

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Mestrado Integrado em Medicina

Ano letivo 2012/2013

Cenários Microbiológicos da Asma

André Filipe Leite Raposo Amaral

Correio eletrónico: andreframaral@gmail.com

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Pólo III, Ciências da Saúde - Azinhaga de
Santa Comba, Celas-3000-518 Coimbra – Portugal

Índice

Resumo	4
Palavras-chave	5
Abstract	6
Keywords	7
Lista de abreviaturas	8
1. Introdução	9
2. Métodos	10
3. Asma	11
3.1) Epidemiologia	11
3.2) Impacto económico e social	12
3.3) História Natural da Asma	13
3.4) Clínica: Heterogeneidade de sintomas	16
4. Infecção e a asma	17
4.1) Microbioma	18
4.2) Imunidade inata do aparelho respiratório	21
5. Ligação entre micróbios e asma: patogénica, celular e molecular	26
5.1) Bactérias	26
5.2) Vírus	29
5.3) Fungos	30
5.4) Parasitas	32

7. Conclusão.....	35
8. Agradecimentos	38
9. Referências Bibliográficas	39

Resumo

Introdução

A asma representa uma das doenças mais prevalente a nível global e o seu padrão de incidência tem aumentado exponencialmente, sobretudo em crianças. Esta realidade repercute-se numa elevada taxa de morbilidade e impacto socioeconómico constituindo um sério problema de saúde pública.

Atendendo a esta problemática atual, surge uma emergente necessidade de compreender os mecanismos patofisiológicos e etiológicos desta doença com o intuito de criar estratégias de abordagem e terapêuticas mais eficazes de modo a controlar e reverter o atual padrão de incidência desta patologia.

O papel da infeção na génese da asma tem sido alvo de muita discussão e controvérsia. Nesta vertente, esta revisão tentou apurar quais os consensos, de modo a clarificar e perceber que microrganismos e mecanismos que caracterizam o binómio infeção e asma.

Objetivos

Neste trabalho, pretende-se reunir os mais recentes conhecimentos no âmbito dos cenários microbiológicos da asma, através de uma pesquisa detalhada da Literatura consagrada e indexada, com recurso a bases de dados e artigos de referência.

Desenvolvimento

A asma constitui uma doença de natureza multifatorial, de expressão clínica heterogénea cujos mecanismos envolvidos na sua génese não se encontram totalmente explicados.

Vários estudos têm sido feitos nos últimos anos com o intuito de perceber a interação entre os microrganismos e o sistema imunitário humano. Atualmente reconhece-se que a flora microbiota das vias aéreas é muito mais extensa do que outrora se conhecia e que esta varia consoante o estado de saúde e doença. A infeção por certos microrganismos tem a capacidade de modular a reação da

imunidade inata de modo a promover inflamação alérgica das vias aéreas que a longo prazo ocasiona alterações estruturais e inflamatórias compatíveis com asma.

Reconhece-se o papel da infecção na exacerbação das crises asmáticas contudo ainda não se apura consenso quanto ao seu relevo na gênese da asma. Dentro das discrepâncias existe um uníssono referente às infecções por rinovírus e vírus respiratório sincicial no início da vida como sendo um forte preditor de asma sobretudo quando existe contexto de atopia.

Conclusões

A evidência atual ainda não é capaz de provar uma relação de casualidade entre a infecção e a gênese da asma. Vários mecanismos hipotéticos são sugeridos no entanto ainda é necessário desenvolver estudos que melhor caracterizam a ligação da infecção à asma. Contudo os estudos já feitos abrem caminho para repensar novas abordagens sobre este tema.

Palavras-chave

Asma; Microbioma; Imunidade Inata; Alergia; Inflamação; Hospedeiro; Infância; Microrganismos; Bactérias; Vírus; Fungos; Parasitas.

Abstract

Introduction

Asthma is one of the most prevalent diseases globally and its pattern of incidence has increased exponentially, especially in children. This reality reflects a high rate of morbidity and socioeconomic impact which constitutes a serious public health problem.

Given this current issue, there is an emerging need to understand the pathophysiological mechanisms and etiology of this disease in order to create strategies of approach and more effective therapeutic measures to control and reverse the current pattern of incidence of this pathology.

The role of infection in the genesis of asthma has been the subject of much discussion and controversy and this review tried to determine which consensus exists to clarify and realize the microorganisms and mechanisms that characterize the infection and asthma binomial.

Objective

This work is intended to bring together the latest knowledge about the microbiological scenarios of asthma, through a detailed survey of the devoted and indexed literature using databases and reference articles.

Development

Asthma is a multifactorial disease with heterogeneous clinical expression, which mechanisms involved in its genesis are not fully explained.

In last decade, several studies have been made in order to understand the interaction between microorganisms and the human immune system. Currently it is recognized that the microbial flora of the airways is much more extensive than was known previously and it is variable depending on the health and disease state. Infection by certain microorganisms has the ability to modulate innate immunity response and promote allergic inflammation of the airways that leads, in long term, to inflammatory and structural changes consistent with asthma.

The role of infection in the asthma exacerbation is recognized, but consensus isn't yet acquired concerning its importance in the asthma genesis. Among the discrepancies there is an accordance related to infections by rhinovirus and respiratory syncytial virus in early life as a strong predictor of asthma especially when there is an atopy context.

Conclusion

Current evidence is not yet able to prove a relationship of causality between infection and asthma genesis. Several hypothetical mechanisms are suggested however it is still necessary to develop studies to better characterize the binding of infection to asthma. However the studies already made pioneered new approaches to rethink on this topic.

Keywords

Asthma; Microbiome; Innate Immunity, Allergy, Inflammation, Host; Childhood; Microorganisms, Bacteria, Viruses, Fungi, Parasites.

Lista de abreviaturas

Th = T helper

PCR = Polymerase Chain Reaction

ARN = Ácido ribonucleico ribossômico

ADN= Ácido desorribonucleico

Ig = Imunoglobulina

VRS = Vírus Respiratório Sincicial

VR = Rinovírus

NK = Natural Killer

CD(s) = Células dentríticas

MHC = Complexo Major de Histocompatibilidade

IFN- γ = Interferão Gamma

IL = Interleucina

TLRs = Toll-like receptors

PAMPs = Padrões moleculares associados a patógenos

TSLP = Linfoproteína do estroma tímico

DPOC = Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

AMCase = Quitinase acídica de mamíferos

YKL-40 = Proteína quitinase-*like*

STAT6 = Molécula transdutora de sinal e ativadora da transcrição 6

IL-4R α = Cadeia alfa dos recetores da IL-4

CAA = Células apresentadoras de antígenos

1. Introdução

A Organização Mundial de Saúde estima que 250 000 pessoas morrem de asma por ano no mundo e que cerca de 300 milhões de pessoas são afetadas por essa patologia, sendo as crianças as mais afetadas.^[1,2] A elevada prevalência desta doença reflete-se em elevados custos económicos para as sociedades.^[1] Estes fatos justificam a incessante investigação, sobretudo nas últimas décadas, para melhor compreensão desta patologia, dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos, bem como da sua etiologia, de forma a desenvolver terapêuticas eficazes.

A asma define-se como a inflamação crónica das vias aéreas, conduzindo a uma hiperreatividade brônquica que se manifesta clinicamente por pieira, tosse, dispneia e sensação de aperto torácico.^[1,3] São responsáveis, por esta inflamação, um vasto número de células (mastócitos, neutrófilos, eosinófilos e macrófagos) e mediadores (citoquinas, quimoquinas, histamina, leucotrienos, tromboxanos, etc) que interagem com vários fatores associados ao contexto ambiental, genético e socio-económico do doente e, desta forma, contribuem para a génese da asma.

A procura, sobretudo nas últimas duas décadas, de uma etiologia infecciosa para a asma tem sido dificultada pela natureza heterogénea da doença, complexidade dos genes responsáveis, amplitude dos fatores ambientais envolvidos e pelo papel que a infeção tem na promoção ou inibição da asma.

Os principais objetivos deste artigo de revisão visam integrar os mais recentes conhecimentos acerca do papel da infeção na génese, manutenção e exacerbação da asma, dando relevo aos microrganismos que possam ter um papel promotor ou protetor nesta patologia, investigar de que forma a infeção promove a predisposição a respostas imunes associadas ao desenvolvimento da asma e por último saber que fatores modificam esta mesma relação como por exemplo, o tipo de micróbio, “*timing*”, duração da infeção e características do hospedeiro. Para tal, efetuou-se uma pesquisa pormenorizada da Literatura reconhecida com apoio em bases de dados e artigos de referência já publicados.

2. Métodos

Para a revisão do tema “Cenários Microbiológicos da Asma”, procedeu-se à consulta de alguns livros da área científica de Pneumologia e à pesquisa de artigos, através da PubMed, usando as palavras-chave: “*Asthma*”, “*Infection and asthma*”, “*Immunity and asthma*”, “*Microbiome and asthma*”, “*Asthma epidemiology*” e “*microbes and asthma*” na área referente ao título. A pesquisa respeitou os seguintes limites: tipo de artigo (revisão, editorial, meta-análises, guidelines, artigos de jornal e ensaios clínicos), ano de publicação (últimos 5 anos), idioma (inglês, português) e espécie (humana e animais). Os artigos foram selecionados manualmente de acordo com a pertinência do título, resumo, ano de publicação e idioma. Depois de um estudo integral da bibliografia encontrada, foi incluída, nesta revisão, informação colhida de um total de 38 artigos.

