

Ana Maria Pêgo Todo-Bom Ferreira da Costa

**Asma de longa evolução:  
Condicionalismos do envelhecimento**

Coimbra

2008



Dissertação de doutoramento apresentada à  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra



A Faculdade de Medicina de Coimbra não aceita qualquer responsabilidade em relação à doutrina e à forma desta dissertação.  
(Reg. da Faculdade de Medicina de Coimbra, 1931, Artº 108.º, § único).

## Sumário

INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS .....	17
POPULAÇÃO E MÉTODOS.....	79
RESULTADOS.....	93
DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....	141
SÍNTESE CONCLUSIVA.....	189
RESUMO .....	195
SUMMARY.....	201
BIBLIOGRAFIA .....	207
LISTA DE ACRÓNIMOS .....	247
APÊNDICES.....	251
ÍNDICE .....	261

# **Introdução e Objectivos**



## **Introdução**

### **Definição de Asma**

A asma é uma doença inflamatória crónica das vias aéreas, onde várias células como mastócitos, eosinófilos e linfócitos e respectivos elementos celulares desempenham um papel importante. Clinicamente caracteriza-se por uma resposta exagerada a diversos estímulos, que se traduz por episódios recorrentes de sibilância, dispneia, opressão torácica e tosse. Estes sintomas associam-se habitualmente a obstrução generalizada mas variável das vias aéreas, com limitação do fluxo aéreo, que é pelo menos parcialmente reversível, espontaneamente ou através da intervenção farmacológica [1].

São a intensidade e a recorrência da inflamação e do broncospasmo, assim como a extensão dos fenómenos de remodelação que ocorrem nas vias aéreas, que definem a doença e que irão determinar a sua evolução e gravidade, conforme foi revisto por Bousquet (2000) [2].

Embora tenha frequentemente o seu início em idades jovens, a cronicidade da asma justifica que afecte indiscriminadamente indivíduos de todos os grupos etários uma vez que pode prolongar-se por toda a vida. A lesão de órgão resulta da interacção entre a agressão e a reparação cíclica conseguida através da intervenção de mecanismos de defesa dependendo ainda da acção moduladora de reguladores da resposta em curso [3].

A análise de formas de evolução arrastada fornece uma visão mais realista das modificações que persistem no decurso da doença. Contudo, como afectam necessariamente indivíduos mais idosos, torna-se obrigatório considerar nessa análise, informação sobre as modificações decorrentes do processo do envelhecimento. É igualmente importante uma avaliação cuidadosa, que assegure um adequado enquadramento

diagnóstico, uma vez que a caracterização clínica da doença se torna mais complicada neste grupo etário.

Definir e avaliar formas de asma de evolução arrastada encerra, por isso, um duplo desafio: por um lado ao recolher, num momento, informação sobre o resultado final das agressões e respectivas respostas de correcção que ocorrem ao longo dos anos perspectivar aspectos evolutivos em asmas mais recentes; por outro lado clarificar o tipo de modificações que caracterizam a asma no idoso. Esta avaliação contribuirá para melhor compreender a fisiopatologia da doença e para a sua correcta caracterização, na população deste grupo etário que constitui uma parcela importante das sociedades desenvolvidas e que, por isso, exige uma intervenção adequada para que se mantenha activa e dinâmica.

Um melhor conhecimento dos equilíbrios dinâmicos que se vão estabelecendo neste cenário resultará numa melhor compreensão dos conceitos inerentes à definição e à fisiopatologia desta doença.

## **Conceito de Alergia**

Uma dificuldade que surge quando se procede à análise de doentes com patologia respiratória crónica desencadeada ou agravada pela exposição a antigénios (Ags) ambientais reside na instituição de critérios que permitam a sua correcta classificação.

Considera-se atopia uma condição hereditária caracterizada pela propensão para a produção de Imunoglobulina (Ig) E com capacidade para reagir especificamente com alergénios, desencadeando reacções do tipo imediato e positivando testes cutâneos de hipersensibilidade por picada [4,5].

O termo atopia é ainda frequentemente utilizado para designar qualquer condição que curse com níveis elevados de IgE e com testes cutâneos positivos a diferentes aeroalergénios. Também se considera síndrome atópico a associação clínica de asma, rinite e de eczema

atópico independentemente das determinações de IgE. De acordo com as recomendações actuais da *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI) para a nomenclatura de doenças, asma alérgica será o termo a utilizar numa situação de asma mediada por mecanismos imunológicos. Perante a evidência de uma reacção desencadeada por mecanismos imunológicos com intervenção da IgE é recomendada a utilização do termo asma alérgica mediada por IgE [5,6].

No presente estudo serão referidas como asma alérgica todas as situações de asma brônquica em que esteja comprovada a sensibilização a alérgenos ambientais através da presença de IgE específica para esses alérgenos. As situações em que a IgE específica a alérgenos ambientais esteja ausente serão referidas como casos de asma não alérgica.

Enquanto na asma alérgica a inflamação brônquica resulta fundamentalmente da reacção mediada pela Imunoglobulina E (IgE), produzida no decurso do processo de sensibilização a um ou a vários alérgenos, foi reconhecido por Humbert (1999) e outros autores que na asma não alérgica estarão subjacentes mecanismos etiopatogénicos diferentes [7,8,9].

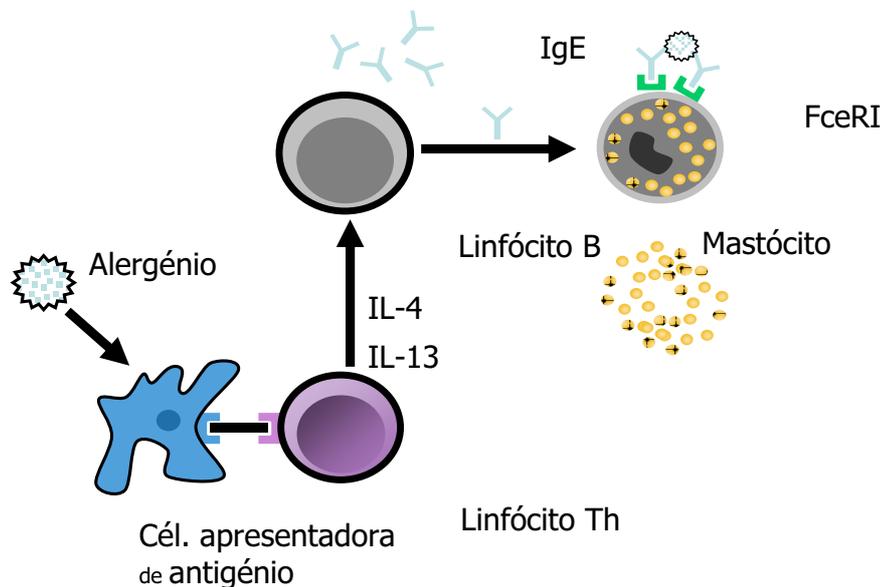
### **Sensibilização alérgica mediada por IgE**

As modificações que vão ocorrendo nas vias respiratórias pela intervenção da IgE específica dependem em larga medida do tipo de alérgeno sensibilizante e da forma como ocorre o seu reconhecimento pelo sistema imunoinflamatório (Figura 1).

Entende-se por alérgeno uma molécula individual, que interage com o sistema imunológico, sensibilizando-o numa primeira fase e provocando uma reacção de hipersensibilidade do tipo I, com libertação de mediadores num contacto subsequente.

No primeiro contacto do alérgeno com o organismo, este é apresentado no contexto do complexo *major* de histocompatibilidade – MHC, (do inglês *Major Histocompatibility Complex*) aos Linfócitos T (LT)

auxiliares – LTh (do inglês *T Helper Lymphocytes*) que sintetizam citocinas que, por sua vez, promovem a diferenciação de Linfócitos B (LB) em plasmócitos produtores de IgE específica para o alergénio em causa [10].



**Figura 1** - Indução de sensibilização alérgica e reacção de hipersensibilidade imediata, do tipo I da classificação de Gell e Coombs.

