	
Yes		19 (33.3)
No		38 (66.7)

Change of BT	57
Yes	5 (8.8)
No	52 (91.2)

BMI: body mass index; GERD: gastroesophageal reflux disease; SAHS: sleep apnoea-hypopnoea syndrome; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; EA: eosinophilic asthma; ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expiratory volume in the first second of forced expiration; ACT: asthma control test; IgE: immunoglobulin E; BT: biological therapy. ICS dose is expressed as µg/day fluticasone equivalents. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean ± standard deviation (SD). Quantitative variables with non-normal distribution are shown as p50 (p25–p75).

2.2. Comparison of clinical variables before and after treatment

2.2.1. Daily dose of ICS

After 12 months of biological therapy, daily doses of ICS showed significant reductions of 50% for the benralizumab group ($p = 0.039$). No significant differences between the baseline and post-treatment doses were found in the mepolizumab group. The results of the comparative analysis are shown in Table 3.

Table 3. Changes in baseline variables after 12 months of biological therapy.

Independent variable	Biological therapy	
	Mepolizumab	Benralizumab
ICS dose (µg/day)		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	500 [500–1000]	1000 [500–1000]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	500 [250–1000]	500 [500–1000]
Change from baseline	$p = 0.218$	$p = 0.039$
Bursts of OCS (Yes/No)		
Baseline, n (%)	65 (73.9)	50 (87.7)
Follow-up, n (%)	40 (44.9)	23 (50.9)
Change from baseline	$p = 0.032$	$p < 0.001$
Bursts of OCS per year		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	2 [0–4]	2 [1–4]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0–2]	1 [0–2]
Change from baseline	$p < 0.001$	$p = 0.001$
Maintenance OCS (Yes/No)		
Baseline, n (%)	6 (6.7)	5 (8.8)
Follow-up, n (%)	3 (3.8)	8 (14)
Change from baseline	$p < 0.001$	$p = 0.377$
Maintenance dose of OCS per year		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0–0]	0 [0–0]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0–0]	0 [0–0]
Change from baseline	$p = 0.095$	$p = 0.734$
Patients with FEV1 > 80%		
Baseline, n (%)	17 (28.3)	19 (33.3)
Follow-up, n (%)	20 (40)	25 (50)
Change from baseline	$p = 0.058$	$p = 0.366$
FEV1 (%)		
Baseline, mean (SD)	71.1 ± 23.7	71.7 ± 22.3
Follow-up (SD)	81.4 ± 18	83 ± 24
Change from baseline	$p < 0.001$	$p < 0.001$
ACT		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	12.5 [9–15.8]	13 [9.5–15.5]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	22 [19–23]	22 [19–24]
Change from baseline	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Presence of exacerbations (Yes/No)		
Baseline, n (%)	53 (60.2)	26 (45.6)
Follow-up, n (%)	13 (14.6)	6 (10.5)
Change from baseline	$p = 0.001$	$p < 0.001$
Exacerbations per year		

Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	1 [0–2]	0 [0–1]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	0 [0–0]	0 [0–0]
Change from baseline	p < 0.001	p < 0.001
Blood eosinophils (cells/μL)		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	655 [330–905]	410 [230–570]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	80 [40–120]	10 [10–10]
Change from baseline	p < 0.001	p < 0.001
IgE (IU/mL)		
Baseline, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	112.6 [30.3–279.8]	137.7 [50–758]
Follow-up, p ₅₀ (p ₂₅ , p ₇₅)	79 [34.9–204.1]	136 [51–147]
Change from baseline	p = 0.015	p = 0.385

ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expiratory volume in the first second of forced expiration; ACT: asthma control test; IgE: immunoglobulin E. ICS dose is expressed as μ g/day fluticasone equivalents. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean \pm standard deviation (SD). Quantitative variables with non-normal distribution are shown as p₅₀ (p₂₅–p₇₅).

2.2.2. Bursts of OCS per year and maintenance OCS

During the year prior to starting biological therapy, high use of bursts of OCS was recorded among the patients in the study: 73.9% of the mepolizumab patients and 87.7% of those with benralizumab needed one or more cycles of OCS. After a year with mepolizumab, use of bursts of OCS had fallen significantly, by 38.5% (p < 0.032, Table 3, Figure 1), as had the median doses received per year (p < 0.001, Table 3, Figure 1). Patients being treated with benralizumab recorded a significant reduction of 54% in the requirement for bursts of OCS and the median doses of bursts of OCS per year also dropped significantly (p < 0.001, Table 3, Figure 1).

Prior to biologic therapy 6.7% of mepolizumab patients and 8.8% of benralizumab patients required maintenance OCS. After one year of mepolizumab treatment the patients requiring maintenance OCS was significantly reduced to 3.8% (p < 0.001, Table 3, Image 1). In contrast, maintenance OCS requirements in the benralizumab group of patients, after one year of treatment, increased to 14% (p = 0.734, Table 3, Figure 1). There were no significant changes in maintenance OCS doses in either treatment group after one year.

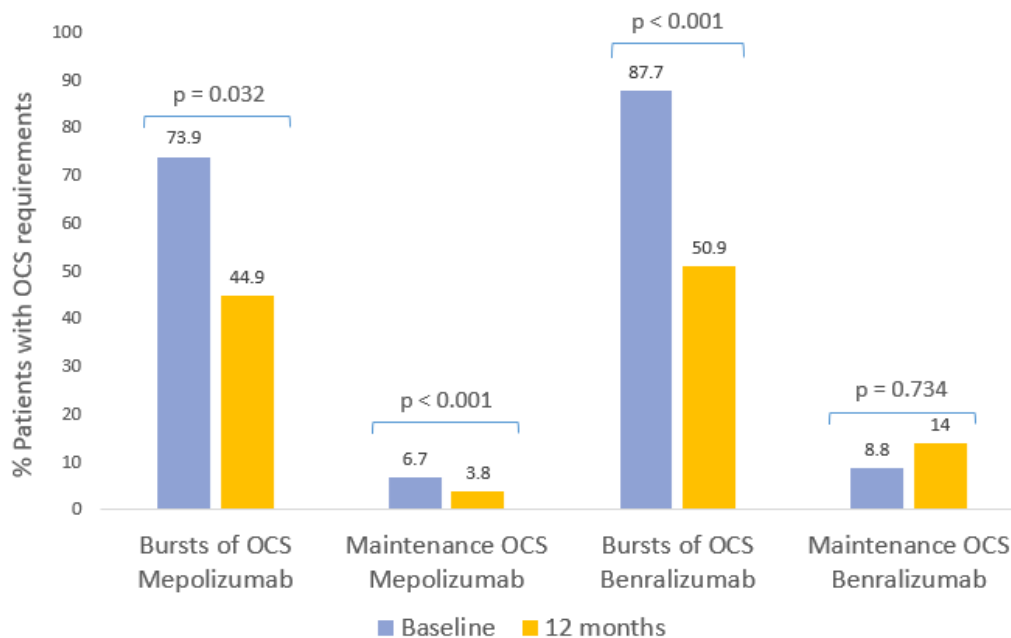


Figure 1. Clinical response to biological therapies: bursts of OCS and maintenance OCS. Patients with bursts of oral corticosteroid requirements and maintenance OCS during the 12 months prior to starting mepolizumab and benralizumab, and at the follow-up evaluation after 12 months of therapy.

2.2.3. Lung function

Lung function showed a significant improvement after 12 months of biological therapy (Figure 2). In mepolizumab an increase of 10.3% was observed in mean FEV1 ($p < 0.001$, Table 3) and 11.4% in benralizumab ($p < 0.001$, Table 3). Conversely, there were no statistically significant differences in the group of patients with FEV1 values greater than 80% for either of the two biological therapies.

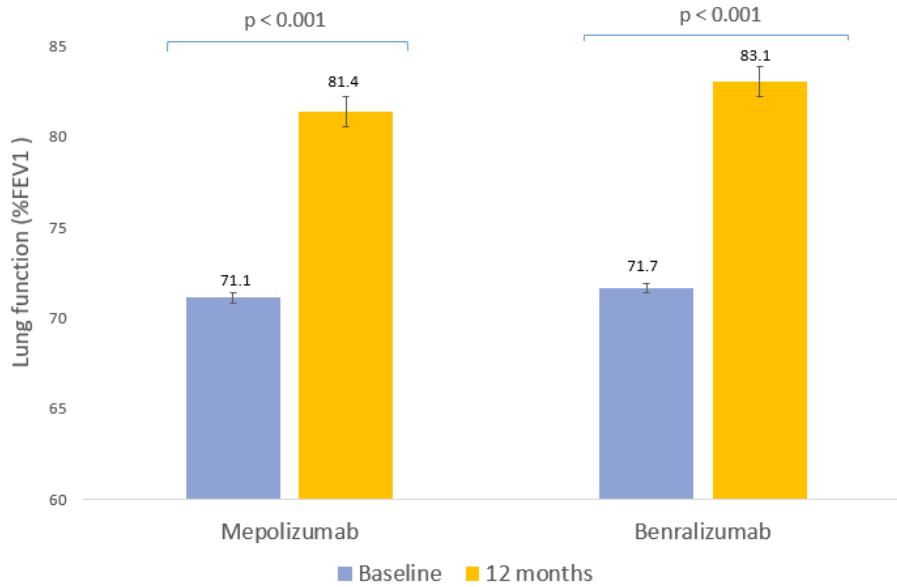


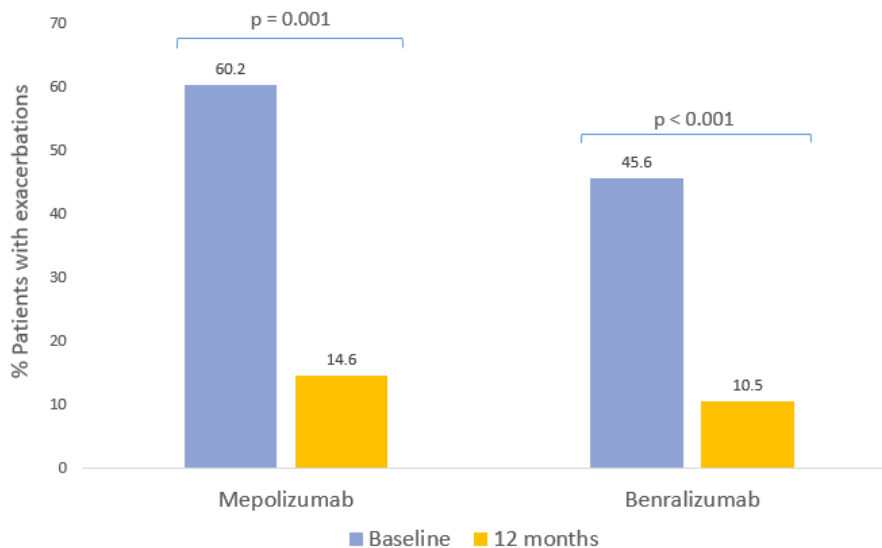
Figure 2. Clinical response to biological therapies: lung function. Mean percentage of peak forced expiratory volume in the first second of forced exhalation (FEV1) prior to biological therapy and after 12 months of therapy.

2.2.4. Asthma control test (ACT)

The changes in asthma control test scores were statistically significant in all cases. The patients showed an increase of 9.5 points after administration of mepolizumab (12.5 to 22; $p < 0.001$, Table 3) and of 9 points with benralizumab (13 to 22; $p < 0.001$, Table 3).

2.2.5. Frequency of severe exacerbations

The proportion of patients with exacerbations fell from 62.2% in the year prior to starting biological therapy to 14.6% with mepolizumab ($p = 0.001$, Table 3, Figure 3) and from 45.6% to



10.5% with benralizumab ($p < 0.001$, Table 3, Figure 3). A significant reduction occurred in the median number of exacerbations for both treatment groups ($p < 0.001$, Table 3).

Figure 3. Clinical response to biological therapies: exacerbations. Patients with at least one exacerbation in the 12 months prior to starting mepolizumab and benralizumab, and at follow-up evaluation after 12 months of therapy.

2.2.6. Inflammatory markers

Both biological therapies were associated with significant reductions in the blood eosinophil count (Figure 4). The median blood eosinophil count was reduced by 88% in the mepolizumab group ($p < 0.001$, Table 3) and by 98% in the benralizumab group ($p < 0.001$, Table 3).

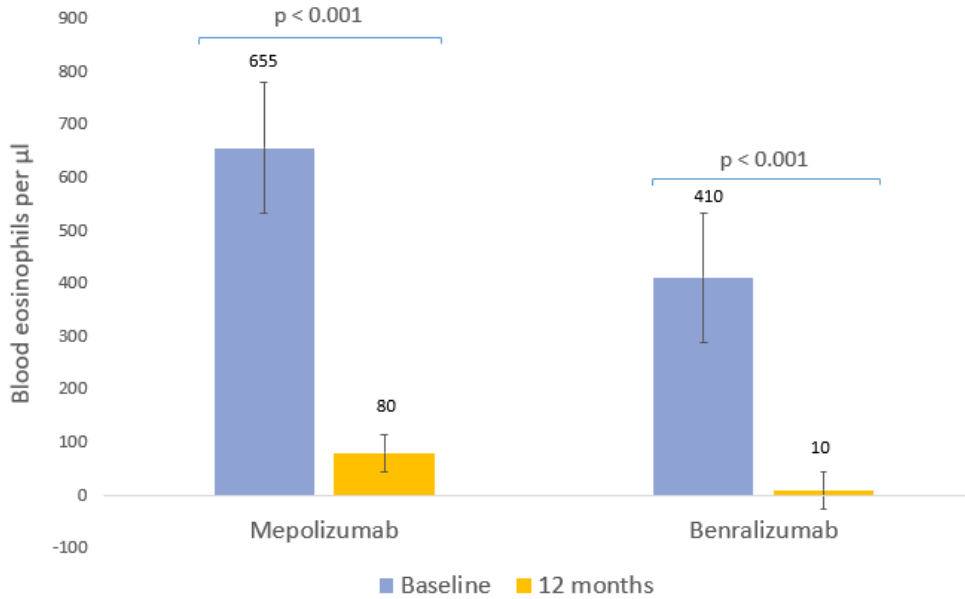


Figure 4. Clinical response to biological therapies: blood eosinophils. Median eosinophils prior to biological therapy and after 12 months of treatment.

2.3. Clinical effectiveness

2.3.1. Clinical effectiveness of mepolizumab

After 12 months of treatment with mepolizumab, a reduction of 50% or more in OCS bursts was achieved in 44.9% (40/89) of the patients and 22.5% (20/89) did not require cycles of OCS. 93.3% (83/89) did not require maintenance OCS and 4.5% (4/89) achieved a reduction of 50% or more in the maintenance dose. A total of 48.1% (38/79) of the patients responded satisfactorily, with an increase of at least 10% in FEV1, and 67.9% (55/81) obtained FEV1 values higher than 80%. The rate of exacerbations was reduced by at least 50% in 47.2% (42/89) of cases and 41.6% (37/89) suffered no exacerbation during the follow-up period. The results are shown in Table 4.

Table 4. Clinical effectiveness of mepolizumab in patients with severe uncontrolled asthma.

Response definition	n	%
Bursts OCS reduction \geq 50%		
Yes	40	44.9
No	29	32.6
No OCS	20	22.5
Bursts OCS reduction \geq 50% or absence		
Yes	60	67.4
No	29	32.6
Maintenance OCS reduction \geq 50%		

Yes	4	4.5
No	2	2.2
No maintenance OCS	83	93.3
Maintenance OCS reduction \geq 50% or absence		
Yes	87	97.8
No	2	2.2
FEV1 increase \geq 10%		
Yes	38	48.1
No	41	51.9
FEV1 increase \geq 10% or FEV1 \geq 80%		
Yes	55	67.9
No	26	32.1
Exacerbation reduction \geq 50%		
Yes	42	47.2
No	10	11.2
No exacerbations	37	41.6
Exacerbation reduction \geq 50% or absence		
Yes	79	88.8
No	10	11.2

OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expired volume in the first second of forced expiration.

2.3.2. Clinical effectiveness of benralizumab

Use of benralizumab for 12 months resulted in a reduction in OCS bursts of 50% or more in 50.9% (29/57) of cases and 10.5% (6/57) did not need cycles of OCS. 85.9% (49/57) did not require maintenance OCS and 5.3% (3/57) achieved a reduction of 50% or more in the maintenance dose. FEV1 (%) increased by at least 10% in 52.1% (25/48) of the patients and 71.4% (35/49) achieved values of more than 80%. The rate of exacerbations showed a reduction of at least 50% in 42.1% (24/57) of the patients and 52.6% suffered no exacerbation requiring emergency department treatment and/or hospitalization. The results are shown in Table 5.

Table 5. Clinical effectiveness of benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma.

Response definition	n	%
Bursts OCS reduction \geq 50%		
Yes	29	50.9
No	22	38.6
No OCS	6	10.5
Bursts OCS reduction \geq 50% or absence		
Yes	35	61.4
No	22	38.6
Maintenance OCS reduction \geq 50%		
Yes	3	5.3
No	5	8.8
No maintenance OCS	49	85.9
Maintenance OCS reduction \geq 50% or absence		
Yes	52	91.2
No	5	8.8
FEV1 increase \geq 10%		
Yes	25	52.1
No	23	47.9

FEV1 increase \geq 10% or FEV1 \geq 80%		
Yes	35	71.4
No	14	28.6
Exacerbation reduction \geq 50%		
Yes	24	42.1
No	3	5.3
No exacerbations	30	52.6
Exacerbation reduction \geq 50% or absence		
Yes	54	94.7
No	3	5.3

OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expired volume in the first second of forced expiration

2.4. Predictors of response at 12 months

2.4.1. Predictors of response at 12 months with mepolizumab

2.4.1.1. Response to reduction of oral corticosteroids bursts (OCS)

The bivariate analysis showed a satisfactory response associated with lower initial ICS values, absence of OCS bursts during the year prior to mepolizumab, and lower number or absence of exacerbations (the values are shown in detail in Table S1). After the multivariate analysis was performed it was found that lower initial ICS values (OR = 0.99; 95% CI = 0.99–0.99) and fewer exacerbations in the previous year (OR = 0.47; 95% CI = 0.33–0.70) were significantly associated with a better therapeutic response. The results of the multivariate analysis are shown in Table 6.

Table 6. Predictors of response after 12 months of treatment with mepolizumab in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	B	Odds ratio	p-value	95% CI
OCS bursts reduction predictors				
ICS dose	-0.0015	0.99	0.037	0.99–0.99
Exacerbation in previous year	-0.6993	0.47	<0.001	0.33–0.70
Maintenance OCS reduction predictors				
Maintenance OCS (mg/day)	-0.3095	0.73	0.008	0.55–0.91
Lung function improvement predictors				
SAHS (No)	2.6701	14.44	0.013	2.05–146.15
FEV1	-0.1127	0.89	<0.001	0.84–0.93
Exacerbation reduction predictors				
Absence of exacerbations in the previous year	-1.939	0.14	0.041	0.01–0.82

OCS: oral corticosteroids; ICS: inhaled corticosteroids; SAHS: sleep apnoea-hypopnoea syndrome; FEV1: maximum expired volume in the first second of forced expiration; 95% CI: 95% confidence interval.

2.4.1.2. Response to reduction oral corticosteroid maintenance (OCS)

The bivariate analysis showed a satisfactory response associated with lower baseline OCS doses of maintenance or absence of maintenance OCS, previous FEV1 values $<$ 80% and fewer exacerbations in the previous year (values are shown in detail in table S2). Multivariate analysis showed that lower doses of maintenance OCS indicated a better therapeutic response (OR=0.73; 95% CI=0.55-0.91; Table 6).

2.4.1.3. Response to improvement in lung function (FEV1)

In the bivariate analysis a greater improvement in lung function was found in patients who were older at the start of biological therapy, with no SAHS and lower initial FEV1 values (the values are shown in detail in Table S3). In the multivariate analysis a significant association was found with the absence of SAHS (OR = 14.44; 95% CI = 2.05–146.15; Table 6) and lower initial FEV1 values (OR = 0.89; 95% CI = 0.84–0.93; Table 6).

2.4.1.4. Response to reduction of exacerbations

In the bivariate analysis a greater reduction of exacerbations was associated with the absence of exacerbations in the year prior to the biological therapy and patients who had not received previous biological therapies (the values are shown in detail in Table S4). In the multivariate analysis the response was greater in patients who had had no exacerbations in the year prior to the biological therapy (OR = 0.14; 95% CI = 0.01–0.82; Table 6).

2.4.2. Predictors of response at 12 months with benralizumab

2.4.2.1. Response to reduction of oral corticosteroids bursts (OCS)

In the bivariate analysis a satisfactory reduction of bursts of OCS was related to absence of COPD, fewer OCS bursts in the year prior to benralizumab and higher initial blood eosinophil levels. A significant association was also found with the patient's sex, specifically with women (the values are shown in detail in Table S5). After the multivariate analysis was performed a significant association was found with fewer OCS bursts during the year prior to biological therapy (OR = 0.74; 95% CI = 0.52–0.93), higher blood eosinophil levels (OR = 1.004; 95% CI = 1–1.01) and women (OR = 5.20; 95% CI = 1.34–23.58). The results of the multivariate analysis are shown in detail in Table 7.

Table 7. Predictors of response after 12 months of treatment with benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	B	Odds ratio	p-value	95% CI
OCS bursts reduction predictors				
Bursts of OCS per year	-0.3049	0.74	0.028	0.52–0.93
Eosinophils	0.0036	1.01	0.019	1.00–1.01
Sex (Female)	1.6486	5.20	0.002	1.34–23.58
Maintenance OCS reduction predictors				
Bursts of OCS per year	-0.3436	0.71	0.016	0.50-0.92
FEV1	-0.0649	0.94	0.05	0.87-0.99
Lung function improvement predictors				
FEV1	-0.0453	0.96	0.007	0.92–0.98
Exacerbation reduction predictors				
Tobacco consumption (Non-smoker)	-1.939	2.89	0.011	1.89–4.30

OCS: oral corticosteroids; FEV1: maximum expired volume in the first second of forced expiration; 95% CI: 95% confidence interval.

2.4.2.2. Response to reduction oral corticosteroid maintenance (OCS).

In the bivariate analysis an association was found between successful response and lower OCS bursts in the previous year, lower baseline FEV1 values and no maintenance OCS (values can be found in detail in table S6). In multivariate analysis, lower baseline FEV1 values (OR=0.94; 95% CI=0.87-0.99; Table 7) and fewer OCS bursts (OR=0.71; 95% CI=0.50-0.92; Table 7) were associated as predictors of reduced maintenance OCS.

2.4.2.3. Response to lung function (FEV1)

In the bivariate and multivariate analysis an association was found between improvement of lung function after 12 months of treatment with benralizumab and lower initial FEV1 values (OR = 0.96; 95% CI = 0.92–0.98; Table 7). The bivariate analysis values are shown in detail in Table S7.

2.4.2.4. Response to reduction of exacerbations

The bivariate analysis showed a statistically significant association between the reduction of exacerbations and patients who were non-smokers (the values can be found in detail in Table S8). In the multivariate analysis the association remained significant (OR = 2.89; 95% CI = 1.89–4.30; Table 7).

3. Discussion

Several RCTs have demonstrated that mepolizumab and benralizumab are safe and effective in patients with severe uncontrolled asthma [35,38-41]. However, real-life data may differ from those obtained from RCTs because of the emphasis on internal validity due to standardization and control protocols that may compromise external validity and therefore extrapolation of results. Real-life studies provide complementary information to RCTs, which supports clinical decision driving to a better comprehension of the effectiveness of the drug in real clinical practice conditions and to achieve a more personalized approach.