3. Asma

3.1) Epidemiologia

A asma representa nos dias de hoje uma das principais causas de incapacidade, utilização de recursos de saúde e de baixa qualidade de vida a nível mundial, ^[4] afetando aproximadamente 300 milhões de pessoas e cerca de 250.000 pessoas morrem, anualmente, devido à patologia asmática. ^[1,2]

No entanto, torna-se complicado quantificar ao certo quantas pessoas sofrem realmente desta patologia pois não existe uma definição precisa e critérios universalmente aceites sobre a asma pediátrica e geriátrica o que torna a comparação de dados entre diferentes países pouco fidedigna. Mesmo assim, com base em métodos estandardizados de quantificação da asma e pieira em crianças e adultos, aferiu-se que a prevalência global da asma varia entre 1% e 18% da população em diferentes países. Verificou-se também que a distribuição da prevalência da asma a nível internacional tem demonstrado tendência para homogeneização atenuando as discrepâncias outrora existentes entre diferentes áreas geográficas. ^[1]

Um estudo da *World Health Survey* foi desenvolvido e implementado pela Organização Mundial de Saúde entre 2002 e 2003 em que participaram 178.215 indivíduos de 70 países entre os 18 e 45 anos de idade. Este estudo avaliou a prevalência de asma com base em respostas a questões relacionadas com o diagnóstico médico de asma, sintomas de asma e pieira nos últimos 12 meses. Com base neste estudo concluiu-se que 4,5% da população mundial apresenta o diagnóstico de asma (em que um quinto deste total nunca recebeu tratamento médico) e que 8,6% manifesta sintomas relacionados com esta patologia. Foi também evidenciado que se trata da doença crónica mais comum nas crianças e adultos jovens atingindo cerca de 1 em cada 4 indivíduos com menos de 40 anos e que em 2025 a asma irá afetar cerca de 400 milhões de pessoas. Importa ainda referir que Portugal está entre os países em que se desenvolveu este trabalho e os resultados demonstraram que cerca de 7,5% a 10% da população apresenta o diagnóstico de asma e que 20% a 25% exhibe sintomas de asma. ^[4]

No que diz respeito à prevalência da asma em idades pediátricas, tem-se verificado um aumento desde o ano de 2000, este fato foi concluído pelo aumento do número de crianças procurando assistência médica para tratamento da asma em ambulatório, serviço de urgências e hospitalizações. A maior utilização dos serviços de saúde deve-se provavelmente à acentuação da severidade da asma e à dificuldade no controlo e prevenção das exacerbações da doença. Como tal, a asma continua a ser uma das principais causas de doença em termos de morbilidade funcional, sofrimento e de hospitalizações em indivíduos com menos de 15 anos. ^[5]

A obstrução brônquica é mais prevalente em crianças do sexo masculino até ao primeiro ano de idade mas, na adolescência, a asma é predominante no sexo feminino. É de referir também que se tem vindo a tornar mais prevalente entre as minorias da sociedade bem como em grupos de classe pobre, como é exemplo a África e América latina cujas crianças vivem em condições precárias e com baixos rendimentos refletindo-se numa morbilidade e mortalidade mais elevada. ^[3]

3.2) Impacto económico e social

O impacto social e económico da asma representa um fator determinante na importância do estudo desta patologia não só do ponto de vista etiológico mas também do diagnóstico e tratamento.

A economia mundial é afetada pela asma de forma direta (por exemplo: admissões hospitalares e medicação) e de forma indireta (ausências ao trabalho, morte prematura, entre outras) de tal modo que se têm feitos vários estudos económicos. ^[1]

Em 2012, as *Guidelines da Global Initiative for Asthma* ^[1] chegaram às seguintes conclusões:

- Os custos da asma dependem do controlo que os doentes têm sobre a sua patologia e da sua capacidade de evitar exacerbações da doença;
- O tratamento das crises agudas é mais dispendioso que o tratamento de fundo;
- O tratamento da asma condiciona sobrecarga financeira significativa sobre as famílias dos doentes.

Numa primeira avaliação desta temática pode-se concluir que os custos relacionados com o tratamento e controlo da asma são elevados, mas um estudo mais aprofundado revela que os custos relacionados com o tratamento da asma de forma não eficaz são ainda maiores, pelo que este fato representa um desafio enorme para os profissionais de saúde, instituições de saúde e governos para criar protocolos e guidelines adequadas para o tratamento da asma. ^[1]

3.3) História Natural da Asma

O estudo da história natural da asma é crucial para o conhecimento e previsão correta da evolução clínica dos diferentes fenótipos de asma. Até aos dias de hoje, os benefícios destes estudos revelaram-se frutíferos na redução da frequência dos sintomas da asma contudo, nem a diminuição da exposição ambiental, nem a terapêutica de manutenção pode deter a progressão da asma em crianças. ^[3]

Brar T et al. sugerem que a asma alérgica deve-se a uma predisposição genética das crianças e a alterações na imunidade protagonizadas pelos linfócitos Th2 e eosinófilos, enquanto que a asma em indivíduos adultos poderá estar sobre controlo epigenético e as suas exacerbações são desencadeadas por infeções virais e bacterianas ao invés de alérgenos, verificando-se uma dominância dos neutrófilos. Sugerem ainda que, nos indivíduos idosos a asma está relacionada com um processo de imunossenescência que promove uma maior inflamação das vias aéreas uma vez que, com o passar dos anos, observam-se uma degradação das células epiteliais pulmonares, aumento do número de neutrófilos, redução da função dos eosinófilos e declínio do número de macrófagos e dos linfócitos *natural killers* (NK) citotóxicos. ^[6]

A pieira e a asma não são sinónimas, contudo a pieira representa um dos sintomas mais valorizados no diagnóstico de asma e esta combinação compreende um grupo de condições heterogêneas que expressam variados resultados ao longo da progressão da infância. A maioria das crianças que sofrem de episódios de pieira apresenta um quadro transitório de função respiratória

deficitária ao nascimento mas não constituem, obrigatoriamente, um grupo de risco para desenvolverem asma ao longo da sua vida.^[3] Porém, outros indivíduos com pieira permanecerão sintomáticos até à adolescência (não atópicos) e outros ainda, continuarão sintomáticos após a adolescência (atópicos). No entanto, esta classificação não é restrita pois indivíduos com evidências de remissão da doença poderão ter recaídas mais tarde ao longo da vida.^[7]

A infeção respiratória de etiologia viral provoca pieira em 50% das crianças nos primeiros 3 anos de vida.^[3,7]

Um estudo de *Tucson Children's Respiratory* cujo objetivo era compreender melhor a história natural da asma, pelo que acompanhou várias crianças desde o seu nascimento até aos seis anos de idade, concluiu que as crianças com pieira persistente não apresentavam diferenças na função pulmonar até ao primeiro ano de idade, em comparação com crianças sem pieira. Mas ao executarem a mesma comparação com o mesmo público por volta dos seis anos de idade, os indivíduos que mantiveram a pieira ao longo dos seis anos de vida expressavam diminuição significativa do fluxo expiratório forçado, valores esses que persistiram numa futura avaliação aos 11 e aos 16 anos revelando uma degradação acentuada da função pulmonar.^[3,7]

A degradação da função pulmonar é o resultado das alterações estruturais e inflamatórias das vias aéreas que são tanto mais marcadas quanto maior a incidência e frequência dos sintomas. Estas alterações surgem na idade pré-escolar (antes dos 6 anos de idade) e podem ser visíveis na biopsia brônquica que revela um alargamento da membrana basal reticular, atrofia epitelial e eosinofilia. Também é possível verificar na lavagem broncoalveolar um aumento do número de células totais protagonizado sobretudo pelos linfócitos, células polimorfonucleares, macrófagos e monócitos.^[7]

Uma vez que a degradação da função pulmonar está relacionada com a frequência e gravidade das exacerbações da asma aguda é necessário ter um bom conhecimento das causas das mesmas. Existem variados precipitantes capazes de causar crises asmáticas, no entanto provocam respostas heterogéneas de pessoa para pessoa. Entre os precipitantes extrínsecos ao hospedeiro é

importante referir os vírus, os alérgenos (tais como o pólen, pelos animais e ácaros), exposição ambiental (produtos de limpeza irritantes, metais, farinhas, grãos e madeiras) e estilo de vida (meio rural, dieta e uso de antibióticos). Certos fármacos também podem provocar crises asmáticas tais como o ácido acetilsalicílico, anti-inflamatórios não esteroides e os beta-bloqueantes. Acrescenta-se ainda o exercício físico, *stress* e certas hormonas (asma menstrual) como causas das exacerbações. Embora estes precipitantes expressem uma resposta interindividual divergente e, de certa forma, imprevisível, é importante mencionar que os vírus são o fator precipitante mais importante e comum quer em idades infantis bem como em adultos. Entre os microorganismos capazes de provocar esse tipo de resposta é necessário destacar os vírus: rinovírus (VR), coronavírus, influenza, parainfluenza e o vírus respiratório sincicial (VRS); bem como bactérias atípicas (*chlamydia pneumoniae* e *mycoplasma pneumoniae*).^[1-3,8]