Na alergia respiratória a inalação do alergénio e a sua retenção na mucosa das vias aéreas vai permitir que este seja internalizado e degradado por um mecanismo enzimático pelas células apresentadoras de antígeno – APC (do inglês *Antigen Presenting Cells*) para ser apresentado ao LT [11]. A produção de citocinas e a interacção de moléculas de superfície acessórias de activação dos linfócitos Th com os linfócitos B permitem uma comutação do isotipo de anticorpo (Ac) no sentido de produzir IgE. A interleucina (IL) 4 e a IL13 são as principais responsáveis pela indução da transcrição da linha germinativa *epsilon* ( $\epsilon$ ) [12].

Posteriormente as Igs E produzidas irão ligar-se aos receptores de alta afinidade para a IgE-FcRI (*Fc $\epsilon$  Receptor Type 1*) que se encontram na membrana celular de mastócitos e de basófilos, ricos em mediadores

da inflamação. De acordo com Chapman (2001), Colgan (2007) e outros autores, a alergenicidade inerente depende pois da probabilidade de Igs E e de LT responderem a um alergénio em particular que também será reconhecido por epítomos de linfócitos B. As vias requeridas para activação de mastócitos e de linfócitos são potenciais alvos de intervenção terapêutica [13,14,15].

### **Caracterização alérgica**

Existe um extenso número de alergénios capazes de produzir sensibilização e de desencadear doença. Os alergénios mais prevalentes em Portugal pertencem ao grupo dos ácaros, pólenes, fungos, fanêros e insectos. Estão identificadas em cada um dos grupos referidos várias fontes alérgicas e fracções proteicas constituintes, bem como as respectivas funcionalidades.

O número de proteínas alérgicas caracterizadas tem vindo a aumentar significativamente. De acordo com a listagem de Outubro de 2007 emitida pela *International Union of Immunological Societies* (IUIS) existem mais de meia centena de proteínas alérgicas classificadas, algumas delas apresentando diferentes isoformas. A consulta da literatura neste domínio confirma a existência de um número ainda maior de alergénios já reconhecidos, mas ainda não listados [16,17].

Considera-se um alergénio *major* quando este apresenta uma capacidade de ligação a IgE específicas de mais de 50% dos soros de indivíduos sensibilizados. Existe contudo, nas diversas fontes alérgicas, um número importante de outras proteínas capazes de induzir sensibilização. As Imunoglobulinas E não se ligam especificamente a um único alergénio: a mesma molécula pode reconhecer diferentes alergénios embora a afinidade seja maior para o alergénio indutor. As cadeias de péptidos das proteínas apresentam-se pregueadas na maioria dos casos, adquirindo uma forma espacial que confere à estrutura

estabilidade, solubilidade e capacidade bioquímica (Ex. função enzimática) [18,19].

A IgE reconhece preferencialmente epítopos alergénicos conformacionais, com determinada exposição espacial comparativamente aos sequenciais (com apenas 8 a 15 aminoácidos) os quais apresentam uma capacidade de ligação à IgE mais modesta. A desgranulação mastocitária, com conseqüente início da resposta imunoinflamatória, requer a ligação simultânea na superfície celular de duas moléculas de IgE adjacentes que interagem em simultâneo com a molécula alergénica desencadeante. Ligações monoméricas à IgE (FcεRI) terão apenas a capacidade de aumentar o tempo de vida dos mastócitos, conforme defende Thomas (2007) e outros autores [13, 20,21,22].

### **Reactividade cruzada e relevância clínica dos alergénios**

Estão descritos numerosos alergénios capazes de induzir sensibilização em indivíduos geneticamente predispostos. Grande parte dos doentes alérgicos tem capacidade de reagir a diferentes tipos de alergénios presentes no meio a que está exposto. Nos últimos anos têm sido descritas várias associações de sensibilização entre elementos duma mesma família bem como entre grupos de alergénios filogeneticamente não relacionados. Muitas das síndromes clínicas que estão hoje descritas, nomeadamente por Carrapatoso (2007) e outros autores, correspondem não apenas a situações de sensibilização múltipla mas também a padrões de reacção cruzada entre alergénios de famílias distintas [23,24,25]. Contudo, do ponto de vista clínico, o maior desafio reside na capacidade de obter um conhecimento, cada vez mais exaustivo do ambiente que nos rodeia e na capacidade de reconhecer se existe sensibilização com significado clínico como resultado da exposição a essas fontes alergénicas naturais.

O estudo alergológico de asmáticos com uma longa evolução da doença e conseqüentemente o conhecimento da causa da alergia irá permitir um melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes às alterações desenvolvidas por estes doentes.

Este conhecimento, de acordo com Barua (2005) e outros autores, irá naturalmente possibilitar uma atitude profiláctica e terapêutica mais direccionada e correcta [26,27].

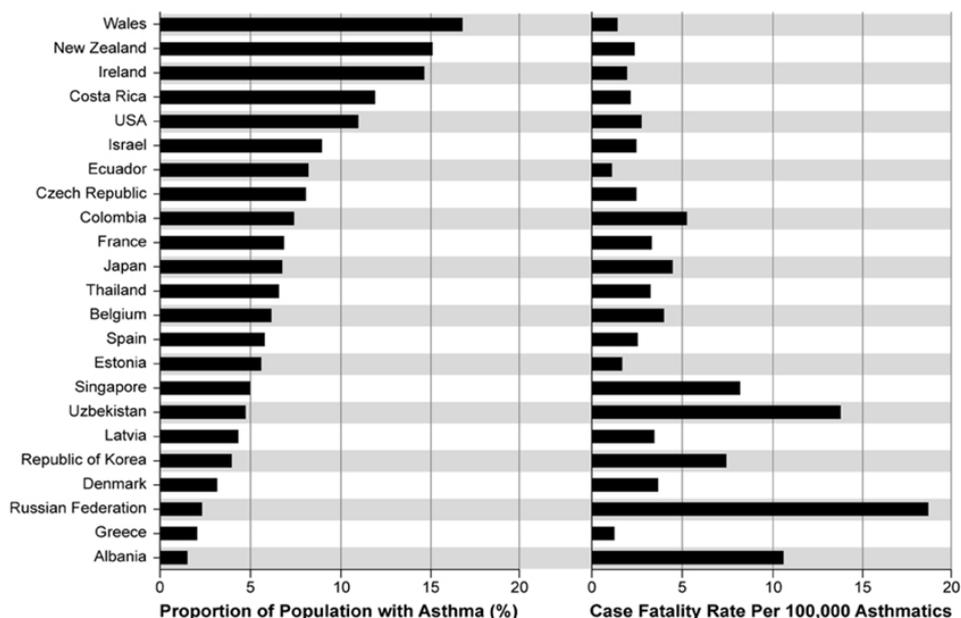
## **Asma no Idoso**

### **Dados epidemiológicos**

A prevalência de asma brônquica e de doença atópica têm vindo a aumentar nos últimos anos particularmente em países industrializados.

De acordo com o *Global Initiative for Asthma (GINA)* 2006 a asma é uma das doenças crónicas mais comuns estimando-se que, em todo o mundo, mais de 300 milhões de indivíduos estejam afectados. Os valores de prevalência de asma apresentam uma grande diversidade em diferentes áreas do globo. A mortalidade por asma constitui outro indicador indirecto da prevalência e da gravidade da doença. Aparentemente, apesar de se observar uma prevalência crescente da doença, conforme dados de Masoli (2004) os indicadores de mortalidade são menos alarmantes (Figura 2) [28].

## Introdução e Objectivos



**Figura 2** - Informação sobre prevalência e mortalidade por asma brônquica em diferentes países do mundo, incluída no material didáctico fornecida pelo programa *GINA-2006* e divulgada por Masoli e Colaboradores do *GINA Dissemination Committee report* [28].

Os valores de prevalência de asma relatados em estudos Europeus dirigidos à população adulta em Portugal são de 6 %, tendo sido coordenados por Peter Burney e publicados em 1996 [29].

