



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

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

[JOÃO PEDRO DA SILVA MENDES]

*[MECANISMOS INFLAMATÓRIOS NA PATOGÉNESE DA
ASMA BRÔNQUICA]*

[ARTIGO REVISÃO]

ÁREA CIENTÍFICA DE PNEUMOLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
[DOUTORA SARA FREITAS]

[MARÇO/2012]

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Doutora Sara Freitas pela ajuda prestada na escolha
do tema e elaboração do trabalho.

Agradeço também aos meus amigos mais próximos pelo apoio emocional incondicional.

ÍNDICE

RESUMO	1
ABSTRACT	2
ABREVIATURAS	3
INTRODUÇÃO	4
DESENVOLVIMENTO	7
Imunoglobulina E (IgE).....	7
Mastócitos	10
Mastócitos – Mediadores na Asma.....	12
Eosinófilos.....	15
Linfócitos T.....	19
Outros Linfócitos T	21
Basófilos.....	22
Neutrófilos.....	23
Sistema imune inato	23
Células Epiteliais.....	24
Células Dendríticas.....	25
CONCLUSÃO	27
BIBLIOGRAFIA.....	29

RESUMO

A asma brônquica é uma patologia crónica, caracterizada pela inflamação e obstrução das vias aéreas, com evolução muito variável em diferentes doentes, de forma espontânea ou em consequência do tratamento. A patogénese está associada a um tipo específico de processo inflamatório crónico da parede das vias aéreas, estando este processo fortemente associado a factores de risco, como a atopia e a hiper-reatividade das vias respiratórias. As alterações inflamatórias agudas são a grande preocupação dos doentes, responsáveis pelas crises sintomáticas, porém a asma está inerente a um processo inflamatório crónico que contribui para uma obstrução irreversível a longo prazo e associado a um quadro subclínico.

Existe uma grande variedade de células e mediadores que participam no processo inflamatório, sendo os mecanismos de interacção entre ambos um processo complexo e não totalmente conhecido. Muitos destes componentes foram elucidados a partir de biopsias por broncoscopia ou exames de necropsia de pacientes vítimas de asma. O entendimento do papel de células como os eosinófilos, alguns tipos de linfócitos T, mastócitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, basófilos e células estruturais nos mecanismos subjacentes ao processo inflamatório é fulcral para o esclarecimento da patogenia da doença. Este processo é no geral idêntico nos diferentes tipos de asma, mesmo em indivíduos atópicos e não atópicos. Numa fase inicial, o contacto com alérgenos, a produção de anticorpos IgE específicos e a activação de mastócitos parecem ser os principais pontos do processo. Numa fase tardia os mecanismos são mais complexos e abrangem outras células inflamatórias que já foram referidas.

Este Trabalho tem assim como finalidade a revisão dos importantes mecanismos inflamatórios que caracterizam a asma brônquica.

Palavras-chave: Asma brônquica, mecanismos inflamatórios, células inflamatórias, células estruturais, mediadores inflamatórios.

ABSTRACT

Asthma is a chronic disease characterized by inflammation and airway obstruction, with a highly variable evolution in different types of patients, spontaneously or as a result of treatment. The pathogenesis is associated with a specific type of chronic inflammation of the airway wall, being this process strongly associated with risk factors such as atopy and hyperreactivity of the airways. The acute inflammatory changes are patients' main concern, responsible for the symptomatic crisis, but there is an inherent chronic inflammatory process that contributes to a long term irreversible obstruction and is associated to a subclinical presentation.

There is a wide variety of cells and mediators involved in this inflammatory process, and the mechanisms of interaction between them are complex and not fully known. Many of these components were elucidated on the basis of bronchoscopic biopsies or autopsy examinations of patients victims of asthma. Understanding the role of cells such as eosinophils, some types of T lymphocytes, mast cells, macrophages, dendritic cells, neutrophils, basophils and structural cells in the mechanisms underlying the inflammatory process is crucial to the elucidation of the disease pathogenesis. This process is generally similar in different types of asthma, for atopic and non-atopic individuals. Initially, in contact with allergens, the production of specific IgE antibodies and activation of mast cells seem to be the main points of the process. Later, the mechanisms are more complex and include other inflammatory cells that have already been mentioned.

This work is intended as a review of the important inflammatory mechanisms that characterize bronchial asthma.

Keywords: Asthma, inflammatory mechanism, inflammatory cells, structural cells, inflammatory mediators.

ABREVIATURAS

APCs – Células Apresentadoras de Antígenos

ECP – Proteína Catiónica Eosinofílica

FGF – Factor de Crescimento dos Fibroblastos

GINA – Global Initiative for Asthma

GM-CSF – Factor Estimulante de Colónias de Granulócitos e Monócitos

ICAM – Molécula de Adesão Intercelular

MBP – Proteína Básica Principal

MCP – Proteína Quimiotáctica dos Monócitos

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

MIP – Proteína Inflamatória dos Macrófagos

NHANES – National Health and Nutrition Examination Survey

PARs – Receptores Activados por Protease

PNCA – Programa Nacional de Controlo da Asma

PRRs – Receptores de Reconhecimento Padrão

SCF – Factor das Células Estaminais

TGF – Factor de Transformação do Crescimento

TLRs – Receptores Toll-like

TNF – Factor de Necrose Tumoral

TSLP – Linfopoetina do Estroma Tímico

VCAM – Molécula de Adesão Celular Vascular

VIP – Peptídeo Intestinal Vasoactivo

INTRODUÇÃO

A Asma Brônquica é um problema de saúde pública global. É uma das patologias crónicas mais frequentes afectando aproximadamente 300 milhões de pessoas em todo o mundo e com uma prevalência em ascensão principalmente em crianças (Murdoch JR, 2010). Afecta cerca de 10-12% dos adultos e 15% das crianças (Barnes PJ, 2008). Em Portugal, calcula-se que atinja cerca de 600.000 pessoas (Almeida AB, 2009) podendo afectar todas as faixas etárias. Alguns trabalhos apontam para uma prevalência de 10%, ou seja, cerca de 1 milhão de pessoas (Gaspar A, 2006). Os principais condicionantes económicos relativos à doença são os custos com os internamentos, fármacos, cuidados em ambulatório e dias de trabalho perdidos. Em Portugal, de 2000 a 2007, estima-se que os custos provocados sejam aproximadamente 117 milhões de euros (Almeida AB, 2009). Quando não controlada, a asma pode ser gravemente limitativa para o doente, podendo mesmo levar à morte. As limitações têm implicações na qualidade de vida do doente e também para os familiares.

A consciencialização da importância da doença como um problema de saúde pública levaram à criação, em 2000, do *Programa Nacional de Controlo da Asma* (PNCA) inspirado na *Global Initiative for Asthma* (GINA) com a finalidade de redução da morbilidade, mortalidade e melhoramento da qualidade de vida dos doentes asmáticos.

Os sintomas mais característicos são a dispneia intermitente, tosse e sibilos de intensidade variável associados a hiper-reatividade. A redução do fluxo ventilatório é causada por alterações histo e fisiopatológicas que se podem estender desde a traqueia até aos bronquíolos terminais. Estas alterações incluem a acumulação de muco e células inflamatórias no lúmen das vias respiratórias, a descamação epitelial, a metaplasia das células caliciformes, a infiltração de células inflamatórias na submucosa, espessamento da membrana basal, fibrose subepitelial, espessamento da musculatura lisa, relacionado com hipertrofia e hiperplasia destas células, contracção da musculatura lisa, vasodilatação e proliferação de novos vasos

(angiogénese) (Barnes PJ, 2008; Holgate ST, 2010). A remodelação das vias respiratórias diz respeito às alterações estruturais ocorridas na parede destas vias e ocorre em consequência da continuidade da agressão provocada pelo processo inflamatório.

A atopia, ou a predisposição genética para o desenvolvimento de anticorpos IgE contra alergénios comuns, é o factor de risco mais importante para o desenvolvimento de asma (National Asthma Education and Prevention Program, 2007). Desde a sua descoberta, a IgE tem sido associada a doença alérgica e infecções por parasitas (Rosenwasser LJ, 2011). A activação dos mastócitos, que se encontram aumentados em pacientes asmáticos e em íntima relação com a musculatura lisa das vias respiratórias (Brightling CE, 2002), após contacto com alergénios, ocorre segundo um mecanismo dependente da ligação da IgE específica aos mastócitos (Barnes PJ, 2008). Esta activação dos mastócitos leva à libertação de mediadores com efeitos broncoconstritores. Este fenómeno de desgranulação dos mastócitos liberta mediadores que incluem a histamina, leucotrienos cisteínicos, várias citocinas, quimiocinas, factores de crescimento e neurotrofinas (Barnes PJ, 2008), tem lugar numa fase precoce. Uma fase mais tardia é caracterizada pelo recrutamento de outras células inflamatórias, em particular os eosinófilos, basófilos, neutrófilos, linfócitos T *helper* e células T de memória.