Os estudos mais recentes sobre a história natural da asma têm focado a sua atenção na relação entre a infecção viral do trato respiratório no início da vida com o aparecimento das formas mais persistentes de asma.^[9-11] Martinez FD sugere que, à luz das novas evidências, existe uma complexa interação entre a infecção viral e a sensibilização alérgica em indivíduos com suscetibilidade genética para promover uma resposta imune e alterações morfológicas nas vias aéreas características da asma persistente, sobretudo se a infecção viral ocorrer numa “janela de oportunidade” durante o desenvolvimento imune das vias aéreas. Por outro lado, a hipótese de que a exposição a bactérias em crianças que cresceram em ambiente rural está associada a uma diminuição da prevalência da asma durante a idade escolar foi replicada em estudos experimentais. Esta relação já foi abordada em vários estudos e trabalhos, sendo intitulada como a hipótese higiênica.^[11,12] Esta hipótese sugere que a criança que cresce num ambiente livre de germes poderá apresentar distúrbios na maturação do sistema imune.^[6]

Em suma, Martinez FD alvitra que a asma na sua fase inicial é caracterizada por episódios sintomáticos ocasionais e que há medida que a criança se desenvolve a doença apresenta um caráter crónico com sintomas mais frequentes.^[11]

3.4) Clínica: Heterogeneidade de sintomas

Os indivíduos suscetíveis à asma apresentam sintomas de pieira, tosse, dispneia e aperto torácico sobretudo à noite e/ou ao início da manhã. Estes sintomas estão diretamente relacionados com a obstrução do fluxo de ar que é reversível, com ou sem tratamento.

A asma de uma forma geral caracteriza-se por hiperreatividade brônquica a diferentes estímulos, obstrução recorrente e inflamação das vias aéreas. No entanto, pode apresentar-se sob a forma de diferentes fenótipos dependendo da idade, sexo, carga genética, fatores epigenéticos e antecedentes de exposição ambiental capazes de modificar a resposta imune do hospedeiro.^[3]

Tendo em conta a heterogenia da clínica da asma o estudo de um individuo com suspeita de asma deve ter em conta uma história clínica detalhada em que se deve dar especial atenção ao padrão de incidência dos sintomas tais como o aparecimento de uma crise de asma após exposição alérgica e variabilidade sazonal. Deve-se pesquisar também história de rinite, antecedentes familiares de asma e atopia - predisposição genética para a ocorrência de resposta mediada por IgE a alérgenos comuns (corresponde a um dos fatores de risco mais importantes para o aparecimento de asma). Pode-se concluir que devido aos diversos padrões de incidência de sintomas e ao desencadeamento de crises asmáticas por precipitantes não específicos tais como fumo do tabaco, cheiros fortes, exercício físico e exacerbações noturnas o diagnóstico de asma torna-se difícil pela sua natureza multifactorial.^[1-3] Deve-se recorrer também a exames complementares de diagnóstico tais como a radiografia do tórax, para excluir outras patologias pulmonares, e provas de função respiratória.

4. Infecção e a asma

A infecção tem provado ter um papel importante na gênese, exacerbação e tratamento da asma. [6,13] Contudo, os complexos mecanismos pelos quais os microrganismos interagem com o sistema imune ainda continuam por desvendar. [14] Não obstante desta realidade têm-se feito estudos sobre este tópico que permitam uma melhor compreensão sobre os mecanismos patológicos, genéticos, celulares e moleculares da asma. [6]

Atualmente, reconhece-se que a infecção microbiana é um fator determinante na gênese da asma a diferentes níveis. Os mais recentes estudos sugerem que a infecção, sobretudo a infecção viral no, início da vida, têm um contributo importante no desenvolvimento da asma e por outro lado, certas infecções bacterianas desempenham um papel preventivo estimulando o sistema imune. [15]

Acredita-se que a capacidade de uma infecção promover a asma está relacionada com a forma como o sistema imune do hospedeiro reage ao reconhecimento antigénico, desenvolvendo-se vias de reconhecimento específicas que quando ativados desencadeiam processos de hiperreatividade e inflamação localizada às vias aéreas. Reconhece-se também que as infecções não atuam apenas no sistema imune do hospedeiro mas também no desenvolvimento dos órgãos, sobretudo no desenvolvimento pulmonar o que resulta em sequelas na função pulmonar bem como numa sintomatologia mais marcada. [15]

Contudo, existe algumas limitações na compreensão e descoberta dos mecanismos de interação entre a infecção e a asma pois as diferentes classes de microrganismos desenvolvem reações discrepantes de hospedeiro para hospedeiro e, muitas vezes, promovem fenómenos de hipersensibilidade cruzada para com outros antigénios. Acrescenta-se ainda que existe dificuldade em precisar cronologicamente o momento em que as infecções ocorrem no hospedeiro e qual o momento, no desenvolvimento do hospedeiro, que uma infecção causa mais impacto no sistema imune. Por último, é importante saber distinguir quais os microrganismos capazes de promover a patologia asmática e quais são apenas responsáveis pelas exacerbações da doença. [15]

Os estudos mais recentes têm utilizado técnicas de biologia molecular, nomeadamente a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) para deteção e diagnóstico de infeções num hospedeiro, permitindo um estudo mais rigoroso da hipótese causal de que uma infeção é responsável pela génese da asma. No entanto, os resultados obtidos são equívocos pois é difícil distinguir se a infeção desempenha um papel na patofisiologia asmática ou se as crianças que contraem infeções são geneticamente predispostas à asma.^[14]

4.1) Microbioma

O microbioma humano corresponde à flora microbiótica presente no organismo humano, existentes nos vários sistemas e nichos do corpo humano. A dimensão, variedade e mecanismos de interação com organismo humano ainda não é totalmente conhecido.

Joshua Lederberg, um biólogo molecular galardoado com o premio Nobel da Medicina, afirmou que os microrganismos que habitam no nosso corpo deviam ser considerados como parte integrante do genoma humano devido ao seu importante papel de influência na fisiologia humana.

É do conhecimento geral que a relação entre o microbioma e o organismo humano é simbiótica e benéfica pois estimula e desenvolve o sistema imunitário e as mucosas reforçando a resistência contra a colonização e infeção por microrganismos patogénicos.^[6]

Contudo, estudos recentes sobre o microbioma humano têm alterado e completado os conhecimentos limitados nessa área. Na verdade, reconhece-se agora que a interação entre os microrganismos e o hospedeiro humano regem-se por um equilíbrio delicado que poderá alterar o sistema imune de forma a promover processos inflamatórios que, por sua vez, estão na base da patogénese de certas doenças crónicas, nomeadamente a asma. Acrescentou-se ainda que novas evidências admitem que a composição microbiota das vias aéreas difere consoante o estado de saúde do hospedeiro bem como consoante a gravidade dos sintomas de certas patologias respiratórias pelo

que a microbiota, enquanto entidade coletiva, poderá estar na origem de doenças respiratórias crônicas.^[16]

As recentes descobertas na área da ecologia microbiana humana devem-se aos novos métodos de biologia molecular, nomeadamente técnicas genéticas não dependentes de culturas que permitem identificar com mais precisão a comunidade microbiana incluindo espécies que não se desenvolvem em culturas. Estas técnicas causaram grande impacto no conhecimento da diversidade microbiana presente em diferentes sistemas do corpo humano. A abordagem mais utilizada neste âmbito consiste na identificação do gene 16S rARN que é ubiquitário a todas as bactérias. Este gene é constituído por uma determinada sequência de aminoácidos que foi identificada o que permitiu a criação de *primers* que possibilitam a ampliação deste mesmo gene a partir de todas as espécies de bactérias conhecidas pelo Homem. Este gene apresenta polimorfismos que são específicos de cada espécie bacteriana e desta forma é possível não só identificar a presença de bactérias como também distingui-las e classificá-las consoante a sua ordem taxonómica.^[16-18]

Contudo, apesar dos avanços tecnológicos ainda não existe uma boa caracterização dos microrganismos não bacterianos como são exemplo os fungos e ainda se desconhece as interações entre a microbiota das diferentes áreas do corpo e que impacto funcional repercute-se sobre o microbioma no geral bem como que manifestações se desencadeiam no hospedeiro e de que forma esta dinâmica poderá culminar em doença.