Estudos epidemiológicos populacionais realizados por Barbee (1998) indicam que, nos Estados Unidos da América (EUA), a prevalência de asma na população geral se situa em 4,8%, sendo de 6,1% no grupo etário de indivíduos com menos de 18 anos e de 5,2% no grupo com mais de 65 anos [30]. Outro estudo, de Yunginger (1992) revela valores de 4.5% em indivíduos com mais de 65 anos, inferiores aos 6,8% encontrados em jovens, mas superior aos dos adultos com idades compreendidas entre os 30 e os 64 anos, de 3,4% [31].

A prevalência de asma em idosos pode ser ainda mais elevada, conforme estudos de Bauer (1997) com valores que variam entre os 12 e os 14%, relativamente a indivíduos com idades compreendidas entre os 65 e os 84 anos e tendo por base os sintomas ou o diagnóstico médico [32].

O género pode ter influência nos valores de prevalência. Marks (2005), revela que na Austrália, a prevalência de asma reportada em 2001, para indivíduos com mais de 55 anos era de 7.3% para os homens e de 10.7% para as mulheres [33].

Uma análise evolutiva abrangendo mais de 20 anos (1980 a 2004) sobre prevalência de asma realizada nos EUA incidente em cinco grupos etários, publicada por Moorman (2007), concluiu que essa prevalência duplicou em todos os grupos analisados, atingindo os valores mais elevados, de 9,1%, nos indivíduos com idades inferiores a 14 anos. Os indivíduos com mais de 65 anos de idade apresentavam em 2004 valores de prevalência de 7% [34].

Com base numa aplicação alargada de inquéritos a grupos populacionais idosos e, de acordo com o tipo de resposta obtida, num estudo de Enright (1999) foi diagnosticada asma definitiva em 4% e asma provável também em 4% dos inquiridos [35].

Recentemente um estudo realizado no Reino Unido, e publicado por Wainwright (2007) direccionado a uma população idosa e que incluiu mais de 20 mil participantes relatou taxas de prevalência de asma superiores a 8% concluindo também pelo impacto negativo que factores psicológicos podem ter na doença [36].

A asma do idoso pode ser classificada em dois grupos:

- Asma recorrente, com início em fases precoces da vida e que persiste ou pode voltar a manifestar-se na terceira idade.
- Asma de início tardio, com inicio após os 60 anos de idade.

A maioria das situações de asma no idoso enquadra-se em processos clínicos evolutivos com diagnóstico em idades jovens. Existem, no entanto, alguns doentes cuja clínica só foi valorizada em fases mais tardias da vida.

Na Austrália em 11000 casos clínicos de asmáticos idosos revistos e publicados por Ford (1969) apenas 15% referia o início da doença entre os 45 e os 59 anos e, uma percentagem ainda mais reduzida, de cerca de 3%, referia o seu início depois dos 60 anos [37]. Sherman (1995) afirma, num outro estudo que 40% de doentes asmáticos apresentam a primeira crise depois dos 40 anos, havendo mesmo alguns doentes que podem apresentar a primeira crise após os 70 anos [38]. A análise exclusiva de casos mais graves, feita por Derrick (1971), permitiu retirar conclusões idênticas reportando, apenas em 1% dos casos, um início da doença depois dos 70 anos [39].

A mortalidade, apesar de ser aparentemente pouco elevada, no grupo etário com idade superior aos 65 anos pode afectar um número significativo de doentes, já que os valores reportados ultrapassam, em muito, os encontrados em asmáticos mais jovens [33,34].

### **Particularidades clínicas e diagnósticas**

O diagnóstico de asma apoia-se em critérios clínicos e é adicionalmente suportado por exames complementares de diagnóstico, nomeadamente pela espirometria, de acordo com as recomendações do *GINA/2006*. Nas asma com início ainda na idade jovem o diagnóstico não apresenta dificuldade, baseando-se numa clínica de episódios de dispneia sibilante recorrente, com períodos intercríticos que podem ser assintomáticos, bem como no padrão obstrutivo revelado no estudo funcional ventilatório. É ainda apoiado na reversibilidade da obstrução brônquica, em testes cutâneos de alergia e na pesquisa de outras manifestações de doença alérgica. Estas asma, quando têm uma evolução arrastada, seguem o curso da história natural da doença em que o contacto com agentes agressores dá origem a um processo inflamatório continuado. Os mecanismos reguladores da inflamação serão determinantes para o prognóstico funcional. O quadro clínico conserva as mesmas características, nomeadamente no referente à periodicidade dos sintomas de sibilância paroxística. De acordo com

Enright (2000), Crain (2002) e Bellia (2000) mantêm-se importante avaliar possíveis desencadeantes uma vez que cerca de um terço dos asmáticos idosos refere aparecimento de crises com exercício, metade refere crises com o contacto com animais ou com exposição a poeiras ou fumo e, de um modo geral, cerca de dois terços referem agravamento sazonal. A asma noturna também assume particular importância pelas implicações prognósticas que determina. Num estudo incidente em asmáticos a ocorrência de sintomas nocturnos era referida em cerca de 50% dos doentes independentemente da idade em análise. Contudo, a avaliação exclusiva das queixas relatadas ao despertar, no início do período matinal seguinte, demonstrava valores percentuais mais elevados nos doentes idosos [40,41,42].

A presença de atopia é mais um dado indicativo do diagnóstico de asma. Embora a prevalência de atopia na população geral decresça de valores de cerca de 30% na meia-idade até valores de apenas 8% em idades avançadas, aproximadamente três quartos dos asmáticos idosos têm positividade para aeroalergénios. Para reduzir as taxas de falsos negativos os testes cutâneos de alergia por picada não devem envolver pele atrófica ou com sinais de exposição crónica ao sol e devem ser valorizados tendo em consideração a dimensão da pápula da resposta à histamina. A sensibilização não difere da referida noutros grupos populacionais e inclui os seguintes grupos de alergénios: ácaros, fungos, pólen de árvores, pólen de gramíneas, pólen de arbustos e fâneros. Os resultados dos testes cutâneos de alergia são indicadores que devem servir de base à evicção dos alergénios aos quais o doente se encontra sensibilizado [31,42,43,44].

As recomendações do *GINA* 2006 relativamente ao diagnóstico de asma preconizam a recolha de informação relevante sobre a história clínica, a função respiratória, a identificação da presença de alergia e factores de risco, acrescentando, embora numa forma generalista, que

em idosos e em crianças com menos de 5 anos, outras medidas poderão ter de ser consideradas.

A instalação de patologia associada nomeadamente insuficiência cardíaca, insuficiência hepática ou renal podem motivar agravamento do quadro respiratório. O contacto regular com tóxicos inalatórios, nomeadamente com fumo de tabaco pode induzir uma evolução para um quadro de doença pulmonar obstrutiva crónica. Existem, aliás, alguns doentes asmáticos graves que, com o progresso da doença, associam fenómenos de destruição de tecido pulmonar com evolução para quadros clínicos de fronteira entre asma e doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC). Nestes casos, e de acordo com Radenne (2003), a insuficiência respiratória instalada pode comprometer de forma irreversível as trocas de gases no sangue, bem como a reversibilidade da obstrução brônquica [45].

Conforme defendeu Holgate (2006), e outros autores, aspectos como a fragilidade cutânea e mucosa marcadas, redução da produção de muco, tosse ineficaz, redução dos volumes de encerramento pulmonar, alterações da termorregulação (produção alterada de citocinas pirogénicas como de IL1 e de factor de necrose tumoral -  $TNF\alpha$  (do inglês *Tumour Necrosis Factor* - $\alpha$ )) aumentam o ritmo de processos infecciosos e naturalmente constituem factores susceptíveis de motivar agravamento da clínica e modificação da fisiopatologia e atitude terapêutica da asma em idade avançada [46,47].