Os eosinófilos têm um papel importante, sendo a sua acumulação uma das características mais importantes na asma e a sua presença está associada frequentemente a asma grave. Porém, estudos recentes com anticorpos anti-IL5, demonstraram que o papel destas células pode ser limitado (Flood-Page P, 2007; Barnes PJ, 2008; Nakagome K, 2011).

Linfócitos T *helper* subtipo 2 (Th2) são típicos na resposta da asma alérgica, porém estas células não reagem directamente com os alergénios e necessitam de instruções provenientes do sistema imune inato. As células dendríticas são células especializadas semelhantes aos macrófagos do epitélio respiratório e são consideradas as mais poderosas

células na apresentação de antigénios, formando uma rede de imunidade inata no tecido pulmonar (Barnes PJ 2008; Murdoch JR, 2010).

Os neutrófilos, assim como os eosinófilos, parecem ter um papel importante na asma grave. A presença destas células está associada a resistência aos efeitos anti-inflamatórios dos corticosteróides (Barnes PJ, 2008; Nakagome K, 2011).

Dentro dos vários tipos de células que participam deste complexo mecanismo, é importante referir ainda as células estruturais das vias respiratórias. Inclui células epiteliais, fibroblastos, células musculares lisas e células vasculares endoteliais. Têm a capacidade de produzir de citocinas e factores lipídicos e, como se encontram significativamente em maior número do que células as inflamatórias, podem ser o principal factor de produção de mediadores inflamatórios (Barnes PJ, 2008). O epitélio pulmonar é o primeiro ponto de contacto com alergénios e integra o sistema imune inato. Tem um papel de relevo na sensibilização de linfócitos Th2 através de mediadores e podem influenciar a função de células dendríticas através de interacções intercelulares ou por mediadores (Murdoch JR, 2010).

Existe uma grande quantidade de mediadores envolvidos, produzidos pelos diferentes tipos de células, e com uma grande variedade de efeitos, sendo que as terapêuticas dirigidas especificamente para um dos mediadores são provavelmente ineficazes; porém, esta linha de raciocínio não é completamente coerente, tendo em conta que a terapêutica baseada no bloqueio dos leucotrienos tem efeitos clínicos significativos (Barnes PJ, 2008) e é uma das terapêuticas importantes da actualidade, sendo usada sobretudo como alternativa ou em associação com corticosteróides. As citocinas têm uma acção de regulação e amplificação do processo inflamatório. As quimiocinas são responsáveis por atrair novas células inflamatórias provenientes da circulação brônquica.

DESENVOLVIMENTO

A asma é uma doença que resulta de uma interação complexa entre múltiplos factores ambientais e influências genéticas. A hiper-reatividade brônquica é um factor de risco e também um pré-requisito para o desenvolvimento de asma. O grau de hiper-reatividade é frequentemente proporcional à gravidade da doença (William W, 2010). A atopia representa também um factor de risco mas não um pré-requisito para asma brônquica; no entanto, é um pré-requisito para as doenças alérgicas e segundo esta lógica as formas alérgicas de asma estão sempre associadas a atopia, porém o contrário não é necessariamente verdade. O “Third National Health and Nutrition Examination Survey” (NHANES) revelou que cerca de metade dos casos de asma brônquica eram atribuíveis à atopia (Arbes S, 2007). Na atopia e nas doenças alérgicas, normalmente referidas como hipersensibilidade de tipo I ou hipersensibilidade imediata, a imunoglobulina E (IgE) desempenha um papel fundamental.

Imunoglobulina E (IgE)

A IgE está envolvida nas reações inflamatórias alérgicas, especialmente nas fases precoces, mas pode, também, estar envolvida em fases tardias. Os níveis séricos de IgE aumentados estão correlacionados com a prevalência de asma mesmo em doentes com asma considerada não alérgica (Arbes S, 2007). A sua fracção intravascular representa cerca de 50% do total da IgE. Encontra-se em menor concentração, comparando com os outros isotipos. É produzida por plasmócitos nos tecidos linfóides associados à mucosa (Zavadniak AF, 2005). A IgE é sintetizada por um mecanismo denominado troca recombinante de classe (*class switch recombination*), importante na síntese de anticorpos, e tem como ponto crítico a activação induzida pela citidina deaminase (AID). Na regulação da síntese, as interleucinas

desempenham um papel essencial. As IL-4 e IL-13 (libertadas por linfócitos Th2) participam neste mecanismo direccionando-o para o aumento da produção de IgE (Zavadniak AF, 2005; Rosenwasser LJ, 2011). As IL-5 e IL-6 podem potencializar a síntese mas com dependência da IL-4. As citocinas produzidas por linfócitos Th1 geralmente contrariam a resposta Th2 e incluem a IL-2, o TNF α e o Interferon- γ (Zavadniak AF, 2005). A imunoglobulina E é composta por duas cadeias leves e duas cadeias pesadas. Distingue-se dos outros anticorpos pelas sequências de domínios constantes nas cadeias pesadas. A IgE (fig.1) contém quatro domínios constantes (C ϵ 1 a C ϵ 4) (Rosenwasser LJ, 2011).

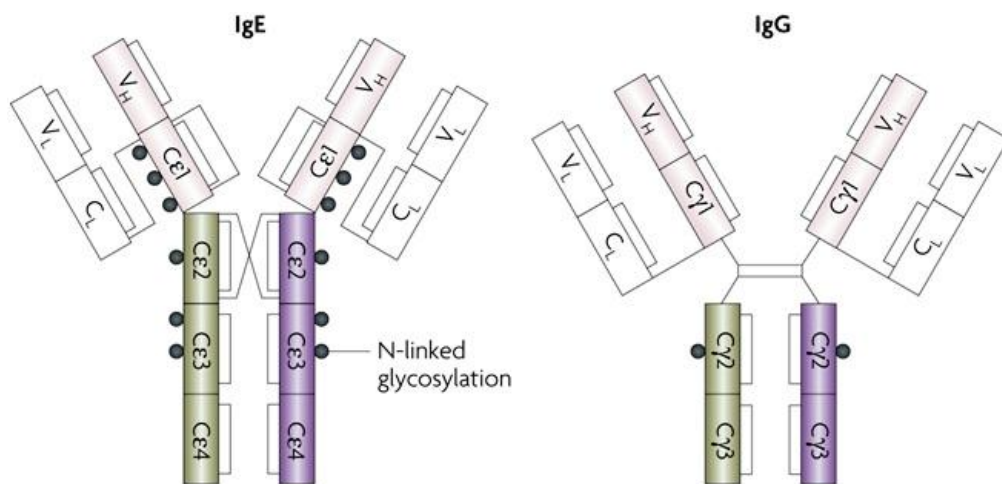


Fig.1 Estrutura da IgE e IgG. Adaptado de Gould HJ and Sutton BJ (2008)

Existem dois tipos de receptores da IgE. Os Fc ϵ RI são receptores de alta afinidade e estão presentes nos mastócitos, basófilos, monócitos, eosinófilos, macrófagos activados, células dendríticas e células de Langerhans. Apenas nos mastócitos e basófilos estes receptores possuem uma estrutura constituída por quatro unidades ($\alpha\beta\gamma_2$). A cadeia β é responsável pela amplificação do sinal, que nos outros tipos de células referidas está em falta (Rosenwasser LJ, 2011). Assim, nos outros tipos de células, este receptor é representado por um trímero onde o sinal de amplificação não está presente. Este receptor é um polipeptídeo

transmembranar e a sua parte extracelular (α) liga-se ao domínio C ϵ 3 da IgE (*N-linked glycosylation* - fig1).

Quando os antigénios multivalentes (com vários epítomos repetidos) se ligam à IgE específica presente nos mastócitos provocam uma reacção cruzada dos Fc ϵ RI (*cross-linking of Fc ϵ RI*) (Rosenwasser LJ, 2011) responsável pela libertação de mediadores como a histamina, leucotrienos cisteínicos, prostaglandinas, IL-4, triptase e GM-CSF. Estes mediadores podem ser encontrados em lavados broncoalveolares após o contacto com alergénios (Smith DL, 1993). Estudos sobre estimulação brônquica através de alergénios em indivíduos sensibilizados mostram reacções de broncoconstrição em poucos minutos. Esta reacção precoce dá-se após a desgranulação dos mastócitos e a libertação de mediadores importantes com efeitos broncoconstritores (contractura da musculatura lisa) como a histamina, a prostaglandina D2 e leucotrienos cisteínicos (LTC4, LTD4, LTE4) (Liu MC, 1991). Este processo pode ser seguido de uma fase tardia, algumas horas depois, caracterizada pela afluência de outras células inflamatórias, como os eosinófilos, T *helper*, basófilos, neutrófilos, células de memória e células dendríticas, que contribuem também para a contractura da musculatura lisa brônquica.