In the study we conducted we found that mepolizumab treatment in severe uncontrolled asthma was very effective, significantly reducing OCS bursts per year, maintenance OCS, blood eosinophil levels, IgE, and annual rate of exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization. The reduction in IgE levels was significant, however, as expected, it was not a biomarker of response for this anti-IL5 therapy. A significant improvement in asthma control occurred, with increases in ACT questionnaire scores and FEV1. The MENSA and MUSCA clinical trials showed a clinically significant reduction in exacerbation rates by 53% and 58% ($p < 0.001$), respectively [38,39]. In our study, annual bursts of OCS are a proxy for the overall exacerbation rate and were significantly reduced by 38.5%. The rate of exacerbations requiring emergency or hospitalization in the MENSA study were reduced by 61% and FEV1 was significantly improved ($p = 0.03$) [38]. The results of our study resemble these data, with a 74% reduction in exacerbations requiring emergency or hospitalization and a significant improvement in mean FEV1 of 10.3%. Real-life studies also reported improvements in lung function, asthma control, reduced the usage of OCS bursts and maintenance OCS, and decreased eosinophil counts and exacerbations [29,31,42-47]. Among these studies we found a systematic review by Israel E. et al. (2021) reflecting similar results in both prospective and retrospective studies [42]. Consistent with our results the retrospective studies included in the review showed significant reductions of 54% to 94% ($p < 0.001$ and $p = 0.0012$, respectively) in OCS bursts; reductions of 55% ($p < 0.001$) in exacerbations requiring emergency or hospitalization. The 73% ($p = 0.004$) and 83% (p values not reported) showed reductions in the rate of exacerbations requiring hospitalization; 27% to 84% had discontinued maintenance OCS and from 32% to 100% had reduced the initial maintenance dose ($p < 0.001$); lung function improved by 3% to 8% ($p < 0.05$); reductions in blood eosinophilic counts from 69% to 92% ($p < 0.05$); and changes in ACT from 5 to 8 points [42]. However, there are studies in which an improvement in lung function was not achieved, which may be due to the difference in population, history of smoking or smaller sample size [45-47].

The markers significantly associated with the corticosteroid-saving effect were the absence of exacerbations and lower ICS levels; the improvement in lung function was related to low initial FEV1 percentages and absence of SAHS, and the absence of exacerbations during the year prior to treatment was associated with a positive response to the reduction in exacerbations. Previous studies relate high eosinophil levels to a greater treatment response with mepolizumab [48,49]; these studies are not comparable with our results since they evaluate the overall response to treatment.

After 12 months of treatment with benralizumab, very promising results were reported, with substantial reductions in OCS bursts, blood eosinophils and number of exacerbations requiring emergency care or hospitalization. Moreover, lung function and ACT score experienced significant improvements. The results presented are in accordance with the RCTs: ZONDA, SIROCO and CALIMA. In our study, a significant reduction of exacerbations requiring emergency or hospitalization of 77% was observed, while the SIROCO and CALIMA studies reflect reductions of 42% and 36% ($p < 0.001$), respectively. Clearly, the reduction is greater in our study, which may be due to the greater severity of the patients included in the randomized trials. Our results reflect a 77% reduction in the rate of exacerbations, similar to the ZONDA study where reductions of 70% ($p < 0.001$) are reflected. Real-life studies in recent years are in line with our investigation [50-53]. Among these studies, a recent systematic review and meta-analysis conducted by Charles, D. et al. (2022), shows that benralizumab produces significant changes in the annual rate of exacerbations and FEV1 percentage, significant improvement in asthma symptoms measured by ACT and a decrease in blood eosinophilia [32].

Benralizumab was associated with a greater OCS saving in women, patients with higher baseline eosinophil levels and fewer OCS cycles during the previous year. As in the case of previous biological therapies, the improvement in lung function was associated with lower initial FEV1 levels, and greater reduction in exacerbations with never-smoking patient profiles. The main real-life study that reports response markers relates the absence of exacerbations and OCS to a strongly eosinophilic phenotype and lesser severity of the disease [54]. These markers are consistent with those obtained in our study for the absence or reduction of OCS after 12 months of biologic therapy with benralizumab. However, the markers do not resemble those obtained in our study for reduction of exacerbations and improvement in lung function. This may be because these authors analysed total treatment response and did not distinguish between OCS reduction, exacerbations reductions and lung function improvement as in our study.

It is worth emphasizing that we did not find statistically significant differences after 12 months of treatment in the group of patients with FEV1 greater than 80% for any of the two biological therapies, which suggests that they improve lung function, but that in most cases they do not reach values higher than 80% of FEV1 after the first year of treatment.

The main limitation of this study, like all real-life investigations, is the lack of a placebo control group. Its absence means that the magnitude of the results observed lacks the firmness of comparison with a control group. In addition, it has limitations inherent to a retrospective data collection, such as the lack of relevant values for some patients such as ACT and baseline spirometry, the sample size and the impossibility of extending the study with other anti-IL5 therapies such as reslizumab, due to the lack of patients in the hospital with this treatment. However, real-life studies contribute extensive knowledge of biological therapies and enable the findings to be implemented in clinical practice.

4. Materials and Methods

We conducted a real-life retrospective observational cohort study.

4.1. Study population

This study included 172 patients over the age of 18 years of Caucasian origin diagnosed with SUA according to the criteria of the Spanish Asthma Management Guidelines (GEMA 5.1), recruited in the Respiratory Medicine Department of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves in Granada (Spain) between April 2014 and April 2022. Of the 172 patients, 103 were candidates for mepolizumab and 69 for benralizumab (Figure 5). Of the 103 patients mepolizumab candidates for inclusion in the study, the effectiveness of mepolizumab was finally evaluated in 89 (86.4%) patients. A total of 8.7% (9/103) of the patients did not complete the 12 months of treatment with mepolizumab, in 3.9% (4/103) one of the essential clinical variables was not evaluated and 1% (1/103) had an adverse event. The response was evaluated in 57 (82.6%) patients out of the 69 candidates for participation in the benralizumab study. Of the latter, 15.9% (11/69) had not completed 12 months of treatment when the data were collected and 1.4% (1/69) had no evaluation for one of the essential variables for the study. The administration route of the drug was subcutaneous: 100 mg de mepolizumab every 4 weeks and 30 mg of benralizumab every 4 weeks for the first 3 doses and subsequently every 8 weeks [55,56]. The remaining patients did not meet the study's evaluation criteria.

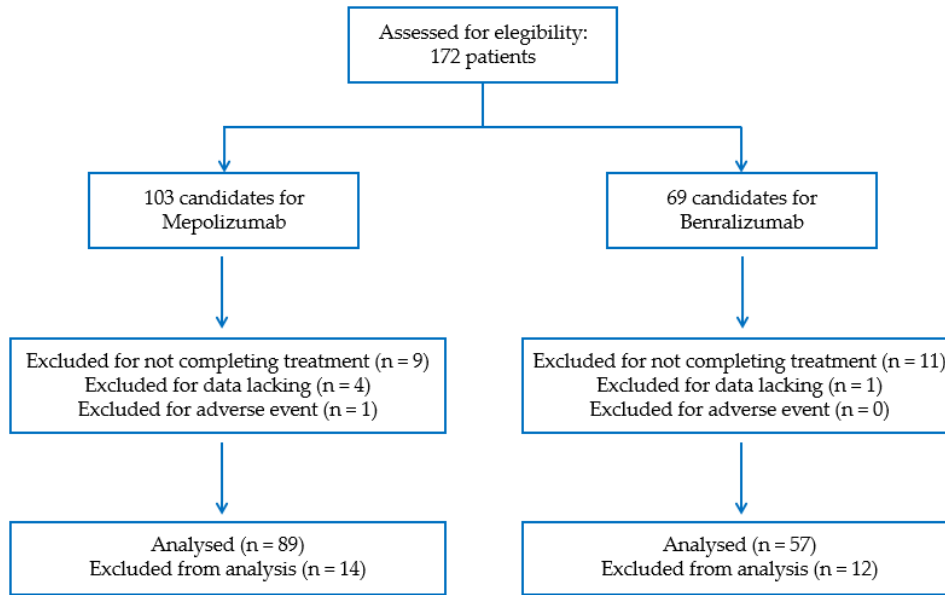


Figure 5. Patient eligibility criteria.

4.2. *Socio-demographic and clinical variables*

The socio-demographic variables included age, sex, body mass index (BMI), smoking status, years with the disease, nasal polyps, previous respiratory disease, allergies, gastroesophageal reflux disease (GERD), sleep apnoea-hypopnoea syndrome (SAHS), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), years with the treatment, treatment dose and change to another monoclonal antibody therapy. Individuals were classified as non-smokers if they had never smoked or had smoked fewer than 100 cigarettes in their lives, as former smokers if they had smoked 100 or more cigarettes in their lives but did not currently smoke, and as current smokers. For BMI, following WHO criteria, individuals were classified as underweight (BMI < 18.5), healthy weight (18.5 < BMI < 24.9), overweight (25 < BMI < 29.9), obese (BMI > 30) [57].

The clinical variables were collected according to the year before starting treatment with the biological therapy and after completing the first year of treatment. They included ICS maintenance doses expressed as fluticasone propionate µg equivalents, OCS bursts required in the follow-up period and maintenance OCS doses expressed as mg prednisone equivalents [58], blood eosinophil count, exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization with OCS for at least 3 days, IgE, lung function as percentage forced expiratory volume in the first second (%FEV1) and asthma control test (ACT) [59].

4.3. *Statistical analysis*

The quantitative variables were expressed as mean (\pm standard deviation) for those that complied with normality and as median and percentiles (25 and 75) for those that did not follow a normal distribution. Normality was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test.

The clinical variables responsible for the response were compared before and after treatment using the McNemar test for qualitative variables. For quantitative variables that complied with normality we used the t test for paired data and the Mann-Whitney U test (Wilcoxon rank sum test) for non-normal variables. The results were considered significant when the p value was less than 0.05.

To evaluate the predictors of response at 12 months, the following were taken as response variables: reduction of bursts of OCS per year, considering a reduction of at least 50% in the bursts or absence of OCS bursts as a satisfactory response; reduction of maintenance OCS, considering a reduction of at least 50% in the maintenance OCS or absence as a satisfactory response; improvement of lung function, considering those that achieved an increase of at least 10% in FEV1 after 12 months' treatment as responsive; and reduction of exacerbations per year requiring

emergency department treatment and/or hospitalization, taking a reduction of at least 50% or absence of exacerbations as a satisfactory response. The bivariate analysis between the response and socio-demographic and clinical variables was performed using Pearson's chi-squared test or applying Fisher's exact test for the qualitative variables. For the quantitative variables, Student's t-test was applied to the variables that complied with normality. The Mann–Whitney U test was applied for non-normal variables. A multivariate (logistic regression) analysis was used to calculate the adjusted odds ratio (OR) and the 95% confidence interval (CI) for the possible prognostic factors of response to OCS bursts, maintenance OCS, lung function and exacerbations. All the variables that were significant in the bivariate analysis were included in the model for the multivariate analysis. In the multivariate analysis, all variables that were not significant were eliminated, thus obtaining the final model for each type of response. All the tests were 2-sided, with a probability of 0.05 or less considered statistically significant and were performed with the R 4.2.0 free software.

5. Conclusions

The efficacy and safety of biological therapies have been extensively studied and demonstrated in controlled clinical trials, but the results reported by this real-life study are very promising. We show how mepolizumab and benralizumab significantly improve lung function and reduce and/or prevent the presence of exacerbations and the use of oral corticosteroids in a large proportion of patients. Moreover, the search for predictive factors of response to biological therapies in real life may provide information for decisions on their clinical management. We can therefore conclude that the biological therapies studied have had a great impact on the quality of life of patients with severe uncontrolled asthma and the associated healthcare burden.

Supplementary Materials: Table S1: Predictors of oral corticosteroid reduction at 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S2: Predictors of reduction in maintenance oral corticosteroids at 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S3: Predictors of lung function improvement at 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S4: Predictors of exacerbation reduction at 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S5: Predictors of oral corticosteroid reduction at 12 months of benralizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S6: Predictors of reduction in maintenance oral corticosteroids at 12 months of benralizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S7: Predictors of lung function improvement at 12 months of benralizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis); Table S8: Predictors of exacerbation reduction at 12 months of benralizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (bivariate analysis).

Author Contributions: S.R.T. and C.P.R. conceived and designed the experiments; S.R.T. performed the experiments; S.R.T. collected samples; S.R.T. and C.P.R. analyzed the data; M.V.G.G., J.A.S.M. and G.J.G. contributed materials and analysis tools; S.R.T. prepared the original draft; C.P.R., M.V.G.G., G.J.G., L.E.P.L., J.M.G.N. and S.R.T. reviewed and edited the draft; S.R.T., C.P.R., and C.M.G. reviewed the analysis and interpretation; A.J.M. and C.M.G. supervised funding acquisition. All the authors participated in critically reviewing the manuscript and improving its intellectual content. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding: ERDF funds (EU) from the Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) supported by co-funding grants from the Biobank of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics and Research Committee of the Sistema Andaluz de Salud (code: 1313-N-20).

Informed Consent Statement: All subjects involved in the study signed the written informed consent form.

Acknowledgments: The results of this study are part of the doctoral thesis presented by Susana Rojo Tolosa at the University of Granada.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. GEMA 5.2. Guía Española para el Manejo del Asma; Luzán 5 Health Consulting, S.A.: Madrid, 2020; ISBN 978-84-17372-97-2
2. Global Initiative for Asthma Management and Prevention (GINA 2022); 2022.
3. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators Global Burden of 369 Diseases and Injuries in 204 Countries and Territories, 1990-2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* **2020**, *396*, 1204–1222, doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
4. Chung, K.F.; Wenzel, S.E.; Brozek, J.L.; Bush, A.; Castro, M.; Sterk, P.J.; Adcock, I.M.; Bateman, E.D.; Bel, E.H.; Bleecker, E.R.; et al. International ERS/ATS Guidelines on Definition, Evaluation and Treatment of Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2014**, *43*, 343–373, doi:10.1183/09031936.00202013.
5. Côté, A.; Godbout, K.; Boulet, L.P. The Management of Severe Asthma in 2020. *Biochem. Pharmacol.* **2020**, *179*, 114112, doi:10.1016/J.BCP.2020.114112.
6. Abraham, B.; Antó, J.M.; Barreiro, E.; Bel, E.H.D.; Bonsignore, G.; Bousquet, J.; Castellsague, J.; Chanez, P.; Cibella, F.; Cuttitta, G.; et al. The ENFUMOSA Cross-Sectional European Multicentre Study of the Clinical Phenotype of Chronic Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2003**, *22*, 470–477, doi:10.1183/09031936.03.00261903.
7. Moore, W.C.; Bleecker, E.R.; Curran-Everett, D.; Erzurum, S.C.; Ameredes, B.T.; Bacharier, L.; Calhoun, W.J.; Castro, M.; Chung, K.F.; Clark, M.P.; et al. Characterization of the Severe Asthma Phenotype by the National Heart, Lung, and Blood Institute’s Severe Asthma Research Program. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2007**, *119*, 405–413, doi:10.1016/j.jaci.2006.11.639.
8. Heaney, L.G.; Brightling, C.E.; Menzies-Gow, A.; Stevenson, M.; Niven, R.M. Refractory Asthma in the UK: Cross-Sectional Findings from a UK Multicentre Registry. *Thorax* **2010**, *65*, 787–794, doi:10.1136/thx.2010.137414.
9. Lieberman, P.; Patterson, R.; Kunske, R. Complications of Long-Term Steroid Therapy for Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1972**, *49*, 329–336, doi:10.1016/0091-6749(72)90131-5.
10. Schäcke, H.; Döcke, W.D.; Asadullah, K. Mechanisms Involved in the Side Effects of Glucocorticoids. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *96*, 23–43, doi:10.1016/S0163-7258(02)00297-8.
11. FitzGerald, J.M.; Gibson, P.G. Asthma Exacerbations {middle Dot} 4: Prevention. *Thorax* **2006**, *61*, 992–999, doi:10.1136/thx.2005.045195.
12. Pizzichini, E.; Pizzichini, M.M.M.; Efthimiadis, A.; Dolovich, J.; Hargreave, F.E. Measuring Airway Inflammation in Asthma: Eosinophils and Eosinophilic Cationic Protein in Induced Sputum Compared with Peripheral Blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* **1997**, *99*, 539–544, doi:10.1016/S0091-6749(97)70082-4.
13. Jatakanon, A.; Lim, S.; Barnes, P.J. Changes in Sputum Eosinophils Predict Loss of Asthma Control. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 64–72, doi:10.1164/ajrccm.161.1.9809100.
14. Jatakanon, A.; Kharitonov, S.; Lim, S.; Barnes, P.J. Effect of Differing Doses of Inhaled Budesonide on Markers of Airway Inflammation in Patients with Mild Asthma. *Thorax* **1999**, *54*, 108–114, doi:10.1136/thx.54.2.108.
15. Green, R.H.; Brightling, C.E.; McKenna, S.; Hargadon, B.; Parker, D.; Bradding, P.; Wardlaw, A.J.; Pavord, I.D. Asthma Exacerbations and Sputum Eosinophil Counts: A Randomised Controlled Trial. *Lancet* **2002**, *360*, 1715–1721, doi:10.1016/S0140-6736(02)11679-5.
16. Pavord, I.D.; Brightling, C.E.; Woltmann, G.; Wardlaw, A.J. Non-Eosinophilic Corticosteroid Unresponsive Asthma. *Lancet* **1999**, *353*, 2213–2214, doi:10.1016/S0140-6736(99)01813-9.
17. Pizzichini, E.; Leff, J.A.; Reiss, T.F.; Hendeles, L.; Boulet, L.-P.; Wei, L.X.; Efthimiadis, A.E.; Zhang, J.; Hargreave, F.E. Montelukast Reduces Airway Eosinophilic Inflammation in Asthma: A Randomized, Controlled Trial. *Eur. Respir. J.* **1999**, *14*, 12, doi:10.1034/j.1399-3003.1999.14a04.x.
18. ten Brinke, A.; Sterk, P.J.; Masclee, A.A.M.; Spinhoven, P.; Schmidt, J.T.; Zwinderman, A.H.; Rabe, K.F.; Bel, E.H. Risk Factors of Frequent Exacerbations in Difficult-to-Treat Asthma. *Eur. Respir. J.* **2005**, *26*, 812–818, doi:10.1183/09031936.05.00037905.
19. Custovic, A.; Johnston, S.L.; Pavord, I.; Gaga, M.; Fabbri, L.; Bel, E.H.; Le Souëf, P.; Lötvall, J.; Demoly, P.; Akdis, C.A.; et al. EAACI Position Statement on Asthma Exacerbations and Severe Asthma. *Allergy* **2013**, *68*, 1520–1531, doi:10.1111/all.12275.
20. Bousquet, J.; Jeffery, P.K.; Busse, W.W.; Johnson, M.; Vignola, A.M. Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, 1720–1745, doi:10.1164/ajrccm.161.5.9903102.

21. Hoskins, G.; McCowan, C.; Neville, R.G.; Thomas, G.E.; Smith, B.; Silverman, S. Risk Factors and Costs Associated with an Asthma Attack. *Thorax* **2000**, *55*, 19–24, doi:10.1136/thorax.55.1.19.
22. Lane, S.; Molina, J.; Plusa, T. An International Observational Prospective Study to Determine the Cost of Asthma Exacerbations (COAX). *Respir. Med.* **2006**, *100*, 434–450, doi:10.1016/j.rmed.2005.06.012
23. Jackson, D.J.; Korn, S.; Mathur, S.K.; Barker, P.; Meka, V.G.; Martin, U.J.; Zangrilli, J.G. Safety of Eosinophil-Depleting Therapy for Severe, Eosinophilic Asthma: Focus on Benralizumab. *Drug Saf.* **2020**, *43*, 409–425, doi:10.1007/s40264-020-00926-3.
24. Cushen, B.; Menzies-Gow, A. Benralizumab: An Updated Treatment of Eosinophilic Asthma. *Expert. Rev. Respir. Med.* **2020**, *14*, 435–444, doi:10.1080/17476348.2020.1739526.
25. Flood-Page, P.; Menzies-Gow, A.; Phipps, S.; Ying, S.; Wangoo, A.; Ludwig, M.S.; Barnes, N.; Robinson, D.; Kay, A.B. Anti-IL-5 Treatment Reduces Deposition of ECM Proteins in the Bronchial Subepithelial Basement Membrane of Mild Atopic Asthmatics. *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 1029–1036, doi:10.1172/JCI17974.
26. Menzies-Gow, A.; Flood-Page, P.; Sehmi, R.; Burman, J.; Hamid, Q.; Robinson, D.S.; Kay, A.B.; Denburg, J. Anti-IL-5 (Mepolizumab) Therapy Induces Bone Marrow Eosinophil Maturational Arrest and Decreases Eosinophil Progenitors in the Bronchial Mucosa of Atopic Asthmatics. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2003**, *111*, 714–719, doi:10.1067/mai.2003.1382.
27. Leckie, M.J.; Brinke, A. ten; Khan, J.; Diamant, Z.; O'Connor, B.J.; Walls, C.M.; Mathur, A.K.; Cowley, H.C.; Chung, K.F.; Djukanovic, R.; et al. Effects of an Interleukin-5 Blocking Monoclonal Antibody on Eosinophils, Airway Hyper-Responsiveness, and the Late Asthmatic Response. *Lancet* **2000**, *356*, 2144–2148, doi:10.1016/S0140-6736(00)03496-6.
28. Travers, J.; Marsh, S.; Williams, M.; Weatherall, M.; Caldwell, B.; Shirtcliffe, P.; Aldington, S.; Beasley, R. External Validity of Randomised Controlled Trials in Asthma: To Whom Do the Results of the Trials Apply? *Thorax* **2007**, *62*, 219, doi:10.1136/thx.2006.066837.
29. Padilla-Galo, A.; Levy-Abitbol, R.; Olveira, C.; Valencia Azcona, B.; Pérez Morales, M.; Rivas-Ruiz, F.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; Levy-Naon, A. Real-Life Experience with Benralizumab during 6 Months. *BMC Pulm. Med.* **2020**, *20*, doi:10.1186/S12890-020-01220-9.
30. Kavanagh, J.E.; d'Ancona, G.; Elstad, M.; Green, L.; Fernandes, M.; Thomson, L.; Roxas, C.; Dhariwal, J.; Nanzer, A.M.; Kent, B.D.; et al. Real-World Effectiveness and the Characteristics of a 'Super-Responder' to Mepolizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *Chest* **2020**, *158*, 491–500, doi:10.1016/j.chest.2020.03.042.
31. Domingo Ribas, C.; Carrillo Díaz, T.; Blanco Aparicio, M.; Martínez Moragón, E.; Banas Conejero, D.; Sánchez Herrero, M.G.; Muñoz, M.; Cabrerizo, H.; Valero, A.; Arismendi, E.; et al. Real World Effectiveness and Safety of Mepolizumab in a Multicentric Spanish Cohort of Asthma Patients Stratified by Eosinophils: The REDES Study. *Drugs* **2021**, *81*, 1763, doi:10.1007/S40265-021-01597-9.
32. Charles, D.; Shanley, J.; Temple, S.N.; Rattu, A.; Khaleva, E.; Roberts, G. Real-world Efficacy of Treatment with Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab and Reslizumab for Severe Asthma: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Exp. Allergy* **2022**, *52*, 616, doi:10.1111/cea.14112.
33. Harvey, E.S.; Langton, D.; Katelaris, C.; Stevens, S.; Farah, C.S.; Gillman, A.; Harrington, J.; Hew, M.; Kritikos, V.; Radhakrishna, N.; et al. Mepolizumab Effectiveness and Identification of Super-Responders in Severe Asthma. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, doi:10.1183/13993003.02420-2019.
34. Harrison, T.W.; Chanez, P.; Menzella, F.; Canonica, G.W.; Louis, R.; Cosio, B.G.; Lugogo, N.L.; Mohan, A.; Burden, A.; McDermott, L.; et al. Onset of Effect and Impact on Health-Related Quality of Life, Exacerbation Rate, Lung Function, and Nasal Polyposis Symptoms for Patients with Severe Eosinophilic Asthma Treated with Benralizumab (ANDHI): A Randomised, Controlled, Phase 3b Trial. *Lancet Respir. Med.* **2021**, *9*, 260–274, doi:10.1016/S2213-2600(20)30414-8.
35. Nair, P.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Bourdin, A.; Lugogo, N.L.; Kuna, P.; Barker, P.; Sproule, S.; Ponnarambil, S.; Goldman, M.; et al. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Benralizumab in Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *376*, 2448–2458, doi:10.1056/nejmoa1703501.
36. Agache, I.; Rocha, C.; Beltran, J.; Song, Y.; Posso, M.; Solà, I.; Alonso-Coello, P.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canonica, G.W.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab and Omalizumab) for Severe Allergic Asthma: A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1043–1057, doi:10.1111/all.14235.
37. Agache, I.; Beltran, J.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canelo-Aybar, C.; Canonica, G.W.; Casale, T.; Chivato, T.; Corren, J.; Del Giacco, S.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab, Omalizumab and Reslizumab) for Severe Eosinophilic Asthma. A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1023–1042, doi:10.1111/all.14221.