### **Diagnóstico diferencial**

Na asma do idoso com início tardio, mesmo conservando a sintomatologia característica, existe uma maior dificuldade em proceder a um diagnóstico correcto. Deste modo é essencial considerar como mais relevantes no diagnóstico diferencial a doença cardíaca, asma de refluxo, processo expansivo compressivo das vias aéreas superiores, embolia pulmonar, carcinoma broncogénico e doença pulmonar obstrutiva

crónica, estando os últimos particularmente presentes em fumadores e em doentes com história ocupacional de risco inalatório. A maior parte da informação de que dispomos relativamente à prevalência da asma é obtida apenas através de questionários populacionais. Mas o diagnóstico de asma no doente idoso tem motivado alguma controvérsia entre os clínicos que se dedicam a esta matéria.

Uma limitação apontada aos dados epidemiológicos com a metodologia referida resulta do facto de existir um número não desprezível de doentes cujos sintomas não permitem distinguir claramente entre asma e doença pulmonar obstrutiva crónica. A hipótese de considerar a asma, a bronquite crónica e o enfisema como expressões diferentes de uma entidade, facilitaria a compreensão das suas semelhanças no doente idoso. A interacção entre atopia, infecção, agressão do ambiente e a susceptibilidade genética são realidades críticas nas duas entidades. Em ambas as situações, mas com graus diferentes, pretende-se controlar a inflamação, induzir broncodilatação e evitar o contacto com desencadeantes indutores de espasmo brônquico. Existem, evidentemente, muitos casos em que as duas situações clínicas podem estar presentes, dada a alta prevalência das duas patologias, nomeadamente em doentes fumadores. Contudo, o contexto inflamatório dominante em cada patologia é diferente. A presença de atopia é, como já foi referido, mais um dado indicativo do diagnóstico de asma.

Assim, de acordo com trabalhos de Busse (2007) e de Chalker (1993) e de outros autores, a asma pode iniciar-se em qualquer idade enquanto a DPOC se inicia em doentes mais velhos; a alergia é frequente no asmático e rara na DPOC; o início súbito dos sintomas é frequente na asma, enquanto na DPOC é raro; a sibilância e dispneia são frequentes na asma e apenas a dispneia é frequente na DPOC; finalmente a tosse produtiva, o tabagismo e a expectoração crónica são quase sempre uma constante na DPOC e são menos frequentes na asma [48,49,50,51].

## **Função ventilatória**

A avaliação funcional pulmonar é necessária para o diagnóstico da doença, quantificação da obstrução, monitorização das exacerbações e adequação do tratamento. O exame mais indicado, de acordo com as posições defendidas por diversas recomendações internacionais e conforme referido por Sin (2006) é a espirometria com avaliação da capacidade vital forçada (CVF) e do volume expiratório máximo no 1º segundo (VEMS) [1,52].

Do ponto de vista funcional enquanto os doentes com DPOC experimentam um inexorável declínio progressivo da sua função pulmonar, os asmáticos podem ter exacerbações frequentes sem que isso implique necessariamente um declínio da função pulmonar, já que em períodos intercríticos, estes doentes podem apresentar quadros funcionais respiratórios completamente normais, particularmente se cumprirem, com regularidade, medicação anti-inflamatória. Deste modo a distinção funcional mais difícil parece reduzir-se aos casos de asma de evolução arrastada, insuficientemente controlada. Do ponto de vista clínico e de acordo com Burrows (1991), Bellia (2003) e outros são as asma de início tardio as que apresentam mais semelhanças com a DPOC. No entanto, mesmo nestas situações a presença de alergia e de rinite associada é mais frequente que em doentes com DPOC [53,54,55].

O recurso a espirometria com avaliação da broncomotricidade pode melhorar a validação dos dados clínicos. Considera-se que a asma é respondente ao tratamento, ou seja, é essencialmente reversível, enquanto a DPOC se caracteriza por um estreitamento progressivo das vias aéreas resistente ao tratamento. Embora as definições actuais ainda enfatizem estas duas noções é reconhecida uma grande sobreposição entre as duas situações. Na asma a reversibilidade ao broncodilatador, traduzida em aumentos de VEMS superiores a 10% associa-se a uma recuperação da razão VEMS/CV ou seja do índice de *tiffeneau* que nas formas recentes da doença pode atingir valores normais [56,57].

Quando o VEMS sofre um aumento superior a 12% após inalação de um broncodilatador e há uma boa qualidade de espirometria a probabilidade de um diagnóstico de asma estará sustentada. As modificações do débito expiratório máximo entre 25-75% da capacidade vital - DEM25-75 não serão determinantes na avaliação do grau de broncodilatação, já que a CVF (e a capacidade inspiratória) muitas vezes podem aumentar por redução do encarceramento aéreo no pulmão. O débito expiratório não deve ser usado como teste diagnóstico. A ausência de broncodilatação não exclui o diagnóstico de asma, conforme defende o *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2006*, nem a ausência de resposta aos fármacos antiasmáticos [57,58,59,60,61].

Um teste de reversibilidade pode também ser considerado positivo com uma alteração do VEMS de mais 9% relativamente ao basal teórico previsível segundo critérios da *European Respiratory Society (ERS)* [62] ou com uma modificação de 12% ou de 0,2 litros relativamente ao valor basal segundo critérios da *American Thoracic Society (ATS)* [58,63].

Apesar das dúvidas quanto à capacidade de execução da espirometria devido à redução da função cognitiva no idoso, foi demonstrado a sua aplicabilidade em 90% dos 5200 idosos estudados na década de 90 [64].

Noutras séries, mais recentes, de Pezzol (2003) foi confirmado que em pelo menos 80% dos indivíduos idosos a espirometria constitui um meio fiável de avaliação destes doentes [65].

A função pulmonar sofre um declínio na população adulta mesmo em indivíduos saudáveis e esse declínio é mais marcado após os 70 anos de idade [66,67,68].

Decréscimos nos valores de espirometria, nomeadamente nos valores de VEMS e de CV constituem, por si só, um importante indicador de risco para morbilidade e mortalidade no indivíduo idoso. Os valores de

espirometria variam com a raça, conservando os caucasianos valores de função respiratória mais elevados. A presença de insuficiência cardíaca congestiva, de hipertensão arterial (HTA) e o uso de betabloqueantes associam-se a valores de espirometria mais reduzidos. O tabagismo activo associa-se, também, a declínio mais acentuado da função respiratória.

A perda acelerada de função pulmonar que caracteriza a DPOC apesar do tratamento, não é como já foi afirmado, muito comum na asma. Contudo, de acordo com Kupczyk (2004) os doentes asmáticos tendem a desenvolver um declínio progressivo desta função que se relaciona com a idade, género, duração e gravidade da asma [69].

Estudos de função ventilatória têm revelado que idosos com asma de longa evolução, por início relativamente precoce da doença, apresentam um padrão de obstrução das vias aéreas, basal e após prova de broncodilatação, mais marcado que idosos com asma de início tardio, por isso com duração inferior a 10 anos [70,71,72,73].

Os asmáticos sensibilizados a aeroalergénios apresentam valores mais baixos de FEV1, comparativamente aos doentes não alérgicos, não estando no entanto documentada, qualquer correlação válida entre os níveis de IgE sérica total e os valores de função pulmonar neste grupo etário. Também estariam ausentes correlações entre os valores de IgE específica para alergénios sensibilizantes e os valores de função pulmonar. A resposta de broncodilatação ao beta2mimético inalado não distingue asma alérgica e não alérgica [74].

Para Smith (2005) e outros autores, a determinação do Óxido Nítrico exalado-eNO (do inglês *exhaled Nitric Oxide*) é considerado um método promissor na avaliação do processo inflamatório das vias aéreas, já que parece apresentar uma boa correlação com os resultados de biópsias brônquicas, tendo a vantagem de ser não invasivo e tecnicamente simples. Terá um interesse evidente na monitorização da asma e no ajuste terapêutico, já que parece apresentar valores

dependentes da dose terapêutica anti-inflamatória particularmente da corticoterapia inalada. A principal limitação deste método no diagnóstico e monitorização de asma reside no facto de indivíduos normais ou com DPOC, particularmente no decurso de processos infecciosos respiratórios, poderem também apresentar valores elevados de eNO. Por outro lado os corticosteroides reduzem os níveis de eNO pelo controlo da inflamação que determinam e pela inibição directa da produção enzimática de NO, sendo deste modo o seu papel limitado numa perspectiva de avaliação indirecta da inflamação das vias aéreas. Terá sem dúvida um interesse adicional na avaliação da adesão à terapêutica [75,76,77].