Os efeitos da activação da variante trimérica do receptor ainda não são completamente conhecidos. Porém, sabe-se que após a ligação cruzada nos monócitos estes diferenciam-se em macrófagos e afastam-se assim do fenótipo das células dendríticas. São também conhecidos efeitos antiapoptóticos relacionados com a activação das proteínas Bcl-2 e Bcl-xL (Rosenwasser LJ, 2011).

Fc ϵ RII ou CD23 é o receptor de baixa afinidade que se liga também ao domínio C ϵ 3 da IgE. É encontrado em linfócitos B e T e ainda em monócitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans e plaquetas (Rosenwasser LJ, 2011). Este receptor pode ligar-se a outras moléculas para além da IgE, o que explica a sua variabilidade de

funções. A ligação com a IgE nas células B tem vários efeitos incluindo diferenciação destas células, apoptose, e regulação da síntese de IgE.

As células dendríticas possuem os dois tipos de receptores. A ligação da IgE tem a função de ajudar na incorporação celular dos antígenos para serem posteriormente processados pelo complexo principal de histocompatibilidade II (MHC-II) (Rosenwasser LJ, 2011).

As influências genéticas têm uma grande importância nos atópicos. As alterações genéticas podem incluir por exemplo citocinas, como a IL-4 e a cadeia β dos receptores de alta afinidade e, desta forma, aumentar a produção de IgE ou aumentar a sensibilidade a esta.

Tendo em conta a importância desta imunoglobulina nas reacções de hipersensibilidade tipo I, foram realizados diferentes estudos no sentido de inibir o mecanismo da IgE através de anticorpos anti-IgE monoclonal (omalizumab). Este anticorpo, sem actividade imunogénica, tem a capacidade de se ligar com a IgE livre e formar complexos inactivos, inibindo assim a ligação da IgE com os seus receptores (Holgate S, 2005; Rosenwasser LJ, 2011) e, desta forma, reduz os níveis de IgE livre no soro, permitindo também uma menor expressão dos receptores Fc ϵ RI na superfície dos mastócitos (Beck LA, 2004). Esta é uma terapia recente no tratamento de doenças alérgicas, com resultados estatísticos significativos, porém ainda reservada a doentes de alto risco de morbilidade e mortalidade (Rosenwasser LJ, 2011).

Mastócitos

Tem sido demonstrado cada vez mais a importância dos mastócitos no sistema imune inato e o seu papel na asma brônquica. Nas biópsias de doentes asmáticos é possível observar estas células na camada muscular lisa das vias respiratórias (Barnes PJ, 2008). Esta infiltração

dos mastócitos na camada muscular lisa é característica na asma grave (Brightling CE, 2002) e, segundo alguns estudos de comparação com Brônquite Eosinofílica e indivíduos normais, esta associação dos mastócitos com a musculatura lisa brônquica é uma das especificidades dos doentes asmáticos, podendo ser uma das principais causas das alterações funcionais como a obstrução brônquica e a hiperreactividade. No recrutamento destas células é essencial a quimiocina CXCL10 e a sua acção nos receptores CXCR3 presentes nos mastócitos. Podem infiltrar igualmente as glândulas mucosas das vias respiratórias, tendo assim, uma grande correlação com o aumento da produção de muco, e o epitélio brônquico (Bradding P, 2006). A exposição crónica a alérgenos é um dos principais factores para a acumulação destas células nas paredes das vias respiratórias.

A activação dos mastócitos na asma ocorre sobretudo pela reacção cruzada dos FcεRI, dependente da IgE, levando a um processo de desgranulação com libertação de muitos mediadores como a histamina (fig 2). É importante referir que a expressão destes receptores e a sua activação não são inibidas pela acção dos corticosteróides, o que pode condicionar resistência a esta medicação (Nakagome K, 2011). Diferentes estudos dos mastócitos em doentes asmáticos (associados a atopia ou não) mostram características de activação crónica (Bradding P, 2006).

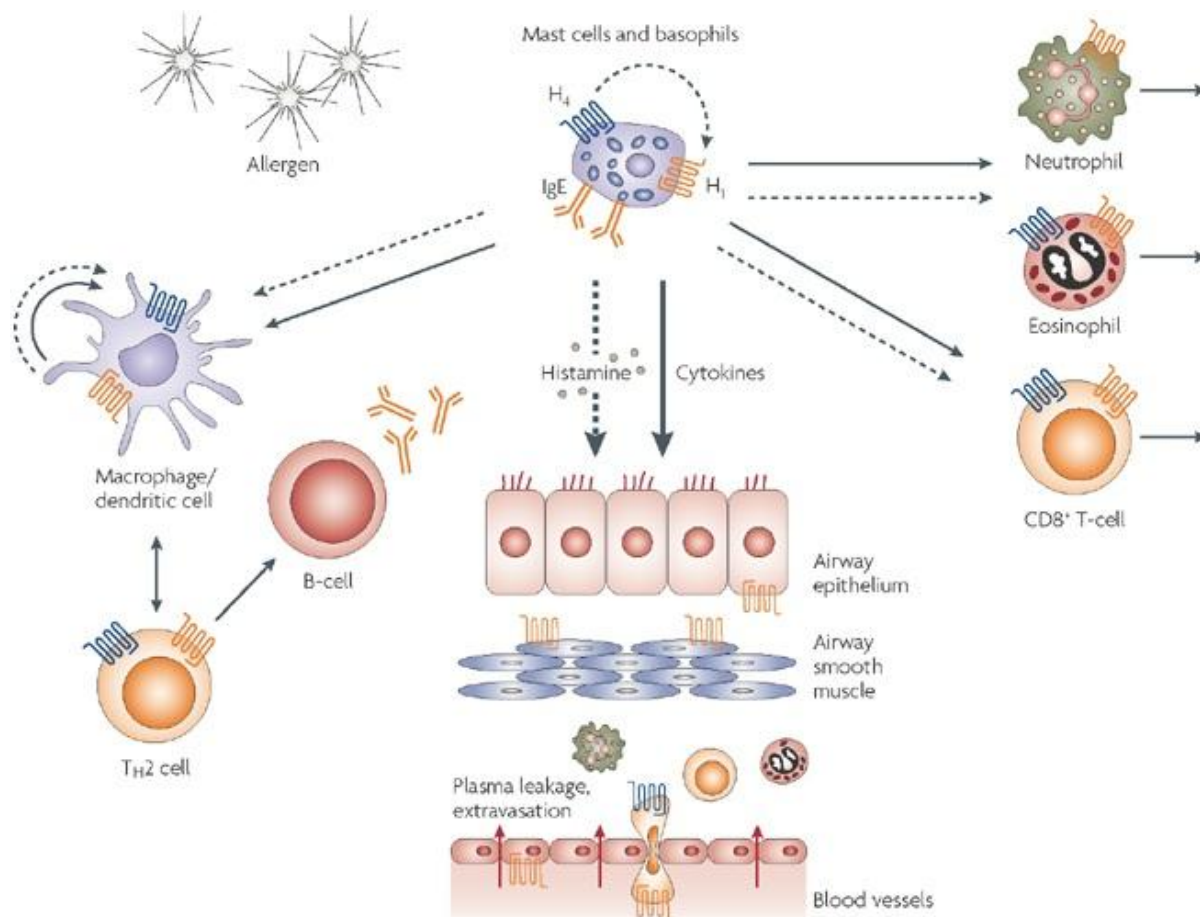


Fig. 2 Potencial da histamina e seus receptores. *Adaptado de Thurmond L, Gelfand EW and Dunford PJ (2008)*

Mastócitos – Mediadores na Asma

Após activação os mastócitos podem libertar uma grande variedade de mediadores. Estes podem dividir-se em mediadores pré-formados, mediadores lipídicos sintetizados de novo, citocinas e quimiocinas (Lieberman P, 2007). Os mastócitos têm grânulos de secreção que contêm mediadores pré-formados. Após estimulação, são libertados rapidamente e com consequente reacção rápida. São exemplos destes mediadores a histamina, proteases neutras, proteoglicanos e algumas citocinas como o TNF- α .