38. Ortega, H.G.; Liu, M.C.; Pavord, I.D.; Brusselle, G.G.; FitzGerald, J.M.; Chetta, A.; Humbert, M.; Katz, L.E.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1198–1207, doi:10.1056/NEJMOA1403290.
39. Chupp, G.L.; Bradford, E.S.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Wang-Jairaj, J.; Nelsen, L.M.; Trevor, J.L.; Magnan, A.; ten Brinke, A. Efficacy of Mepolizumab Add-on Therapy on Health-Related Quality of Life and Markers of Asthma Control in Severe Eosinophilic Asthma (MUSCA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multicentre, Phase 3b Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2017**, *5*, 390–400, doi:10.1016/S2213-2600(17)30125-X.
40. FitzGerald, J.M.; Bleecker, E.R.; Nair, P.; Korn, S.; Ohta, K.; Lommatzsch, M.; Ferguson, G.T.; Busse, W.W.; Barker, P.; Sproule, S.; et al. Benralizumab, an Anti-Interleukin-5 Receptor α Monoclonal Antibody, as Add-on Treatment for Patients with Severe, Uncontrolled, Eosinophilic Asthma (CALIMA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet (London, England)* **2016**, *388*, 2128–2141, doi:10.1016/S0140-6736(16)31322-8.
41. Bleecker, E.R.; FitzGerald, J.M.; Chanez, P.; Papi, A.; Weinstein, S.F.; Barker, P.; Sproule, S.; Gilmartin, G.; Aurivillius, M.; Werkström, V.; et al. Efficacy and Safety of Benralizumab for Patients with Severe Asthma Uncontrolled with High-Dosage Inhaled Corticosteroids and Long-Acting B₂-Agonists (SIROCCO): A Randomised, Multicentre, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet (London, England)* **2016**, *388*, 2115–2127, doi:10.1016/S0140-6736(16)31324-1.
42. Israel, E.; Canonica, G.W.; Brusselle, G.; Yang, S.; Howarth, P.H.; Martin, A.L.; Koufopoulou, M.; Smith, S.G.; Alfonso-Cristancho, R. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Severe Asthma: A Systematic Literature Review. *J. Asthma* **2021**, doi:10.1080/02770903.2021.2008431.
43. Crimi, C.; Campisi, R.; Cacopardo, G.; Intravaia, R.; Nolasco, S.; Porto, M.; Pelaia, C.; Crimi, N. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Patients with Severe Refractory Eosinophilic Asthma and Multiple Comorbidities. *World Allergy Organ. J.* **2020**, *13*, doi:10.1016/j.waojou.2020.100462.
44. Maglio, A.; Vitale, C.; Pellegrino, S.; Calabrese, C.; D'amato, M.; Molino, A.; Pelaia, C.; Triggiani, M.; Pelaia, G.; Stellato, C.; et al. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab on Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of Forced Vital Capacity in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *Biomedicines* **2021**, *9*, doi:10.3390/biomedicines9111550.
45. Haldar, P.; Brightling, C.E.; Hargadon, B.; Gupta, S.; Monteiro, W.; Sousa, A.; Marshall, R.P.; Bradding, P.; Green, R.H.; Wardlaw, A.J.; et al. Mepolizumab and Exacerbations of Refractory Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 973, doi:10.1056/nejmoa0808991.
46. Renner, A.; Marth, K.; Patocka, K.; Idzko, M.; Pohl, W. Effectiveness of Mepolizumab Therapy in Patients with Severe Eosinophilic Asthma: Austrian Real-Life Data. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2020**, *64*, 101946, doi:10.1016/j.pupt.2020.101946.
47. Brás, R.; Paulino, M.; Varandas, C.; Coutinho, C.; Silva, M.I.; Limão, R.; Costa, C.; Alonso, E.; Pedro, E.; Mendes, A. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma – A One-Year Real Life Portuguese Study. *Pulmonology* **2021**, *27*, 579–581, doi:10.1016/j.pulmoe.2021.05.007.
48. Ortega, H.; Katz, L.; Gunsoy, N.; Keene, O.; Yancey, S. Blood Eosinophil Counts Predict Treatment Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *136*, 825–826, doi:10.1016/j.jaci.2015.05.039.
49. Yancey, S.W.; Keene, O.N.; Albers, F.C.; Ortega, H.; Bates, S.; Bleecker, E.R.; Pavord, I. Biomarkers for Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2017**, *140*, 1509–1518, doi:10.1016/j.jaci.2017.10.005.
50. Padilla-Galo, A.; García-Ruiz, A.J.; Levy Abitbol, R.C.; Oliveira, C.; Rivas-Ruiz, F.; García-Agua Soler, N.; Pérez Morales, M.; Valencia Azcona, B.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; et al. Real-Life Cost-Effectiveness of Benralizumab in Patients with Severe Asthma. *Respir. Res.* **2021**, *22*, doi:10.1186/S12931-021-01758-0.
51. Miralles López, J.C.; Escudero Pastor, A.I.; Carbonell Martínez, A.; Navarro Garrido, C.; Bonilla Pacheco, Y.; Petrik Petrik, Y. Benralizumab in Real Life. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2021**, *31*, 87–88, doi:10.18176/JIACI.0599.
52. Menzella, F.; Fontana, M.; Galeone, C.; Ghidoni, G.; Capobelli, S.; Ruggiero, P.; Scelfo, C.; Simonazzi, A.; Catellani, C.; Livrieri, F.; et al. Real World Effectiveness of Benralizumab on Respiratory Function and Asthma Control. *Multidiscip. Respir. Med.* **2021**, *16*, doi:10.4081/mrm.2021.785.
53. Scioscia, G.; Carpagnano, G.E.; Quarato, C.M.I.; Lacedonia, D.; Santamaria, S.; Soccio, P.; Depalo, A.; Fusco, P.; Foschino Barbaro, M.P. Effectiveness of Benralizumab in Improving the Quality of Life of Severe Eosinophilic Asthmatic Patients: Our Real-Life Experience. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, doi:10.3389/fphar.2021.631660.
54. Kavanagh, J.E.; Hearn, A.P.; Dhariwal, J.; d'Ancona, G.; Douiri, A.; Roxas, C.; Fernandes, M.; Verde, L.; Thomson, L.; Nanzer, A.M.; et al. Real-World Effectiveness of Benralizumab in Severe Eosinophilic

- Asthma (Efectividad en el mundo real de benralizumab en el asma eosinofílica grave). *Cofre* **2021**, *159*, 496–506, doi:10.1016/j.chest.2020.08.2083.
55. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios FICHA TECNICA Nucala 100 Mg Polvo Para Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151043001/FT_1151043001.html (accessed on 5 July 2022).
56. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Tecnica Fasentra 30 Mg Solucion Inyectable En Jeringa Precargada Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171252001/FT_1171252001.html (accessed on 5 July 2022).
57. World Health Organization. Obesity and Overweight Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (accessed on 26 December 2022).
58. Vestergaard, P.; Olsen, M.L.; Johnsen, S.P.; Rejnmark, L.; Sørensen, H.T.; Mosekilde, L. Corticosteroid Use and Risk of Hip Fracture: A Population-Based Case–Control Study in Denmark. *J. Intern. Med.* **2003**, *254*, 486–493, doi:10.1046/J.1365-2796.2003.01219.X.
59. Asthma Control Test (ACT) Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 28 May 2022).

Int. J. Mol. Sci. **2023**. Pendiente de publicación

Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype

Susana Rojo-Tolosa ^{1,2,3*}, José Antonio Sánchez-Martínez¹, Laura Elena Pineda-Lancheros^{2,3}, José María Gálvez-Navas^{2,3}, María Victoria González-Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez-Gálvez¹, Cristina Pérez-Ramírez^{3,*}, Concepción Morales-García^{1,†} and Alberto Jiménez-Morales ^{2,†}

¹ Respiratory Medicine Department. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014 Granada, Spain.; josebaza@hotmail.com (J.A.S.M.), mvglezgut@hotmail.com (M.V.G.G.), gjimenezgalvez@gmail.com (G.J.G.); concepcion.morales.sspa@juntadeandalucia.es (C.M.G.).

² Pharmacy Service. Pharmacogenetics Unit. University Hospital Virgen de las Nieves. 18014 Granada, Spain.; lepinedal@unal.edu.co (L.E.P.L.), jmgalna7@gmail.com (J.M.G.N.), alberto.jimenez.morales.sspa@juntadeandalucia.es (A.J.M.).

³ Center of Biomedical Research, Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix”, University of Granada, Avda. del Conocimiento s/n., 18016 Granada, Spain.

* Correspondence: e-mail@e-mail.com; susanarojotolosa@gmail.com (S.R.T.), cperezramirez87@ugr.es (C.P.R.)

† Co-senior authors.

Abstract: Omalizumab is a monoclonal antibody indicated for the treatment of severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype. Its effectiveness could be influenced by clinical variables and single nucleotide polymorphisms (SNPs) in one or more of the genes involved in the mechanism of action and process of response to omalizumab, and these could be used as predictive biomarkers of response. We conducted an observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled allergic asthma being treated with omalizumab in a tertiary hospital. Polymorphisms in the FCER1A (rs2251746, rs2427837), FCER1B (rs1441586, rs573790, rs1054485, rs569108), C3 (rs2230199), FCGR2A (rs1801274), FCGR2B (rs3219018, rs1050501), FCGR3A (rs10127939, rs396991), IL1RL1 (rs1420101, rs17026974, rs1921622), and GATA2 (rs4857855) genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction (PCR) using Taqman probes. A total of 110 patients under treatment with omalizumab were recruited. After 12 months of treatment the variables associated with a reduction in exacerbations were absence of polyposis (odds ratio [OR] = 4.22; 95% confidence interval [CI] = 0.95–19.63), IL1RL1 rs17026974-AG (OR = 19.07; 95% CI = 1.27–547), and IL1RL1 rs17026974-GG (OR = 16.76; 95% CI = 1.22–438.76). Reduction in oral corticosteroids (OCS) was associated with age of starting omalizumab treatment (OR = 0.95; 95% CI = 0.91–0.99) and blood eosinophil levels > 300 cells/μl (OR = 2.93; 95% CI = 1.01–9.29). Improved lung function showed a relationship to absence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) (OR = 12.16; 95% CI = 2.45–79.49), FCGR2B rs3219018-C (OR = 8.6; 95% CI = 1.12–117.15), GATA2 rs4857855-T (OR = 15.98; 95% CI = 1.52–519.57) and FCGR2A rs1801274-G (OR = 13.75; 95% CI = 2.14–142.68; AG vs AA and OR = 7.46; 95% CI = 0.94–89.12; GG vs AA). Meeting 1 response criterion was related to FCER1A rs2251746-TT (OR = 24; 95% CI = 0.77–804.57), meeting 2 to age of asthma diagnosis (OR = 0.93; 95% CI = 0.88–0.99), and meeting 3 to body mass index (BMI) < 25 (OR = 14.23; 95% CI = 3.31–100.77) and C3 rs2230199-C (OR = 3; 95% CI = 1.01–9.92). The results of this study show the possible influence of the polymorphisms studied on the response to omalizumab and the clinical benefit that could be obtained by defining predictive biomarkers of treatment response.

Keywords: severe uncontrolled asthma; omalizumab; effectiveness, polymorphisms.

1. Introduction

Asthma is a chronic inflammatory disease involving bronchial hyperreactivity and variable, totally or partially reversible obstruction of airflow, which may give rise to episodes of dyspnea, wheezing, and exacerbations or attacks [1]. Asthma is a problem of worldwide significance, being

one of the most serious medical conditions affecting all age groups. World Health Organization (WHO) estimates reveal that 235 million people are affected by this disease and nearly 2.5 million die every year [2].

Asthma is one of the most important pulmonary diseases, as it entails a significant global burden on healthcare systems and on society, owing to the high costs it generates and the loss of quality of life and work productivity of patients suffering from the moderate to severe disease [3].

The main challenge for asthma treatment lies in its diversity, which is mediated to some degree by environmental and genetic factors. Given the complexity of the disease and the difficulty of controlling it, the most promising options have emerged in the last decade with the development of biological therapies as an alternative and/or supplement to treatment, specifically monoclonal antibodies, which treat the underlying inflammation by blocking selected targets [4].

Omalizumab (marketed as Xolair) is a humanized monoclonal antibody (IgG1 kappa) that binds selectively to immunoglobulin E (IgE) and is indicated for the treatment of severe allergic asthma [5]. The molecular structure of IgE includes two variable fragments (Fab) which interact with specific antigens, and a constant region (Fc) that binds to IgE receptors. The IgE molecule is composed of two identical light chains, which have a variable and a constant part, paired with two identical heavy chains, with a variable portion consisting of a unique domain and a constant fragment that includes four domains (Cε1, Cε2, Cε3, Cε4) [6]. In allergic asthma the pathogenic role of IgE depends on it binding, through the Cε3 domains, to high-affinity (FcεRI) and low-affinity (FcεRII/CD23) receptors expressed by many cells. Omalizumab binds selectively to the Cε3 domains, which include the binding sites both for FcεRI and for FcεRII/CD23, so that it prevents IgE from binding to the high- and low-affinity receptors [6]. Consequently, omalizumab inhibits all the cellular processes dependent on the interaction of IgE with its receptors: mast cell degranulation, basophil expression of high-affinity IgE receptors, eosinophil survival, presentation of antigens to T cells, and IgE synthesis [7,8].

The function of the Fc region of immunoglobulin G (IgG) is to improve the pharmacokinetics of the drug, increasing its stability and prolonging its half-life [9]. The Fc region of IgG1 binds selectively to the Fc-gamma receptors (FcγR), which are integral membrane glycoproteins that exhibit complex activation or inhibitory effects on antibody cell functions after aggregation by IgG [10,11]. There are various types of FcγR: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), and FcγRIII (CD16), in which the affinity for the Fc region of IgG can vary, modifying the response to biological therapies (BTs) [10]. The affinity of these receptors for the Fc region of IgG1 of omalizumab could vary due to structural changes in the extracellular domain of the receptors, interfering with the therapeutic response.

The interleukin 1 receptor like 1 gene (IL1RL1) has been considered in numerous genome-wide association studies (GWASs) as a gene for asthma susceptibility, response to inhaled corticosteroids (ICS), and significant increase in serum IgE [12–16], and could affect the response to omalizumab.

GATA-binding factor 2 (GATA2), a member of the GATA family of transcription factors, plays an essential role in the differentiation of mast cells. These present FcεRI on the cell surface, which binds selectively to IgE, triggering the allergic reaction [17]. GATA2 binds to the promoter region of FCER1A (which encodes FcεRIα) and to the promoter of FCER1B (which encodes FcεRIβ), regulating FcεRI expression and IgE-mediated degranulation activity [18].

Within this conceptual framework, the objective of this study was to assess the participation of SNPs in some of the genes involved in the mechanism of action and the process of response to omalizumab (FCER1, FCGR, C3, IL1RL1, GATA2), with the aim of obtaining predictive biomarkers of response to this biological therapy..

2. Results

2.1 Characteristics of the Patients

A total of 74 patients treated with omalizumab were included. The clinical and socio-demographic data are shown in Table 1. The mean age of all the patients was 46.89 ± 16.74 years, and 65.33% (48/74) were women. A total of 76.71% (56/74) had a BMI greater than 25, 21.33%

(16/74) were ex-smokers, and 4% (3/74) were active smokers. During the year before starting omalizumab the median number of ICS doses was 500 (250,1000), 74.67% (56/74) had received at least one course of OCS, 59.15% (56/74) had %FEV1 of less than 80%, 64% (48/74) had suffered at least one exacerbation requiring emergency department treatment and/or hospitalization, and median blood IgE was 359 (151,980) IU/mL. The remaining socio-demographic and clinical variables are described in Table 1.

Table 1. Socio-demographic and clinical characteristics of patients treated with omalizumab.

	N	%	Mean ± SD/ p50 (p25, p75)
Sex			
Women	48	65.33	
Men	26	34.67	
Age of starting BT (years)	74		46.89 ± 16.74
Years with asthma	74		8 (5,14)
BMI (kg/m²)			
<25	17	23.29	
>25	56	76.71	
Previous respiratory disease			
Yes	19	25.33	
No	55	79.67	
Smoking status			
Non-smoker	56	74.67	
Active smoker	3	4	
Ex-smoker	16	21.33	
Polyposis			
Yes	18	24	
No	56	76	
Allergies			
Yes	58	77.3	
No	16	22.67	
GERD			
Yes	14	18.67	
No	61	81.33	
SAHS			
Yes	24	32	
No	51	68	
COPD			
Yes	20	22.67	
No	55	77.33	
Age of diagnosis (years)	74		43 (34,54)
<18	10	13.33	
>18	65	88.67	
ICS (µg/day)	74		500 (250,1000)
OCS courses in previous year			
Yes	56	74.67	
No	19	25.33	
Baseline %FEV1			
<80	42	59.15	

	>80	29	40.85
Exacerbations in previous year			
	Yes	48	64
	No	27	36
Baseline blood eosinophils (cells/ μ L)			
	<300	37	54.41
	>300	31	45.59
Baseline IgE (IU/mL)		65	359 (151,980)
Years with omalizumab			
	<5	52	69.33
	>5	23	30.67
Change of BT			
	Yes	37	49.33
	No	38	50.67

BMI: body mass index; GERD: gastroesophageal reflux disease; SAHS: sleep apnoea-hypopnoea syndrome; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; ICS: inhaled corticosteroids; OCS: oral corticosteroids; %FEV1: percentage forced expiratory volume in the first second; IgE: immunoglobulin E; BT: biological therapy. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean \pm standard deviation (SD). Quantitative variables with non-normal distribution are shown as p50 (p25–p75).

2.2 Clinical Effectiveness of Omalizumab

The effectiveness of omalizumab was evaluated 12 months after starting omalizumab treatment. After 12 months 95.95% (71/74) showed a satisfactory response in respect of at least one criterion, 85.15% (63/74) in respect of at least two criteria, and 45.59% (31/74) in respect of all three response criteria. Furthermore, 86.49% (64/74) responded satisfactorily with respect to reduction in exacerbations, 76.47% (52/74) with respect to improvement in lung function, and 66.22% (49/74) with respect to reduction in OCS (Table 2).

Table 2. Clinical effectiveness of omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma and allergic phenotype.

Response variable	N	%
Responsive for 1 criterion		
Yes	71	95.95
No	3	4.05
Responsive for 2 criteria		
Yes	63	85.15
No	11	14.86
Responsive for 3 criteria		
Yes	31	45.59
No	37	54.41
Reduction in OCS \geq 50%		
Yes	49	66.22
No	25	33.78
Reduction in exacerbations \geq 50%		
Yes	64	86.49
No	10	13.51

Increase in %FEV1 \geq 10% or %FEV1 \geq 80%		
Yes	52	76.47
No	16	23.53

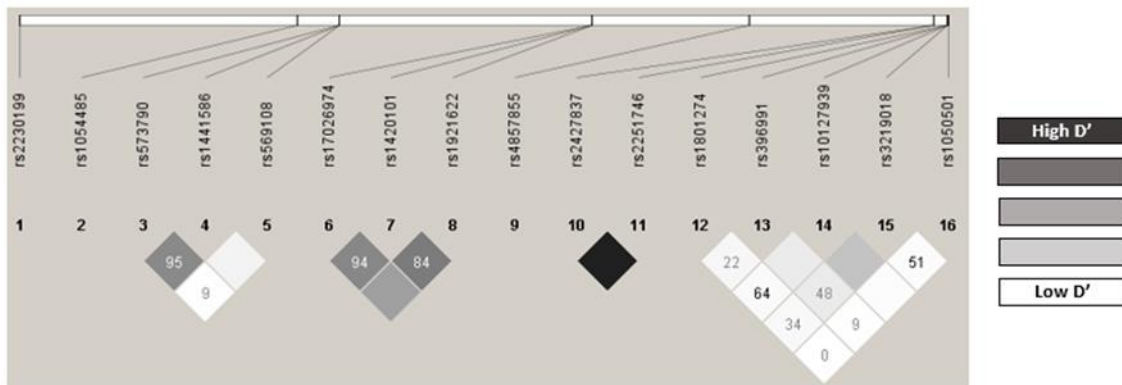
OCS: oral corticosteroids; %FEV1: maximum percentage expiratory volume in the first second of forced exhalation.

2.3 Distribution of the Genotypes Analyzed

The observed genotype frequencies coincided with the expected values according to the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) model, except for IL1RL1 rs1921622 ($p = 0.010$, Table S.1). No statistical differences from those described in Iberian populations were found for this variant (IL1RL1 rs1921622 A allele: 0.649 vs 0.477; $p = 0.806$) [19]. The D' and r^2 LD values are shown in Table S2, and Figure 1 shows the LD graph. The following pairs of polymorphisms were in strong linkage disequilibrium: IL1RL1 rs17026974/rs1420101 ($D' = 0.94$), IL1RL1 rs1420101/rs1921622 ($D' = 0.84$), FCER1B rs573790/rs1441586 ($D' = 0.95$) and FCER1A rs2427837/rs2251746 ($D' = 1$) (Table S2, Figure 1). All the polymorphisms showed a minor allele frequency (MAF) of more than 1%, and therefore none of them was excluded for analysis (Table S3). The estimated haplotype frequencies are presented in Tables S4, S5, S6, S7, S8 and S9.

Figure 1. Linkage disequilibrium (LD).

2.4 Predictors of Omalizumab Response at 12 months



2.4.1 Predictors of Response for Exacerbation Reduction

In the bivariate analysis, the variables associated with a satisfactory response in respect of reduction in exacerbations were the absence of polyposis (OR = 3.92; 95% CI = 0.96–16.19; $p = 0.042$) and SAHS (OR = 4.15; 95% CI = 1.06–17.97; $p = 0.034$) (Table S10). With regard to the pharmacogenetic variables, an association was found between satisfactory response and the FCER1B rs573790-T allele (OR = 3.92; 95% CI = 0.96–16.19; $p = 0.042$), the C3 rs2230199-C allele (OR = 3.92; 95% CI = 0.96–16.19; $p = 0.042$), and the IL1RL1 rs17026974-G allele for the genotypic and recessive models (OR = 16.67; 95% CI = 1.25–433.96; $p = 0.06$; AG vs AA, OR = 15.2; 95% CI = 1.25–365.47; $p = 0.06$; GG vs AA, and OR = 15.75; 95% CI = 1.36–362.71; $p = 0.046$; G vs AA) (Table S11).

The multivariate analysis showed that the independent variables associated with satisfactory response for reduction in exacerbations after 12 months of omalizumab treatment were absence of polyposis (OR = 4.22; 95% CI = 0.95–19.63), the IL1RL1 rs17026974-AG genotype (OR = 19.07; 95% CI = 1.27–547; AG vs AA), and the IL1RL1 rs17026974-GG genotype (OR = 16.76; 95% CI = 1.22–438.76; GG vs AA) (Table 3).

2.4.2 Predictors of Response for OCS Reduction

In the bivariate analysis, the variables associated with a satisfactory response in respect of reduction in OCS were age of starting omalizumab treatment (OR = 0.96; 95% CI = 0.93–1; $p =$

0.039), patients with BMI < 25 (OR = 9.6e8; 95% CI = 5.7e-35-NA; $p < 0.001$), age of asthma diagnosis (OR = 0.96; 95% CI = 0.92–0.99; $p = 0.016$), and %FEV1 values of >80% and blood eosinophils of >300 cells/ μ L during the year prior to receiving omalizumab (OR = 2.88; 95% CI = 1.01–9.11; $p = 0.052$ and OR = 2.57; 95% CI = 0.93–7.54; $p = 0.071$ respectively) (Table S12). No association was found between satisfactory response and any of the genetic variants (Table S13). The multivariate analysis revealed that the independent variables associated with a satisfactory response in respect of reduction in OCS after 12 months of omalizumab treatment were age of starting omalizumab (OR = 0.95; 95% CI = 0.91–0.99) and blood eosinophil levels > 300 cell/ μ L (OR = 2.93; 95% CI = 1.01–9.29) (Table 3).