Huang YJ et al. recolheu amostras de epitélio brônquico de 65 indivíduos com o quadro de asma controlada a um nível sub-ótimo e 10 indivíduos saudáveis que participavam num estudo multicêntrico sobre os efeitos dos macrólidos na asma desenvolvido pela *Asthma Clinical Research Network* denominado de *Macrolides in Asthma* (MIA). Os participantes foram submetidos a uma “escovagem” do epitélio brônquico e as amostras obtidas foram analisadas através de técnicas de PCR para identificação do gene 16S rARN. Após uma avaliação e interpretação dos resultados Huang YJ et al. concluiu que os indivíduos asmáticos apresentavam uma maior diversidade

microbiota das vias aéreas em relação aos indivíduos saudáveis e que esta discrepância poderá estar na origem de uma maior hiperreatividade brônquica pois a quanto maior a diversidade microbiota menor eram as concentrações obtidas no teste de PC20 de metacolina. Além disso os indivíduos asmáticos com maior variedade na flora microbiana brônquica exibiam igualmente maiores concentrações de eosinófilos e neutrófilos nas secreções brônquicas e uma história prévia de exacerbações e utilização mais marcada de corticosteroides para controlo da asma. Dentro do amplo espectro de bactérias presentes no epitélio brônquico dos asmáticos, a hiperreatividade brônquica foi associada à presença de proteobactérias que estavam representadas por 31 famílias como são exemplo a *Comamonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Nitrosomonadaceae*, *Oxalobacteraceae* e *Pseudomonadaceae*. Estes dados sugerem que o microbioma das vias aéreas poderá estar relacionado com a patofisiologia da asma e a sua heterogeneidade de sintomas. ^[19,20]

Outro estudo que consolida a hipótese de que a infecção favorece o aparecimento da asma foi feito com 95 indivíduos com o quadro de asma persistente e 58 indivíduos saudáveis. Foi feita uma recolha de expectoração dos intervenientes e de seguida foram utilizados métodos de sequenciação de ADN por PCR bem como doseamentos de imunoglobulinas. Ao analisar os resultados concluiu-se que os indivíduos asmáticos, sobretudo os que tinha asma mal controlada e os asmáticos não atópicos, apresentavam uma maior prevalência de bactérias atípicas como a *Chlamydomphila pneumoniae*. Este estudo demonstra-nos que as bactérias atípicas poderão estar relacionadas com o desenvolvimento de asma e não apenas nas exacerbações das crises asmáticas. ^[16,17]

Um estudo feito com 321 recém-nascidos dos quais obteve-se amostras de secreções da hipofaringe, no primeiro mês de vida, e de seguida foram submetidas a culturas. Os resultados demonstraram que 21% dos recém-nascidos apresentavam colonização por *Streptococcus Pneumoniae*, *Haemophilus Influenzae* e *Moraxella Catarrhalis*. A colonização por um ou mais de um destes microrganismos foi associada com uma clínica de pieira persistente durante os primeiros 5 anos de vida bem como uma maior prevalência de asma aos 5 anos de idade. Verificou-se também

que estes indivíduos apresentavam contagens mais elevadas de eosinófilos e de IgE aos 4 anos de idade. Embora este estudo não confirme a casualidade de que a infecção desenvolve asma indica-nos que a colonização ou infecção por múltiplas espécies bacterianas poderão um fator de risco importante para o aparecimento de asma ou mesmo contribuir para a sua patogénese.^[16]

Nos dias de hoje, sabe-se que as infeções virais são uma causa estabelecida de pieira aguda, bronquiolite e de crises asmáticas, porém, começa-se agora a associar que para além destes quadros agudos poderão também estar na origem da asma enquanto doença crónica. Um estudo denominado *de Childhood Origins of Asthma*, foram seguidas 259 crianças até aos 6 anos de idade e constatou-se que a infeção respiratória aguda de etiologia viral, nomeadamente pelo Vírus Respiratório Sincicial e pelo Rinovírus, entre o nascimento e os 3 anos de idade estava associada com maior risco de asma aos 6 anos de idade. Com este resultado inferiu-se que o efeito a longo prazo de uma infeção viral por VRS ou VR até aos 3 anos de idade poderá estar associado com o desenvolvimento ou persistência de asma no início da vida adulta.^[16]

4.2) Imunidade inata do aparelho respiratório

O trato respiratório encontra-se constantemente exposto a microrganismos e a agentes agressores tornando-se vulnerável à infeção. Os pulmões encontram-se em contacto com o exterior através das vias aéreas superiores que por sua vez não são estéreis podendo ser fonte de contaminação por saprófitas e patógenos.^[21]

A grande exposição do pulmão a agressores externos é facilitada pela sua vasta superfície alveolar que atinge cerca de 70 a 80 m² e o volume de ar que passa pelos pulmões em 24 horas é de 10 a 15 m³.^[21] Estas características anátomo-fisiológicas devem-se ao fato de o pulmão ser responsável pelas trocas de gases indispensáveis à nossa sobrevivência e para tal é constituído por células alveolares tipo-I que ocupam cerca de 90% da superfície alveolar e que são especializadas nas trocas gasosas e não possuem capacidade de defesa contra agentes agressores. Os alvéolos

encontram-se em íntima relação com a circulação sanguínea estando a alguns *microns* de distância, tornando-o numa porta de entrada a infecções no nosso organismo.^[22]

Apesar da exposição do aparelho respiratório ao exterior será insensato concluir que se trata de um órgão vulnerável pois na realidade apresenta mecanismos de defesa eficazes e diligentes divididos em dois grandes grupos: mecânico e imunológico.^[21]

Os mecanismos de defesa mecânica têm início na parte mais externa do aparelho respiratório, nomeadamente as narinas que originam um fluxo de ar turbulento dificultando a adesão de microrganismos, este mecanismo é auxiliado pelo movimento ciliar. Ao nível da hipofaringe encontra-se a glote que funciona como uma válvula que impede a passagem de agentes infecciosos e de seguida a árvore brônquica desenrola-se numa espécie de “labirinto” que se vai segmentando à medida que se emaranha no interior do parênquima pulmonar criando uma espécie de filtro. Outra barreira mecânica do aparelho respiratório é a atividade mucociliar que complementa os restantes mecanismos. Todos estes mecanismos são auxiliados pelo reflexo da tosse e espirro.^[21]

A defesa imunológica tem duas vertentes, como em qualquer aparelho ou sistema do organismo, a imunidade inata e a imunidade adquirida, A primeira confere uma resposta imediata a qualquer agressão enquanto que a segunda complementa com uma resposta tardia mas mais consistente e direcionada.^[21]

A imunidade inata consiste na primeira linha de defesa a agentes que consigam penetrar no nosso organismo, pelo que reprimem de uma forma rápida e sempre da mesma maneira às sucessivas infeções. Este mecanismo de defesa consegue distinguir o *self* do *non self* e atua através de diferentes componentes, nomeadamente as células fagocíticas – macrófagos e neutrófilos, as células NK e as células dendríticas.^[21]

As células dendríticas (CDs) são especializadas na captura e processamento de antígenos, convertendo-os em peptídeos que depois são apresentados ao complexo principal histocompatibilidade (MHC) onde por sua vez vão ativar as células T. As CDs também têm a

capacidade de migrar para as áreas onde existem maior densidade de células T ou seja, os órgãos linfoides onde esses dois tipos celulares interagem de modo a selecionar o clone de células T adequado para eliminação de um determinado antigénio. Outra capacidade importante das CDs e de importante realce na asma é a sua capacidade tolerogénica que evita reações inflamatórias ao eliminar ou suprimir a atividade das células T. [23]

As células T helper 1 (Th1) após interagirem com as CDs produzem potentes citocinas com é exemplo o interferão- γ (IFN- γ) que por sua vez vai ativar macrófagos de modo a resistir contra infeções por micróbios intracelulares obrigatórios e facultativos. As células T helper 2 (Th2) também produzem, sobre o controlo das CDs, interleucinas (IL) 4, 5 e 13 para mobilizar as células brancas contra infeções helmínticas. As células Th17 produzem IL-17 que irá promover a mobilização de fagócitos para eliminar bacilos extracelulares. [23-26]

Como foi referido anteriormente, as CDs têm capacidade de suprimir uma resposta inflamatória, esta capacidade é assegurada pela produção de IL-10 ou então diferenciando-se em células FOXP3⁺. [23]

Por último, é importante referir que estas células têm a capacidade de conferir memória aos clones de células T de forma persistente e prolongada, verificando-se assim um elo de ligação entre a imunidade inata e a imunidade adquirida. [23]

Outro dos componentes importantes da imunidade inata são os recetores *Toll-like* (TLRs), estes recetores de proteínas encontram-se na superfície celular de uma variedade de células e têm a capacidade de se ligar a moléculas altamente preservadas e presentes em muitos patógenos denominadas de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Os PAMPs encontram-se na superfície das membranas celulares dos microrganismos e são constituídos por lípidos e hidratos de carbono, uma vez ligados aos TLRs há ativação de vias de transdução de sinal que ativam várias células e respostas pró-inflamatórias de defesa. [21,26,27]

As diferentes classes de microorganismos exibem diferentes PAMPs e como tal também existem diferentes TLRs destinados a diferentes micróbios.^[21,22] Por exemplo, o TLR4 reconhece lipossacarídeos que são um constituinte das membranas celulares das bactérias gram-negativas. O TLR2 reconhece peptoglicanos existentes nas células gram-positivas. Os TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 destinam-se à identificação de ácidos nucleicos existentes no ANR viral e ADN bacteriano.^[22]

A imunidade inata, devido à ação dos seus mecanismos de defesa, gera inflamação das vias aéreas, constrição da musculatura lisa e remodelação das vias aéreas. Estas alterações, a nível do aparelho respiratório, vão promover o aparecimento da asma pelo que tem suscitado o interesse de muitos estudos para tentar perceber os complexos mecanismos de interação entre os micróbios e a imunidade inata de forma a desvendar as atuais limitações na caracterização do binómio infeção e asma.