A histamina está presente sobretudo em mastócitos, mas também em basófilos, neutrófilos e plaquetas (Xu X, 2006). A histamina é libertada de forma rápida após estimulação dos mastócitos e vai actuar nos seus receptores (H1, H2, H3,H4) (fig.2). As suas principais acções nas vias respiratórias, através da estimulação dos receptores H1, são o aumento da permeabilidade vascular, a contracção do músculo liso e a quimiotaxia de células T, neutrófilos e eosinófilos (Marshall JS, 2004; Bryce PJ, 2006; Thurmond L, 2008). Os receptores H2 contribuem para a permeabilidade vascular e produção de muco (Falus A, 1992). Podem também inibir o influxo de neutrófilos e eosinófilos. Os receptores H3 estão associados sobretudo ao sistema nervoso central. Os H4 contribuem para o recrutamento de células dendríticas, eosinófilos e mastócitos. Regulam também a libertação de citocinas pelos linfócitos T CD8⁺. Os receptores H1 e H4 actuam na modulação da apresentação dos antígenos através das células dendríticas e sua interacção com linfócitos T, e na libertação de citocinas dos eosinófilos, neutrófilos e outros mastócitos (Thurmond L, 2008).

Os proteoglicanos dão a coloração metacromática aos grânulos dos mastócitos. A heparina tem a função de estabilização de outros compostos como a histamina e das proteases: mesmo após a exocitose, ajuda a manter muitas das proteases em complexos macromoleculares (Lieberman P, 2007; Pejler G, 2010). Para além dos seus efeitos anticoagulantes, de referir também a inibição da cascata do complemento e a sua contribuição na angiogénese (Norrby K, 2002). O sulfato de condroitina E também tem efeitos na estabilização de proteases e na activação de cininas (Lieberman P, 2007).

Em relação às proteases neutras, podem distinguir-se vários tipos de mastócitos. Os MCTC contêm triptase e quimase, os MCT contêm triptase e uma pequena quantidade de quimase e os MCT-CPA, encontrados num subgrupo de asmáticos associados a um aumento da actividade Th2, contêm triptase e carboxipeptidase A3 (CPA3) (Dougherty RH, 2010). Interagem com diferentes células através dos PARs (receptores activados por protease)

(Bradding P, 2006). O aumento dos níveis séricos de triptase pode indicar mastocitose e podem estar presentes em reacções anafiláticas. Apesar da histamina ser um melhor indicador de mastocitose, a triptase apresenta uma semi-vida maior (Lieberman P, 2007). Nos doentes asmáticos, pode ser detectada nos lavados broncoalveolares. Apesar de se conhecer muitos mecanismos de acção desta enzima a sua importância relativa não está completamente esclarecida (Pejler G, 2010). Relativamente à asma, é de salientar a acção da enzima na inibição de alguns neuropeptídeos, como a substância P e a inibição do efeito broncodilatador do VIP (Tam EK, 1990). Tem também efeito estimulador da proliferação dos fibroblastos, síntese de pro-colagénio (Gruber BL, 1997), efeito quimiotático sobre eosinófilos (Walls AF, 1995), indução do aumento da IL-8, expressão de ICAM-1 no epitélio dos brônquios (Cairns JA, 1996) e aumento da sensibilização das células musculares lisas à histamina (Bradding P, 2006). A carboxipeptidase A3 tem também um papel na degradação de neuropeptídeos, sendo de destacar também o seu contributo na conversão da angiotensina I em angiotensina II (Caughey GH, 2011).

Os mediadores lipídicos sintetizados de novo incluem as prostaglandinas e leucotrienos, entre outros, formados a partir do ácido araquidónico após a activação dos mastócitos. A prostaglandina D2 é a principal prostaglandina produzida pelos mastócitos. Causa espasmo do músculo liso brônquico, aumento da permeabilidade vascular, inibe a agregação plaquetar, e tem acção quimiotática sobre os neutrófilos, eosinófilos e linfócitos Th2 (Hirai H, 2001).

O principal leucotrieno cisteinílico produzido é o LTC₄. Este mediador causa aumento da permeabilidade vascular e broncoconstrição (menos potente que a histamina) (O'Byrne PM, 1997). Encontra-se também, em menor concentração, o LTB₄, que tem implicação no recrutamento de células T (CD8⁺) e consequente contribuição para o desenvolvimento de hiper-reatividade (Taube C, 2006).

As principais citocinas produzidas pelos mastócitos desencadeiam respostas do tipo Th2 e incluem IL-4, IL-5 e IL-13, importantes como citocinas pró-inflamatórias, na regulação da síntese de IgE, no desenvolvimento da resposta inflamatória por eosinófilos. São produzidas também citocinas pró-fibrogénicas que incluem TGF- β e FGF-2 (Bradding P, 2006). A IL-4, para além do seu envolvimento na síntese de IgE e atracção de eosinófilos, estimula também a produção de leucotrienos cisteinílicos segundo um mecanismo de *feedback* positivo (Tam EK, 1990). A IL-5 está também envolvida na atracção e maturação de eosinófilos. Segundo alguns estudos, as IL-4 e IL-13 podem também estar envolvidas no desenvolvimento de hiper-reatividade brônquica (Bradding P, 2006).

O TNF- α é também uma citocina pró-inflamatória fortemente implicada na patogénese da asma. Está envolvido na indução de hiper-reatividade brônquica e recrutamento de neutrófilos (Bradding P, 2006).

A citocina SCF (factor das células estaminais) e seu receptor são produzidos e expressos não só pelos mastócitos mas também pelas células musculares lisas tendo um papel quimiotáctico e de sobrevivência dos mastócitos. O TGF- β também pode ser produzido pelas células musculares lisas, após estimulação pela triptase, e com papel quimiotáctico dos mastócitos (Bradding P, 2006).

Eosinófilos

Os eosinófilos são as células mais características que se acumulam na fase tardia da reacção inflamatória em doentes asmáticos, e característica das reacções alérgicas. Estão

associados ao desenvolvimento de hiperreactividade e ao processo de remodelação (Barnes PJ, 2008).

A sua importância na patogénese deve-se à libertação de uma variedade de mediadores inflamatórios, incluindo leucotrienos cisteínicos e factor activador de plaquetas (provocando a contracção da musculatura lisa brônquica), proteína básica principal (MBP), peroxidase eosinofílica e proteína catiónica eosinofílica (que podem lesar os tecidos), citocinas como GM-CSF, TGF (β e α), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-16, TNF- α , e quimiocinas como eotaxin, IL-8, MIP-1 e MCP (Wong CK, 2007). Os eosinófilos são capazes de produzir grandes quantidades de leucotrienos cisteínicos, como LTC₄, sendo a principal fonte destes mediadores na asma (Nakagome K, 2011).

A migração dos eosinófilos (fig.3) da circulação para os tecidos envolve moléculas de adesão, citocinas e quimiocinas. A VCAM-1 é importante na interacção dos eosinófilos com as células endoteliais vasculares, constituindo um mecanismo não só de adesão mas também um primeiro passo de activação, e a sua expressão pode ser potenciada pelas IL-4 e IL-13, citocinas libertadas por outras células como linfócitos Th2 (Nakagome K, 2011) e mastócitos. Após a adesão, a transmigração ocorre com a influência de quimiocinas do tipo CC, que têm como fonte células epiteliais, fibroblastos e células mononucleares (Nagata M, 2001; Sabatini F, 2002). Nun estudo recente, observou-se em doentes asmáticos, células endoteliais progenitoras com a capacidade de produção de grandes quantidade de CCL11, eficaz no recrutamento de eosinófilos (Asosingh K, 2010). Evidências crescentes têm demonstrado um papel importante dos leucotrienos cisteínicos no recrutamento dos eosinófilos. Um estudo efectuado com LTE₄ inalado demonstrou um aumento na acumulação de eosinófilos (Gauvreau GM, 2001). Outro estudo com LTD₄ mostrou a sua capacidade de aumentar a expressão nos eosinófilos de integrinas β 2 e desta forma uma maior adesão com ICAM-1 (Nagata M, 2002), com influência no fenómeno de migração transendotelial e na activação

dos eosinófilos. Foi também observada a capacidade de LTD4 de induzir directamente a transmigração, desgranulação e libertação de radicais livres de oxigénio através de receptores cysLT1 e integrina β 2 (Saito K, 2004).

Já nos tecidos, a sua activação e desgranulação pode ser efectuada pelo GM-CSF, mesmo na ausência de IL-5 (Nakagome K, 2011).

Os grânulos eosinofílicos livres extracelulares possuem receptores para leucotrienos cisteinílicos (cysLT1R, cysLT2R) e receptores purinérgicos (P2Y12). O LTC4 e seus derivados, por conversão extracelular LTD4 e LTE4, têm a capacidade de estimular e libertar dos grânulos a ECP (Asosingh K, 2010).