2.4.3 Predictors of Response for Lung Function Improvement

In the bivariate analysis, the variable associated with a satisfactory response in respect of improvement in lung function were age of starting omalizumab (OR = 0.94; 95% CI = 0.9–0.98; $p = 0.018$), BMI < 25 (OR = 5.68; 95% CI = 1–107.39; $p = 0.076$), absence of previous respiratory disease (OR = 6.14; 95% CI = 1.85–21.81; $p = 0.002$), absence of COPD (OR = 15.43; 95% CI = 3.98–71.29; $p < 0.001$), and age of asthma diagnosis (OR = 0.95; 95% CI = 0.91–0.99; $p = 0.019$) (Table S14). As regards the pharmacogenetic variables, an association and/or tendency was found between satisfactory response and the FCGR2A rs1801274-G allele for the genotypic and recessive models (OR = 5.25; 95% CI = 1.42–22.64; $p = 0.052$; AG vs AA, OR = 3; 95% CI = 0.7–16.13; $p = 0.052$; GG vs AA, and OR = 4.29; 95% CI = 1.33–14.49; $p = 0.012$; G vs AA), the FCGR2B rs3219018-C allele (OR = 4.37; 95% CI = 1.07–29.76; $p = 0.052$), the FCGR3A rs396991-C allele (OR = 4.22; 95% CI = 1.18–17.63; $p = 0.072$; CA vs AA y OR = 1.13; 95% CI = 0.23–6.35; $p = 0.072$; CC vs AA) and the GATA2 rs4857855-T allele (OR = 6.08; 95% CI = 1.07–114.8; $p = 0.062$) (Table S15).

The multivariate analysis showed that the independent variables associated with a satisfactory response in respect of improvement in lung function after 12 months of treatment with omalizumab were the absence of COPD (OR = 12.16; 95% CI = 2.45–79.49), the FCGR2B rs3219018-C allele (OR = 8.6; 95% CI = 1.12–117.15), the GATA2 rs4857855-T allele (OR = 15.98; 95% CI = 1.52–519.57), and the FCGR2A rs1801274-G allele for the genotypic model (OR = 13.75; 95% CI = 2.14–142.68; AG vs AA, and OR = 7.46; 95% CI = 0.94–89.12; GG vs AA respectively) (Table 3).

2.4.4 Predictors of Meeting at Least 1 Response Criterion

In the bivariate analysis, the variables associated with meeting at least one response criterion satisfactorily were age of starting omalizumab (OR = 0.87; 95% CI = 0.73–0.98; $p = 0.061$), absence of GERD (OR = 6.3e8; 95% CI = 1.18e-212-NA; $p = 0.006$), and age of asthma diagnosis (OR = 0.86; 95% CI = 0.72–0.97; $p = 0.036$) (Table S16). With regard to the pharmacogenetic variables, a tendency was found between a satisfactory response and the FCER1A rs2251746-T allele for the genotypic and recessive models (OR = 10.5; 95% CI = 0.33–356.19; $p = 0.088$; CT vs CC, OR = 24; 95% CI = 0.77–804.57; $p = 0.088$; TT vs CC, and OR = 17.25; 95% CI = 0.65–291.88; $p = 0.008$; G vs AA) (Table S17).

In the multivariate analysis, the independent variable that maintained an association with meeting at least 1 response criterion satisfactorily after 12 months of omalizumab treatment was the FCER1A rs2251746-TT genotype (OR = 24; 95% CI = 0.77–804.57) (Table 3).

2.4.5 Predictors of Meeting at Least 2 Response Criteria.

In the bivariate analysis, the variables associated with meeting at least 2 response criteria satisfactorily were age of starting omalizumab (OR = 0.94; 95% CI = 0.88–0.99; $p = 0.026$), BMI < 25 (OR = 2.8e6; 95% CI = 9.88e-46-NA; $p = 0.045$) and age of asthma diagnosis (OR = 0.93; 95% CI = 0.88–0.99; $p = 0.018$) (Table S18). Regarding the pharmacogenetic variables, an association was found between a satisfactory response and the GATA2 rs4857855-T allele (OR = 7.8e7; 95% CI = 1.18e-74-NA; $p = 0.35$; T vs CC) (Table S19).

In the multivariate analysis, the independent variable that maintained an association with meeting at least 2 criteria satisfactorily after 12 months of omalizumab treatment was age of asthma diagnosis (OR = 0.93; 95% CI = 0.88–0.99) (Table 3).

2.4.6 Predictors of Meeting All 3 Criteria.

In the bivariate analysis, the variables associated with meeting the 3 response criteria were age of starting omalizumab (OR = 0.96; 95% CI = 0.92–0.99; $p = 0.01$), BMI < 25 (OR = 13.38; 95% CI = 3.23–92.3; $p < 0.001$), absence of previous respiratory disease (OR = 4.11; 95% CI = 1.27–16.1; $p = 0.02$), absence of polyposis (OR = 5.05; 95% CI = 1.43–23.94; $p = 0.014$), absence of GERD (OR = 3.46; 95% CI = 0.9416.67; $p = 0.069$), absence of SAHS (OR = 5.74; 95% CI = 1.8–22.36; $p = 0.003$), absence of COPD (OR = 5.05; 95% CI = 1.43–23.98; $p = 0.014$), age of asthma diagnosis (OR = 0.953; 95% CI = 0.92–0.98; $p = 0.006$), and previous %FEV1 < 80% (OR = 3.43; 95% CI = 1.24–10.06; $p = 0.069$) (Table S20). With regard to the pharmacogenetic variables, an association was found between satisfactory response and the C3 rs2230199-C allele for the dominant model (OR = 2.91; 95% CI = 1.06–8.43; $p = 0.039$; C vs GG) and a tendency for the genotypic model (OR = 1.75; 95% CI = 0.07–43.31; $p = 0.077$; CC vs GG and OR = 3.06; 95% CI = 1.07–9.22; $p = 0.077$; CG vs GG) (Table S21). The multivariate analysis revealed that the independent variables associated with a satisfactory response for all 3 criteria after 12 months of omalizumab treatment were BMI < 25 (OR = 14.23; 95% CI = 3.31–100.77) and the C3 rs2230199-C allele (OR = 3; 95% CI = 1.01–9.92) (Table 3).

Table 3. Predictors of response after 12 months of omalizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	OR (95% CI)	<i>p</i> -value
Response in respect of exacerbation reduction		
Polyposis (No)	4.22 (0.95–19.63)	0.050
<i>IL1RL1</i> rs17026974 (AG vs AA)	19.07 (1.27–547)	0.040
<i>IL1RL1</i> rs17026974 (GG vs AA)	16.76 (1.22–438.76)	0.041
Response in respect of reduction of OCS		
Eosinophils (>300 cll/μl)	2.93 (1.01–9.29)	0.055
Age of starting omalizumab	0.95 (0.91–0.99)	0.032
Response in respect of improved lung function		
COPD (No)	12.16 (2.45–79.49)	0.004
<i>GATA2</i> rs4857855 (T vs CC)	15.98 (1.52–519.57)	0.052
<i>FCGR2A</i> rs1801274 (AG vs AA)	13.75 (2.14–142.68)	0.012
<i>FCGR2A</i> rs1801274 (GG vs AA)	7.46 (0.94–89.12)	0.076
<i>FCGR2B</i> rs3219018 (C vs GG)	8.6 (1.12–117.15)	0.052
Meeting at least 1 criterion		
<i>FCER1A</i> rs2251746 (TT vs CC)	24 (0.77–804.57)	0.045
Meeting at least 2 criteria		
Age of diagnosis	0.93 (0.88–0.99)	0.018
Meeting all 3 criteria		
BMI (<25)	14.23 (3.31–100.77)	0.001
C3 rs2230199 (C vs GG)	3 (1.01–9.92)	0.063

OR: odds ratio; 95% CI: 95% confidence interval.

3 Discussion

The response in patients diagnosed with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype is variable [20–23]. The search for predictive biomarkers of a predisposition to asthma, exacerbations, and response to treatment with ICS or short-action β_2 -adrenergic receptor agonists (SABAs) is the main objective of numerous research studies carried out in the past few years. Omalizumab has already proved its effectiveness in reducing symptoms and the use of rescue medication, as well as improving patients' quality of life, in many controlled randomized clinical trials [24–35] and real-life studies [6,36–40]. Various authors endorse the major genetic contribution to predisposition to asthma, with estimates of up to 74% in adults and 90% in children [41–46]. There have also been studies of the role of pharmacogenetics in the response to

treatment with inhaled SABAs [47] and ICS [48-50]. However, there are no studies that report genetic biomarkers associated with the response to BTs, such as omalizumab, in asthmatic patients. For this purpose, we need to evaluate the effectiveness of treatments in different populations and find the biomarkers that determine that effectiveness. In our study, after 12 months of treatment with omalizumab the highest proportion of responders consisted of those who showed a satisfactory improvement in at least one of the response criteria (95.6%), followed by those who obtained a reduction of 50% or more in the rate of exacerbations (86.5%), those who met at least two response criteria (85.1%), those who obtained an improvement of 10% or more in %FEV1 or %FEV1 of 80% or more (76.5%), those who had a reduction of 50% or more in OCS (66.2%), and those who met all three response criteria (45.6%). A study was carried out by Casale et al. in 806 patients (United States) with asthma, and it showed that after 12 months of treatment with omalizumab, 77.8% responded with an exacerbation reduction of 50% or more, in line with our results, 35.9% with an improvement of 10% or more in FEV1, somewhat lower than that obtained in our study, and 64.7% improved their Asthma Control Test (ACT) score, a variable that we could not use owing to the lack of prior data. In agreement with our result, they found that 86.9% met at least one of the response criteria [51]. In our study the response biomarkers found were older age of starting BT and of diagnosis of the disease, associated with a lower probability of response in improvement of lung function, and absence of previous pulmonary disease and BMI of less than 25, with a higher probability of pulmonary improvement. Prior %FEV1 values greater than 80%, a blood eosinophil count of >300 cells/mL, and BMI results of <25 were related to a higher probability of reduction in courses of OCS; absence of polyposis and GERD, with a better response for reduction of exacerbations requiring emergency treatment. Several authors report, in line with our results, that eosinophil levels of >300 cells/mL mean a better response to omalizumab and fewer exacerbations, consequently involving a reduction in courses of OCS [52-54]. Casale et al. found a relationship between improvement in lung function and a high eosinophil level ($p = 0.011$) and a higher risk of exacerbations if they had been present the previous year ($OR = 2.19$; $95\%CI = 1.55-3.08$; $p < 0.001$); however, they did not seek biomarkers associated with the OCS-saving effect [51]. Other authors who assessed the overall response found a relationship between high IgE and blood eosinophil values and lower %FEV1 levels with a greater response to omalizumab [37,39,40,55].

Among the results reported to date, several biomarkers have been identified as possible predictors of response to omalizumab. Pharmacogenetics could be the perfect complementary tool to take maximum advantage of the information we already have and bring us closer to achieving personalized medicine, which could optimize treatment of patients by enabling us to know in advance the response/toxicity that they could present. Polymorphisms in some of the genes involved in the mechanism of action of omalizumab, such as FCER1, C3, IL1RL1 and GATA2, could play a part as a supplement to these response biomarkers. So far, no study has investigated the participation of these SNPs or others in the therapeutic response to omalizumab. The gene that codes for the high-affinity IgE receptor alpha chain (FCER1A) is located on chromosome 1q23. This gene has two SNPs, rs2251746 (T>C) and rs2427837 (C>T), that have been extensively studied because of their association with high serum IgE levels [56-58]. In our study we found that for the FCER1A rs2251746 SNP, carriers of the CT and TT genotypes and of the T allele showed a higher probability of meeting at least one response criterion than those with the CC genotype. Its association with omalizumab response has not been studied before, but En-Chih Liao et al. related the CT and TT genotypes of the rs2251746 SNP with higher levels of total IgE, specific IgE, and IgE-secretion B cells ($p < 0.001$) [56]. These results are endorsed by other authors [57,58]. The association of this SNP with a genetic predisposition to higher IgE levels and with a greater response to omalizumab is in line with the biomarkers previously reported [37]. No associations were found between these SNPs and any of the other responses evaluated.

The beta subunit of the high-affinity immunoglobulin epsilon receptor is a protein encoded in humans by the FCER1B gene (also known as MS4A2), which is located on the 11q12-13 chromosome. This gene includes the rs1441586 (T>C), rs573790 (T>C), rs1054485 (T>G), and rs569108 (A>G) SNPs, common in asthmatic pathology and atopy and related to high IgE levels [59-63]. In our study we only found a significant association between the FCER1B rs573790-CC

genotype and a higher probability of response in respect of a reduction in exacerbations compared to the T allele. There have been no reports of studies of an association of this SNP with response to omalizumab, but the presence of the rs573790-CC genotype has been reported in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD) and asthma [64].

The C3 rs2230199 (G>C) polymorphism produces a change from arginine to glycine (p.Arg102Gly), giving rise to a missense variant that partially alters the functionality of complement in asthma [65]. In our study we found an association between the C3 rs2230199-C allele and a higher probability of response in respect of reduction of exacerbations with the use of omalizumab. The C3 rs2230199-CC and CG genotypes were also linked to a greater predisposition to meeting all three criteria. The relationship of this SNP to the response to omalizumab has not been studied before, but there are authors that associate changes in the gene's functionality with alterations in interleukin-4 (IL4) production and specific IgE and IgG responses [65], which leads us to think that if the functionality of the gene is altered, the binding of omalizumab to IgE could also be altered.

In the FcγR receptors, there have been studies of SNPs in the FCGR2A, FCGR2B, and FCGR3A genes, located on chromosome 1q23.3, that could affect the stability of the bond in the Fc region. Our results only reported significant associations of SNPs in these genes to the response of improvement in lung function. The FCGR2A rs1801274-G, FCGR2B rs3219018-C, and FCGR3A rs396991-C alleles were those that were linked to a greater response. The FCGR2A rs1801274 (A>G) SNP gives rise to a replacement of histidine (His) by arginine (Arg) (His131Arg) [66,67]. Previous studies on other diseases have shown that FCGR2A with His instead of Arg at position 131 resulted in a higher affinity for IgG1 [68], which may explain the association of the G allele with response. The FcγRIIb receptor is an inhibitory IgG receptor, whose SNPs have been correlated with negative regulation of FcγRIIb in B cells and positive regulation of IgG antibody responses [69,70]. This could explain the association of the C allele of the FCGR2B rs3219018 (G>C) SNP with a better response, corresponding in this case to positive regulation of IgG. The FCGR3A rs396991 (A>C) SNP produces a replacement of phenylalanine (Phe) by valine (Val) (Phe158Val). Previous studies with other BTs show that the low-affinity variant FCGR3A-p.158Phe is associated with lesser clearance of the BT and consequently with a better therapeutic response [68].

The IL1RL1 gene is on chromosome 2q12. Previous studies indicate that the SNPs studied (rs1420101, rs17026974, rs1921622) could act as promoters of type 2 inflammatory response in the airways, with higher serum IgE counts, high eosinophilia, and lesser FEV1 reversibility; however, their relationship to BT response has not been studied [12,13,71]. In our study a positive association was only found between the IL1RL1 rs17026974-G allele and reduction of exacerbations.

The GATA2 gene is located on chromosome 3q21. Our results report a significant association of the GATA2 rs4857855-T allele with improvement in lung function and meeting at least two parameters. Previous research underlines the important role of GATA2 in the development of hematopoietic cells and Th2 cells, associating this SNP with high eosinophil counts [13,72], but its role in the response to BTs has not been studied.

The main limitation of this study was the sample size, which may be responsible for the absence of a statistically significant association between some of the genetic variables and the types of response analyzed. To ensure the uniformity and reliability of the variables collected, all the patients were recruited from the same hospital cohort, with the same procedures and through the same staff. Another inherent limitation of a retrospective study is the lack of some clinical data of interest for some of the patients. Nevertheless, the effects observed were clear, although studies are required to assess the prognostic value of these polymorphisms in larger cohorts.

4 Material and methods

4.1 Study Design

We conducted an observational retrospective cohort study.

4.2 Study Population

This study included 110 patients aged over 18 years and of Caucasian origin diagnosed with severe uncontrolled asthma according to the criteria of the Spanish Asthma Management Guidelines (GEMA 5.2) [73], recruited in the Respiratory Medicine Department of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves in Granada (Spain) between March 2007 and October 2022. Out of the 110 patients recruited, the response to omalizumab was evaluated in 74 prior to beginning treatment and 12 months after the start of biological therapy. The remaining patients did not meet the study's evaluation criteria. The administration route of the drug was subcutaneous, with doses of 75 mg to 600 mg of omalizumab, depending on the initial IgE concentration and the patient's weight, every 2 or 4 weeks [74].

4.3 Ethics Statements

The study was carried out with the approval of the Ethics and Research Committee of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) in accordance with the Declaration of Helsinki. The subjects who participated in the study signed an informed consent for collection and genetic analysis of saliva samples and for their donation to the Biobank of the Sistema Sanitario Público de Andalucía (Andalusian Public Health Service). The samples were identified by alphanumeric codes.

4.4 Socio-demographic and Clinical Variables

The socio-demographic and clinical data were collected by reviewing clinical histories. The socio-demographic data collected were age, sex, body mass index (BMI), smoking status, years with the disease, nasal polyposis, previous respiratory disease, allergies, gastroesophageal reflux disease (GERD), sleep apnea-hypopnea syndrome (SAHS), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), years of BT, treatment dose, and change to another BT. The clinical variables included courses of oral corticosteroids (OCS) expressed as prednisone-equivalent mg and of ICS expressed as fluticasone-furoate-equivalent μg , blood eosinophil count, exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization, IgE, lung function as maximum percentage expiratory volume in the first second of forced exhalation (%FEV1), and Asthma Control Test (ACT) results [75]. The clinical variables were collected with reference to the year before starting BT and after completing the first year of treatment.

4.5 Genetic Variables

4.5.1 DNA Isolation

The saliva samples were collected in BD Falcon 50 mL conical tubes (BD, Plymouth, United Kingdom). The DNA was extracted using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany), following the manufacturer's instructions for purifying DNA from saliva, and was stored at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. The concentration and purity of the DNA were measured using a NanoDrop 2000 UV spectrophotometer with 280/260 and 280/230 absorbance ratios.

4.5.2 Detection of Gene Polymorphisms and Quality Control

The gene polymorphisms were determined by real-time polymerase chain reaction (PCR) allelic discrimination assay using TaqMan probes (ABI Applied Biosystems, QuantStudio 3 Real-Time PCR System, 96 wells) according to the manufacturer's instructions (Table 4). The FCGR2B rs3219018 and rs1050501 polymorphisms were analyzed using a custom assay by ThermoFisher Scientific (Waltham, Massachusetts, United States) coded as ANPRZAZ and ANRWUVX respectively. Ten per cent of the results were confirmed by Sanger sequencing. Real-time PCR and Sanger sequencing were performed in the Pharmacogenetics Unit of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves. The criteria for SNP quality control were: (1) missing genotype rate per SNP < 0.05 ; (2) minor allele frequency > 0.01 ; (3) p value > 0.05 in Hardy-Weinberg equilibrium test; (4) missing genotype rate between cases and control < 0.05 .

Table 4. Gene polymorphisms and TaqMan ID.

Gene	SNP	dbSNP ID	Assay ID
<i>FCER1A</i> (1q23)	T>C	rs2251746	C__1840470_20
	G>A	rs2427837	C__16233438_20
<i>FCER1B</i> (11q12-13)	T>C	rs1441586	C__1842226_10
	T>C	rs573790	C__900105_20
	T>G	rs1054485	C__2932371_10
	A>G	rs569108	C__900116_10
<i>C3</i> (19p13.3)	G>C	rs2230199	C__26330755_10
<i>FCGR2A</i> (1q23.3)	A>G	rs1801274	C__9077561_20
<i>FCGR2B</i> (1q23.3)	G>C	rs3219018	ANPRZAZ
	T>C	rs1050501	ANRWUVX
<i>FCGR3A</i> (1q23.3)	A>C	rs10127939	C__57480226_10
	A>C	rs396991	C__25815666_10
<i>IL1RL1</i> (2q12)	C>T	rs1420101	C__8906009_20
	G>A	rs17026974	C__33551182_10
	G>A	rs1921622	C__1226146_10
<i>GATA2</i> (3q21)	C>T	rs4857855	C__11231076_10

4.6 Response Variables

To evaluate the predictors of response at 12 months, the following were taken as response variables: reduction of OCS courses per year, considering a reduction of at least 50% in courses or absence of OCS as a satisfactory response; improvement of lung function, considering those that achieved an increase of at least 10% in FEV1 after 12 months' treatment as responders; and reduction of exacerbations per year requiring emergency department treatment and/or hospitalization, taking a reduction of at least 50% or absence of exacerbations as a satisfactory response.

4.7 Statistical Analysis

The descriptive analysis was performed with R 4.2.0 software. The quantitative variables were expressed as the mean (\pm standard deviation) for those that complied with normality and as the median and percentiles (25 and 75) for the variables that did not follow a normal distribution. Normality was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test. The bivariate analysis between the response and the genetic variables was performed with multiple models (genotypic, additive, allelic, dominant, and recessive), using the Pearson χ^2 test or applying the Fisher exact test for the qualitative variables. For the quantitative variables, we applied the t test to the variables that complied with normality and the Mann-Whitney test for non-normal variables. The models were defined as allelic (D vs d), dominant ((DD, Dd) vs dd), recessive (DD vs (Dd, dd)), genotypic (DD vs dd and Dd vs dd), and additive, where D is the minor allele and d the major allele.

A multivariate (logistic regression) analysis was used to calculate the adjusted odds ratio (OR) and the 95% confidence interval (95% CI) for the possible prognostic factors for response.

The Hardy-Weinberg equilibrium, the haplotype frequency, and the linkage disequilibrium (LD) were determined through the Lewontin D-prime (D') coefficients and the LD coefficient (r2).

All the tests were 2-sided, with a significance level of $p < 0.05$, and were performed using PLINK free-access software for whole-genome association analysis [76] and the R 4.2.0 statistical program [77]. The LD was calculated with Haploview 4.2 software [78] and the haplotype analysis was performed with SNPStats [79], a web tool for the analysis of association studies.

5 Conclusions

In conclusion, this study highlights polymorphisms with potential prognostic value for response to treatment with omalizumab. However, the functional involvement of most asthma loci is still unknown. More studies are therefore needed to increase our understanding of the impact of these genes and their effect on the response to biological therapies, such as omalizumab, to achieve their use in future clinical practice and guide us towards a more personalized kind of medicine.

Supplementary Materials: Table S1. Hardy-Weinberg equilibrium for the SNPs included in the study; Table S2. Linkage disequilibrium of the studied SNPs; Table S3. Minor allele frequencies for the SNPs studied; Table S4. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations; Table S5. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S6. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement; Table S7. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion; Table S8. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria; Table S9. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria; Table S10. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with reduced and/or no exacerbations; Table S11. Association of omalizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of exacerbations; Table S12. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S13. Association of omalizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S14. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S15. Association of omalizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S16. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with response to at least one criterion; Table S17. Association of omalizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S18. Association of clinical characteristics of patients treated with omalizumab with response on at least 2 criteria; Table S19. Association of omalizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S20. Association of clinical characteristics of omalizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S21. Association of omalizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria.

Author Contributions: S.R.T. and C.P.R. conceived and designed the experiments; S.R.T. performed the experiments; S.R.T. collected samples; S.R.T. and C.P.R. analyzed the data; M.V.G.G., J.A.S.M., L.E.P.L., J.M.G.N and G.J.G. contributed materials and analysis tools; S.R.T. prepared the original draft; C.P.R., A.J.M. and S.R.T. reviewed and edited the draft; S.R.T., C.P.R., A.J.M. and C.M.G. reviewed the analysis and interpretation; A.J.M. and C.M.G. supervised funding acquisition. All the authors participated in critically re-viewing the manuscript and improving its intellectual content. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding: ERDF funds (EU) from the Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) supported by co-funding grants from the Biobank of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics and Research Committee of the Sistema Andaluz de Salud (code: 1313-N-20).

Informed Consent Statement: All subjects involved in the study signed the written informed consent form.

Acknowledgments: The results of this study are part of the doctoral thesis presented by Susana Rojo Tolosa at the University of Granada.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica Actualización de La Guía Española Para El Manejo de Asma GEMA 5.2. 2022.
2. Abbafati, C.; Abbas, K.M.; Abbasi-Kangevari, M.; Abd-Allah, F.; Abdelalim, A.; Abdollahi, M.; Abdollahpour, I.; Abegaz, K.H.; Abolhassani, H.; Aboyans, V.; et al. Global Burden of 369 Diseases and Injuries in 204 Countries and Territories, 1990-2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England)* **2020**, *396*, 1204–1222, doi:10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
3. Williams, S.A.; Wagner, S.; Kannan, H.; Bolge, S.C. The Association Between Asthma Control and Health Care Utilization, Work Productivity Loss and Health-Related Quality of Life. *J. Occup. Environ. Med.* **2009**, *51*, 780–785, doi:10.1097/JOM.0b013e3181abb019.