## **Terapêutica**

As alterações funcionais em asmáticos idosos serão ainda potencialmente mais graves, na medida em que o processo de envelhecimento condicionando uma modificação do sistema imunitário, conforme referido por Vignola (2003) e Baganha (2007), nomeadamente a nível do linfócito T, predispõe à ocorrência de infecções respiratórias amplificadoras da inflamação brônquica em asmáticos mal controlados [78,79].

O tratamento preconizado para a asma no idoso não difere substancialmente do que se pratica em doentes mais jovens. A terapêutica inalada com corticosteroides e com os beta2miméticos constitui o tratamento de eleição. Outros grupos como os antileucotrienos, anticolinérgicos, antihistamínicos, xantinas, cromonas, corticosteroides sistémicos e anti – IgE terão de ser considerados conforme indicações do *GINA* relativamente à classificação e controlo da doença. Com doses de corticoterapia inalada não superiores a 500 $\mu$ g de dipropionato de beclometasona por dia não existe absorção sistémica apreciável deste fármaco. Em situações mais graves está preconizada a utilização de corticoterapia inalada em doses que podem ultrapassar os 1000 $\mu$ g diários de dipropionato de beclometasona ou equivalente, sendo

mesmo nestes casos, esperados efeitos secundários desprezíveis. Outros grupos de fármacos modificadores da doença menos direccionados para a reversão da inflamação estão em investigação e podem vir a revelar-se interessantes em grupos populacionais mais definidos.

No grupo etário dos idosos deve-se ponderar a presença de alterações do ritmo cardíaco, epigastralgias, candidíase oral, aumento da tensão ocular e retenção urinária, conforme defendido por Marques Gomes e Mota Pinto (2001). A incapacidade de manuseamento dos dispositivos para terapia inalatória disponíveis também pode constituir um obstáculo ao cumprimento terapêutico em idades muito avançadas.

A polimedicação, fraca adesão terapêutica, disfunção cognitiva e limitação da memória, a redução da massa muscular e do conteúdo corporal em água, limitação da função hepática e renal, limitações económicas, receio da farmacodependência e interferências étnicas, culturais e religiosas constituem outros obstáculos ao sucesso terapêutico. É pois determinante procurar na medida do possível, formas de intervenção que obtenham uma boa adesão do doente e que sejam direccionadas para o conhecimento existente das alterações subjacentes à doença [80,81].

## **Envelhecimento Populacional**

As patologias crónicas, têm no seu conjunto, uma presença importante nos indivíduos mais idosos. Com o aumento da esperança de vida essas patologias terão naturalmente uma prevalência aumentada na população geral e irão consumir uma elevada percentagem dos recursos destinados à saúde. O envelhecimento demográfico é uma característica dos Países desenvolvidos sobretudo da Europa, estimando-se que entre 2010 e 2030 a população com mais de 65 anos aumente cerca de 75%.

O Instituto Nacional de Estatística (INE) procedeu a uma repartição da população tendo por critério a integração em vida activa. Todos os indivíduos com mais de 65 anos de idade foram considerados

idosos. Não é no entanto completamente consensual a idade limite para integrar grupos de estudo dirigidos ao envelhecimento. De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU) a população é definida como idosa a partir dos 60 anos [82]. No Conselho da Europa e na Organização de Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) a idade escolhida para definir um idoso está estabelecida nos 65 Anos [83]. Em Portugal segundo os dados do INE entre 1960 e 1998 observou-se um aumento de 8% para 15.2% no número de idosos e em 2001 este grupo etário representava cerca de 20% da população global, enquanto o número de jovens, com menos de 14 anos, passou de 29% para 17% no mesmo período [84,85]. A modificação da estrutura etária da população provocou modificações também nos índices de envelhecimento, ou seja, no número de idosos por cada 100 jovens, que em 2001, já ultrapassava os cem, ou seja representavam 16.4% enquanto os jovens representavam 16% da população geral [86].

Dados da ONU de 2007 mostram percentagens de indivíduos idosos superiores a 20% em quase todos os países da Europa do Norte e Ocidental, entre 17 e 20% na América do Norte, Austrália e Europa de Leste sendo mais reduzidas nas outras regiões do globo.

Na Europa Ocidental, também de acordo com os dados disponíveis, fornecidos pela ONU em 2007, existem 15.9% de indivíduos com menos de 14 anos e 23.4% de população idosa. À escala mundial os idosos que correspondem a 11% da população geral em 2007, constituirão cerca de 22% da população total já em 2050 [87].

O processo de envelhecimento apresenta condicionalismos e especificidade próprios que interessa desvendar no sentido de compreender as transformações decorrentes desta evolução natural. O ser humano começa a envelhecer no dia em que nasce e as modificações que ocorrem ao longo da sua vida são inevitavelmente resultado da sua herança genética, moduladas pelos condicionalismos do ambiente que o rodeia. É pois um processo contínuo e sem limites definidos. As diversas

doenças que ocorrem de forma cumulativa durante a vida humana fazem parte dessa acção modeladora presente nos indivíduos idosos que são submetidos a estudos de investigação clínico-laboratorial nesta faixa etária. Ao seleccionar uma população saudável e activa é necessário estar consciente deste processo modulador pleno de interferências inerentes à vida. Uma análise clínica detalhada, suportada em exames complementares de diagnóstico e um conhecimento exaustivo da medicação instituída não constitui mais do que uma janela de observação ou um "instantâneo" de cada indivíduo analisado.

O processo de imunosenescência, com modificação nas respostas imunológica e inflamatória, reduzida em algumas das suas vertentes e ampliada noutras é, segundo Martin (2006), a prova da complexidade evolutiva da natureza humana. O sistema imunológico está sujeito à influência de factores indutores de alterações que motivam uma susceptibilidade acrescida para infecções, doenças autoimunes e neoplasias. [88].

O aumento da esperança de vida permitiu responder a aspectos menos esclarecidos de patologias crónicas com desenvolvimentos diversificados. Entre as mais bem estudadas destacam-se algumas doenças cardiovasculares, neurológicas e oncológicas que têm merecido atenção particular já que, são as mais frequentes nos grupos etários mais idosos. A asma brônquica é também uma doença inflamatória crónica cuja história natural e condicionalismos evolutivos para formas moderadas ou graves não estão completamente estabelecidos. Contudo quer os factores genéticos quer os factores ambientais serão determinantes na fisiopatologia e no prognóstico da doença. A possibilidade de estudar formas mais arrastadas da doença implica necessariamente a inclusão de doentes idosos. Nestes, segundo Sacke (2006) e outros autores, o reconhecimento das modificações imunoinflamatórias decorrentes do processo de envelhecimento e a sua eventual repercussão na inflamação crónica das vias aéreas que

caracteriza a asma será determinante na análise cuidada desta patologia [89,90].

## **Defesas Antioxidantes e Envelhecimento**

A pesquisa de factores de risco para patologias crónicas e evolutivas centra-se também no estudo dos processos de oxidação e mecanismos de defesa antioxidante. As células do sistema imunológico usam as espécies reactivas de oxigénio - ROS (do inglês *Reactive Oxygen Species*) na primeira linha de defesa contra patogénios. A mitocôndria é a principal fonte de oxidantes endógenos decorrente do processo de produção de energia. De acordo com os trabalhos de Dröge (2002), as ROS produzidas por células do sistema macrofágico fagocítico poderão actuar como moléculas sinalizadoras induzindo a expressão de factores de transcrição, como o factor nuclear KB (NF-kB) e o activador da proteína -1 (AP-1), que teriam acção nas principais biomoléculas – ácidos nucleicos, lípidos e algumas proteínas [91].