A IL-5 tem um papel importante na acumulação de eosinófilos nos tecidos e sua activação através da sua interacção com IL-5R α (receptor presente nos eosinófilos) (Geijsen N, 2001). Os estudos dos eosinófilos com anticorpos anti-IL-5 permitiram uma melhor compreensão do papel dos primeiros. Após o uso de anti-IL-5, foi possível observar a diminuição dos eosinófilos nas secreções brônquicas e no soro, mas manteve-se a hiper-reatividade e a magnitude da resposta inflamatória tardia, com a exposição a alergénios (Leckie MJ, 2000). Observou-se também uma diminuição das exacerbações da asma em doentes com eosinofilia persistente nas secreções brônquicas (Halder P, 2009). Porém, a IL-5 pode ter um papel limitado na libertação e activação de alguns mediadores, tendo em conta que apesar de haver diminuição nos tecidos de eosinófilos, com anti-IL-5, não se observa modificação na deposição de MBP nas vias respiratórias (Flood-Page PT, 2003).

Os receptores *Toll-Like* desempenham um papel importante no sistema imune inato contra infecções víricas e bacterianas, estando presentes nos vários tipos de leucócitos e células inflamatórias. Nos eosinófilos foram demonstrados alguns dos seus efeitos na

libertação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas envolvidas na atracção de outras células inflamatórias (Wong CK, 2007).

O processo de remodelação, associado aos eosinófilos, inclui a deposição de proteínas na matriz extracelular da submucosa e membrana basal das vias respiratórias com o seu espessamento (sobretudo em doentes com asma grave), processos de fibrose, e também espessamento da musculatura lisa (Haldar P, 2009). A citocina pró-fibrogénica, TGF- β , tem um papel importante neste processo de remodelação.

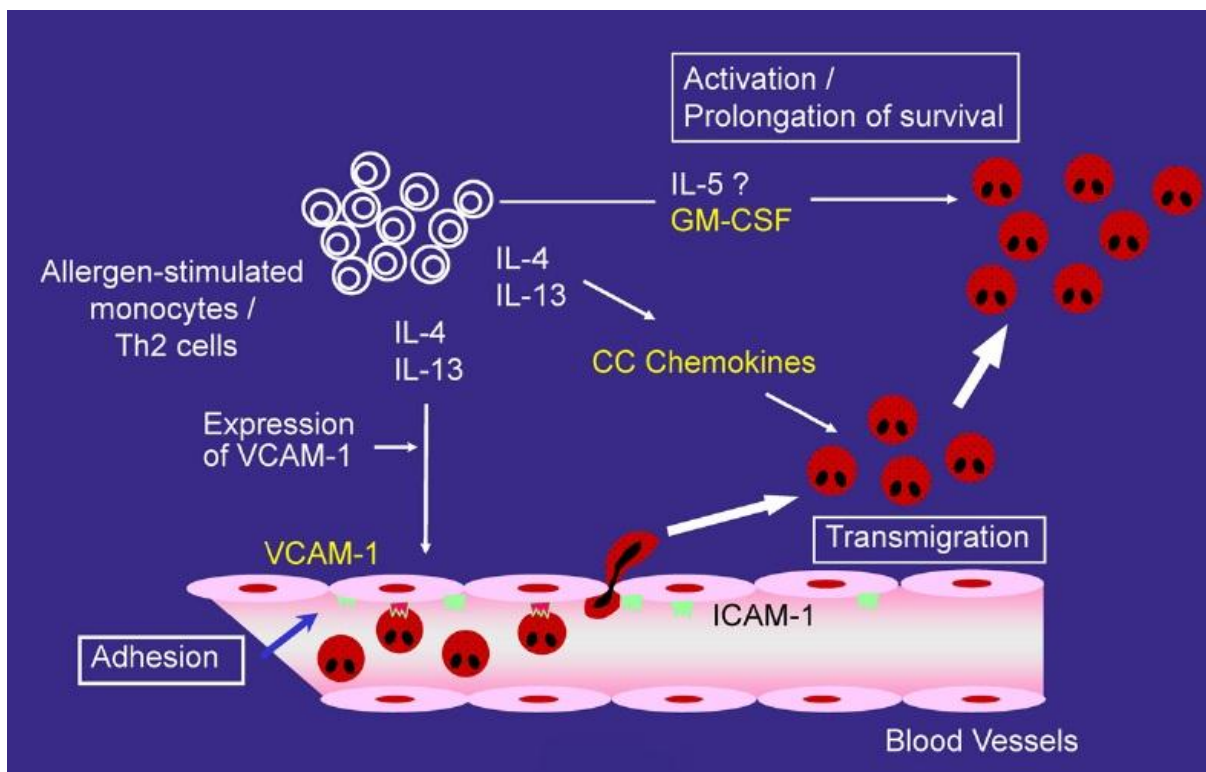


Fig.3: Mecanismo dos eosinófilos na asma brônquica. *Adaptado de Nakagome K and Nagata M (2011)*

Linfócitos T

A associação entre asma atópica e a activação de linfócitos Th2 nas vias aéreas já é conhecida há muitos anos. O perfil de citocinas Th2 também é encontrado em doentes com asma não atópica (Humbert M, 1996).

Os linfócitos T têm a capacidade de produzir citocinas como IL4, IL5, IL-6, IL-9, IL-13 e GM-CSF. Em alguns estudos foi possível observar um aumento de IL-13 em doentes com asma atópica e não atópica, com origem preferencial em eosinófilos e células T, o que não se verificou em casos de Bronquite Eosinofílica (Berry MA, 2004). Estes estudos de comparação com casos de Bronquite Eosinofílica permitiram distinguir dois factores que podem ser importantes na asma, que é o caso da presença de mastócitos na camada muscular lisa e os níveis aumentados de IL-13 (Brightling CE, 2002).

A IL-13 tem, juntamente com a IL-4, um papel importante sobre as células B e sua produção de IgE, na activação de monócitos e macrófagos e no aumento da produção de muco através da hiperplasia das células caliciformes (Wills-Karp M, 2004).

A IL-6 é produzida por linfócitos Th2 e outros tipos de células, incluindo células epiteliais. Está implicada na diferenciação de Th2 e proliferação de células de memória Th2. Inibe os linfócitos T supressores (Doganci A, 2005).

A IL-9 actua aumentando a produção de citocinas Th2, aumento da produção de muco e na diferenciação dos eosinófilos e basófilos, entre outras acções, o que está relacionado com o aumento da produção de IL-13 (Steenwinckel V, 2007). O bloqueio da IL-9 está associado à redução da hiper-reatividade brônquica e diminuição do número de mastócitos. Em estudos genéticos, observa-se um aumento de IL-9 em doentes asmáticos (Shimbara A, 2000).

Na iniciação, amplificação e manutenção da resposta inflamatória tipo Th2, são importantes algumas citocinas produzidas por diferentes tipos de células, incluindo células estruturais como o epitélio brônquico. Estas citocinas incluem a linfopoetina do estroma tímico (TSLP), IL-25 e IL-33 (Xanthou G, 2007; Saenz SA, 2008).

A TSLP pode ser produzida a partir das células epiteliais brônquicas após dano na mucosa, contacto com alérgenos ou agentes infecciosos. Actua sobre as células dendríticas aumentando a expressão de OX30L, importante na diferenciação dos linfócitos Th2. A TSLP pode também activar mastócitos. Nas vias aéreas dos doentes asmáticos, a expressão desta citocina encontra-se aumentada (Liu YJ, 2007).

A IL-25 é produzida principalmente por eosinófilos e basófilos. Tem a capacidade de amplificar a resposta inflamatória via Th2. Induz o aumento de citocinas do tipo Th2, eotaxin (consequente eosinofilia) e aumento da produção de IgE. Esta citocina actua sobretudo em células de memória Th2, activadas após o mecanismo da TSLP nas células dendríticas. Estas células de memória Th2 activadas têm uma expressão aumentada de IL-25R o que as torna sensíveis a esta citocina, levando a uma maior proliferação destas células e maior produção de citocinas (Wang YH, 2007).

A IL-33 é uma citocina da família da IL-1. É produzida por células epiteliais, células musculares lisas e fibroblastos. Tem também actividade sobre células Th2 activadas aumentando a produção de citocinas. Actua também em mastócitos e basófilos aumentando a sua sobrevivência nos tecidos e produção de citocinas. Nos eosinófilos promove a desgranulação. A sua expressão está aumentada em doentes com asma grave (Saenz SA, 2008).

Outros Linfócitos T

Outros tipos de linfócitos T têm sido relacionados com a asma. É o caso dos linfócitos Th17, com capacidade de produção de IL-17, IL-22 e IL-6 e possível relação com o desenvolvimento de neutrofilia, resistência aos corticosteróides e hiper-reatividade brônquica.