Atualmente sabe-se que as PAMPs associadas aos micróbios e alergénios, como são exemplo os peptoglicanos, quitina e ligandos ricos em manose de ácaros e fungos, ativam diretamente o metabolismo do ácido araquidónico e citocinas inflamatórias pelas células efetoras como as CDs, mastócitos e macrófagos. A quitina induz a inflamação eosinofílica. Os alergénios estimulam a produção de IL-33, IL-25 e linfoproteína do estroma tímico (TSLP). A IL-33 tem uma ação muito abrangente que promove a ação dos mastócitos, eosinófilos e basófilos que por sua vez estimulam as Th2 a produzir citocinas. A IL-33 induz metaplasia das células caliciformes e hiperreatividade brônquica. A IL-25 estimula as células não B e não T (NBNT) na produção de IL-4, IL-5 e IL-13, bem como as células NK a produzirem IL-13 que irá condicionar hiperreatividade brônquica bem como remodelação das vias aéreas. As infeções virais induzem as células epiteliais a produzir TSLP que vão ativar mastócitos com o intuito de desencadear a produção de citocinas pelas células Th2. O ADN viral também ativa as células NK que são potentes produtores de IL-13.^[28-30]

Em conclusão, é sabido hoje que uma resposta imune em fase aguda de uma infeção respiratória promove uma resposta inflamatória crónica, acarretada pelas células NK e macrófagos

no pulmão, em que a IL-13 tem um papel fundamental pois irá promover hiperplasia das células produtoras de muco bem como hiperreatividade brônquica. Esta conclusão fortalece a hipótese de que a infecção atua como um indutor primário de inflamação que está na origem da asma.^[31]

A figura 1 demonstra as interações entre micróbios, vírus e alergénios e a imunidade inata.

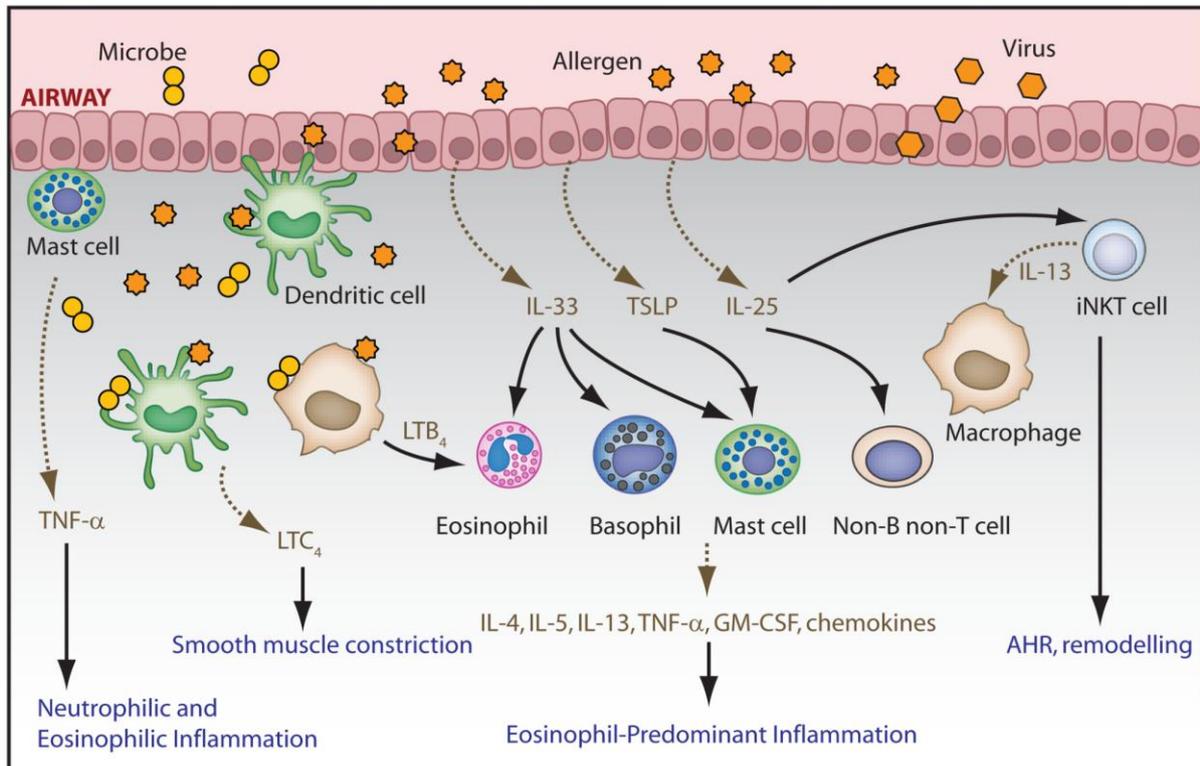


Figura 1. Interação entre micróbios, vírus e alergénios e a imunidade inata (Fonte: Barret NA, Austen KF. *Innate Immunity in Th2-type Airway Inflammation. Immunity. 2009;31(3):425-437*)

5. Ligação entre micróbios e asma: patogénica, celular e molecular

5.1) Bactérias

A hipótese higiénica assente num preceito perentório de que as crianças que crescem num meio rural têm menor probabilidade de desenvolver doenças alérgicas nomeadamente a nível pulmonar e o crescimento neste tipo de meio ambiente representa um fator protetor. Na realidade as bactérias bem como outros microrganismos interagem num equilíbrio que estimula e “guia” o sistema imunitário das crianças contudo ao longo do seu desenvolvimento poderão ocorrer inúmeras agressões externas e internas que poderão alterar este equilíbrio e promover o aparecimento de doenças nomeadamente a asma. Sobre esse pressuposto, muitos investigadores tentaram desenvolver estudos de modo a perceber se as bactérias poderão ter um papel na asma.^[12,20,32-34]

Antes de abordar as bactérias que atingem a árvore respiratória é importante referir que outro tipo de bactérias, nomeadamente a *Helicobacter pylori*, tem sido questionado sobre a sua relevância na asma. O contraste entre a diminuição da prevalência da infeção por *H. pylori* e o aumento da prevalência da asma e de atopia suscitou o interesse de investigadores de modo a perceber de que forma esta bactéria interage com o sistema imune.^[12,15]

Dois estudos de grande dimensão feitos com suporte da base de dados da *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) envolvendo duas amostras, uma com 7663 e outra 7412 doentes, chegaram à conclusão que a seropositividade para *H. pylori* apresentava uma razão inversa com o diagnóstico de asma bem como rinite alérgica, clínica de pieira, sobretudo em indivíduos jovens. Outro estudo de menores dimensões realizado em Nova Iorque (318 asmáticos) acrescentou ainda que a seropositividade para *H. pylori* estava associado com um atraso no desenvolvimento do quadro de asma. Este conjunto de estudos sugere que a infeção por esta bactéria poderá ter um efeito protetor nesta patologia respiratória.^[15]

Um dos mecanismos que está na base dessas conclusões assenta no fato de que as estirpes de *H. pylori* mais agressivas expressam uma proteína denominada de CagA que foi associada a um

papel protetor contra a gênese da asma. Outros estudos revelaram que esta bactéria interagia com o sistema imune promovendo uma indução preferencial das citocinas das Th1. No entanto este último dado não é bem aceite na medida em que vários outros estudos demonstraram que a *H. pylori* induz tanto as células Th1 como as Th2. ^[15] Na verdade, existe muita controvérsia sobre o papel deste microrganismo na asma contudo mais estudos deveriam ser feitos para explorar esta relação.

O estudo das bactérias que colonizam e/ou infetam as vias aéreas têm grande interesse no âmbito da patogénese da asma pois, à luz das novas evidências, existem razões para admitir que a colonização bacteriana nos primeiros anos de vida poderá desempenhar um papel fulcral no desenvolvimento de asma. ^[15]

Um estudo finlandês revelou que a proliferação bacteriana intrauterina, sobretudo de anaeróbios e *Streptococcus*, na altura do parto por cesariana, está associada a um risco aumentado para o desenvolvimento de asma e sensibilidade alérgica cerca de 15 a 17 anos depois, e que o uso de antibióticos no período pré-natal e neonatal não influenciou o curso desta associação. Este estudo indica-nos que a sensibilização alérgica poderá ocorrer em fases da vida ainda mais precoces do que outrora pensado. ^[15]

As recentes inovações na área da biologia molecular, nomeadamente com o surgimento das técnicas de sequenciação de ADN permitiram desbravar terreno no âmbito da flora microbiana e as suas relações com a asma. Estudos realizados com base na técnica de deteção do gene 16S- rARN foram utilizados em crianças e adultos com asma e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) bem como em indivíduos saudáveis. ^[17] Foram colhidas secreções das narinas, orofaringe e lobos pulmonares superiores destes indivíduos que na altura da colheita não apresentavam indícios clínicos de infeção. Os resultados obtidos revelaram alterações na flora dos indivíduos saudáveis em relação aos indivíduos asmáticos e com DPOC. Os dados revelaram que os doentes tinham uma maior colonização por proteobactérias nomeadamente *Haemophilus*, *Moraxella* e *Neisseria* enquanto que os indivíduos saudáveis apresentavam colonizações mais exuberantes de bacteroidetes sobretudo

Prevotella que são normais constituintes da flora comensal oral e vaginal e que portanto também poderá fazer parte da flora normal do pulmão pondo de parte a ideia de que as vias aéreas inferiores são estéreis. [15,32,35]

As bactérias atípicas, já mencionadas previamente neste trabalho, também foram associadas à sensibilização alérgica e à asma. Um estudo finlandês de 15 anos de duração revelou que a infecção por *Chlamydomphila pneumoniae* não representa risco para o desenvolvimento da asma contudo poderá acelerar o declínio da função pulmonar sobretudo dos asmáticos não atópicos. Recentes estudos revelaram que a *Chlamydomphila* poderá corromper a ação das CDs sobre as células Th1 e induzir uma resposta inflamatória associada às células Th2 compatível com infecção crônica e agravamento da asma. [15]