Foi já demonstrado que indivíduos com maior longevidade têm uma menor produção de ROS e, de acordo com trabalhos recentes, as espécies reactivas de oxigénio parecem estar envolvidas no processo de senescência [92,93,94].

Para fazer face às possíveis agressões das ROS, as células estão equipadas com um extenso repertório de defesas antioxidantes. A superóxido dismutase (SOD), que inactiva o anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), a glutathione peroxidase (GLPx) e a catalase, que actuam ambas sobre o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e o transformam em  $H_2O$ , são defesas enzimáticas. O ácido ascórbico, a vitamina E e a glutathione reduzida (GSH) fazem parte das defesas antioxidantes não enzimáticas e actuam de forma interligada podendo ter particular importância a nível terapêutico [95].

Daqui resulta que o metabolismo das espécies reactivas de oxigénio é dinâmico, surgindo lesão se aumenta a agressão oxidante ou

a redução da defesa antioxidante, ou ainda se falha o processo de reparação consequente [96,97,98,99].

As concentrações de antioxidantes no soro e nos tecidos diminuem com a idade observando-se no indivíduo idoso um desvio da glutathione reduzida para a sua forma oxidada [100,101].

Antioxidantes como a vitamina E, a vitamina C e os betacarotenos (provitamina A) têm sido utilizados como suplementos alimentares no sentido de corrigir estas anomalias. Recentemente tem sido demonstrado que a implementação de dietas com suplementos de cisteína beneficia os processos degenerativos característicos do envelhecimento, o que poderá estar relacionado com o aumento da glutathione. Entre os parâmetros mais estudados na dependência da redução dos antioxidantes podem citar-se a redução da função de músculo esquelético e da resposta imunológica, aumento dos níveis de  $TNF\alpha$  circulante e diminuição das concentrações plasmáticas de albumina. Suplementos de cisteína podem também prevenir o aumento dos valores de  $TNF\alpha$  nomeadamente após o exercício [102,103].

## **Modificações Imunoinflamatórias com o Envelhecimento**

A asma é uma doença crónica cuja evolução é fortemente condicionada por alterações imunoinflamatórias. Com o processo de envelhecimento as respostas imunoinflamatórias também sofrem modificações condicionadas pela influência que os ambientes exteriores desempenham ao longo da vida na sua interacção com o próprio indivíduo. No presente estudo direccionado para a asma de longa evolução envolvendo o doente idoso serão apenas analisadas as modificações imunoinflamatórias decorrentes desse processo de envelhecimento, que possam interferir, de modo mais directo, na patogenia da asma.

Os leucócitos são as principais células efectoras do sistema imunológico. Os leucócitos polimorfonucleares contêm grânulos citoplasmáticos bem evidentes e incluem neutrófilos, eosinófilos e basófilos, enquanto as células mononucleares incluem linfócitos e monócitos. Os linfócitos, responsáveis pelas respostas específicas de antígeno, têm uma acção central no sistema imunitário e dividem-se classicamente em linfócitos B (LB) e linfócitos T (LT).

É nos órgãos linfóides primários, medula óssea e timo, que se encontra o micro ambiente necessário à ocorrência de linfopoiese. Os linfócitos B maturam na medula óssea enquanto os linfócitos T maturam no timo. Existe ainda um outro grupo de células NK (do inglês *Natural Killer*) com capacidade de intervenção imediata na destruição de agentes agressores e de células tumorais e que não expressam receptores de linfócitos B ou T. Os linfócitos NKT constituem um pequeno subgrupo que apresentam à sua superfície simultaneamente receptores de linfócitos T e NK [104,105,106].

## **Linfócitos B**

Os linfócitos B, formados na medula óssea e fígado fetal, expressam uma glicoproteína de superfície com 95KDa, o CD (*cluster of differentiation*) 19, que se conserva nos diferentes estádios de maturação. É nos órgãos linfóides secundários que os linfócitos B são activados, diferenciando-se em plasmócitos ou em células B de memória. O LB expressa na sua superfície o receptor da célula B- BCR (do inglês *B Cell Receptor*), que inclui uma Ig capaz de se ligar a antígenos e que é essencial para a sua diferenciação em plasmócito com capacidade de produzir anticorpos (acs). Nas respostas aos antígenos dependentes dos linfócitos T, que são principalmente antígenos proteicos, o LB interage com o linfócito T auxiliar também, designado por *helper* (CD4). A diversidade de isotipo e especificidade de imunoglobulinas que são produzidas depende dessa interacção [107]. Concomitantemente com o rearranjo génico de imunoglobulinas e a sua expressão à superfície

surtem marcadores de superfície do linfócito B úteis no seu reconhecimento e na avaliação do seu estado de maturação. O linfócito B maduro expressa: CD19, CD45R, MHC II, IgM, IgD, CD20, CD21, CD23 e CD40. Quando é activado expressa também CD25, mas quando se diferencia em plasmócito produtor de Igs reduz o número de marcadores de superfície [108,109].

A presença de linfócitos B no sangue periférico vai tendencialmente reduzindo com a idade, apesar dos níveis de imunoglobulinas apresentarem um comportamento inverso, ou seja, aumentarem os seus valores.

## **Linfócitos T**

Os linfócitos T são também formados na medula óssea a partir da célula estaminal - *stem cell* hematopoiética pluripotente, onde são processados e adquirem imunocompetência [110,111,112].

Este órgão é o principal responsável pelo aparecimento de linfócitos T maduros funcionantes sendo a sua selecção intratímica determinante no repertório de linfócitos maduros na periferia. Este processo selectivo determina a diversidade dos receptores de superfície T-TCR (do inglês *Tcell receptor*) para o reconhecimento de Ags. O TCR é um heterodímeo que se pode apresentar constituído por cadeias  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ , representando os primeiros mais de 90% dos linfócitos T circulantes [113,114,115].

Os LT representam uma população heterogénia que compreende diferentes tipos principais de sub-populações. De facto, podem considerar-se do ponto de vista funcional 3 subtipos de linfócitos T: Os linfócitos T auxiliares ou Th (*T helper*) que expressam CD4, os linfócitos T citotóxicos ou Tc (do inglês *T cytotoxic*) que expressam CD8 e os linfócitos T reguladores (Treg) capazes de anular respostas imunológicas específicas e que podem ser CD4 ou CD8.

Num processo de evolução natural, os LT entram no timo expressando baixos níveis de CD4 e tornam-se Duplamente Negativas (DN) ao longo da sua diferenciação. Passam depois por um estado Duplamente Positivo (DP) e finalmente por um estado de células “*Single Positive Cells*” (SP), em que apenas expressam a molécula CD4 ou CD8 [116].

O reconhecimento do Ag pelo linfócito T requer, habitualmente, que este seja primeiro processado pelas células apresentadoras de antígenos. Para que uma célula seja considerada apresentadora de Ags tem de expressar moléculas do Complexo *Major* de Histocompatibilidade e de ter capacidade de processar metabolicamente o antígeno. Assim, durante o processo de apresentação, os linfócitos T reconhecem simultaneamente duas estruturas: o Ag estranho e a molécula do MHC pertencente ao *self*, presentes da APC. Uma característica principal dos linfócitos T reside no facto de terem receptores de superfície específicos de antígeno num complexo com o CD3, marcador de molécula de diferenciação, podendo as moléculas CD4 e CD8, ser chamadas a participar no complexo processo de reconhecimento antigénico [117,118,119].

O universo das estruturas antigénicas que são reconhecidas pelo sistema imunitário é enorme sendo, conseqüentemente, muito diversificado o repertório de receptores imunológicos específicos, capazes de promover uma ligação com esses antígenos e activar os linfócitos [120,121].

De um modo geral assiste-se a uma redução do número de linfócitos T na população idosa [122,123].