O TGF- β , juntamente com IL-4, está associado à diferenciação dos linfócitos Th2 e ao aumento da produção de IL-9 pelo subtipo Th9 (Veldhoen M, 2008).

As células T supressoras têm um papel importante no desenvolvimento de tolerância contra auto-antígenos e antígenos ambientais inofensivos. A citocina anti-inflamatória IL-10 tem um papel principal neste mecanismo, sendo capaz de inibir respostas Th1 e Th2. Nos doentes asmáticos, a acção destas células pode estar comprometida (Lloyd CM, 2009). Por exemplo, durante episódios de infecções víricas com exacerbação da asma, a estimulação dos receptores *Toll-Like* (TLR-9) está associada a uma diminuição da resposta supressora da IL-10 (Urry Z, 2009). Em estudo com animais, a exposição repetida com baixas doses de antígeno promoveu o desenvolvimento de células reguladoras com expressão de TGF- β e FoxP3 importantes no desenvolvimento de tolerância aos antígenos (Ostroukhova M, 2004). A estimulação com altas doses de antígeno promoveu o desenvolvimento de células T supressoras com grandes concentrações de IL-10 (Akbari O, 2002). Estas células diferenciam-se a partir de células T primitivas na resposta a antígenos. Este mecanismo é influenciado pela presença dos receptores *Toll-Like* em APCs e células T. A diferenciação das células T supressoras é dependente de IL-10 e elas próprias produzem IL-10 (Finn PW, 2009).

Outras células envolvidas são os linfócitos NK (linfócitos *Natural Killer*), que se juntam à complexidade de subtipos de células CD4+. Estas células têm um papel directo ou modulador do processo inflamatório. Têm capacidade de reconhecer glicolípidos, como os

provenientes de pólen de plantas, e posteriormente apresentados pelo MHC tipo I. Esta capacidade deve-se à presença de um receptor invariante (V α 24J α 18). São capazes de produzir vários tipos de citocinas das convencionais células CD4+, incluindo IL-4 e IL-13, com conseqüente envolvimento no processo inflamatório e produção de IgE. Num estudo, foi demonstrado que cerca de 60% dos linfócitos CD4+ nas vias aéreas de doentes com asma moderada e grave eram linfócitos NK (Akbari O, 2006). Porém, estes dados não foram confirmados em estudos posteriores (Vijayanand P, 2007). O papel destes linfócitos permanece ainda pouco esclarecido.

Basófilos

Os basófilos têm um comportamento semelhante aos mastócitos, apresentando também receptores da IgE, importantes nos mecanismos inflamatórios alérgicos, e mediadores como a histamina, leucotrienos, proteases neutras, proteoglicanos e interleucinas como a IL-4 e IL-13. O papel dos basófilos na asma não está completamente esclarecido. Os mastócitos são encarados como a principal fonte de histamina e outros mediadores nas fases agudas da asma. Os basófilos são uma fonte adicional de mediadores em pacientes asmáticos, especialmente na fase tardia (Macfarlane AJ, 1999).

Os basófilos humanos são a principal fonte de anfiregulina. A libertação desta citocina é estimulada sobretudo pela IL-13, mas também pela activação dos receptores da IgE. A libertação de anfiregulina pode estar associada com o processo de remodelação e associação com doença alérgica crónica (Qi Y, 2010).

Neutrófilos

Os neutrófilos são leucócitos polimorfonucleares envolvidos essencialmente em infecções bacterianas e fúngicas. Tem sido evidenciada cada vez mais a sua influência em processos alérgicos, incluindo na patogenia da asma. São as primeiras células a serem recrutadas para os locais de reacção alérgica e a sua presença tem sido associada às exacerbações da asma e a doentes com asma crónica grave. Em doentes asmáticos em fase sintomática, estão aumentados os números de neutrófilos periféricos com sinais de estarem activados e podem ser encontrados nos lavados bronco-alveolares (Monteseirín J, 2009).

Sistema imune inato

O sistema imune inato tem um papel importante no desenvolvimento do processo inflamatório nos doentes asmáticos. Tem a capacidade de reconhecimento de várias moléculas, sejam derivadas de organismos patogénicos ou não patogénicos (Finn PW, 2009). Neste processo, são importantes vários tipos de células e seus receptores. Vários factores são conhecidos, como infecções víricas, poluentes ambientais (tabaco, partículas diesel de escape) e factores físicos (exercício e ar frio), que interferem com o sistema imune inato ou com a homeostasia das células estruturais das vias aéreas. Estes estímulos têm efeito em células do sistema imune inato, salientando a importância para este mecanismo das células epiteliais, células dendríticas, mastócitos, basófilos, neutrófilos e células NK (Lambrecht BN, 2009). Existe uma grande variedade de receptores no sistema imune inato, designados por receptores de reconhecimento padrão (PRRs), com a capacidade de reconhecimento de várias moléculas

externas, que incluem os receptores *Toll-Like* (conhecidos 10 tipos diferentes), proteínas NOD, Proteína lectina, proteína CD14 e colectinas (Finn PW, 2009).

Células Epiteliais

Representam uma barreira entre o ambiente externo e os tecidos das vias aéreas. Os estímulos provocado por agentes externos têm um papel fulcral no desenvolvimento do processo inflamatório e sua manutenção, assim como na progressão para a remodelação dos tecidos.

As células epiteliais das vias aéreas têm características de APCs (células apresentadoras de antígeno), exibindo MHC tipo II, essencial na apresentação de antígenos. Expressam vários receptores *Toll-Like*, como o TLR-4 capaz de reconhecer lipopolissacarídeos, o que leva à elaboração de várias citocinas pró-alérgicas, como IL-5, IL-13, IL-25, IL-33 e TSLP (Hammad H, 2009). A libertação da TSLP interage com as células dendríticas aumentando a expressão de moléculas co-estimuladoras (CD40, CD80, OX40), importantes na diferenciação de linfócitos T CD4+ primitivos em linfócitos Th2 (Holgate ST, 2008; Lambrecht BN, 2009). Também importa referir que as células dendríticas libertam quimiocinas, como CCL17 e CCL22, importantes na atracção de linfócitos Th2 (Lambrecht BN, 2009). A diferenciação dos linfócitos Th2 é influenciada positivamente pela IL-25, produzida também por basófilos e eosinófilos (Wang YH, 2007). As células epiteliais têm ainda acção directa sobre os mastócitos, levando à sua activação e libertação selectiva de citocinas (Holgate, ST 2008) (fig.4). A IL-33 aumenta a produção de citocinas Th2 e promove a hiperplasia das células caliciformes. De igual forma, foi recentemente demonstrado, um efeito na diferenciação das células Th2, através da programação funcional das células dendríticas (Rank MA, 2009).

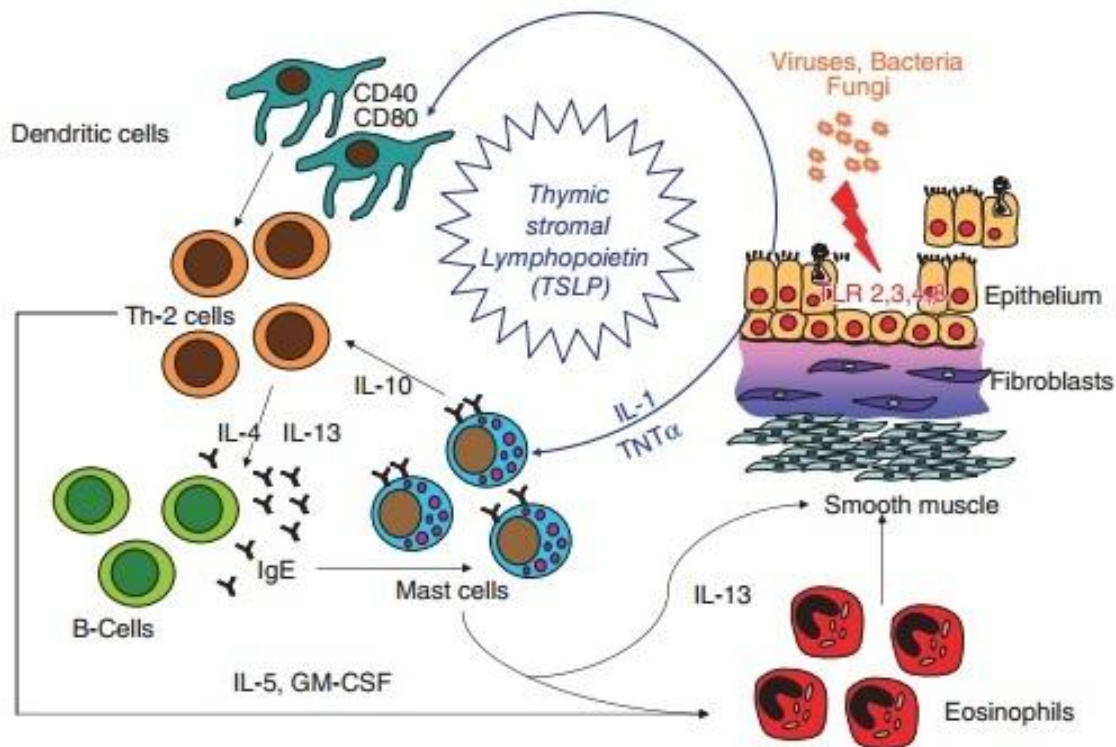


Fig.4: Activação de TLRs e libertação de TSLP. *Adaptado de Holgate ST (2008)*

Um estudo sobre os efeitos da emissão de partículas diesel demonstrou ter efeito na maturação de células dendríticas imaturas, através da libertação de GM-CSF pelas células epiteliais das vias aéreas (Bleck B, 2006).