Outra bactéria de interesse é a *Mycoplasma pneumoniae* que através de estudos utilizando ratos foi demonstrados que em baixos níveis de infecção era capaz de estimular uma resposta Th2, enquanto que em elevados níveis de infecção reduzia a eosinofilia no pulmão e inibia a secreção de IL-4 e da eotaxina-2. [15]

Contudo, apesar de existirem indícios de que as infecções bacterianas estão relacionadas com a exacerbação das doenças alérgicas existem fatos que evidenciam que a doença alérgica também poderá promover suscetibilidade à infecção bacteriana. Estudos animais utilizando ratos revelaram que a inflamação alérgica das vias aéreas danifica as defesas do hospedeiro. Um dos mecanismos que ocorre consiste na alteração da expressão do TLR-2 e da produção de IL-6 que resulta numa diminuição da *clearance* do *Mycoplasma* dos pulmões dos ratos. Um outro estudo em que utilizou métodos de cultura para incubar células epiteliais das vias aéreas de indivíduos asmáticos com *M. pneumoniae* verificou-se um aumento da produção de uma proteína denominada de MUC5AC que se trata da proteína mais produzida a nível da mucina das vias aéreas. [15]

Tendo em conta os fatos supracitados neste capítulo compreende-se que existem evidências de que as bactérias poderão estar relacionadas com o desenvolvimento da asma e por outro lado que

as alterações resultantes da inflamação alérgica das vias aéreas poderão tornar os indivíduos mais suscetíveis à infecção bacteriana. ^[15]

5.2) Vírus

O interesse na relação entre os vírus e a asma existe há vários séculos e propagou-se até aos dias de hoje. Na verdade muito das bases que favorecem esta associação têm fundamentos epidemiológicos pois as infecções de etiologia viral são comuns na infância e foram associadas à gênese de asma mais tarde.

Um dos vírus protagonistas desta associação é o *Rinovírus* que já foi alvo de vários projetos de investigação. Um estudo feito em Winsconsin seguiu várias crianças desde o nascimento até aos 6 anos de idade e concluiu que a infecção por rinovírus que ocasionava um quadro de pieira nas crianças correspondia a um fator preditor de asma muito significativo. ^[8,15,32,36]

Um estudo denominado de *The Canadian Asthma Primary Prevention* avaliou a relação existente entre o VSR, parainfluenza e picornavírus e a probabilidade de desenvolver asma no primeiro ou segundo ano de vida em contexto de crianças com história familiar de asma ou atopia. Esta relação verificou-se positiva naqueles que tiveram infecções por VSR e parainfluenza. ^[15]

A informação atual aparenta estabelecer uma relação entre a asma e a infecção viral contudo os mecanismos ainda não estão bem descritos, mas as evidências apontam no sentido de haver uma resposta aberrante do sistema imune aos vírus que promove a inflamação crónica das vias aéreas. ^[15]

Um estudo muito interessante em que se procedeu à inoculação do *Sendai* vírus, que mimetiza a ação do vírus respiratório sincicial e parainfluenza nos humanos, em ratos permitiu observar que a inflamação aguda era mediada por células *natural killers* no pulmão. Estas células recrutavam e ativavam a ação dos macrófagos resultando numa produção persistente de IL-13 bem como do seu recetor. A IL-13 promove a metaplasia das células produtoras de muco bem como a hiperreatividade brônquica que são características cardinais da asma. ^[15]

5.3) Fungos

Os fungos têm capacidade de colonizar as vias aéreas e são constituídos por toxinas, enzimas e compostos orgânicos voláteis capazes de danificar o epitélio brônquico e os esporos fúngicos têm propriedades alergénicas. Contudo apesar dos fungos, devido às suas características, serem um potencial fator para a génese da asma ainda não se conseguiu estabelecer uma relação causal entre os fungos e a asma.^[15,37]

A incógnita sobre a relação entre os fungos e a asma tem levantado questões no meio científico e da investigação uma vez que o estudo da interação dos fungos com o organismo humano poderá ajudar a destrinçar os vultos insipientes que caracterizam os atuais conhecimentos sobre o binómio infeção e asma.

Com base nesta realidade têm surgido vários mecanismos hipotéticos que aproximem os fungos da asma. Neste sentido, um dos mecanismos que associa os fungos à patogénese e manutenção do fenótipo de asma alérgica tem como fundamento os constituintes da parede fúngica (quitina), proteases, glicosidases, e certas proteínas que desencadeiam *stress* oxidativo como possíveis promotores de doença alérgica. Os fungos como a *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus fumigatus* secretam prostaglandinas e moléculas prostaglandinas-like que poderão estar relacionadas com a inflamação alérgica das vias aéreas. Outro dado relevante tem a ver com certas proteínas fúngicas (sobretudo a espécie *Aspergillus*) que são homólogas a proteínas humanas que promovem reações imunes cruzadas levando a quadros auto-imunes.^[15]

Vários estudos foram feitos com o intuito de perceber a interação entre a quinina, um polissacarídeo abundante na parede celular fúngica, e as quinases, enzima que degrada a quinina. Em modelos animais, observou-se que a quitinase ácida de mamíferos (AMCase em inglês) funciona como um inibidor da IL-13 o que poderá ter um papel protetor contra as alterações estruturais e inflamatórias da asma como foi descrito previamente neste trabalho. Outro dado revelador que se

obteve em estudos humanos foi que a existência de polimorfismos no gene que expressa esta enzima está relacionada com casos de asma atópica e elevados títulos de IgE em populações na Índia.^[15]

Uma proteína denominada de YKL-40 que desempenha funções quitinase-*like*, foi estudada em indivíduos asmáticos e saudáveis e verificou-se que se encontrava níveis mais elevados nos pacientes asmáticos e foi relacionada com a severidade dos quadros clínicos. Um estudo feito com uma população Hutterista permitiu associar a proteína YKL-40 com um risco aumentado de asma e pior função pulmonar. Estes dados obtidos motivaram a proposição desta proteína como biomarcador da asma no entanto esta proposta não foi aceite por falta de especificidade.^[15]

Em suma, os estudos feitos com base na interação entre a quitina com as quinases permitiram formular a hipótese de que as quinases de mamíferos são um possível elo de ligação que aproxima os fungos de um papel protagonista na génese da asma.^[15]

Outro mecanismo que relaciona os fungos com a asma tem como base as proteases que são parte integrante dos fungos. As proteases estão associadas à inflamação alérgica das vias aéreas uma vez que estas são consideradas necessárias e suficientes para desencadear uma resposta inflamatória alérgica mediada por Th2 em modelos animais. As proteases fúngicas desencadeiam uma reação inflamatória imediata por parte do sistema imune inato e na sequência desta reação existe recrutamento de células Th2 que representa um ponto de viragem para a doença subsequente. Espécies fúngicas como a *Aspergillus* induzem uma resposta inflamatória monopolizada pelas células Th2 através da manipulação das CDs impedindo a sua total maturação e por conseguinte não tendo capacidade para produzir Il-12 em quantidades suficientes. A espécie *Alternaria* também possui proteases capazes de modular a resposta das CDs no sentido de promover uma resposta inflamatória mediada por células Th2 através da indução da linfoproteína do estroma tímico nas células epiteliais brônquicas.

Outro dado muito interessante deve-se ao facto dos fungos atuarem também como adjuvantes no processo alérgico funcionando em sinergismo com outros alergénios de diferentes naturezas.

Estudos demonstraram que os fungos inibem as propriedades tolerogénicas das CDs fazendo com que certos alergénios que por si só não seriam capazes de desencadear uma resposta alérgica quando em associação com fungos estimulam níveis elevados de citocinas Th2. [15]

Por último, é importante referir que certos investigadores elaboraram uma justificação diferente das supracitadas previamente. Esta última hipótese compreende que a reação do sistema imune inato aos fungos não se trata de uma resposta aberrante mas sim uma reação necessária contra os fungos que passa por produção de IL-13 e eosinófilos que são passos necessários para a eficaz eliminação dos fungos do aparelho respiratório e concluindo-se portanto que os fungos não são responsáveis pela hiperreatividade brônquica mas sim como desencadeadores de uma resposta imune adaptativa e protetora contra infeções fúngicas. [15]

Em suma, apesar das incongruências atuais não há dúvidas de que os fungos são omnipresentes e constituídos por substâncias capazes de promover doença alérgica crónica. Estes factos e outros previamente descritos são suficientes para considerar como plausível a relação entre os fungos e a asma. [15]

5.4) Parasitas

São atribuídas às infeções helmínticas um efeito protetor contra a sensibilização alérgica e asma. Esta alegação é apoiada pelo fato das doenças alérgicas serem raras em ambiente rural e em países subdesenvolvidos onde as infeções helmínticas são prevalentes. Contudo esta realidade perde força a cada dia que passa uma vez que este padrão tem sofrido alterações sobretudo devido ao aumento das doenças alérgicas nos países em vias de desenvolvimento. [15]

As infeções helmínticas desencadeiam a resposta das células Th2, eosinófilos, com aumento das IgE, IL-4, IL-5 e IL-13 originando um aumento na secreção de muco e contractilidade do músculo liso. Estas alterações conferem defesa contra infeções parasitárias no mundo subdesenvolvido contudo nos países desenvolvidos constituem as características presentes na doença

alérgica como a asma. Esta interação dos parasitas com o sistema imune é representada, no mundo desenvolvido, como um mecanismo vestigial ancestral de defesa contra infecções helmínticas. ^[15]