### **Linfócitos T CD4**

O CD4 é uma glicoproteína transmembranária. A terminologia *helper* advém do facto de estar implicado na prestação de assistência aos linfócitos B no reconhecimento de antígenos e no desencadear da

resposta imunológica. De facto, os antigénios exógenos processados pelas células apresentadoras de antígeno são reconhecidos pelos linfócitos T *helper* em cooperação com antigénios HLA da classe II. A activação de linfócitos T parece resultar na eliminação de moléculas CD4 da superfície, particularmente devido à sua internalização, tal como acontece com o receptor CD3 do linfócito T. Deste modo é possível dividir as células expressando CD4 em dois subgrupos, um maior em que essa expressão é alta e constante e outro, menor, em que a expressão de CD4 é mais reduzida. Segundo Bryl (2001) e outros autores, esta população, que está habitualmente presente em valores muito baixos, tende a aumentar com o envelhecimento, atingindo valores de cerca de 40% dos linfócitos CD4 totais, correlacionando-se directamente com os linfócitos CD3. A caracterização adicional destes linfócitos permitiu evidenciar que estes habitualmente expressam outros antigénios como CD28, CD152, CD25, HLA-DR e Fas em proporções diferentes das observadas na outra população CD4. Contudo do ponto de vista metodológico, nem sempre é possível uma clara diferenciação destas duas subpopulações.

Em diversas doenças inflamatórias crónicas, como a asma brônquica, a célula chave é a CD4 e os seus tipos funcionais uma vez que medeiam a produção de anticorpos e amplificam a acção das células efectoras [124,125,126,127,128,129].

A análise histológica de gânglios linfáticos realizada no idoso revela, segundo Lazuardi (2005), que a redução da sub-população CD4 não é tão acentuada como a observada para a sub-população CD8 [130].

A perda preferencial de linfócitos CD8 em tecidos linfoides secundários, comparativamente à sub-população CD4, pode dever-se, de acordo com Banerjee (2000) ao facto da produção de linfócitos CD8 estar mais dependente da influência da involução tímica comparativamente aos linfócitos marcados por CD4 [131].

## **Linfócitos T CD8**

O CD8 é uma glicoproteína transmembranária, membro da superfamília das imunoglobulinas e um marcador de superfície típico dos linfócitos com função citotóxica e supressora. Está envolvido no reconhecimento de antígenos de superfície de células alvo, que se apresentam no contexto de complexos peptídicos imunogénicos com antígenos HLA da classe I. Os linfócitos citotóxicos T são células efectoras típicas cujo papel principal se destina a destruir células infectadas por vírus ou outros organismos intracelulares, células em transformação tumoral ou ainda células com antígenos de superfície de histocompatibilidade “*non self*”.

Um aspecto conotado com a imunosenescência é a redução do repertório dos linfócitos CD8 particularmente do *pool* de células *naive* o que simultaneamente motiva uma acumulação oligoclonal de células T de memória. Aliás conforme foi referido por Gupta (2004) e Khan (2002) foi demonstrado que a resposta a certos agentes infecciosos, como o citomegalovirus, conduz ao aparecimento de populações oligoclonais de linfócitos T citotóxicos específicos, envolvidas na defesa contra essas infecções. A acumulação intensa das células efectoras de defesa específica irá comprometer a capacidade de resposta a outros processos infecciosos, nesta faixa etária [132,133].

Estas células produzem grandes quantidades de Interferão (IFN $\gamma$ ) enquanto produzem quantidades reduzidas de IL2 e de IL4 podendo estar na origem dos processos inflamatórios crónicos descritos para o idoso e na eficácia limitada das vacinas, por deficiente indução de anticorpos, neste grupo etário. Está contudo descrito, por Herndler-Brandstetter (2005) um grupo de linfócitos CD8 que expressam também o marcador CD25, mas sem função reguladora. Esta população linfocitária descrita em indivíduos idosos saudáveis, representam um reservatório de linfócitos T de memória de grande diversidade, e que

parece ser importante numa fase etária onde as células *naive* têm um limitado potencial de regeneração [134].

### **Linfócitos $\gamma\delta$**

Durante a ontogenia tímica, o rearranjo e a expressão a nível celular das cadeias  $\gamma$  e  $\delta$  do TCR ( $\text{TCR}_{\gamma\delta}$ ) precede o das cadeias  $\alpha\beta$  apesar da ocorrência de rearranjos simultâneos da cadeia  $\beta$  com as cadeias  $\gamma\delta$  [135].

Os linfócitos de diferenciação extratímica são mais frequentemente do tipo  $\gamma\delta$ . Estes LT  $\gamma\delta$  representam 1 a 10% dos linfócitos maduros circulantes e desempenham funções importantes tanto na primeira linha de defesa imunitária contra agentes microbianos como na regulação da inflamação crónica. Os linfócitos  $\gamma\delta$  humanos são compostos de várias sub-populações com diferentes propriedades de *homing* (localização específica) e receptores antigénicos diversificados. A sua presença é particularmente importante no pulmão, na pele e no intestino. Os linfócitos  $\text{TCR}_{\gamma\delta}$  têm capacidade de sintetizar rapidamente e em quantidade  $\text{INF}\gamma$  em resposta nomeadamente, a agentes microbianos [136].

Segundo Romano (2000) e Rogers (2005) o número absoluto de linfócitos  $\text{T}_{\gamma\delta}$  circulantes pode estar muito reduzido em idosos e em centenários como consequência da redução do número total de linfócitos [137, 138].

Apresentam também, segundo Colonna-Romano (2004), Argentati (2002) e outros autores, uma funcionalidade proliferativa reduzida em resposta a diferentes estímulos, bem como uma tendência acrescida para iniciar processos de apoptose [139,140,141,142].

### **Células *natural killer***

As células NK apresentam como antígenos de diferenciação típicos, o CD16 (receptor de baixa afinidade para a IgG - Fc $\gamma$ RIII) e o CD56. Não expressam o receptor de superfície TCR nem o complexo CD3 e constituem a terceira população mais numerosa de linfócitos, representando cerca de 5 a 10% dessa população. Os meios de defesa que constituem a imunidade inata do hospedeiro contra organismos patogénicos têm uma intervenção muito precoce, precedendo a da imunidade adquirida. Para Bach-Olszewska (2005), fazem parte deste sistema inato as células NK, células dendríticas (DCs), macrófagos, LT  $\gamma\delta$  e neutrófilos [143].

As células NK apresentam-se como uma população heterogénea, sendo os *large granular lymphocytes* (LGL) reconhecidos como particularmente activos. Os seus grânulos, ricos em substâncias citotóxicas como perforinas e granzimas, têm capacidade de destruição dirigida a tumores e a agressores infecciosos. A sua acção não depende da presença de anticorpos específicos na superfície de células alvo, nem está sujeita a restrição HLA. Os mecanismos que podem mediar a lise celular são diversos e podem resultar da citotoxicidade directa mediada pelo conteúdo dos grânulos que danificam o ADN ou pela via do CD95/CD95L. Os linfócitos NK têm receptores de membrana para o fragmento fc das IgGs podendo por isso interagir com células alvo revestidas por ac, que ao ligar-se ao receptor de ac facilitam a acção citotóxica da célula NK. O reconhecimento das células alvo pelos linfócitos NK é efectuado por duas classes de receptores, sendo uns activadores, os KARs (do inglês *Killer Activator Receptor*) e outros inibidores, os KIRs (do inglês *Killer Inhibitor Receptor*). Os KIRs ligam-se à molécula MHC-I da célula alvo e emitem sinais inibitórios relativamente a células que expressem estas moléculas. A resposta final do linfócito NK face à célula alvo depende do balanço entre os sinais positivos e negativos emitidos [144,145,146].