4. Bobolea, D.I. Fenotipos Del Asma Grave Del Adulto : Las Claves Para La Medicina Personalizada.
5. Carretero Colomer, M. Omalizumab. Tratamiento Del Asma Alérgica Grave. *Offarm* **2007**, *26*, 120–122.
6. Pelaia, C.; Calabrese, C.; Terracciano, R.; de Blasio, F.; Vatrella, A.; Pelaia, G. Omalizumab, the First Available Antibody for Biological Treatment of Severe Asthma: More than a Decade of Real-Life Effectiveness. *Ther. Adv. Respir. Dis.* **2018**, *12*, doi:10.1177/1753466618810192.
7. Chang, T.W.; Wu, P.C.; Hsu, C.L.; Hung, A.F. Anti-IgE Antibodies for the Treatment of IgE-Mediated Allergic Diseases. *Adv. Immunol.* **2007**, *93*, 63–119, doi:10.1016/S0065-2776(06)93002-8.
8. Presta, L.; Shields, R.; O'Connell, L.; Lahr, S.; Porter, J.; Gorman, C.; Jardieu, P. The Binding Site on Human Immunoglobulin E for Its High Affinity Receptor. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 26368–26373.
9. Lobo, E.D.; Hansen, R.J.; Balthasar, J.P. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2645–2668, doi:10.1002/JPS.20178.
10. Nimmerjahn, F.; Ravetch, J. V. Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members. *Immunity* **2006**, *24*, 19–28, doi:10.1016/J.IMMUNI.2005.11.010.
11. Tracey, D.; Klareskog, L.; Sasso, E.H.; Salfeld, J.G.; Tak, P.P. Tumor Necrosis Factor Antagonist Mechanisms of Action: A Comprehensive Review. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *117*, 244–279, doi:10.1016/J.PHARMTHERA.2007.10.001.
12. Inoue, H.; Ito, I.; Niimi, A.; Matsumoto, H.; Oguma, T.; Tajiri, T.; Iwata, T.; Nagasaki, T.; Kanemitsu, Y.; Morishima, T.; et al. Association of Interleukin 1 Receptor-like 1 Gene Polymorphisms with Eosinophilic Phenotype in Japanese Adults with Asthma. *Respir. Investig.* **2017**, *55*, 338–347, doi:10.1016/J.RESINV.2017.08.006.
13. Gudbjartsson, D.F.; Bjornsdottir, U.S.; Halapi, E.; Helgadóttir, A.; Sulem, P.; Jonsdóttir, G.M.; Thorleifsson, G.; Helgadóttir, H.; Steinthorsdóttir, V.; Stefansson, H.; et al. Sequence Variants Affecting Eosinophil Numbers Associate with Asthma and Myocardial Infarction. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 342–347, doi:10.1038/ng.323.
14. Dijk, F.N.; Vijverberg, S.J.; Hernandez-Pacheco, N.; Repnik, K.; Karimi, L.; Mitratza, M.; Farzan, N.; Nawijn, M.C.; Burchard, E.G.; Engelkes, M.; et al. IL1RL1 Gene Variations Are Associated with Asthma Exacerbations in Children and Adolescents Using Inhaled Corticosteroids. *Allergy* **2020**, *75*, 984, doi:10.1111/ALL.14125.
15. Ketelaar, M.E.; Westerlaken – van Ginkel, C.D.; Nawijn, M.C.; EJ Dubois, A.; Koppelman, G.H. IL-1RL1a Serum Levels and IL1RL1 SNPs in the Prediction of Food Allergy. *Clin. Exp. Allergy* **2021**, *51*, 614, doi:10.1111/CEA.13802.
16. Akhbar, L.; Sandford, A. Genetics of Interleukin 1 Receptor-Like 1 in Immune and Inflammatory Diseases. *Curr. Genomics* **2010**, *11*, 591, doi:10.2174/138920210793360907.
17. Li, Y.; Liu, B.; Harmacek, L.; Long, Z.; Liang, J.; Lukin, K.; Leach, S.M.; O'Connor, B.; Gerber, A.N.; Hagman, J.; et al. The Transcription Factors GATA2 and MITF Regulate Gene Expression in Mast Cells and Are Required for IgE/Mast Cell-Mediated Anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *142*, 1173, doi:10.1016/J.JACI.2017.10.043.
18. Ohmori, S.; Ishijima, Y.; Numata, S.; Takahashi, M.; Sekita, M.; Sato, T.; Chugun, K.; Yamamoto, M.; Ohneda, K. GATA2 and PU.1 Collaborate To Activate the Expression of the Mouse Ms4a2 Gene, Encoding FcεRIβ, through Distinct Mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* **2019**, *39*, doi:10.1128/MCB.00314-19.
19. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flicek, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, *526*, 68, doi:10.1038/NATURE15393.
20. Tabatabaian, F.; Ledford, D.K. Omalizumab for Severe Asthma: Toward Personalized Treatment Based on Biomarker Profile and Clinical History. *J. Asthma Allergy* **2018**, *11*, 53, doi:10.2147/JAA.S107982.
21. Bourdin, A.; Molinari, N.; Vachier, I.; Varrin, M.; Marin, G.; Gamez, A.S.; Paganin, F.; Chanez, P. Prognostic Value of Cluster Analysis of Severe Asthma Phenotypes. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2014**, *134*, 1043–1050, doi:10.1016/J.JACI.2014.04.038.
22. Chung, K.F. Managing Severe Asthma in Adults: Lessons from the ERS/ATS Guidelines. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2015**, *21*, 8–15, doi:10.1097/MCP.0000000000000116.
23. Fajt, M.L.; Wenzel, S.E. Development of New Therapies for Severe Asthma. *Allergy. Asthma Immunol.*

- Res. **2017**, 9, 3–14, doi:10.4168/AAIR.2017.9.1.3.
24. Hanania, N.A.; Alpan, O.; Hamilos, D.L.; Condemi, J.J.; Reyes-Rivera, I.; Zhu, J.; Rosen, K.E.; Eisner, M.D.; Wong, D.A.; Busse, W. Omalizumab in Severe Allergic Asthma Inadequately Controlled with Standard Therapy: A Randomized Trial. *Ann. Intern. Med.* **2011**, *154*, 573–582, doi:10.7326/0003-4819-154-9-201105030-00002.
 25. Solèr, M.; Matz, J.; Townley, R.; Buhl, R.; O'Brien, J.; Fox, H.; Thirlwell, J.; Gupta, N.; Della Cioppa, G. The Anti-IgE Antibody Omalizumab Reduces Exacerbations and Steroid Requirement in Allergic Asthmatics. *Eur. Respir. J.* **2001**, *18*, 254–261, doi:10.1183/09031936.01.00092101.
 26. Busse, W.; Corren, J.; Lanier, B.Q.; McAlary, M.; Fowler-Taylor, A.; Cioppa, G. Della; Gupta, N. Omalizumab, Anti-IgE Recombinant Humanized Monoclonal Antibody, for the Treatment of Severe Allergic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2001**, *108*, 184–190, doi:10.1067/MAI.2001.117880.
 27. Normansell, R.; Walker, S.; Milan, S.J.; Walters, E.H.; Nair, P. Omalizumab for Asthma in Adults and Children. *Cochrane database Syst. Rev.* **2014**, *2014*, doi:10.1002/14651858.CD003559.PUB4.
 28. Holguin, F.; Cardet, J.C.; Chung, K.F.; Diver, S.; Ferreira, D.S.; Fitzpatrick, A.; Gaga, M.; Kellermeier, L.; Khurana, S.; Knight, S.; et al. Management of Severe Asthma: A European Respiratory Society/American Thoracic Society Guideline. *Eur. Respir. J.* **2020**, *55*, doi:10.1183/13993003.00588-2019.
 29. Adachi, M.; Kozawa, M.; Yoshisue, H.; Lee Milligan, K.; Nagasaki, M.; Sasajima, T.; Miyamoto, T.; Ohta, K. Real-World Safety and Efficacy of Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma: A Long-Term Post-Marketing Study in Japan. *Respir. Med.* **2018**, *141*, 56–63, doi:10.1016/j.rmed.2018.06.021.
 30. Paganin, F.; Mangiapan, G.; Proust, A.; Prudhomme, A.; Attia, J.; Marchand-Adam, S.; Pellet, F.; Milhe, F.; Melloni, B.; Bernady, A.; et al. Lung Function Parameters in Omalizumab Responder Patients: An Interesting Tool? *Allergy* **2017**, *72*, 1953–1961, doi:10.1111/ALL.13202.
 31. Verma, P.; Randhawa, I.; Klaustermeyer, W.B. Clinical Efficacy of Omalizumab in an Elderly Veteran Population with Severe Asthma. *Allergy asthma Proc.* **2011**, *32*, 346–350, doi:10.2500/AAP.2011.32.3467.
 32. Humbert, M.; Beasley, R.; Ayres, J.; Slavin, R.; Hébert, J.; Bousquet, J.; Beeh, K.M.; Ramos, S.; Canonica, G.W.; Hedgecock, S.; et al. Benefits of Omalizumab as Add-on Therapy in Patients with Severe Persistent Asthma Who Are Inadequately Controlled despite Best Available Therapy (GINA 2002 Step 4 Treatment): INNOVATE. *Allergy* **2005**, *60*, 309–316, doi:10.1111/j.1398-9995.2004.00772.x.
 33. Ortega, H.; Katz, L.; Gunsoy, N.; Keene, O.; Yancey, S. Blood Eosinophil Counts Predict Treatment Response in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2015**, *136*, 825–826, doi:10.1016/j.jaci.2015.05.039.
 34. Humbert, M.; Taillé, C.; Mala, L.; Le Gros, V.; Just, J.; Molimard, M.; Agossou, M.; Appere De Vecchi, C.; Barbare, E.; Barbry, M.; et al. Omalizumab Effectiveness in Patients with Severe Allergic Asthma According to Blood Eosinophil Count: The STELLAIR Study. *Eur. Respir. J.* **2018**, *51*, doi:10.1183/13993003.02523-2017.
 35. Harrison, T.W.; Chanez, P.; Menzella, F.; Canonica, G.W.; Louis, R.; Cosio, B.G.; Lugogo, N.L.; Mohan, A.; Burden, A.; McDermott, L.; et al. Onset of Effect and Impact on Health-Related Quality of Life, Exacerbation Rate, Lung Function, and Nasal Polyposis Symptoms for Patients with Severe Eosinophilic Asthma Treated with Benralizumab (ANDHI): A Randomised, Controlled, Phase 3b Trial. *Lancet. Respir. Med.* **2021**, *9*, 260–274, doi:10.1016/S2213-2600(20)30414-8.
 36. Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M. V; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Pharmaceutics* **2023**, *15*.
 37. Sheehan, W.J.; Krouse, R.Z.; Calatroni, A.; Gergen, P.J.; Gern, J.E.; Gill, M.A.; Gruchalla, R.S.; Khurana Hershey, G.K.; Kattan, M.; Kerckmar, C.M.; et al. Aeroallergen Sensitization, Serum IgE, and Eosinophilia as Predictors of Response to Omalizumab Therapy During the Fall Season Among Children with Persistent Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2020**, *8*, 3021–3028.e2, doi:10.1016/j.jaip.2020.03.051.

38. Bousquet, J.; Humbert, M.; Gibson, P.G.; Kostikas, K.; Jaumont, X.; Pfister, P.; Nissen, F. Real-World Effectiveness of Omalizumab in Severe Allergic Asthma: A Meta-Analysis of Observational Studies. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2021**, *9*, 2702–2714, doi:10.1016/J.JAIP.2021.01.011.
39. Kallieri, M.; Papaioannou, A.I.; Papathanasiou, E.; Ntontsi, P.; Papiris, S.; Loukides, S. Predictors of Response to Therapy with Omalizumab in Patients with Severe Allergic Asthma – a Real Life Study. <http://dx.doi.org/10.1080/00325481.2017.1321945> **2017**, *129*, 598–604, doi:10.1080/00325481.2017.1321945.
40. Caminati, M.; Vianello, A.; Chieco Bianchi, F.; Festi, G.; Guarnieri, G.; Marchi, M.R.; Micheletto, C.; Olivieri, M.; Tognella, S.; Guerriero, M.; et al. Relevance of TH2 Markers in the Assessment and Therapeutic Management of Severe Allergic Asthma: A Real-Life Perspective. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2020**, *30*, 35–41, doi:10.18176/JIACI.0379.
41. Ulleamar, V.; Magnusson, P.K.E.; Lundholm, C.; Zettergren, A.; Melén, E.; Lichtenstein, P.; Almqvist, C. Heritability and Confirmation of Genetic Association Studies for Childhood Asthma in Twins. *Allergy* **2016**, *71*, 230–238, doi:https://doi.org/10.1111/all.12783.
42. Ober, C.; Yao, T.-C. The Genetics of Asthma and Allergic Disease: A 21st Century Perspective. *Immunol. Rev.* **2011**, *242*, 10–30, doi:https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01029.x.
43. Thomsen, S.F.; Ulrik, C.S.; Kyvik, K.O.; Ferreira, M.A.R.; Backer, V. Multivariate Genetic Analysis of Atopy Phenotypes in a Selected Sample of Twins. *Clin. Exp. Allergy* **2006**, *36*, 1382–1390, doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2006.02512.x.
44. Wang, K.; Gaitsch, H.; Poon, H.; Cox, N.J.; Rzhetsky, A. Classification of Common Human Diseases Derived from Shared Genetic and Environmental Determinants. *Nat. Genet.* **2017**, *49*, 1319–1325, doi:10.1038/ng.3931.
45. Witte, J.S.; Visscher, P.M.; Wray, N.R. The Contribution of Genetic Variants to Disease Depends on the Ruler. *Nat. Rev. Genet.* **2014**, *15*, 765–776, doi:10.1038/nrg3786.
46. Rojo-Tolosa, S.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M. V; Fernández-Alonso, A.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C. Association between Single Nucleotide Polymorphisms Related to Vitamin D Metabolism and the Risk of Developing Asthma. *Nutrients* **2023**, *15*.
47. Spear, M.L.; Hu, D.; Pino-Yanes, M.; Huntsman, S.; Eng, C.; Levin, A.M.; Ortega, V.E.; White, M.J.; McGarry, M.E.; Thakur, N.; et al. A Genome-Wide Association and Admixture Mapping Study of Bronchodilator Drug Response in African Americans with Asthma. *Pharmacogenomics J.* **2018**, *19*, 249–259, doi:10.1038/s41397-018-0042-4.
48. Vijverberg, S.J. Realizing Personalized Medicine in Asthmatic Children Requires Large-Scale Collaboration. *Pediatr. Ther.* **2015**, *05*, doi:10.4172/2161-0665.1000e127.
49. Farzan, N.; Vijverberg, S.J.H.; Arets, H.G.; Raaijmakers, J.A.M.; Maitland-van der Zee, A.H. Pharmacogenomics of Inhaled Corticosteroids and Leukotriene Modifiers: A Systematic Review. *Clin. Exp. Allergy* **2017**, *47*, 271–293, doi:10.1111/CEA.12844.
50. Vijverberg, S.J.; Raaijmakers, J.A.; Maitland-Van Der Zee, A.H. ADRB2 Arg16 and the Need for Collaboration in Childhood Asthma Pharmacogenomics. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs.13.195> **2013**, *14*, 1937–1939, doi:10.2217/PGS.13.195.
51. Casale, T.B.; Luskin, A.T.; Busse, W.; Zeiger, R.S.; Trzaskoma, B.; Yang, M.; Griffin, N.M.; Chipps, B.E. Omalizumab Effectiveness by Biomarker Status in Patients with Asthma: Evidence From PROSPERO, A Prospective Real-World Study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **2019**, *7*, 156-164.e1, doi:10.1016/j.jaip.2018.04.043.
52. Ledford, D.; Busse, W.; Trzaskoma, B.; Omachi, T.A.; Rosén, K.; Chipps, B.E.; Luskin, A.T.; Solari, P.G. A Randomized Multicenter Study Evaluating Xolair Persistence of Response after Long-Term Therapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2017**, *140*, 162-169.e2, doi:10.1016/J.JACI.2016.08.054.
53. Busse, W.; Spector, S.; Rosén, K.; Wang, Y.; Alpan, O. High Eosinophil Count: A Potential Biomarker for Assessing Successful Omalizumab Treatment Effects. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2013**, *132*, doi:10.1016/J.JACI.2013.02.032.
54. Casale, T.B.; Chipps, B.E.; Rosén, K.; Trzaskoma, B.; Haselkorn, T.; Omachi, T.A.; Greenberg, S.; Hanania, N.A. Response to Omalizumab Using Patient Enrichment Criteria from Trials of Novel Biologics in Asthma. *Allergy* **2018**, *73*, 490–497, doi:10.1111/ALL.13302.

55. Marzano, A. V.; Genovese, G.; Casazza, G.; Fierro, M.T.; Dapavo, P.; Crimi, N.; Ferrucci, S.; Pepe, P.; Liberati, S.; Pigatto, P.D.; et al. Predictors of Response to Omalizumab and Relapse in Chronic Spontaneous Urticaria: A Study of 470 Patients. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* **2019**, *33*, 918–924, doi:10.1111/JDV.15350.
56. Liao, E.C.; Chang, C.Y.; Hsieh, C.W.; Yu, S.J.; Yin, S.C.; Tsai, J.J. An Exploratory Pilot Study of Genetic Marker for IgE-Mediated Allergic Diseases with Expressions of FcεR1α and Cε. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 9504, doi:10.3390/IJMS16059504.
57. Amo, G.; García-Menaya, J.; Campo, P.; Cordobés, C.; Serón, M.C.P.; Ayuso, P.; Esguevillas, G.; Blanca, M.; Agúndez, J.A.G.; García-Martín, E. A Nonsynonymous FCER1B SNP Is Associated with Risk of Developing Allergic Rhinitis and with IgE Levels. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, doi:10.1038/SREP19724.
58. Dar, S.A.; Rai, G.; Ansari, M.A.; Akhter, N.; Gupta, N.; Sharma, S.; Haque, S.; Ramachandran, V.G.; Wahid, M.; Rudramurthy, S.M.; et al. FcεR1α Gene Polymorphism Shows Association with High IgE and Anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4142–4149, doi:10.1002/JCB.26619.
59. Sharma, S.; Ghosh, B. Promoter Polymorphism in the MS4A2 Gene and Asthma in the Indian Population. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2009**, *149*, 208–218, doi:10.1159/000199716.
60. Green, S.L.; Gaillard, M.C.; Song, E.; Dewar, J.B.; Halkas, A. Polymorphisms of the Beta Chain of the High-Affinity Immunoglobulin E Receptor (Fcεpsilon RI-Beta) in South African Black and White Asthmatic and Nonasthmatic Individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **1998**, *158*, 1487–1492, doi:10.1164/AJRCCM.158.5.9707099.
61. Li, A.; Hopkin, J.M. Atopy Phenotype in Subjects with Variants of the Beta Subunit of the High Affinity IgE Receptor. *Thorax* **1997**, *52*, 654–655, doi:10.1136/THX.52.7.654.
62. Kim, Y.K.; Park, H.W.; Yang, J.S.; Oh, S.Y.; Chang, Y.S.; Shin, E.S.; Lee, J.E.; Kim, S.; Cho, Y.S.; Cho, S.H.; et al. Association and Functional Relevance of E237G, a Polymorphism of the High-Affinity Immunoglobulin E-Receptor Beta Chain Gene, to Airway Hyper-Responsiveness. *Clin. Exp. Allergy* **2007**, *37*, 592–598, doi:10.1111/J.1365-2222.2007.02680.X.
63. Shirakawa, T.; Mao, X.; Sasaki, S.; Enomoto, T.; Kawai, M.; Morimoto, K.; Hopkin, J. Association between Atopic Asthma and a Coding Variant of FcεRIβ in a Japanese Population. *Hum. Mol. Genet.* **1996**, *5*.
64. Pavón-Romero, G.F.; Pérez-Rubio, G.; Ramírez-Jiménez, F.; Ambrocio-Ortiz, E.; Bañuelos-Ortiz, E.; Alvarado-Franco, N.; Xochipa-Ruiz, K.E.; Hernández-Juárez, E.; Flores-García, B.A.; Camarena, Á.E.; et al. MS4A2-Rs573790 Is Associated with Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease: Replicative Study Using a Candidate Gene Strategy. *Front. Genet.* **2018**, *9*, 363, doi:10.3389/FGENE.2018.00363/FULL.
65. Drouin, S.M.; Corry, D.B.; Kildsgaard, J.; Wetsel, R.A. Cutting Edge: The Absence of C3 Demonstrates a Role for Complement in Th2 Effector Functions in a Murine Model of Pulmonary Allergy. *J. Immunol.* **2001**, *167*, 4141–4145, doi:10.4049/JIMMUNOL.167.8.4141.
66. Van Der Pol, W.L.; Van De Winkel, J.G.J. IgG Receptor Polymorphisms: Risk Factors for Disease. *Immunogenetics* **1998**, *48*, 222–232, doi:10.1007/S002510050426.
67. Chai, L.; Song, Y.Q.; Leung, W.K. Genetic Polymorphism Studies in Periodontitis and Fcγ Receptors. *J. Periodontal Res.* **2012**, *47*, 273–285, doi:10.1111/J.1600-0765.2011.01437.X.
68. Cañete, J.D.; Suárez, B.; Hernández, M. V.; Sanmartí, R.; Rego, I.; Celis, R.; Moll, C.; Pinto, J.A.; Blanco, F.J.; Lozano, F. Influence of Variants of Fcγ Receptors IIA and IIIA on the American College of Rheumatology and European League Against Rheumatism Responses to Anti-Tumour Necrosis Factor α Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **2009**, *68*, 1547–1552, doi:10.1136/ARD.2008.096982.
69. Dharajiya, N.; Vaidya, S. V.; Murai, H.; Cardenas, V.; Kurosky, A.; Boldogh, I.; Sur, S.A. FcγRIIb Inhibits Allergic Lung Inflammation in a Murine Model of Allergic Asthma. *PLoS One* **2010**, *5*, 9337, doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0009337.
70. Jiang, Y.; Hirose, S.; Abe, M.; Sanokawa-Akakura, R.; Ohtsuji, M.; Mi, X.; Li, N.; Xiu, Y.; Zhang, D.; Shirai, J.; et al. Polymorphisms in IgG Fc Receptor IIB Regulatory Regions Associated with Autoimmune Susceptibility. *Immunogenetics* **2000**, *51*, 429–435, doi:10.1007/S002510050641/METRICS.

71. Gordon, E.D.; Palandra, J.; Wesolowska-Andersen, A.; Ringel, L.; Rios, C.L.; Lachowicz-Scroggins, M.E.; Sharp, L.Z.; Everman, J.L.; MacLeod, H.J.; Lee, J.W.; et al. IL1RL1 Asthma Risk Variants Regulate Airway Type 2 Inflammation. *JCI Insight* **2016**, *1*, 87871, doi:10.1172/JCI.INSIGHT.87871.
72. Hirasawa, R.; Shimizu, R.; Takahashi, S.; Osawa, M.; Takayanagi, S.; Kato, Y.; Onodera, M.; Minegishi, N.; Yamamoto, M.; Fukao, K.; et al. Essential and Instructive Roles of GATA Factors in Eosinophil Development. *J. Exp. Med.* **2002**, *195*, 1379–1386, doi:10.1084/JEM.20020170.
73. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica *Gema 5.2. Guía Española Para El Manejo Del Asma*; 2022; ISBN 9788419069139.
74. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica XOLAIR 150 Mg Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/p/05319008/P_05319008.html (accessed on 12 February 2023).
75. Asthma Control Test (ACT) Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 4 May 2022).
76. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; De Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575, doi:10.1086/519795.
77. R Core Team, R. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **2013**.
78. Barrett, J.C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M.J. Haploview: Analysis and Visualization of LD and Haplotype Maps. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 263–265, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTH457.
79. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A Web Tool for the Analysis of Association Studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTL268.

Pharmaceutics 2023. Pendiente de publicación.

Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype

Susana Rojo-Tolosa ^{1,2,*}, José Antonio Sánchez-Martínez¹, María Victoria González-Gutiérrez¹, Gonzalo Jiménez Gálvez¹, Laura Elena Pineda Lancheros^{2,*}, Concepción Morales-García¹, Cristina Pérez Ramírez^{3,†} and Alberto Jiménez Morales ^{2,†}

¹ Respiratory Medicine Department. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; gjimenezgalvez@gmail.com (G.J.G.); mvglezgut@hotmail.com (M.V.G.G.); josebaza@hotmail.com (J.A.S.M.); concepcion.morales.sspa@juntadeandalucia.es (C.M.G.).