Células Dendríticas

As células dendríticas, derivadas de monócitos circulantes, são APCs essenciais no processamento dos antígenos, sua apresentação e desenvolvimento de sensibilidade. Formam uma rede celular de imunidade inata nas vias aéreas que se encontra aumentada nos doentes asmáticos e após a estimulação com alérgenos (Jahnsen FL, 2001). São importantes na iniciação e regulação da resposta imunitária adaptativa. As células dendríticas imaturas têm

uma grande capacidade de captação dos antígenos e, após a maturação, adquirem maior capacidade para o processo de apresentação antigénica. A estimulação da maturação, através de vários factores, diminui o processo de endocitose e aumenta a expressão de moléculas co-estimuladoras, como CD40, CD80 e CD86, assim como a expressão do MHC tipo II (Finn PW, 2009).

Estas células têm uma capacidade única no reconhecimento de motivos antigénicos em praticamente todos os patogénicos inalados, alergénios e substâncias. Esta capacidade deve-se essencialmente à presença de receptores *Toll-like*, receptores *NOD-like* e receptores de lectina tipo C (Barrett NA, 2009).

As células dendríticas têm a capacidade de captarem os antígenos, por interacção directa, e migrarem através dos vasos linfáticos, processando os antígenos, até nódulos linfáticos mediastínicos onde estimulam uma resposta imune adaptativa.

CONCLUSÃO

Apesar das manifestações clínicas da asma serem comuns e de fácil reconhecimento, os mecanismos da sua patogénese, envolvendo células inflamatórias e células estruturais, são complexos.

Uma das características mais importantes na asma é a hiper-reatividade brônquica, caracterizada por uma resposta exagerada, mesmo para estímulos considerados inofensivos, levando à obstrução reversível das vias aéreas, essencialmente pelo fenómeno de broncoconstrição.

A IgE tem um papel importante nas respostas a antigénios específicos. A ligação dos alergénios à IgE na superfície de mastócitos e basófilos leva à libertação de mediadores que iniciam o processo inflamatório, provocando alterações histopatológicas características, e levando ao recrutamento de outras células imunitárias características da fase tardia do processo inflamatório, como os eosinófilos e células T.

Os eosinófilos contribuem para a remodelação das vias aéreas e são uma fonte importante de leucotrienos cisteinílicos. O papel dos eosinófilos na asma não se encontra completamente esclarecido. Para uma melhor compreensão, seria necessário um estudo em que se pudesse eliminar selectivamente não só os eosinófilos, mas também os seus grânulos livres extracelulares.

A activação de células T é um mecanismo importante na iniciação e manutenção da inflamação das vias aéreas em doentes com asma, sendo característica a presença de linfócitos Th2. É essencial a compreensão das interacções entre as células estruturais, como o epitélio, fibroblastos e células musculares lisas, com células do sistema imune inato, essenciais na iniciação do processo inflamatório. Dentro das células do sistema imune inato, é de referir a

relevância das células dendríticas que têm um papel importante na apresentação antigénica, após serem estimuladas por antigénios, quer de forma directa ou indirectamente, através da acção das células epiteliais. De referir também a capacidade das células dendríticas em iniciarem a diferenciação dos linfócitos e activação de células Th2. Os mecanismos de tolerância são observados essencialmente pela indução de Células T supressoras e respostas Th1.

BIBLIOGRAFIA

- Akbari O, Faul JL, Hoyte EG, Berry GJ, Kronenberg M (2006) CD41 invariant T-cell-receptor1 natural killer T cells in bronchial asthma. *N Engl J Med* 354:1117-1129.
- Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, Greenfield EA, Chang TT, Sharpe AH, Berry G, DeKruyff RH, Umetsu DT (2002) Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity. *Nat Med* 8:1024–1032.
- Almeida AB, Covas A, Prates L, Fragoso E (2009) Internamento e mortalidade intrahospitalar por asma em Portugal continental (2000-2007). *Revista Portuguesa de Pneumologia* 15(3):367-383.
- Arbes S, Gergen P, Vaughn B, Zeldin D (2007) Asthma cases attributable to atopy: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol* 120(5):1139-1145.
- Asosingh K, Hanson JD, Cheng G, Aronica MA, Erzurum SC (2010) Allergen-induced, eotaxin-rich, proangiogenic bone marrow progenitors: a blood-borne cellular envoy for lung eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 125:918-925.
- Barnes PJ (2008) Asthma. In: *Harrison's principles of internal medicine* (Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, eds) 17^a Ed, pp1596-1607. New York: McGraw-Hill.
- Barrett NA, Maekawa A, Rahman OM, Austen KF, Kanaoka Y (2009) Dectin-2 recognition of house dust mite triggers cysteinyl leukotriene generation by dendritic cells. *J Immunol* 182:1119–1128.
- Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D (2004). Omalizumab-induced reductions in mast cell FcεR1 expression and function. *J Allergy Clin Immunol* 114:527.

- Berry MA, Parker D, Neale N, Woodman L, Morgan A, Monk P (2004) Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 114:1106-1109.
- Bleck B, Tse DB, Jaspers I, Curotto de Lafaille MA, Reibman J (2006) Diesel exhaust particle-exposed human bronchial epithelial cells induce dendritic cell maturation. *J Immunol* 176:7431–7437.
- Bradding P, Walls AF, Holgate ST (2006) The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 117(6):1277-1284.
- Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID (2002) Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 346:1699-1705.
- Bryce PJ, Mathias CB, Harrison KL (2006) The H1 histamine receptor regulates allergic lung responses. *J Clin Invest* 116(6):1624–1632.
- Cairns JA, Walls AF (1996) Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells. Stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Immunol* 156:275-283.
- Caughey GH (2011) Mast Cell Proteases as Protective and Inflammatory Mediators. In: *Mast Cell Biology: Contemporary and Emerging Topics* (Gilfillan AM, Metcalfe DD, eds), vol 716, pp212-234. Springer US.
- Doganci A, Eigenbrod T, Krug N, De Sanctis GT, Hausding M, Erpenbeck VJ (2005) The IL-6R alpha chain controls lung CD41CD251 Treg development and function during allergic airway inflammation in vivo. *J Clin Invest* 115:313-325.
- Dougherty RH, Sidhu SS, Raman K (2010) Accumulation of intraepithelial mast cells with a unique protease phenotype in Th2-high asthma. *J Allergy Clin Immunol* 125:1046-1053.

- Falus A, Merétey K (1992) Histamine: an early messenger in inflammatory and immune reactions. *Immunol Today* 13(5):154-156.
- Finn PW, Bigby TD (2009) Innate Immunity and Asthma. *Proc Am Thorac Soc* 6(3):260-265.
- Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I, Matthews J, Williams M, Brannick L, (2007) A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 176 (11):1062-1071.
- Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Phipps S, Ying S, Wangoo A, Ludwig MS (2003) Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. *J Clin Invest* 112:1029–1036.
- Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, Robinson DS (2003) Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med* 167:199–204.
- Gaspar A, Almeida MM, Nunes C (2006) Epidemiologia da asma grave. *Rev Port Imunoalergologia* 14 (2): 27.
- Gauvreau GM, Parameswaran KN, Watson RM, O'Byrne PM (2001) Inhaled Leukotriene E₄, But Not Leukotriene D₄, Increased Airway Inflammatory Cells in Subjects with Atopic Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 64(8) 1495-1500.
- Geijsen N, Koenderman L, Coffey PJ (2001) Specificity in cytokine signal transduction: lessons learned from the IL-3/IL-5/GM-CSF receptor family. *Cytokine Growth Factor* 12(1):19-25.
- Gould HJ, Sutton BJ (2008) IgE in allergy and asthma today. *Nature Reviews Immunology* 8, 205-217.