Um estudo feito com duas amostras populacionais completamente antagônicas em termos de meio ambiente, uma população rural chinesa e uma população britânica, revelou que ambas apresentavam uma variação genética numa molécula sinalizadora das células Th2 – molécula transdutora de sinal e ativadora de transcrição 6 (STAT6). Esta molécula nas duas populações controla os níveis de IgE, alergia e infecção parasitária sabendo que na população chinesa as infecções parasitárias são frequentes e na população britânica estas infecções eram raras contudo existe elevada prevalência de doenças alérgicas e asma. Esta variante da STAT6 estimula a sinalização das Th2 associada a uma aumento das IgE em ambas as populações culminando em exacerbação alérgica na população britânica e baixos níveis de infecção helmíntica na população chinesa. Estas descobertas foram exploradas num estudo animal em que se silenciou proposadamente o gene da molécula STAT6 em ratos e verificou-se que os ratos tornavam-se completamente suscetíveis a infecções helmínticas e estes animais apresentavam também uma completa inibição de inflamação alérgica das vias aéreas. Contudo não se exclui de que uma reexposição parasitária desencadeasse uma reação alérgica. ^[15]

O Síndrome de Loeffler, uma doença semelhante à asma que apresenta uma clínica de tosse e pieira e alterações pulmonares com infiltrados transitórios, é desencadeado por migração da *Ascaris lumbricoides* da corrente sanguínea para os alvéolos pulmonares e vias aéreas promovendo uma eosinofilia a nível pulmonar. Este tipo de reação também se verifica para o ancilóstomo e *Stongyloides Stercoralis* embora de uma forma mais atenuada. Com base neste fato a *A. Lumbricoides* é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de asma. ^[15]

As infecções helmínticas em modelos animais, mais especificamente ratos, demonstraram manipulação da diferenciação as células Th2 através da estimulação do recetor das IL-4, citocina

muito importante no desenvolvimento das células Th2. A infecção estimula a cadeia alfa do recetor das IL-4 (IL-4R α) das células *naive* T CD4⁺ conferindo uma resposta Th2 mais potente. [15]

Estudos recentes, recorrendo a ratos infetados com o parasita *Strongyloides venezuelensis*, demonstraram que os basófilos podem atuar como células apresentadoras de antígenos (CAA), ocorrendo como alternativa às CDs. Estes basófilos produtores de IL-4 e TSLP favorecem a respostas das Th2. [15]

Em suma, a o efeito protetor dos parasitas sobre a asma parece depender da espécie, do *timing* e cronicidade da infecção, da carga parasitária envolvida e da suscetibilidade genética do hospedeiro para a atopia. [15]

A figura 2 demonstra uma hipotética interação entre os microrganismos e o desenvolvimento e exacerbação da asma alérgica.

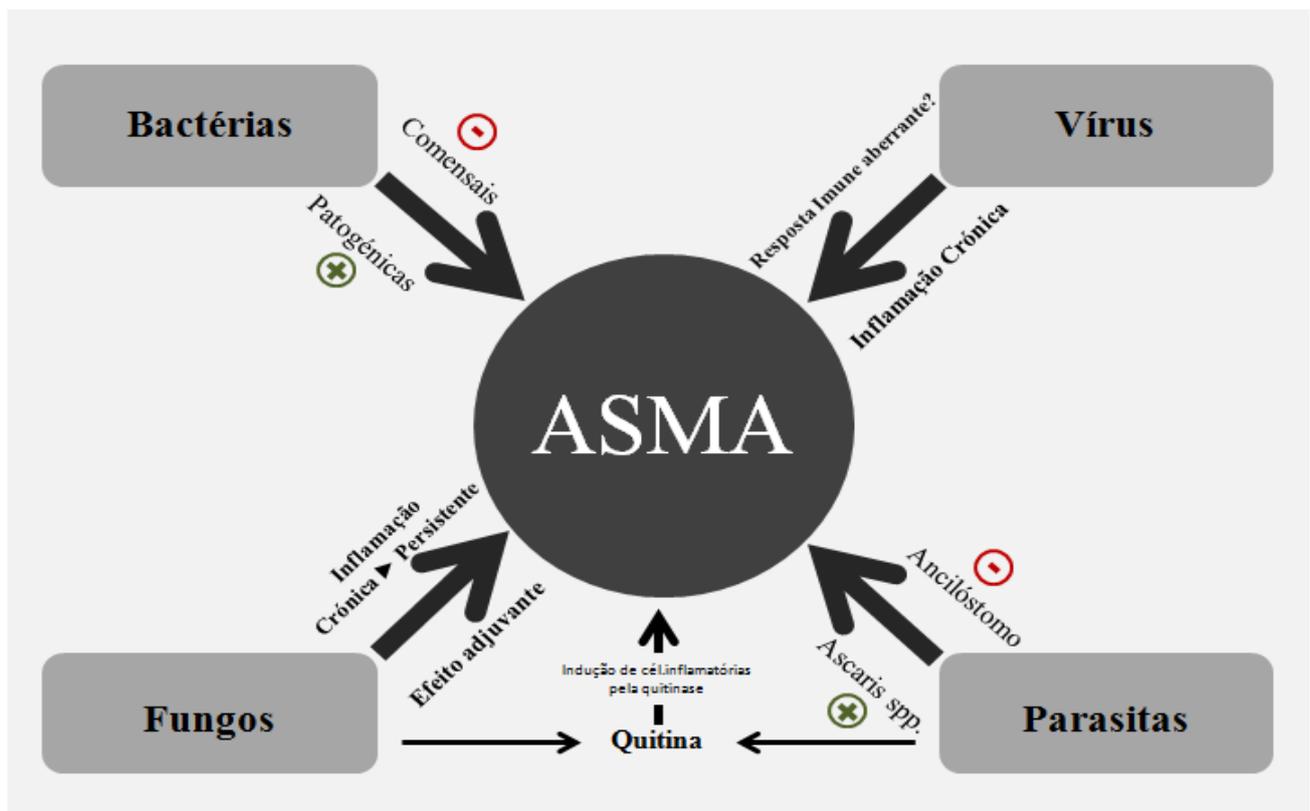


Figura 2. Interação dos diferentes microrganismos com o desenvolvimento e exacerbação da Asma Alérgica. Adaptado de Sevin CM, Peebles RS Jr. *Infections and asthma: new insights into old ideas. Clin Exp Allergy.* 2010;40(8):1142-54.

7. Conclusão

A asma representa nos dias de hoje uma das principais causas de incapacidade, utilização de recursos de saúde e de baixa qualidade de vida a nível mundial, ^[4] afetando aproximadamente 300 milhões de pessoas e cerca de 250.000 pessoas morrem, anualmente, devido à patologia asmática. ^[1,2]

Os padrões de incidência da asma têm se alterado revelando uma tendência para homogeneização atenuando as discrepâncias outrora existentes entre diferentes áreas geográficas. ^[1]

Apurou-se também que a asma é a doença crónica mais comum nas crianças e adultos jovens atingindo cerca de 1 em cada 4 indivíduos com menos de 40 anos e que em 2025 a asma irá afetar cerca de 400 milhões de pessoas. ^[4]

A heterogeneidade clínica da asma e a sua natureza multifatorial exige que a terapêutica tenha um carácter personalizado o que torna difícil a criação de guidelines que abranjam todos os cenários e fenótipos possíveis. O que se verifica é que a terapia atual está direcionada para a prevenção secundária e terciária. ^[7]

Os estudos mais recentes sobre a história natural da asma têm focado a sua atenção na relação entre a infeção viral do trato respiratório no início da vida com o aparecimento das formas mais persistentes de asma, ^[9,10,11] neste âmbito o VR e o VRS têm sido os vírus que mais unanimidade reúnem no seio da comunidade científica uma vez a infeção por estes vírus no início da vida predizem de uma forma consistente um risco aumentado de desenvolvimento de asma, ^[11] pois o efeito a longo prazo de uma infeção viral por VRS ou VR antes dos 3 anos de idade poderá estar associado com o desenvolvimento ou persistência de asma no início da vida adulta. ^[16]

Outro consenso que esta revisão afinou foi que a complexa interação entre a infeção viral e a sensibilização alérgica em indivíduos com suscetibilidade genética para promover uma resposta imune, atua de forma sinérgica no sentido de promover alterações morfológicas nas vias aéreas características da asma persistente, sobretudo se a infeção viral ocorrer numa “janela de oportunidade” durante o desenvolvimento imune das vias aéreas. ^[6,9]

As recentes descobertas na área da ecologia microbiana humana devem-se aos novos métodos de biologia molecular, nomeadamente técnicas genéticas não dependentes de culturas que permitem identificar com mais precisão a comunidade microbiana incluindo espécies que não se desenvolvem em culturas. Estas técnicas causaram grande impacto no conhecimento da diversidade microbiana presente em diferentes sistemas do corpo humano. ^[16-18]