² Pharmacy Service, Pharmacogenetics Unit. University Hospital Virgen de las Nieves, 18014. Granada, Spain; alberto.jimenez.morales.sspa@juntadeandalucia.es (A.J.M.).

³ Center of Biomedical Research, Department of Biochemistry and Molecular Biology II, Institute of Nutrition and Food Technology “José Mataix”, University of Granada, Avda. del Conocimiento s/n., 18016 Granada, Spain; cperezramirez87@ugr.es (C.P.R.)

* Correspondence: e-mail@e-mail.com; susanarojotolosa@gmail.com (S.R.T.); lepedal@unal.edu.co (L.E.P.L.).

† Co-senior authors.

Abstract: The most promising treatment options for severe uncontrolled asthma (SUA) have emerged in recent years with the development of monoclonal antibodies for blocking selective targets responsible for the underlying inflammation. Variability of response to mepolizumab and benralizumab could be influenced by single-nucleotide polymorphisms (SNPs), and it would be useful to detect these and use them as predictive biomarkers of response. We conducted an observational retrospective cohort study that included patients with severe uncontrolled eosinophilic asthma being treated with mepolizumab and benralizumab in a tertiary hospital. Polymorphisms in the *IL5* (rs4143832, rs17690122), *RAD50* (rs11739623, rs4705959), *IL1RL1* (rs1420101, rs17026974, rs1921622), *GATA2* (rs4857855), *IKZF2* (rs12619285), *FCGR2A* (rs1801274), *FCGR2B* (rs3219018, rs1050501), *FCGR3A* (rs10127939, rs396991), *FCER1A* (rs2251746, rs2427837), and *FCER1B* (rs1441586, rs573790, rs1054485, rs569108) genes were analyzed by real-time polymerase chain reaction (PCR) using Taqman probes. A total of 188 patients under treatment with mepolizumab and benralizumab were recruited. After 12 months of treatment, *FCER1B* rs1054485-T (OR = 5.33; 95% CI = 1.06–30.02) was associated with a reduction in exacerbations with mepolizumab. Reduction in oral corticosteroids (OCS) was associated with *IL5* rs4143832-T (OR = 3.89; 95% CI = 1.03–19.22), *IKZF2* rs12619285-A (OR = 3.72; 95% CI = 0.79–20.43), *FCER1B* rs569108-AA (OR = 8.86; 95% CI = 1.18–181.94), and *FCGR2A* rs1801274-GG (OR = 7.73; 95% CI = 1.29–148.9) in patients treated with benralizumab. Improvement in lung function showed a relationship with *IL1RL1* rs1921622-A (OR = 4.53; 95% CI = 1.11–30.89), *IL1RL1* rs1420101-C (OR = 6.1e7; 95% CI = 1.35e⁻⁶¹–NA), *FCER1B* rs1441586-TT (OR = 3.71; 95% CI = 0.9–25.47), and *FCER1A* rs2427837-A (OR = 3.7; 95% CI = 1.16–14.73) in treatment with mepolizumab and *IKZF2* rs12619285-AA (OR = 5; 95% CI = 1.22–26.05), *FCER1A* rs2427837-A (OR = 5; 95% CI = 1.1–36.02), and *FCER1B* rs1441586-C (OR = 6.9; 95% CI = 1.38–40.98) in benralizumab. The results of this study show the potential influence of the polymorphisms studied on the response to mepolizumab and benralizumab and the clinical benefit that could be obtained by defining predictive biomarkers of treatment response.

Keywords: severe uncontrolled asthma; mepolizumab; benralizumab; effectiveness, polymorphisms.

1. Introduction

Severe uncontrolled asthma (SUA) is characterized by the need to use multiple medications at high doses to treat it: steps 5–6 in the Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA: Spanish

Asthma Management Guide) and step 5 in the Global Initiative for Asthma (GINA) [1,2]. The type 2 immune response plays a crucial role in the pathogenesis of severe asthma, involving various types of cells, notably including type 2 helper T (Th2) cells and type 2 innate lymphoid (ILC2) cells [3].

Interleukin 5 (IL-5) is a potent proinflammatory cytokine responsible for the maturation, proliferation, activation, migration, and survival of eosinophils. It is produced by various cellular elements, including Th2 lymphocytes, ILC2 cells, mast cells, and eosinophils. Exposure to allergens activates the Th2 cells, which produce and secrete IL-5. The presence of IL-4 is essential because it is required for activation of Th2 cells through stimulation of key transcription factors. The release of IL-5 from ILC2 cells is dependent on GATA3 activation induced by epithelial innate cytokines, including IL-25, IL-33, and especially thymic stromal lymphopoietin (TSLP) [4].

The most promising treatment options for SUA have emerged in recent years with the development of monoclonal antibodies for blocking selective targets responsible for the underlying inflammation [5].

Mepolizumab (marketed as Nucala) is a humanized monoclonal antibody (IgG1, kappa) which acts by binding to IL-5 with high affinity and specificity. Mepolizumab inhibits the bioactivity of IL-5 by blocking the binding of IL-5 to the alpha chain of the IL-5 receptor complex (IL-5R α) expressed on the eosinophil cell surface, thereby inhibiting IL-5 signalling and reducing the production and survival of eosinophils [6].

Benralizumab (marketed as Fasenra) is a humanized and afucosylated monoclonal antibody (IgG1, kappa). It binds with great affinity and specificity to the alpha subunit of the IL-5R α receptor. The IL-5 receptor is expressed specifically on the surface of eosinophils and basophils. The absence of fucose in the constant (Fc) domain of benralizumab results in high affinity for Fc-gamma III (Fc γ RIII) receptors on immune effector cells such as natural cytolytic lymphocytes (natural killer [NK] cells). This leads to apoptosis of eosinophils and basophils through enhanced antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, which reduces eosinophilic inflammation [7].

Immunoglobulin (Ig) molecules are formed by two heavy chains and two light chains linked by disulfide bridges. Both chains consist of two parts, the Fc domain and a variable region (Fab). The function of the Fc region of IgG is to improve the pharmacokinetics, increasing stability and prolonging the half-life of the drug [8]. The Fc portion of IgG1 binds selectively to the Fc γ R receptors, integral membrane glycoproteins that produce a complex activation or inhibition of antibody cell function after aggregation of IgG [9,10]. There are various types of Fc γ R, Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), and Fc γ RIII (CD16), in which the affinity for the Fc region of IgG may vary, modifying the response to biological therapies (BTs) [9].

There are studies that associate single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the IL5 gene with atopic asthma, an increase in IL-5 mRNA expression, decreased lung function, and eosinophil count [11,12]

Interleukin 1 (IL-1) is a proinflammatory cytokine of Th2 lymphocytes and its expression is increased in asthma, as it promotes the activation of T lymphocytes and consequently the eosinophil count [13]. It has recently been reported that IL-33 belongs to the IL-1 family, with the ability to produce Th2. Its functions are mediated by the IL1 receptor (IL1RL1), which leads to the release of allergic mediators and eosinophils, such as IL-5 and IL-13, resulting in an increase in the eosinophil count and eosinophilic inflammation [14], and the response to these BTs may be affected.

The IKZF2 gene encodes a member of the IKAROS family of zinc-finger proteins. Three members of this family are hematopoietic-specific transcription factors involved in lymphocyte development [15]. Studies have associated the presence of SNPs in this gene with the eosinophil count in asthma [11,16].

The GATA2 gene codes for a transcription factor involved in hematopoietic cell development and proliferation and is defined as a critical factor for eosinophil development [17]. Studies have associated the presence of SNPs in this gene with the eosinophil count in asthma [11].

Interleukin 5 is essential for the maturation and differentiation of eosinophils. In contrast, the specific granules of eosinophils can store IL-5, which indicates that these cells could also

contribute to increasing circulating levels of IL-5 [18,19]. Other authors have suggested that RAD50 could act as the common factor regulating IL-5 levels. Polymorphisms strongly linked to IL-5 levels and eosinophilia have been detected in this gene [20], which could affect the therapeutic response.

The high-affinity IgE receptor FcεRI activates mast cells and basophils through the interaction of the FcεRI receptors with multivalent antigen-bound IgE dimers [21]. The Ag-IgE-FcεRI complex activates a G protein and stimulates a complex process whose end result is the synthesis and secretion of cytokines such as IL-1, IL-4, and IL-5 [22–25]. The presence of SNPs in this gene could modify this process, which might affect the response to these BTs.

There are currently no association studies of SNPs with the response to these BTs. Within this conceptual framework, the objective of this study was to evaluate the influence of SNPs in some of the genes involved in the mechanism of action and the process of response to mepolizumab and benralizumab (FCGR3, IL-5, FCER1, IL1RL1, IKZF2, GATA2, RAD50), with the aim of obtaining predictive biomarkers of response to BTs.

2. Materials and Methods

2.1 Study Design

We conducted an observational retrospective cohort study.

2.1 Study Population

This study included 188 patients aged over 18 years and of Caucasian origin diagnosed with severe uncontrolled asthma according to the criteria of the Spanish Asthma Management Guidelines (GEMA 5.2) [1], recruited in the Respiratory Medicine Department of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves in Granada (Spain) between April 2014 and April 2022. Out of the 188 patients recruited, the response to mepolizumab was evaluated in 73 patients and to benralizumab in 51 patients before beginning treatment and 12 months after the start of biological therapy. The remaining patients did not meet the study's evaluation criteria. The administration route of the drug was subcutaneous: 100 mg of mepolizumab every 4 weeks and 30 mg of benralizumab every 4 weeks for the first 3 doses and subsequently every 8 weeks [6,7].

2.3 Ethics Statements

The study was conducted with the approval of the Ethics and Research Committee of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) in accordance with the Declaration of Helsinki. The subjects who participated in the study signed an informed consent for collection and genetic analysis of saliva samples and for their donation to the Biobank of the Sistema Sanitario Público de Andalucía (Andalusian Public Health Service). The samples were identified by alphanumeric codes.

2.4 Socio-Demographic and Clinical Variables

The socio-demographic and clinical data were collected by reviewing clinical histories. The socio-demographic data collected were age, sex, body mass index (BMI), smoking status, years with the disease, nasal polyposis, previous respiratory disease, allergies, gastroesophageal reflux disease (GERD), sleep apnea-hypopnea syndrome (SAHS), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), years of BT, treatment dose, and change to another BT. The clinical variables included courses of oral corticosteroids (OCS) expressed as prednisone-equivalent mg and of inhaled corticosteroids (ICS) expressed as fluticasone-furoate-equivalent µg, blood eosinophil count, exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization, IgE, lung function as maximum percentage expiratory volume in the first second of forced exhalation (%FEV1), and Asthma Control Test (ACT) results [26]. The clinical variables were collected with reference to the year before starting BT and after completing the first year of treatment.

2.5 Genetic Variables

2.5.1 DNA Isolation

The saliva samples were collected in buccal swabs (*OCR-100 Kit*). The DNA was extracted using the *QIAamp DNA Mini Kit* (*Qiagen GmbH, Hilden, Germany*), following the manufacturer's instructions for purifying DNA from saliva, and was stored at -40 °C. The concentration and

purity of the DNA were measured using a *NanoDrop 2000 UV* spectrophotometer with 280/260 and 280/230 absorbance ratios.

2.5.2 Detection of Gene Polymorphisms and quality control

The gene polymorphisms were determined by real-time polymerase chain reaction (PCR) allelic discrimination assay using TaqMan probes (*ABI Applied Biosystems, QuantStudio 3 Real-Time PCR System*, 96 wells) according to the manufacturer's instructions (Table 1). The FCGR2B rs3219018 and FCGR2B rs1050501 polymorphisms were analyzed using a custom assay by ThermoFisher Scientific (*Waltham, Massachusetts, United States*) coded as ANPRZAZ and ANRWUVX respectively. Ten per cent of the results were confirmed by Sanger sequencing. Real-time PCR and Sanger sequencing were performed in the Pharmacogenetics Unit of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves. The criteria for SNP quality control were: (1) missing genotype rate per SNP < 0.05; (2) minor allele frequency > 0.01; (3) p value > 0.05 in Hardy-Weinberg equilibrium test; (4) missing genotype rate between cases and control < 0.05.

Table 1. Gene polymorphisms and TaqMan ID.

Gene	SNP	dbSNP ID	Assay ID
<i>IL5</i> (5q31)	T>G	rs4143832	C__28028637_10
	A>G	rs17690122	C__33291516_10
<i>RAD50</i> (5q31.1)	C>T	rs11739623	C__31237883_10
	T>C	rs4705959	C__2549990_10
<i>FCER1A</i> (1q23)	T>C	rs2251746	C__1840470_20
	G>A	rs2427837	C__16233438_20
<i>FCER1B</i> (11q12-13)	T>C	rs1441586	C__1842226_10
	T>C	rs573790	C__900105_20
	T>G	rs1054485	C__2932371_10
	A>G	rs569108	C__900116_10
<i>IKZF22</i> (2q13)	A>G	rs12619285	C__1861821_10
<i>FCGR2A</i> (1q23.3)	A>G	rs1801274	C__9077561_20
<i>FCGR2B</i> (1q23.3)	G>C	rs3219018	ANPRZAZ
	T>C	rs1050501	ANRWUVX
<i>FCGR3A</i> (1q23.3)	A>C	rs10127939	C__57480226_10
	A>C	rs396991	C__25815666_10
<i>IL1RL1</i> (2q12)	C>T	rs1420101	C__8906009_20
	G>A	rs17026974	C__33551182_10
	G>A	rs1921622	C__1226146_10
<i>GATA2</i> (3q21)	C>T	rs4857855	C__11231076_10

2.6 Response Variables

To evaluate the predictors of response at 12 months, the following were taken as response variables: reduction of OCS courses per year, considering a reduction of at least 50% in courses or absence of OCS as a satisfactory response; improvement of lung function, considering those that achieved an increase of at least 10% in FEV1 or FEV1 > 80% after 12 months' treatment as responders; and reduction of exacerbations per year requiring emergency department treatment and/or hospitalization, taking a reduction of at least 50% or absence of exacerbations as a satisfactory response.

2.7 Statistical Analysis

The descriptive analysis was performed with R 4.2.0 software. The quantitative variables were expressed as the mean (\pm standard deviation) for those that complied with normality and as the median and percentiles (25 and 75) for the variables that did not follow a normal distribution. Normality was confirmed using the Kolmogorov-Smirnov test. The bivariate analysis between the response and the genetic variables was performed with multiple models (genotypic, additive, allelic, dominant, and recessive), using the Pearson χ^2 test or applying the Fisher exact test for the qualitative variables. For the quantitative variables, we applied the t test to the variables that complied with normality and the Mann-Whitney U test for non-normal variables. The models were defined as allelic (D vs d), dominant ((DD, Dd) vs dd), recessive (DD vs (Dd, dd)), genotypic (DD vs dd and Dd vs dd), and additive, where D is the minor allele and d the major allele.

A multivariate (logistic regression) analysis was used to calculate the adjusted odds ratio (OR) and the 95% confidence interval (95% CI) for the possible prognostic factors for response.

The Hardy-Weinberg equilibrium, the haplotype frequency, and the linkage disequilibrium (LD) were determined through the Lewontin D-prime (D') coefficients and the LD coefficient (r2).

All the tests were 2-sided, with a significance level of $p < 0.05$, and were performed using PLINK free-access software for whole-genome association analysis [27] and the R 4.2.0 statistical program [28]. The LD was calculated with Haploview 4.2 software [29] and the haplotype analysis was performed with SNPStats [30], a web tool for the analysis of association studies.

3. Results

3.1. Characteristics of the Patients

3.1.1. Characteristics of Patients Treated with Mepolizumab

A total of 73 patients treated with mepolizumab were included. The clinical and socio-demographic data are shown in Table 2. The patients' median age of starting BT was 53 [45,61] years and 67.1% (49/73) were women. A total of 74% (54/73) had a BMI greater than 25 and 83.6% (61/73) were ex-smokers. During the year before starting mepolizumab the median number of ICS doses was 500 [500,1000], 79.4% (58/73) had received at least one course of OCS, 68.6% (48/73) had %FEV1 of less than 80%, 65.7% (48/73) had suffered at least one exacerbation requiring emergency department treatment and/or hospitalization, and 77.6% (55/73) had blood eosinophil levels higher than 300 cells/ μ L. The remaining socio-demographic and clinical variables are described in Table 2.

Table 2. Socio-demographic and clinical characteristics of patients treated with mepolizumab.

	N	%	Mean \pm SD/ p50 (p25,p75)
Sex			
Women	49	67.1	
Men	24	32.9	
Age of starting BT (years)	73		53 (45,61)
Years with asthma	73		7 (3,11)
BMI (kg/m ²)			
<25	19	26	
>25	54	74	
Previous respiratory disease			
Yes	34	46.6	
No	39	53.4	
Smoking status			
Non-smoker	12	16.4	
Active smoker	0	0	
Ex-smoker	61	83.6	
Polyposis			

	Yes	33	45.2	
	No	40	54.8	
Allergies				
	Yes	37	50.7	
	No	36	49.3	
GERD				
	Yes	32	73.8	
	No	41	56.2	
SAHS				
	Yes	15	20.5	
	No	58	79.6	
COPD				
	Yes	13	17.8	
	No	60	82.2	
Age of diagnosis (years)		73		48.6 ± 14.5
	<18	2	2.7	
	>18	71	97.3	
ICS (µg/day)		73		500 (500,1000)
OCS courses per year				
	Yes	58	79.4	
	No	15	20.6	
Baseline %FEV1				
	<80	48	68.6	
	>80	22	31.4	
Exacerbation in previous year				
	Yes	48	65.7	
	No	25	34.3	
Baseline blood eosinophils (cells/µL)				
	<300	16	22.5	
	>300	55	77.6	
Baseline IgE (IU/mL)		39		132.6 (38.4,349.4)
Previous BT				
	Yes	21	28.8	
	No	52	71.2	

BMI, body mass index; GERD, gastroesophageal reflux disease; SAHS, sleep apnea-hypopnea syndrome; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; ICS, inhaled corticosteroids; OCS, oral corticosteroids; %FEV1, maximum percentage expiratory volume in the first second of forced expiration; IgE, immunoglobulin E; BT, biological therapy. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean ± standard deviation (SD). Quantitative variables with a non-normal distribution are shown as p50 (p25,p75).

3.1.2 Characteristics of Patients Treated with Benralizumab

A total of 51 patients treated with benralizumab were included. The clinical and socio-demographic data are shown in Table 3. The mean age of starting BT was 57.6 ± 15.4 years and 66.7% (34/51) were women. A total of 82.3% (42/51) had a BMI greater than 25, 19.6% (10/51) were ex-smokers, and 3.9% (2/51) were active smokers. During the year before starting benralizumab the median number of ICS doses was 1000 (500,1000), 7.8% (4/51) had received at least one course of OCS, 66.7% (34/51) had %FEV1 of less than 80%, 43.1% (22/51) had suffered at least one exacerbation requiring emergency department treatment and/or hospitalization, and 58.8% (30/51) showed blood eosinophil values higher than 300 cells/ µL. The remaining socio-demographic and clinical variables are described in Table 3.

Table 3. Socio-demographic and clinical characteristics of patients treated with benralizumab.

	N	%	Mean ± SD/ p50 (p25,p75)
Sex			
Women	34	66.7	
Men	17	33.3	
Age of starting BT (years)	51		57.6 ± 15.4
Years with asthma	51		6 (3.5,10)
BMI (kg/m ²)			
<25	9	17.7	
>25	42	82.3	
Previous respiratory disease			
Yes	24	47.1	
No	27	52.9	
Smoking status			
Non-smoker	39	76.5	
Active smoker	2	3.9	
Ex-smoker	10	19.6	
Polyposis			
Yes	20	39.2	
No	31	60.8	
Allergies			
Yes	33	64.7	
No	18	35.3	
GERD			
Yes	22	43.1	
No	29	56.9	
SAHS			
Yes	10	19.6	
No	41	80.4	
COPD			
Yes	10	19.6	
No	41	80.4	
Age of diagnosis (years)	51		51.9 ± 15.2
<18	1	2	
>18	50	98	
ICS (µg/day)	51		1000 (500,1000)
OCS courses per year			
Yes	4	7.8	
No	47	92.2	
Baseline %FEV1			
<80	34	66.7	
>80	17	33.3	
Exacerbation in previous year			
Yes	22	43.1	
No	29	56.9	
Baseline blood eosinophils (cell/µL)			
<300	21	41.2	
>300	30	58.8	
Baseline IgE (IU/mL)	16		110 (47.5,692)
Previous BT			
Yes	20	39.2	
No	31	60.8	

BMI, body mass index; GERD, gastroesophageal reflux disease; SAHS, sleep apnea-hypopnea syndrome; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; ICS, inhaled corticosteroids; OCS, oral corticosteroids; %FEV1, maximum percentage expiratory volume in the first second of forced expiration; IgE, immunoglobulin E; BT, biological therapy. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %). Quantitative variables with normal distribution are shown as mean \pm standard deviation (SD). Quantitative variables with a non-normal distribution are shown as p50 (p25,p75).

3.2 Clinical Effectiveness

Effectiveness was evaluated 12 months after starting mepolizumab and benralizumab. After 12 months of treatment 97.2% (70/72) and 97.9% (47/48) showed a satisfactory response in respect of at least one criterion, 77.8% (56/72) and 83.3% (40/48) in respect of at least two criteria, and 48.5% (32/66) and 47.6% (20/44) in respect of all three response criteria respectively. Furthermore, 90.3% (65/72) and 94% (47/50) responded satisfactorily with respect to reduction in exacerbations, 70.8% (46/65) and 72.7% (32/44) with respect to improvement in lung function, and 66.7% (48/72) and 64% (32/50) with respect to OCS respectively (Table 4).

Table 4. Clinical effectiveness of mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma and eosinophilic phenotype.

Response variable	Mepolizumab		Benralizumab	
	N	%	N	%
Responsive for 1 criterion				
R	70	97.2	47	97.9
NR	2	2.8	1	2.1
Responsive for 2 criteria				
R	56	77.8	40	83.3
NR	16	22.2	8	16.7
Responsive for 3 criteria				
R	32	48.5	20	47.6
NR	34	51.5	22	52.4
Reduction in OCS \geq 50%				
R	48	66.7	32	64
NR	24	33.3	18	36
Reduction in exacerbations \geq 50%				
R	65	90.3	47	94
NR	7	9.7	3	6
Increase in %FEV1 \geq 10% or %FEV1 \geq 80%				
Yes	46	70.8	32	72.7
No	19	29.2	12	27.3

OCS, oral corticosteroids; %FEV1, peak percentage expiratory volume in the first second of forced expiration; R, responsive; NR, non-responsive. Qualitative variables are shown as numbers (percentage, %).

3.3 Distribution of the Genotypes Analyzed

The observed genotype frequencies coincided with the expected values according to the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) model, except for FCGR2A rs1801274 and FCGR3A rs10127939 ($p = 0.016$ and $p = 0.014$ respectively, Table S.1). No statistical differences from those described in Iberian populations were found for these variants (FCGR2A rs1801274-A allele: 0.653 vs 0.472; $p = 0.797$ and FCGR3A rs10127939-A allele: 0.889 vs 0.897; $p = 0.864$) [31]. The D' and r^2 LD values are shown in Table S2 and Figure 1 shows the LD graph. The following pairs of polymorphisms were in strong LD: FCER1A rs2427837/rs2251746 ($r^2 = 0.9$, $D' = 0.96$) and RAD50 rs11739623/rs4705959 ($r^2 = 0.84$, $D' = 0.96$) (Table S2, Figure 1). All the polymorphisms showed a minor allele frequency (MAF) of more than 1%, and therefore none of them was excluded for analysis (Table S3). The estimated haplotype frequencies are presented in Tables S4–S15. No statistically significant associations were found between any haplotype and the response.