- Gruber BL, Kew RR, Jelaska A (1997) Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblasts chemotaxis. *J Immunol* 158:2310-2317.
- Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, Gupta S, Monteiro W, Sousa A (2009) Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360:973–984.
- Hammad H, Chieppa M, Perros F (2009) House dust mite allergen induces asthma via Toll like receptor 4 triggering of airway structural cells. *Nat Med* 15(4):410.
- Hirai H, Tanaka K, Yoshie O (2001) Prostaglandin D2 Selectively Induces Chemotaxis in T Helper Type 2 Cells, Eosinophils, and Basophils via Seven-Transmembrane Receptor Crth2. *JEM* 193(2):255-262.
- Holgate S, Casale T, Wenzel S (2005) The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115:459.
- Holgate ST (2008) The Airway Epithelium is Central to the Pathogenesis of Asthma. *Allergology International* 57:1-10.
- Holgate ST (2010) A Brief History of Asthma and Its Mechanisms to Modern Concepts of Disease Pathogenesis. *Allergy Asthma Immunol Research* 2(3):165-171.
- Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B (1996) IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against “intrinsic” asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* 154:1497-504.
- Jahnsen FL, Moloney ED, Hogan T (2001) Rapid dendritic cell recruitment to the bronchial mucosa of patients with atopic asthma in response to local allergen challenge. *Thorax* 56(11):823-826.

- Jiang Y, Kanaoka Y, Feng C (2006) Cutting edge: Interleukin 4-dependent mast cell proliferation requires autocrine/intracrine cysteinyl leukotriene-induced signaling. *The Journal of Immunology* 177:2755-2759.
- Lambrecht BN, Hammad H (2009) Biology of Lung Dendritic Cells at the Origin of Asthma. *Immunity* 31(3):412-424.
- Leckie MJ, Brinke TA, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM (2000) Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 356:2144–2148.
- Lieberman P, Anderson J (2007) Allergic diseases: diagnosis and treatment. Ed. 3. Totowa, NJ: Humana press.
- Liu MC, Hubbard WC, Proud D (1991) Immediate and late inflammatory responses to ragweed antigen challenge of the peripheral airways in allergic asthmatics. Cellular, mediator, and permeability changes. *Am Rev Respir Dis* 144:151.
- Liu YJ (2007) Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 120:238-244.
- Lloyd CM, Hawrylowicz CM (2009) Regulatory T cells in asthma. *Immunity* 31:438-449.
- Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ, Zeibecoglou K, Khan LN, Barata LT (1999) Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J. Allergy Clin. Immunol* 105:99-107.
- Marshall JS, Jawdat DM (2004). Mast cells in innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 114:21-27.
- Monteseirín J (2009) Neutrophils and Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 19(5):340-354

- Murdoch JR, Lloyd CM (2010) Chronic inflammation and asthma. *Mutation Research* 690:24-39.
- Nagata M, Saito K, Tsuchiya T, Sakamoto Y (2002) Leukotriene D4 upregulates eosinophil adhesion via the cysteinyl leukotriene 1 receptor. *J Allergy Clin Immunol* 109:676–770.
- Nagata M, Yamamoto H, Tabe K, Sakamoto Y (2001) Eosinophil transmigration across VCAM-1-expressing endothelial cells is upregulated by antigen-stimulated mononuclear cells. *Int Arch Allergy Immunol* 125(1):7–11.
- Nakagome K, Nagata M (2011) Pathogenesis of airway inflammation in bronchial asthma. *Auris Nasus Larynx* 38:555-563.
- National Asthma Education and Prevention Program (2007) Expert panel report III: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute.
- Neves JS, Radke AL, Weller PF (2010) Cysteinyl leukotrienes acting via granule membrane-expressed receptors elicit secretion from within cell-free human eosinophil granules. *J Allergy Clin Immunol* 125:477-482.
- Norrby K (2002) Mast cells and angiogenesis. *APMIS* 110(5):355-371.
- O’Byrne PM (1997) Leukotrienes in the Pathogenesis of Asthma. *Chest* 111(2):27S-34S.
- Ostroukhova M, Seguin-Devaux C, Oriss TB, Dixon-McCarthy B, Yang L, Ameredes BT (2004). Tolerance induced by inhaled antigen involves CD4(1) T cells expressing membrane-bound TGF-beta and FOXP3. *J Clin Invest* 114:28-38.
- Pejler G, Rönnberg E, Waern I, Wernersson S (2010) Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease. *Blood* 115(24):4981-4990.

- Qi Y, Operario DJ, Oberholzer CM, Kobie JJ, Looney RJ, Georas SN (2010) Human basophils express amphiregulin in response to T cell-derived IL-3. *J Allergy Clin Immunol* 126:1260-1266.
- Rank MA, Kobayashi T, Kozaki H, Bartemes KR, Squillace DL, Kita H (2009) IL-33-activated dendritic cells induce an atypical TH2-type response. *J. Allergy Clin Immunol* 123:1047–1054.
- Rosenwasser LJ (2011) Mechanisms of IgE Inflammation. *Curr Allergy Asthma Rep* 11:178-183.
- Sabatini F, Silvestri M, Sale R, Scarso L, Defilippi AC, Risso FM (2002) Fibroblast–eosinophil interaction: modulation of adhesion molecules expression and chemokine release by human fetal lung fibroblasts in response to IL-4 and TNF-alpha. *Immunol Lett* 84:173–178.
- Saenz SA, Taylor BC, Artis D (2008) Welcome to the neighborhood: epithelial cell-derived cytokines license innate and adaptive immune responses at mucosal sites. *Immunol Rev* 226:172-190.
- Saito K, Nagata M, Kikuchi I, Sakamoto Y (2004) Leukotriene D4 and eosinophil transendothelial migration, superoxide generation, and degranulation via beta2 integrin. *Ann Allergy Asthma Immunol* 93:594–600.
- Shimbara A, Christodoulopoulos P, Soussi-Gounni A, Olivenstein R, Nakamura Y, Levitt RC (2000) IL-9 and its receptor in allergic and nonallergic lung disease: increased expression in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 105:108-115.
- Smith DL, Deshazo RD (1993) Bronchoalveolar lavage in asthma. An update and perspective. *Am Rev Respir Dis* 148:523.

- Steenwinckel V, Louahed J, Orabona C, Huaux F, Warnier G, McKenzie A (2007) IL-13 mediates in vivo IL-9 activities on lung epithelial cells but not on hematopoietic cells. *J Immunol* 178:3244-3251.
- Tam EK, Caughey GH (1990) Degradation of airway neuropeptides by human lung tryptase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 3:27-32.
- Taube C, Miyahara N, Ott V (2006) The Leukotriene B4 Receptor (BLT1) Is Required for Effector CD8⁺ T Cell-Mediated, Mast Cell-Dependent Airway Hyperresponsiveness¹. *The Journal of Immunology* 176(5):3157-3164.
- Thurmond L, Gelfand EW and Dunford PJ (2008) The role of histamine H₁ and H₄ receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nature Reviews Drug Discovery* 7:41-53.
- Urry Z, Xystrakis E, Richards DF, McDonald J, Sattar Z, Cousins DJ (2009) Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ abrogates regulatory function. *J Clin Invest* 119:387-398.
- Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J (2008) Transforming growth factor-beta “reprograms” the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol* 9:1341-1346.
- Vijayanand P, Seumois G, Pickard C, Powell RM, Angco G, Sammut D (2007) Invariant natural killer T cells in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 356:1410-1422.
- Walls AF, He S, Teran LM (1995) Granulocyte recruitment by human mast cell tryptase. *Int Arch Allergy Immunol* 107:372-373.
- Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S (2007) IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *J Exp Med* 204:1837-1847.

- Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, Hippe A, Corrigan CJ, Dong C, Homey B (2007) IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *J Exp Med* 204:1837–1847.
- William W, Busse MD (2010) The Relationship of Airway Hyperresponsiveness and Airway Inflammation. *Chest* 138(2):4S-10S.
- Wills-Karp M (2004) Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol Rev* 202:175-190.
- Wong CK, Cheung PFY, Ip WK, Lam CWK (2007) Intracellular Signaling Mechanisms Regulating Toll-Like Receptor–Mediated Activation of Eosinophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 37:185-196.
- Xanthou G, Alissafi T, Semitekolou M, Simoes DC, Economidou E, Gaga M (2007) Osteopontin has a crucial role in allergic airway disease through regulation of dendritic cell subsets. *Nat Med* 13:570-8.
- Xu X, Zhang D, Zhang H (2006) Neutrophil histamine contributes to inflammation in mycoplasma pneumonia. *J Exp Med* 203(13):2907-2917.
- Zavadniak AF, Rosário NA (2005) Regulação da síntese de IgE. *Rev bras alerg Immunopatol.* 28(2):65-72.