Estas novas técnicas refutam o dogma de que apenas uma mão cheia de espécies bacterianas estão associadas com a doença crónica das vias aéreas e demonstraram que o microbioma das vias aéreas em doentes com patologia crónica é bem mais vasto do que previamente se pensou, ^[16] diferindo consoante o estado de saúde do hospedeiro bem como consoante a gravidade dos sintomas de certas patologias respiratórias pelo que o microbioma, enquanto entidade coletiva, poderá estar na origem de doenças respiratórias crónicas. ^[16] Além disso, novos dados revelaram que os asmáticos apresentam uma maior colonização por proteobacterias nomeadamente *Haemophilus*, *Moraxella* e *Neisseria* enquanto que os indivíduos saudáveis apresentam colonizações mais exuberantes de bacteroidetes sobretudo *Prevotella* que são normais constituintes da flora comensal oral e vaginal e que portanto também poderá fazer parte da flora normal do pulmão pondo de parte a ideia de que as vias aéreas inferiores são estéreis. ^[15,32,35]

Embora estas novas evidências não confirmem a casualidade de que a infeção desenvolve asma, indica-nos que a colonização ou infeção por múltiplas espécies bacterianas poderão ser um fator de risco importante para o aparecimento de asma ou mesmo contribuir para a sua patogénese e que este processo ocorre em fases da vida ainda mais precoces do que outrora pensado, nomeadamente no período de gestação. ^[15,16]

A informação atual aparenta estabelecer uma relação entre a asma e a infeção viral contudo os mecanismos ainda não estão bem descritos mas as evidências apontam no sentido de haver uma resposta aberrante do sistema imune aos vírus que promove a inflamação crónica das vias aéreas. ^[15]

Novos estudos têm revelado vias alternativas de sinalização do sistema imune aquando de uma infeção para além do paradigma das Th2. Estudos utilizando ratos revelaram que células inatas efectoras hematopoiéticas e do estroma podem funcionar como CAA e ativar as CDs através da produção de IL-4 e TSLP desencadeando uma resposta das células Th2 CD4⁺. [28]

É importante destacar novas evidências acerca das infeções helmínticas. Com base em modelos animais formulou-se a hipótese de que os parasitas desencadeiam uma resposta das células Th2, eosinófilos, com aumento das IgE, IL-4, IL-5 e IL-13 originando um aumento na secreção de muco e contractilidade do músculo liso. Estas alterações conferem defesa contra infeções parasitárias no mundo subdesenvolvido contudo nos países desenvolvidos constituem as características presentes na doença alérgica como a asma. Esta interação dos parasitas com o sistema imune é representada, no mundo desenvolvido, como um mecanismo vestigial ancestral de defesa contra infeções helmínticas,^[10] introduzindo-se aqui o conceito de imunidade ecológica.^[6] Em suma, o efeito protetor dos parasitas sobre a asma parece depender da espécie, do *timing* e cronicidade da infeção, da carga parasitária envolvida e da suscetibilidade genética do hospedeiro para a atopia.^[15]

Os futuros estudos sobre o binómio infeção e asma passam por uma melhor compreensão do genoma do hospedeiro e do microbioma e respetivas interações através das novas técnicas de biologia molecular.^[6]

Por último, observa-se que ainda existe muitas lacunas e incongruências acerca do papel da infeção na asma contudo é consensual que a infeção, sobretudo a viral, é um forte contribuinte das exacerbações agudas da asma e que existem fortes evidências de que poderá ter um papel importante na génese da asma. Os estudos feitos até à atualidade são um importante contributo e base para futuras investigações e caminham no sentido de confirmar a casualidade da infeção na génese da asma.

8. Agradecimentos

Agradeço ao Serviço de Pneumologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, bem como à Valência de Pneumologia, integrante na Unidade Curricular de Patologia Médica III e atualmente regida pelo Professor Dr. Carlos Robalo Cordeiro, cujo papel motivador na escolha da área científica para a realização deste trabalho merece particular destaque.

Dirijo também um especial agradecimento ao Professor Dr. António Segorbe Luís e à Dr.^a Emília Maria Gomes Faria pela orientação prestada.

Por último, agradeço à minha colega de curso Ana Carolina Ferreira, pela fulcral ajuda na execução deste trabalho.

9. Referências Bibliográficas

1. Global Initiative For Asthma. Global Strategy For Asthma Management And Prevention [documento na internet].

Disponível em: http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA_Report_2012.pdf.

2. Dougherty RH, Fahy JV. Acute exacerbations of asthma: epidemiology, biology and the exacerbation-prone phenotype. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(2):193-202.

3. Herzog R, Cunningham-Rundles S. Pediatric asthma: natural history, assessment, and treatment. *Mt Sinai J Med*. 2011;78(5):645-60.

4. To T, Stanojevic S, Moores G, Gershon A, Bateman E, Cruz A, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health*. 2012; 12:204-11

5. Myers T, Tomasio L. Asthma: 2015 and Beyond. *Respiratory Care*. 2011; 56(9):1389-1410.

6. Brar T, Nagaraj S, Mohapatra S. Microbes and asthma: the missing cellular and molecular links. *Curr Opin Pulm Med*. 2012;18(1):14-22.

7. Lemanske RF Jr, Busse WW. Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2 Suppl 2):S95-102.

8. Dulek DE, Peebles RS Jr. Viruses and asthma. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1810(11):1080-90.

9. Gavala ML, Bertics PJ, Gern JE. Rhinoviruses, allergic inflammation, and asthma. *Immunol Rev*. 2011;242(1):69-90.

10. Wu P, Hartert TV. Evidence for a causal relationship between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9(9):731-45.

11. Martinez FD. New insights into the natural history of asthma: Primary prevention on the horizon. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(5):939-45.
12. Matsushima K, Nagai S. Unraveling the mystery of the hygiene hypothesis through *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Invest.* 2012;122(3):801-4
13. Alam R. Foreword. *Infection and asthma. Immunol Allergy Clin North Am.* 2010;30(4):xi-xii.
14. Wong T, Hellermann G, Mohapatra S. The infectious march: the complex interaction between microbes and the immune system in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2010;30(4):453-80,
15. Sevin CM, Peebles RS Jr. Infections and asthma: new insights into old ideas. *Clin Exp Allergy.* 2010;40(8):1142-54.
16. Huang YJ, Lynch SV. The emerging relationship between the airway microbiota and chronic respiratory disease: clinical implications. *Expert Rev Respir Med.* 2011;5(6):809-21.
17. Papadopoulos NG et al. Viruses and bacteria in acute asthma exacerbations--a GA² LEN-DARE systematic review. *Allergy.* 2011;66(4):458-68.
18. McErlean P, Greiman A, Favoreto S Jr, Avila PC. Viral diversity in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2010;30(4):481-95
19. Huang YJ et al. Airway microbiota and bronchial hyperresponsiveness in patients with suboptimally controlled asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(2):372-381.e1-3.
20. Couzin-Frankel J. Bacteria and asthma: untangling the links. *Science.* 2010;330(6008):1168-9.
21. Lopes AJ, Noronha AJ, Mafort TT. Mecanismos de defesa do aparelho respiratório. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto.* 2010;9(2):10-16
22. Gon Y. Toll-like receptors and airway inflammation. *Allergol Int.* 2008;57(1):33-7.

23. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature*. 2007;449(7161):419-26.
24. Walter MJ, Holtzman MJ. A centennial history of research on asthma pathogenesis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005;32(6):483-9.
25. Holtzman MJ, Patel DA, Zhang Y, Patel AC. Host epithelial-viral interactions as cause and cure for asthma. *Curr Opin Immunol*. 2011;23(4):487-94.
26. Tantilipikorn P, Auewarakul P. Airway allergy and viral infection. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2011;29(2):113-9.
27. Porter PC, Ongeri V, Luong A, Kheradmand F, Corry DB. Seeking common pathophysiology in asthma, atopy and sinusitis. *Trends Immunol*. 2011;32(2):43-9.
28. Barret NA, Austen KF. Innate Immunity in Th2-type Airway Inflammation. *Immunity*. 2009;31(3):425-37
29. Holtzman MJ. Asthma as a chronic disease of the innate and adaptive immune systems responding to viruses and allergens. *J Clin Invest*. 2012;122(8):2741-8.
30. Singanayagam A, Joshi PV, Mallia P, Johnston SL. Viruses exacerbating chronic pulmonary disease: the role of immune modulation. *BMC Med*. 2012;10:27-38.
31. Rantala A, Jaakkola JJ, Jaakkola MS. Respiratory infections precede adult-onset asthma. *PLoS One*. 2011;6(12):e27912.
32. Armann J, Mutius E.V. Do bacteria have a role in asthma development? *Eur Respir J* 2010;36:469-71.
33. Ege MJ et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med*. 2011;364(8):701-9.

- 34.** Matricardi PM. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: controversial aspects of the 'hygiene hypothesis'. *Clin Exp Immunol.* 2010;160(1):98-105.
- 35.** Vael C, Nelen V, Verhulst SL, Goossens H, Desager KN. Early intestinal *Bacteroides fragilis* colonisation and development of asthma. *BMC Pulm Med.* 2008;8:19-24.
- 36.** Proud D. Role of rhinovirus infections in asthma. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2011;29(3):201-8
- 37.** Agbetile J et al. Isolation of filamentous fungi from sputum in asthma is associated with reduced post-bronchodilator FEV1. *Clin Exp Allergy.* 2012;42(5):782-91
- 38.** Lee SL, Chiu SS, Malik PJ, Chan KH, Wong HS, Lau YL. Is respiratory viral infection really an important trigger of asthma exacerbations in children? *Eur J Pediatr.* 2011;170(10):1317-24.