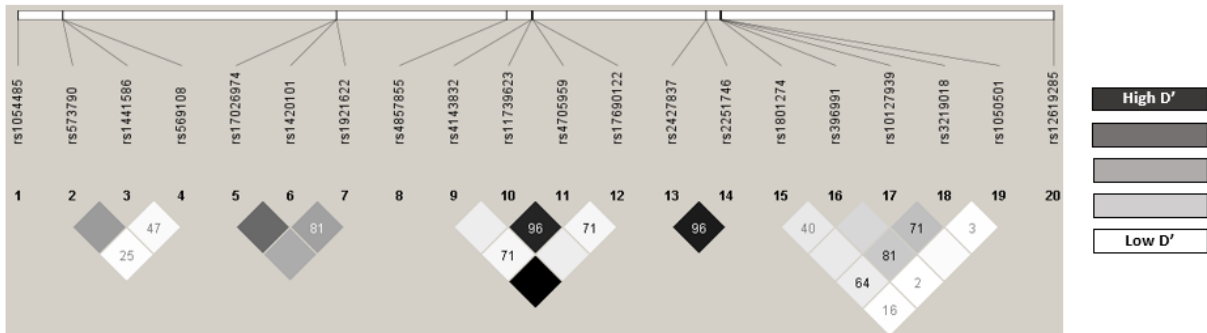


Figure 1. Linkage disequilibrium (LD).

3.4 Predictors of Mepolizumab Response at 12 Months

3.4.1 Predictors of Response for Exacerbation Reduction

The bivariate analysis reported that the variable associated with a satisfactory response in respect of reduction in exacerbations was the absence of previous respiratory disease (OR = 7.93; 95% CI = 1.26–154.29; $p = 0.047$) (Table S16). With regard to the pharmacogenetic variables, an association was found between satisfactory response and carriers of the FCER1B rs1054485-T allele (OR = 5.33; 95% CI = 1.06–30.02; $p = 0.028$) (Table S17).

The multivariate analysis revealed that the independent variable associated with satisfactory response in respect of reduction in exacerbations after 12 months of treatment with mepolizumab was the presence of the FCER1B rs1054485-T allele (OR = 5.33; 95% CI = 1.06–30.02) (Table 5).

3.4.2 Predictors of Response for OCS Reduction

In the bivariate analysis, the variable associated with a satisfactory response in respect of reduction in OCS was the absence of exacerbations in the year preceding the start of treatment (OR = 3.89; 95% CI = 1.24–14.92; $p = 0.023$) (Table S18). No associations were reported between satisfactory response and any of the genetic variants (Table S19).

In the multivariate analysis this association was maintained (OR = 3.89; 95% CI = 1.24–14.92) (Table 5).

3.4.3 Predictors of Response for Lung Function Improvement

In the bivariate analysis, the variables associated with a satisfactory response in respect of improvement in lung function were age of starting mepolizumab (OR = 1.05; 95% CI = 1.01–1.10; $p = 0.032$), years with asthma (OR = 89; 95% CI = 0.79–0.98; $p = 0.023$), and age of diagnosis (OR = 1.06; 95% CI = 1.02–1.12; $p = 0.007$) (Table S20). With regard to the pharmacogenetic variables, an association and/or tendency was found between satisfactory response and carriers of the IL1RL1 rs1921622-A allele for the genotypic and recessive models (OR = 6.67; 95% CI = 1.11–56.45; $p = 0.082$; AA vs GG, OR = 4; 95% CI = 0.79–20.32; $p = 0.002$; AG vs GG, and OR = 4.53; 95% CI = 1.11–30.89; $p = 0.047$; AA vs G), the IL1RL1 rs1420101-C allele (OR = 6.1e7; 95% CI = 1.35e-61–NA; $p = 0.027$), the FCER1B rs1441586-TT genotype (OR = 3.71; 95% CI = 0.9–25.47; $p = 0.09$), and the FCER1A rs2427837-A allele for the dominant and recessive models (OR = 3.7; 95% CI = 1.16–14.73; $p = 0.031$; A vs GG and OR = 1.9e7; 95% CI = 9.3e-92–NA; $p = 0.031$; AA vs G) (Table S21).

The multivariate analysis showed that the independent variables associated with a satisfactory response in respect of lung function after 12 months of treatment with mepolizumab were age of diagnosis (OR = 1.07; 95% CI = 1.03–1.14) and the FCER1A rs2427837-A allele (OR = 5.29; 95% CI = 1.4–23.31) (Table 5).

3.4.4 Predictors of Meeting at Least 1 Response Criterion

In the bivariate analysis, none of the socio-demographic or clinical variables was associated with meeting at least one response criterion satisfactorily (Table S22). A tendency was found towards a statistical association between satisfactory response and carriers of the GATA2 rs4857855-C allele (OR = 34; 95% CI = 1.1–1136.7; $p = 0.082$) (Table S23).

In the multivariate analysis, the independent variable that maintained an association with meeting at least 1 criterion satisfactorily after 12 months of mepolizumab treatment was the GATA2 rs4857855-C allele (OR = 34; 95% CI = 1.1–1136.7) (Table 5).

3.4.5 Predictors of Meeting at Least 2 Response Criteria

In the bivariate analysis, the variable related to meeting at least two response criteria satisfactorily was the absence of exacerbations in the previous year (OR = 0.4.88; 95% CI = 1.21–32.99; $p = 0.034$) (Table S24). As for the pharmacogenetic variables, an association was found between satisfactory response and the FCER1A rs2427837-A allele for the genotypic and dominant models (OR = 5.34; 95% CI = 1.30–36.42; $p = 0.059$; AG vs GG, OR = 2.32; 95% CI = 0.33–46.86; $p = 0.059$; AA vs GG, and OR = 4.33; 95% CI = 1.23–20.42; $p = 0.026$; A vs GG) and the FCER1B rs569108-AA genotype (OR = 5.91; 95% CI = 1.36–27.51; $p = 0.010$; AA vs AG and AA vs G) (Table S25).

In the multivariate analysis, the independent variables associated with meeting at least 2 criteria satisfactorily after 12 months of mepolizumab treatment were absence of exacerbations in the previous year (OR = 6.1; 95% CI = 1.32–47.63), the FCER1A rs2427837-AG genotype (OR = 8.52; 95% CI = 1.69–79.63), and the FCER1B rs569108-AA genotype (OR = 11.57; 95% CI = 1.87–107.57) (Table 5).

3.4.6 Predictors of Meeting All 3 Criteria

In the bivariate analysis, the variables associated with meeting the 3 criteria satisfactorily were age of starting mepolizumab (OR = 1.04; 95% CI = 1.01–1.09; $p = 0.059$) and age of diagnosis (OR = 1.04; 95% CI = 1.01–1.08; $p = 0.062$) (Table S26). As regards the pharmacogenetic variables, an association was found between meeting the criteria and the IL1RL1 rs1921622-AA genotype (OR = 3.97; 95% CI = 1.27–14.08; $p = 0.018$; AA vs G) and the FCER1B rs569108-AA genotype (OR = 5.04e7; 95% CI = 3.93e-51–NA; $p = 0.011$; AA vs AG and AA vs G) (Table S27).

In the multivariate analysis the variable that maintained the association with meeting the three criteria after 12 months of treatment with mepolizumab was the IL1RL1 rs1921622-AA genotype (OR = 3.97; 95% CI = 1.27–14.08) (Table 5).

Table 5. Predictors of response after 12 months of mepolizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	OR (95% CI)	<i>p</i> value
Response in respect of exacerbation reduction		
FCER1B rs1054485 (T vs GG)	5.33 (1.06–30.02)	0.0423
Response in respect of reduction of OCS		
Exacerbation in previous year (No)	3.89 (1.24–14.92)	0.029
Response in respect of improved lung function		
Age of diagnosis (years)	1.07 (1.03–1.14)	0.004
FCER1A rs2427837 (A vs GG)	5.29 (1.4–23.31)	0.023
Meeting at least 1 criterion		
GATA2 rs4857855 (C vs TT)	34 (1.1–1136.7)	0.026
Meeting at least 2 criteria		
Exacerbation in previous year (No)	6.1 (1.32–47.63)	0.039
FCER1A rs2427837 (AG vs GG)	8.52 (1.69–79.63)	0.023
FCER1B rs569108 (AA vs AG)	11.57 (1.87–107.57)	0.014
Meeting all 3 criteria		
IL1RL1 rs1921622 (AA vs G)	3.97 (1.27–14.08)	0.022

OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

3.5 Predictors of Benralizumab Response at 12 Months

3.5.1 Predictors of Response for Exacerbation Reduction

In the bivariate analysis, the variable that showed a tendency towards a satisfactory response in respect of reduction in exacerbations was the absence of exacerbations in the previous year (OR = 13.5e7; 95% CI = 6.7e-19-NA; $p = 0.079$) (Table S28). No statistical associations were reported between satisfactory response and any of the genetic variants (Table S29).

In the multivariate analysis, the association of satisfactory response in respect of reduction in exacerbations after 12 months of benralizumab treatment with the absence of exacerbations in the previous year was maintained (OR = 13.5e7; 95% CI = 6.7e-19-NA) (Table 6).

3.5.2 Predictors of Response for OCS Reduction

In the bivariate analysis, the variables associated with a satisfactory response in respect of reduction of OCS were female sex (OR = 3.57; 95% CI = 1.04–12.97; $p = 0.041$), presence of allergy (OR = 4.46; 95% CI = 1.31–16.42; $p = 0.016$), and absence of COPD (OR = 4.83; 95% CI = 1.09–26.03; $p = 0.016$) (Table S30). With regard to pharmacogenetic variables, an association and/or tendency was found between satisfactory response and the IL5 rs4143832-T allele (OR = 3.89; 95% CI = 1.03–19.22; $p = 0.052$), the IKZF2 rs12619285-A allele (OR = 3.72; 95% CI = 0.79–20.43; $p = 0.088$), the FCER1B rs569108-AA genotype for the genotypic and recessive models (OR = 8.86; 95% CI = 1.18–181.94; $p = 0.05$; AA vs AG and AA vs G), and the FCGR2A rs1801274-GG genotype (OR = 7.73; 95% CI = 1.29–148.9; $p = 0.035$) (Table S31).

The multivariate analysis revealed that the independent variables associated with a satisfactory response in respect of reduction of OCS after 12 months of treatment with benralizumab were female sex (OR = 8.4; 95% CI = 1.53–70.23), presence of allergies (OR = 767; 95% CI = 1.39–66.09), absence of COPD (OR = 23.25; 95% CI = 2.12–696.71), the FCGR2A rs1801274-GG genotype (OR = 187.69; 95% CI = 6.14–2310.39), and the FCER1B rs569108-AA genotype (OR = 66.26; 95% CI = 2.05–273.71) (Table 6).

3.5.3 Predictors of Response for Lung Function Improvement

In the bivariate analysis, the variables associated with a satisfactory response in respect of improvement in lung function were the presence of polyps (OR = 5.67; 95% CI = 1.24–40.86; $p = 0.029$), %FEV1 greater than 80% (OR = 6.6; 95% CI = 1.07–128.37; $p = 0.059$), and absence of exacerbations in the previous year (OR = 3.82; 95% CI = 0.98–17.1; $p = 0.054$) (Table S32). With regard to the pharmacogenetic variables, an association and/or tendency was found between satisfactory response and the IKZF2 rs12619285-AA allele (OR = 5; 95% CI = 1.22–26.05; $p = 0.027$), the FCER1A rs2427837-A allele (OR = 5; 95% CI = 1.1–36.02; $p = 0.045$), and the FCER1B rs1441586-C allele for the genotypic and dominant modules (OR = 15; 95% CI = 1.6–359.68; $p = 0.047$; CC vs TT, OR = 5.56; 95% CI = 1.06–34.43; $p = 0.047$; CT vs TT, and OR = 6.9; 95% CI = 1.38–40.98; $p = 0.013$; C vs TT) (Table S33).

The multivariate analysis showed that the independent variables associated with a satisfactory response in respect of improvement in lung function after 12 months of treatment with benralizumab were previous %FEV1 greater than 80% (OR = 11.44; 95% CI = 0.90–368.56), FCER1A rs2427837-A (OR = 7.39; 95% CI = 0.86–116.86), IKZF2 rs12619285-AA (OR = 9.37; 95% CI = 1.16–173.06), FCER1B rs1441586-CC (OR = 290.21; 95% CI = 7.13–464.67), and FCER1B rs1441586-CT (OR = 46.08; 95% CI = 288–215.17) (Table 7).

3.5.4 Predictors of Meeting at Least 1 Response Criterion

In the bivariate analysis, no association was found between the clinical, socio-demographic, and genetic variables and meeting at least one criterion of satisfactory response (Tables S34 and S35).

3.5.5 Predictors of Meeting at Least 2 Response Criteria

In the bivariate analysis, the variable that showed a tendency towards association with meeting at least 2 criteria satisfactorily was absence of COPD (OR = 4.2; 95% CI = 0.7–23.64; $p = 0.026$) (Table S36). As for the pharmacogenetic variables, an association was found between a satisfactory response and the IKZF2 rs12619285-A allele for the genotypic and recessive models (OR = 9.2; 95% CI = 0.74–22.9; $p = 0.052$; AA vs GG and OR = 9.47; 95% CI = 1.49–184.89; $p = 0.048$; AA vs G) (Table S37).

In the multivariate analysis, the independent variables associated with meeting at least 2 criteria after 12 months of benralizumab treatment were absence of COPD (OR = 5.7; 95% CI = 0.78–50.8) and the IKZF2 rs12619285-AA genotype (OR = 11.46; 95% CI = 1.64–246.17) (Table 6).

3.5.6 Predictors of Meeting All 3 Criteria.

The bivariate analysis did not show any association between the socio-demographic and clinical variables and meeting the 3 criteria (Table S38). Regarding the pharmacogenetic variables, an association was found between a satisfactory response and the IL5 rs4143832-T allele for the genotypic and recessive models (OR = 4.8; 95% CI = 1.11–25.96; $p = 0.075$; GT vs GG, OR = 3.6; 95% CI = 0.31–83.36; $p = 0.075$; TT vs GG, and OR = 4.5; 95% CI = 1.17–20.08; $p = 0.029$; T vs GG) and the RAD50 rs4705959-TT genotype (OR = 4.08; 95% CI = 1.16–15.81; $p = 0.029$) (Table S39).

The multivariate analysis revealed that the independent variable that maintained an association with meeting the 3 criteria after 12 months of treatment with benralizumab was the IL5 rs4143832-T allele (OR = 4.5; 95% CI = 1.18–20.08) (Table 6).

Table 6. Predictors of response after 12 months of benralizumab treatment in patients with severe uncontrolled asthma (multivariate analysis).

	OR (95% CI)	<i>p</i> value
Response in respect of exacerbation reduction		
Exacerbation in previous year (No)	13.5e ⁷ (6.7e ⁻¹⁹ –NA)	0.079
Response in respect of reduction of OCS		
Sex (Female)	8.4 (1.53–70.23)	0.024
Allergies (Yes)	7.67 (1.39–66.09)	0.031
COPD (No)	23.25 (2.12–696.71)	0.024
<i>FCGR2A</i> rs1801274 (GG vs A)	187.69 (6.14–2310.39)	0.011
<i>FCER1B</i> rs569108 (AA vs G)	66.26 (2.05–273.71)	0.056
Response in respect of improved lung function		
Previous %FEV1 > 80%	11.44 (0.90–368.56)	0.093
<i>FCER1A</i> rs2427837 (A vs GG)	7.39 (0.86–116.86)	0.098
<i>IKZF2</i> rs12619285 (AA vs G)	9.37 (1.16–173.06)	0.065
<i>FCER1B</i> rs1441586 (CC vs TT)	290.21 (7.13–464.67)	0.014
<i>FCER1B</i> rs1441586 (CT vs TT)	46.08 (2.88–215.17)	0.020
Meeting at least 1 criterion		
–	–	–
Meeting at least 2 criteria		
COPD (No)	5.7 (0.78–50.8)	0.086
<i>IKZF2</i> rs12619285 (AA vs G)	11.46 (1.64–246.17)	0.038
Meeting all 3 criteria		
<i>IL5</i> rs4143832 (T vs GG)	4.5 (1.18–20.08)	0.034

OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

4 Discussion

The response of patients diagnosed with SUA with an eosinophilic phenotype is variable. Mepolizumab and benralizumab have proved highly effective in multiple controlled randomized clinical trials [32–38] and real-life studies [39–47] in improving symptoms and quality of life and reducing the use of rescue medication. Previous authors have endorsed the important genetic contribution to predisposition to asthma and response to treatment with ICS and inhaled short-acting β_2 andrenergic agonists, this being the main objective of their research studies [48–51]. Nevertheless, genetic biomarkers associated with the response to these BTs, in asthma patients, have not yet been reported. There is therefore a need to evaluate the effectiveness of these BTs in various population groups and to locate biomarkers that can predict their effectiveness. In our study, after 12 months of treatment with mepolizumab or benralizumab, reductions of 50% or more in the rate of exacerbations were obtained in 90.28% and 94% of the patients respectively. An improvement of 10% or more in %FEV1, or %FEV1 of 80% or more, occurred in 70.77% and

72.73% respectively, and 66.67% and 64% respectively showed a satisfactory reduction of 50% or more in OCS. Our results are similar to those found in real-life studies that report reductions in courses of OCS and exacerbations and improvement in lung function [29,31,42–47]. In line with our results, a systematic review published in 2021 reports that between 73% and 83% of patients had fewer exacerbations requiring emergency department treatment and/or hospitalization, between 54% and 94% had fewer courses of OCS, and lung function improved by between 3% and 8% [44].

The results known so far have identified several clinical biomarkers as possible predictors of response to mepolizumab and benralizumab. However, asthma is a very heterogeneous disease and the use of pharmacogenetics as a supplementary tool could be useful to move towards personalized medicine, being able to know in advance how the patient will respond to these BTs, with the combination of genetic and clinical biomarkers, thereby optimizing the treatment. Polymorphisms in some of the genes involved in the mechanism of action of mepolizumab and benralizumab, such as FCGR, IL5, FCER1, IL1RL1, IKZF2, GATA2 and RAD50, could be useful as a supplement to these biomarkers. So far, no study has investigated the role of these SNPs or others in the therapeutic response to mepolizumab or benralizumab.

In FcγR receptors, studies have been conducted on SNPs that could affect the bond stability of the Fc region of IgG1 in the FCGR2A, FCGR2B and FCGR3A genes, located on chromosome 1q23.3. In our study we found a significant association between the FCGR2A rs1801274-GG genotype and a satisfactory response in respect of reduction in exacerbations with benralizumab. The FCGR2A rs1801274 (A>G) SNP gives rise to a change from histidine (His) to arginine (Arg) (His131Arg) [52,53]. Accordingly, it was previously reported that the FCGR2A-H131 variant showed a lower affinity than FCGR2A-R131 for IgG1 [54], which could explain the association of the G allele with a satisfactory response. No associations were found with the other SNPs studied between the FcγR receptors and the response.

The IL5 gene is located on chromosome 5q31. In this gene two SNPs, rs4143832 (G>T) and rs17690122 (A>G), related to eosinophil count and IL-5 levels are recognized, but their role in the response to these BTs is unknown [16]. Our results reported a significant association of the IL5 rs4143832-T allele with a satisfactory response in respect of reduction of OCS and meeting the 3 criteria in patients treated with benralizumab.

The IL1RL1 gene is located on chromosome 2q12. Previous research reports that the SNPs studied (rs1420101, rs17026974, rs1921622) could act as promoters of the type 2 inflammatory response in the airways, with high eosinophilia, higher serum IgE counts, and lower FEV1 reversibility; however, their relationship to response to BTs has not been studied [52,53,55]. Our study showed a positive association between the IL1RL1 rs1921622-G allele and a satisfactory response in respect of improvement in lung function and meeting the 3 criteria in patients treated with mepolizumab. Furthermore, it was observed that the IL1RL1 rs1420101-C allele was significantly related to improvement in lung function in patients treated with mepolizumab.

The GATA2 gene is on chromosome 3q21. Our results report a significant association of the GATA2 rs4857855-C allele with meeting at least 1 criterion in patients treated with mepolizumab. Previous studies highlight the important role of GATA2 as a transcription factor that acts by regulating hematopoiesis, participating mainly in differentiation of Th2 cells. This SNP is associated with high eosinophil counts [54,55], but its role in the response to BTs has not been studied.

IKZF2 is located on chromosome 2q13. This gene has not been related to eosinophil biology, but it is a regulator of the development and differentiation of lymphocytes through transcriptional regulation [56]. Our study reported a significant association between the IKZF2 rs12619285-A allele and a satisfactory response in respect of improvement in lung function, reduction of OCS, and meeting at least 2 criteria in patients treated with benralizumab. This SNP has previously been associated with high blood eosinophil counts [16], but its influence on the response to BTs is unknown.

The RAD50 gene is on chromosome 5q31.1. Two SNPs in it have been studied, rs11739623 (C>T) and rs4705959 (T>C), in which a possible effect on RAD50 expression has been postulated, which could influence IL-5 and eosinophil levels [20]. Our results indicate a higher probability of

meeting the 3 criteria in patients treated with benralizumab carrying the RAD50 rs4705959-TT and RAD50 rs11739623-CC genotypes. Their association with the response to benralizumab has not been studied, but a previous study showed an association of the RAD50 rs4705959-T allele with increased levels of eosinophils and lower levels of IL-5, which could explain a better response to benralizumab [20].

The FCER1A gene is located on chromosome 1q23. Its relationship to the response to these therapies has not been studied before; however, there are two SNPs in this gene, rs2251746 (T>C) and rs2427837 (G>A), that have been related to high serum IgE levels [48,49,57], which stimulates IgE-FcεRI crosslinking, releasing proinflammatory cytokines such as IL-5 [58]. In our study we found a significant correlation between carriers of the FCER1A rs2427837-A allele and a satisfactory response in respect of improvement in lung function and meeting at least 2 criteria in patients treated with mepolizumab. An association of this allele with improvement in lung function was also observed in the patients who received benralizumab.

In the FCER1B gene, located on chromosome 11q12-13, the rs1441586 (T>C), rs573790 (T>C), rs1054485 (T>G), and rs569108 (A>G) SNPs, common in asthmatic pathology and atopy and related to high levels of IgE, have been described [52,55]. In our study, a significant association was found in patients treated with mepolizumab between the FCER1B rs569108-AA genotype and a higher probability of meeting 2 and 3 criteria and improvement in lung function. Moreover, the FCER1B rs1054485-T allele was associated with a satisfactory response in respect of reduction of exacerbations. The patients treated with benralizumab carrying the FCER1B rs569108-AA genotype and those carrying the FCER1B rs1441586-C allele showed a satisfactory response in respect of reduction in OCS and improvement in lung function respectively. No studies of the association of these SNPs with the response to these BTs have been reported, but it has been reported that the presence of the FCER1B rs569108-G and FCER1B rs1441586-T alleles was associated with an increased risk of asthma, which could explain the association of the lower-risk alleles with better prognosis for these BTs [59–62]. On the other hand, the FCER1B rs1054485-G allele was related to significantly raised eosinophil counts and asthma [63,64].

One of the inherent limitations of a retrospective study is the incomplete collection of clinical data of interest for some of the patients, and the main limitation of the study was the sample size, as it is probably responsible for the absence of a statistical association between some of the genetic variables and the types of response analyzed. However, the homogeneity and reliability of the variables collected was ensured by recruiting all the patients from the same hospital cohort, using the same procedures and the same staff. In spite of the limitations, the effects observed were clear, although studies are required to assess the prognostic value of these polymorphisms in larger cohorts.

5 Conclusions

In conclusion, this study highlights polymorphisms with potential prognostic value for response to treatment with mepolizumab and benralizumab. However, the functional involvement of most asthma loci is still unknown. More studies are therefore needed to increase our understanding of the impact of these genes and their effect on the response to biological therapies, to achieve their use in future clinical practice and guide us towards a more personalized kind of medicine.

Supplementary Materials: Table S1. Hardy-Weinberg equilibrium for the SNPs included in the study; Table S2. Linkage disequilibrium of the studied SNPs; Table S3. Minor allele frequencies for the SNPs studied; Table S4. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion in patients treated with mepolizumab; Table S5. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria in patients treated with mepolizumab; Table S6. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria in patients treated with mepolizumab; Table S7. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations in patients treated with mepolizumab; Table S8. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement in patients treated with mepolizumab; Table S9. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids in patients treated with mepolizumab; Table S10. Estimation of haplotype frequency in response to 1 criterion in patients treated with benralizumab; Table

S11. Estimation of haplotype frequency in response to 2 criteria in patients treated with benralizumab; Table S12. Estimation of haplotype frequency in the response to the 3 criteria in patients treated with benralizumab; Table S13. Estimation of haplotype frequency in the reduction/absence of exacerbations in patients treated with benralizumab; Table S14. Estimation of haplotype frequency in lung function improvement in patients treated with benralizumab; Table S15. Estimation of haplotype frequency in the reduction and/or absence of oral corticosteroids in patients treated with benralizumab; Table S16. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with reduced and/or no exacerbations; Table S17. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of exacerbations; Table S18. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S19. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S20. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S21. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S22. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with response to at least one parameter; Table S23. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S24. Association of clinical characteristics of patients treated with mepolizumab with response on at least 2 criteria; Table S25. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S26. Association of clinical characteristics of mepolizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S27. Association of mepolizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria; Table S28. Association of clinical characteristics of patients treated with benralizumab with reduction and/or absence of exacerbations; Table S29. Association of benralizumab genetic polymorphisms with reduction and/or absence of exacerbations; Table S30. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with reduction and/or absence of oral corticosteroids; Table S31. Association of benralizumab genetic polymorphisms with corticosteroid reduction and/or absence; Table S32. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with improvement in lung function; Table S33. Association of benralizumab genetic polymorphisms with improved lung function (FEV1); Table S34. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with response to at least one parameter; Table S35. Association of benralizumab genetic polymorphisms with responders to at least one criterion; Table S36. Association of clinical characteristics of patients treated with benralizumab with response on at least 2 parameters; Table S37. Association of benralizumab genetic polymorphisms with 2-criteria response; Table S38. Association of clinical characteristics of benralizumab-treated patients with response to the 3 criteria; Table S39. Association of benralizumab genetic polymorphisms with response to the 3 criteria.

Author Contributions: S.R.T. and C.P.R. conceived and designed the experiments; S.R.T. performed the experiments; S.R.T. collected samples; S.R.T. and C.P.R. analyzed the data; M.V.G.G., J.A.S.M., L.E.P.L, and G.J.G. contributed materials and analysis tools; S.R.T. prepared the original draft; C.P.R., A.J.M. and S.R.T. reviewed and edited the draft; S.R.T., C.P.R., A.J.M. and C.M.G. reviewed the analysis and interpretation; A.J.M. and C.M.G. supervised funding acquisition. All the authors participated in critically re-viewing the manuscript and improving its intellectual content. All the authors read and approved the final version of the manuscript.

Funding: ERDF funds (EU) from the Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0039) supported by co-funding grants from the Biobank of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics and Research Committee of the Sistema Andaluz de Salud (code: 1313-N-20).

Informed Consent Statement: All subjects involved in the study signed the written informed consent form.

Acknowledgments: The results of this study are part of the doctoral thesis presented by Susana Rojo Tolosa at the University of Granada.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study, in the collection, analyses, or interpretation of data, in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica *Gema 5.2. Guía Española Para El Manejo Del Asma*; 2022; ISBN 9788419069139.
2. GINA 2022. *Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention.*; 2022;

3. Caminati, M.; Pham, D. Le; Bagnasco, D.; Canonica, G.W. Type 2 Immunity in Asthma. *World Allergy Organ. J.* **2018**, *11*, doi:10.1186/S40413-018-0192-5.
4. Pelaia, C.; Paoletti, G.; Puggioni, F.; Racca, F.; Pelaia, G.; Canonica, G.W.; Heffler, E. Interleukin-5 in the Pathophysiology of Severe Asthma. *Front. Physiol.* **2019**, *10*, 1514, doi:10.3389/FPHYS.2019.01514/BIBTEX.
5. Bobolea, D.I. Fenotipos Del Asma Grave Del Adulto : Las Claves Para La Medicina Personalizada.
6. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Nucala 100 Mg Polvo Para Solucion Inyectable Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1151043001/FT_1151043001.html (accessed on 5 April 2022).
7. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios Ficha Técnica Fasentra 30 Mg Solucion Inyectable En Jeringa Precargada Available online: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1171252001/FT_1171252001.html (accessed on 5 April 2022).
8. Lobo, E.D.; Hansen, R.J.; Balthasar, J.P. Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93*, 2645–2668, doi:10.1002/JPS.20178.
9. Nimmerjahn, F.; Ravetch, J. V. Fcγ Receptors: Old Friends and New Family Members. *Immunity* **2006**, *24*, 19–28, doi:10.1016/J.IMMUNI.2005.11.010.
10. Tracey, D.; Klareskog, L.; Sasso, E.H.; Salfeld, J.G.; Tak, P.P. Tumor Necrosis Factor Antagonist Mechanisms of Action: A Comprehensive Review. *Pharmacol. Ther.* **2008**, *117*, 244–279, doi:10.1016/J.PHARMTHERA.2007.10.001.
11. March, M.E.; Sleiman, P.M.; Hakonarson, H. Genetic Polymorphisms and Associated Susceptibility to Asthma. *Int. J. Gen. Med.* **2013**, *6*, 253, doi:10.2147/IJGM.S28156.
12. Kabesch, M.; Depner, M.; Dahmen, I.; Weiland, S.K.; Vogelberg, C.; Niggemann, B.; Lau, S.; Illig, T.; Klopp, N.; Wahn, U.; et al. Polymorphisms in Eosinophil Pathway Genes, Asthma and Atopy. *Allergy* **2007**, *62*, 423–428, doi:10.1111/J.1398-9995.2006.01300.X.
13. Padrón Morales, J.R. *Estudio de Polimorfismos e Interacciones Génicas de Los Genes IL1A, IL1B, IL1R, IL1RA, IL4R A, IL12, IFNG, TGFB1, TNFA, IL2, IL4, IL6, IL10 En Pacientes Con Asma;*
14. Zhang, G.; Lu, J.; Yin, X.; Sun, Y.; Li, S. Association of IL-33, IL1RL1 Gene Polymorphisms with Serum IL-33 Levels and Risk of Asthma in Adults and Asthmatic Bronchitis in Children (Chinese). *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* **2018**, *32*, doi:<https://doi.org/10.1080/13102818.2018.1471361>.
15. IKZF2 IKAROS Family Zinc Finger 2 [Homo Sapiens (Human)] - Gene - NCBI Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/22807> (accessed on 15 February 2023).
16. Gudbjartsson, D.F.; Bjornsdottir, U.S.; Halapi, E.; Helgadottir, A.; Sulem, P.; Jonsdottir, G.M.; Thorleifsson, G.; Helgadottir, H.; Steinthorsdottir, V.; Stefansson, H.; et al. Sequence Variants Affecting Eosinophil Numbers Associate with Asthma and Myocardial Infarction. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 342–347, doi:10.1038/ng.323.
17. Akhbir, L.; Sandford, A.J. Genome-Wide Association Studies for Discovery of Genes Involved in Asthma. *Respirology* **2011**, *16*, 396–406, doi:10.1111/J.1440-1843.2011.01939.X.
18. Blanchard, C.; Rothenberg, M.E. Chapter 3 Biology of the Eosinophil. *Adv. Immunol.* **2009**, *101*, 81–121, doi:10.1016/S0065-2776(08)01003-1.
19. Melo, R.C.N.; Spencer, L.A.; Dvorak, A.M.; Weller, P.F. Mechanisms of Eosinophil Secretion: Large Vesiculotubular Carriers Mediate Transport and Release of Granule-Derived Cytokines and Other Proteins. *J. Leukoc. Biol.* **2008**, *83*, 229–236, doi:10.1189/JLB.0707503.
20. McLeod, O.; Silveira, A.; Valdes-Marquez, E.; Björkbacka, H.; Almgren, P.; Gertow, K.; Gådin, J.R.; Bäcklund, A.; Sennblad, B.; Baldassarre, D.; et al. Genetic Loci on Chromosome 5 Are Associated with Circulating Levels of Interleukin-5 and Eosinophil Count in a European Population with High Risk for Cardiovascular Disease. *Cytokine* **2016**, *81*, 1–9, doi:10.1016/J.CYTO.2016.01.007.
21. Beaven, M.A.; Metzger, H. Signal Transduction by Fc Receptors: The Fc Epsilon RI Case. *Immunol. Today* **1993**, *14*, 222–226, doi:10.1016/0167-5699(93)90167-J.
22. Salmon, J.E.; Brogle, N.L.; Edberg, J.C.; Kimberly, R.P. Fc Gamma Receptor III Induces Actin Polymerization in Human Neutrophils and Primes Phagocytosis Mediated by Fc Gamma Receptor II. *J. Immunol.* **1991**, *146*, 997–1004, doi:10.4049/JIMMUNOL.146.3.997.

23. Narasimhanl, V.; Holowkag, D.; Bairdql, B. A Guanine Nucleotide-Binding Protein Participates in IgE Receptor-Mediated Activation of Endogenous and Reconstituted Phospholipase A2 in a Permeabilized Cell System*. *Journof Biol. Chem.* **1990**, *264*, 1459–1464, doi:10.1016/S0021-9258(19)40038-0.
24. Ravetch, J. V.; Bolland, S. IgG Fc Receptors. *Annu. Rev. Immunol.* **2001**, *19*, 275–290, doi:10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.19.1.275.
25. Van de Winkel, J.G.J.; Capel, P.J.A. Human IgG Fc Receptor Heterogeneity: Molecular Aspects and Clinical Implications. *Immunol. Today* **1993**, *14*, 215–221, doi:10.1016/0167-5699(93)90166-I.
26. Asthma Control Test (ACT) Available online: <https://www.thoracic.org/members/assemblies/assemblies/srn/questionnaires/act.php> (accessed on 4 May 2022).
27. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; De Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575, doi:10.1086/519795.
28. R Core Team, R. R: A Language and Environment for Statistical Computing. **2013**.
29. Barrett, J.C.; Fry, B.; Maller, J.; Daly, M.J. Haploview: Analysis and Visualization of LD and Haplotype Maps. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 263–265, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTH457.
30. Solé, X.; Guinó, E.; Valls, J.; Iniesta, R.; Moreno, V. SNPStats: A Web Tool for the Analysis of Association Studies. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1928–1929, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTL268.
31. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flicek, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, *526*, 68, doi:10.1038/NATURE15393.
32. Nair, P.; Wenzel, S.; Rabe, K.F.; Bourdin, A.; Lugogo, N.L.; Kuna, P.; Barker, P.; Sproule, S.; Ponnarambil, S.; Goldman, M. Oral Glucocorticoid-Sparing Effect of Benralizumab in Severe Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *376*, 2448–2458, doi:10.1056/NEJMOMA1703501.
33. Chupp, G.L.; Bradford, E.S.; Albers, F.C.; Bratton, D.J.; Wang-Jairaj, J.; Nelsen, L.M.; Trevor, J.L.; Magnan, A.; ten Brinke, A. Efficacy of Mepolizumab Add-on Therapy on Health-Related Quality of Life and Markers of Asthma Control in Severe Eosinophilic Asthma (MUSCA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group, Multicentre, Phase 3b Trial. *Lancet Respir. Med.* **2017**, *5*, 390–400, doi:10.1016/S2213-2600(17)30125-X.
34. Ortega, H.G.; Liu, M.C.; Pavord, I.D.; Brusselle, G.G.; FitzGerald, J.M.; Chetta, A.; Humbert, M.; Katz, L.E.; Keene, O.N.; Yancey, S.W.; et al. Mepolizumab Treatment in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 1198–1207, doi:10.1056/NEJMOMA1403290/SUPPL_FILE/NEJMOMA1403290_DISCLOSURES.PDF.
35. Agache, I.; Rocha, C.; Beltran, J.; Song, Y.; Posso, M.; Solà, I.; Alonso-Coello, P.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canonica, G.W.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab and Omalizumab) for Severe Allergic Asthma: A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1043–1057, doi:10.1111/ALL.14235.
36. FitzGerald, J.M.; Bleeker, E.R.; Nair, P.; Korn, S.; Ohta, K.; Lommatzsch, M.; Ferguson, G.T.; Busse, W.W.; Barker, P.; Sproule, S.; et al. Benralizumab, an Anti-Interleukin-5 Receptor α Monoclonal Antibody, as Add-on Treatment for Patients with Severe, Uncontrolled, Eosinophilic Asthma (CALIMA): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**, *388*, 2128–2141, doi:10.1016/S0140-6736(16)31322-8.
37. Agache, I.; Beltran, J.; Akdis, C.; Akdis, M.; Canelo-Aybar, C.; Canonica, G.W.; Casale, T.; Chivato, T.; Corren, J.; Del Giacco, S.; et al. Efficacy and Safety of Treatment with Biologicals (Benralizumab, Dupilumab, Mepolizumab, Omalizumab and Reslizumab) for Severe Eosinophilic Asthma. A Systematic Review for the EAACI Guidelines - Recommendations on the Use of Biologicals in Severe Asthma. *Allergy* **2020**, *75*, 1023–1042, doi:10.1111/ALL.14221.
38. Bleeker, E.R.; FitzGerald, J.M.; Chanez, P.; Papi, A.; Weinstein, S.F.; Barker, P.; Sproule, S.; Gilmartin, G.; Aurivillius, M.; Werkström, V.; et al. Efficacy and Safety of Benralizumab for Patients with Severe Asthma Uncontrolled with High-Dosage Inhaled Corticosteroids and Long-Acting B2-Agonists (SIROCCO): A Randomised, Multicentre, Placebo-Controlled Phase 3 Trial. *Lancet* **2016**,

- 388, 2115–2127, doi:10.1016/S0140-6736(16)31324-1.
39. Crimi, C.; Campisi, R.; Cacopardo, G.; Intravaia, R.; Nolasco, S.; Porto, M.; Pelaia, C.; Crimi, N. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Patients with Severe Refractory Eosinophilic Asthma and Multiple Comorbidities. *World Allergy Organ. J.* **2020**, *13*, doi:10.1016/J.WAOJOU.2020.100462.
 40. Maglio, A.; Vitale, C.; Pellegrino, S.; Calabrese, C.; D'amato, M.; Molino, A.; Pelaia, C.; Triggiani, M.; Pelaia, G.; Stellato, C.; et al. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab on Forced Expiratory Flow between 25% and 75% of Forced Vital Capacity in Patients with Severe Eosinophilic Asthma. *Biomedicines* **2021**, *9*, doi:10.3390/BIOMEDICINES9111550.
 41. Haldar, P.; Brightling, C.E.; Hargadon, B.; Gupta, S.; Monteiro, W.; Sousa, A.; Marshall, R.P.; Bradding, P.; Green, R.H.; Wardlaw, A.J.; et al. Mepolizumab and Exacerbations of Refractory Eosinophilic Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 973–984, doi:10.1056/NEJMOA0808991.
 42. Renner, A.; Marth, K.; Patocka, K.; Idzko, M.; Pohl, W. Effectiveness of Mepolizumab Therapy in Patients with Severe Eosinophilic Asthma: Austrian Real-Life Data. *Pulm. Pharmacol. Ther.* **2020**, *64*, doi:10.1016/J.PUPT.2020.101946.
 43. Brás, R.; Paulino, M.; Varandas, C.; Coutinho, C.; Silva, M.I.; Limão, R.; Costa, C.; Alonso, E.; Pedro, E.; Mendes, A. Mepolizumab for Severe Eosinophilic Asthma – A One-Year Real Life Portuguese Study. *Pulmonology* **2021**, *27*, 579–581, doi:10.1016/J.PULMOE.2021.05.007.
 44. Israel, E.; Canonica, G.W.; Brusselle, G.; Yang, S.; Howarth, P.H.; Martin, A.L.; Koufopoulou, M.; Smith, S.G.; Alfonso-Cristancho, R. Real-Life Effectiveness of Mepolizumab in Severe Asthma: A Systematic Literature Review. *J. Asthma* **2022**, *59*, 2201–2217, doi:10.1080/02770903.2021.2008431.
 45. Padilla-Galo, A.; Levy-Abitbol, R.; Oliveira, C.; Valencia Azcona, B.; Pérez Morales, M.; Rivas-Ruiz, F.; Tortajada-Goitia, B.; Moya-Carmona, I.; Levy-Naon, A. Real-Life Experience with Benralizumab during 6 Months. *BMC Pulm. Med.* **2020**, *20*, 1–12, doi:10.1186/S12890-020-01220-9/TABLES/6.
 46. Kavanagh, J.E.; d'Ancona, G.; Elstad, M.; Green, L.; Fernandes, M.; Thomson, L.; Roxas, C.; Dhariwal, J.; Nanzer, A.M.; Kent, B.D.; et al. Real-World Effectiveness and the Characteristics of a “Super-Responder” to Mepolizumab in Severe Eosinophilic Asthma. *Chest* **2020**, *158*, 491–500, doi:10.1016/J.CHEST.2020.03.042.
 47. Rojo-Tolosa, S.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 2011, doi:10.3390/IJMS24032011.
 48. Farzan, N.; Vijverberg, S.J.H.; Arets, H.G.; Raaijmakers, J.A.M.; Maitland-van der Zee, A.H. Pharmacogenomics of Inhaled Corticosteroids and Leukotriene Modifiers: A Systematic Review. *Clin. Exp. Allergy* **2017**, *47*, 271–293, doi:10.1111/CEA.12844.
 49. Vijverberg, S.J.; Raaijmakers, J.A.; Maitland-Van Der Zee, A.H. ADRB2 Arg16 and the Need for Collaboration in Childhood Asthma Pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* **2013**, *14*, 1937–1939, doi:10.2217/PGS.13.195.
 50. Pijnenburg, M.W.; Szefer, S. Personalized Medicine in Children with Asthma. *Paediatr. Respir. Rev.* **2015**, *16*, 101–107, doi:10.1016/J.PRRV.2014.10.003.
 51. Rojo-Tolosa, S.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Fernández-Alonso, A.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C. Association between Single Nucleotide Polymorphisms Related to Vitamin D Metabolism and the Risk of Developing Asthma. *Nutr.* **2023**, *15*, 823, doi:10.3390/NU15040823.
 52. Amo, G.; García-Menaya, J.; Campo, P.; Cordobés, C.; Serón, M.C.P.; Ayuso, P.; Esguevillas, G.; Blanca, M.; Agúndez, J.A.G.; García-Martín, E. A Nonsynonymous FCER1B SNP Is Associated with Risk of Developing Allergic Rhinitis and with IgE Levels. *Sci. Reports* **2016**, *6*, 1–7, doi:10.1038/srep19724.
 53. Dar, S.A.; Rai, G.; Ansari, M.A.; Akhter, N.; Gupta, N.; Sharma, S.; Haque, S.; Ramachandran, V.G.; Wahid, M.; Rudramurthy, S.M.; et al. FcεR1α Gene Polymorphism Shows Association with High IgE and Anti-FcεR1α in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis. *J. Cell. Biochem.* **2018**, *119*, 4142–4149, doi:10.1002/JCB.26619.
 54. Sharma, S.; Ghosh, B. Promoter Polymorphism in the MS4A2 Gene and Asthma in the Indian

- Population. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **2009**, *149*, 208–218, doi:10.1159/000199716.
55. Liao, E.C.; Chang, C.Y.; Hsieh, C.W.; Yu, S.J.; Yin, S.C.; Tsai, J.J. An Exploratory Pilot Study of Genetic Marker for IgE-Mediated Allergic Diseases with Expressions of FcεR1α and Cε. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *Vol. 16*, Pages 9504-9519 **2015**, *16*, 9504–9519, doi:10.3390/IJMS16059504.
 56. Rebollo, A.; Schmitt, C. Ikaros, Aiolos and Helios: Transcription Regulators and Lymphoid Malignancies. *Immunol. Cell Biol.* **2003**, *81*, 171–175, doi:10.1046/J.1440-1711.2003.01159.X.
 57. Spear, M.L.; Hu, D.; Pino-Yanes, M.; Huntsman, S.; Eng, C.; Levin, A.M.; Ortega, V.E.; White, M.J.; McGarry, M.E.; Thakur, N.; et al. A Genome-Wide Association and Admixture Mapping Study of Bronchodilator Drug Response in African Americans with Asthma. *Pharmacogenomics J.* **2018**, *19*, 249–259, doi:10.1038/s41397-018-0042-4.
 58. Kim, Y.Y.; Hur, G.; Lee, S.W.; Lee, S.J.; Lee, S.; Kim, S.H.; Rho, M.C. AGK2 Ameliorates Mast Cell-Mediated Allergic Airway Inflammation and Fibrosis by Inhibiting FcεRI/TGF-β Signaling Pathway. *Pharmacol. Res.* **2020**, *159*, 105027, doi:10.1016/J.PHRS.2020.105027.
 59. Yang, H.J.; Zheng, L.; Zhang, X.F.; Yang, M.; Huang, X. Association of the MS4A2 Gene Promoter C-109T or the 7th Exon E237G Polymorphisms with Asthma Risk: A Meta-Analysis. *Clin. Biochem.* **2014**, *47*, 605–611, doi:10.1016/J.CLINBIOCHEM.2014.01.022.
 60. Bai, S.; Hua, L.; Wang, X.; Liu, Q.; Bao, Y. Association of a 4-Locus Gene Model Including IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 with the Asthma Predictive Index and Atopy in Chinese Han Children. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* **2018**, *28*, 407–413, doi:10.18176/JIACI.0272.
 61. Hua, L.; Zuo, X.B.; Bao, Y.X.; Liu, Q.H.; Li, J.Y.; Lv, J.; Fang, D.Z.; Lin, Q.; Bao, J.; Ji, R.X. Four-Locus Gene Interaction between IL13, IL4, FCER1B, and ADRB2 for Asthma in Chinese Han Children. *Pediatr. Pulmonol.* **2016**, *51*, 364–371, doi:10.1002/PPUL.23322.
 62. Ramphul, K.; Lv, J.; Hua, L.; Liu, Q.H.; Fang, D.Z.; Ji, R.X.; Bao, Y.X. Single Nucleotide Polymorphisms Predisposing to Asthma in Children of Mauritian Indian and Chinese Han Ethnicity. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.* **2014**, *47*, 394–397, doi:10.1590/1414-431X20143751.
 63. Green, S.L.; Gaillard, M.C.; Song, E.; Dewar, J.B.; Halkas, A. Polymorphisms of the Beta Chain of the High-Affinity Immunoglobulin E Receptor (Fc ε RI- β) in South African Black and White Asthmatic and Nonasthmatic Individuals. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.158.5.9707099> **2012**, *158*, 1487–1492, doi:10.1164/AJRCCM.158.5.9707099.
 64. Li, A.; Hopkin, J.M. Atopy Phenotype in Subjects with Variants of the Beta Subunit of the High Affinity IgE Receptor. *Thorax* **1997**, *52*, 654, doi:10.1136/THX.52.7.654.



MATERIAL SUPLEMENTARIO

11. MATERIAL SUPLEMENTARIO

El material suplementario al que se hace referencia en los artículos que componen los resultados del presente estudio se encuentra en línea en los siguientes enlaces:

- ❖ **Rojo-Tolosa, S.**; González-Gutiérrez, M.V.; Sánchez-Martínez, J.A.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. **Impact of Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study.** *Pharmaceutics* 2023, 15, 523. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020523>. Received: 2 Diciembre 2022/ Revised: 4 Enero 2023 / Accepted: 2 Febrero 2023 / Published: 4 Febrero 2023.
Disponible: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020523>
- ❖ **Rojo-Tolosa, S.**; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; Jiménez-Morales, A.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C. **Impact of Anti-IL5 Therapies on Patients with Severe Uncontrolled Asthma and Possible Predictive Biomarkers of Response: A Real-Life Study.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 2011. <https://doi.org/10.3390/ijms24032011>. Received: 2 Diciembre 2022/ Revised: 9 Enero 2023 / Accepted: 13 Enero 2023 / Published: 19 Enero 2023.
Disponible: <https://doi.org/10.3390/ijms24032011>
- ❖ **Rojo-Tolosa, S.**; Sánchez-Martínez, J.A.; Pineda-Lancheros, L.E.; Gálvez-Navas, J.M.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pérez-Ramírez, C.; Morales-García, C.; Jiménez-Morales, A. **Influence of genetics on the response to omalizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an allergic phenotype.** *Int. J. Mol. Sci.* 2023.
Disponible: https://drive.google.com/file/d/1BUu6-ENKZ60Ds7Yf_oLawZajMb0K11Os/view?usp=sharing
- ❖ **Rojo-Tolosa, S.**; Sánchez-Martínez, J.A.; González-Gutiérrez, M.V.; Jiménez-Gálvez, G.; Pineda-Lancheros, L.E.; Morales-García, C.; Pérez-Ramírez, C.; Jiménez-Morales, A. **Influence of genetics on the response to mepolizumab and benralizumab in patients with severe uncontrolled asthma with an eosinophilic phenotype.** *Pharmaceutics* 2023.
Disponible: https://drive.google.com/file/d/1BUu6-ENKZ60Ds7Yf_oLawZajMb0K11Os/view?usp=sharing