É reconhecido que os Linfócitos NK com expressão CD56<sup>hi</sup> terão uma elevada capacidade de produção de citocinas e de quimiocinas, como o IFN- $\gamma$ , o TNF  $\alpha$ , o GM-CSF (do inglês *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*), o MIP-1 $\beta$  (do inglês *Macrophage Inflammatory Protein 1 Beta*) e o RANTES (*Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*) tendo simultaneamente uma actividade citotóxica mais reduzida que os LNK com expressão CD56<sup>lo</sup>. Os LNK com expressão CD56<sup>lo</sup> representam a grande maioria dos LNK circulantes. Os linfócitos NK também expressam um elevado número de receptores de superfície para numerosas citocinas, podendo ser activados por citocinas presentes no ambiente em que se encontram [147].

Os estudos de resposta imunitária no idoso têm mostrado que o processo de envelhecimento não afecta apenas a resposta dos linfócitos T e B, mas envolve também aspectos da imunidade inata [148,149].

Associadas à idade avançada têm sido descritas alterações no número e função das células NK. Parece haver consenso relativamente ao progressivo aumento das células NK com fenótipo de maturação e declínio da sua capacidade citotóxica, nomeadamente da sua capacidade de produção de IFN $\gamma$  e de quimiocinas [147].

### **Linfócitos T *natural killer***

Os linfócitos NKT são um subgrupo de linfócitos que partilham propriedades das NK e dos linfócitos convencionais. Estas células produzem de forma extremamente rápida IL2, IL4, IFN $\gamma$  e TNF $\alpha$  por estimulação do seu TCR e conservam actividade citotóxica. Tanto podem exercer uma função reguladora como potenciadora em doenças inflamatórias, em doenças autoimunes, na diabetes e na asma. É possível distinguir duas populações de Linfócitos NKT: linfócitos T dependentes de moléculas CD1d (moléculas especializadas na apresentação de lípidos) que podem expressar um TCR conservado ou variável e linfócitos T dependentes de moléculas do MHC clássicas, com TCR mais variável e

com vários receptores NK. Os primeiros são considerados NKT-1, constituindo uma fracção muito reduzida dos linfócitos T (menos de 5%), sendo os segundos, os NKT-2 os numericamente mais representativos (entre 10 a 30%). Ambos podem expressar CD4 e CD8, admitindo-se que os NKT-1 possam produzir citocinas do perfil Th1 e Th2, enquanto os NKT-2, mais numerosos, produzem fundamentalmente citocinas do perfil Th1. Os NK-T1CD8 também produzem maioritariamente citocinas do tipo Th1. Estudos realizados em doentes com infecções e em idosos centenários saudáveis, em que os NKT-2 estão aumentados fornecem indicações de que a activação de NKT-2 pode ser efectuada por diversos tipos de antigénios. Os linfócitos NKT-2 são maioritariamente CD8 (cerca de 75%) e podem expressar receptores inibidores, KIRs. Algumas das características dos linfócitos NKT-2 são partilhadas pelos linfócitos Treg CD8, nomeadamente a ausência de CD28 e de CCR7, assumindo-se que possam ser a mesma população.

No indivíduo idoso observa-se um aumento de NKTCD8, particularmente NKT2CD8 que expressam CD56 e CD57 e que, embora expressando perforinas e granzimas intracitoplasmáticas, mostram uma resposta proliferativa pobre à IL2 e a outras citocinas. Pensa-se que estes linfócitos NKT que se expandem durante o envelhecimento conservem propriedades imunorreguladoras pela produção de citocinas como a IL4 e IFN $\gamma$  e tenham uma actividade citotóxica aumentada [150,151].

### **Células *naive* e células de memória**

A migração, proliferação, diferenciação e finalmente a selecção de linfócitos T pressupõe uma entrada contínua de células no timo. A exposição antigénica determina a expressão de novas moléculas à superfície celular, confere-lhe propriedades proliferativas e de migração e transforma-as em células efectoras e em células de memória.

É sabido que a timopoiese fornece continuamente ao sistema imunológico linfócitos T com fenótipo *naive* (CD45RA, CD62L CD27, CD28) e esse aporte, apesar de se reduzir com o crescimento, pode prolongar-se de forma eficaz durante a vida adulta [152,153].

Com efeito, segundo Haynes (2000), existem dados indicativos de que a timopoiese continua ao longo da vida, apesar da progressiva substituição, por gordura, dos espaços anatómicos tímicos [154].

As células com emigração recente do timo podem ser identificadas pela presença de fragmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN) que permanecem durante o rearranjo do receptor TCR do linfócito T, denominado TRECs (*T receptor excision circles*) [155]. Existem, segundo Poulin (1999), linfócitos T expressando TRECs em indivíduos com mais de 50 anos de idade [156].

A memória imunológica ou seja a capacidade para reconhecer os antigénios com que existiu contacto prévio e de promover uma resposta secundária mais rápida, constitui um marco central da resposta imunológica dos vertebrados. Esta resposta resulta do aumento dos linfócitos T (e também dos LB) que reconhecem o antigénio e deverá permitir uma eliminação mais célere do mesmo [157]. De acordo com Ganusov (2006), os estímulos de proteínas com identidade antigénica provocam respostas de reactividade cruzada e por isso aumentam a sobrevivência dos linfócitos de memória e a expansão destas linhagens celulares enquanto limitam a expansão de linhagens celulares tipo *naive*. Ocorre pois um declínio a diferentes ritmos das diferentes linhagens *naive* tornando-se predominantes as células sensibilizadas para estímulos a que o indivíduo está habitualmente exposto. Observa-se um posterior declínio desta população de linfócitos quando se dá uma exposição a novos patógenos, provocando a substituição de memórias antigas por memórias recentes [158].

Aparentemente no indivíduo idoso a expressão do fenótipo *naive* diminui a favor do fenótipo de memória associado a modificações no

padrão de secreção de citocinas. A redução de linfócitos T *naive* no sangue periférico implica um empobrecimento do repertório potencial de linfócitos, com conseqüente resposta limitada a novos antigénios com o decorrer da idade. Aliás vários tipos linfocitários sofrem alterações do seu fenótipo com o processo de envelhecimento, aumentando a expressão de fenótipos de memória, não apenas a nível das populações CD4 como também nas CD8 [159,160].

Contudo, mesmo indivíduos centenários conservam um número significativo de células *naive*, existindo dados sugerindo que os seus valores relativos e absolutos poderão permanecer praticamente inalterados a partir dos 40 anos de vida.

A diferenciação extratímica dos LT pode ocorrer especialmente no fígado, intestino e cavidade peritoneal. Inicialmente pouco importante, pode tornar-se predominante com o envelhecimento [161].

O estudo imunohistológico de gânglios linfáticos também reconhece nestas estruturas a redução com a idade, do número de linfócitos *naive* CD45RA [162].

### **Subpopulações de linfócitos T CD4**

As sub-populações de células T *helper* não são homogéneas podendo distinguir-se 4 grupos com padrões de secreção de citocinas diferentes. As células Th0 são precursoras das Th1, Th2, Th3, nunca contactaram com antigénios e expressam marcadores de diferenciação CD4 e CD45RA. Estão envolvidas em respostas consideradas heterogéneas e pouco diferenciadas, ou seja, com características Th1 e Th2. As células Th que já contactaram com antigénios, expressam marcadores de diferenciação CD4 e CD45RO, são consideradas células de memória ou *primed* e são as predominantes na população adulta e idosa [163,164].

A resposta do sistema imunitário a um antigénio específico está largamente dependente da selecção ou da activação, preferencial de uma

das sub-populações, Th1 ou Th2 dos linfócitos T *helper* (CD4). Estes subtipos linfocitários são capazes de secretar padrões de citocinas bem definidos e, assim, desencadear uma resposta efectora diferente. A divisão nestes subtipos celulares resulta da capacidade destes linfócitos T para reconhecerem antigénios de natureza diferente promovendo dois tipos de respostas imunitárias também diferentes, tipificadas na resposta a micobactérias de hipersensibilidade celular retardada e na resposta a alergénios de hipersensibilidade tipo I, medida por IgE. As células Th1 estão envolvidas na resposta imunitária mediada por células, nas reacções de hipersensibilidade retardada dirigida a micro organismos intracelulares, como bactérias e vírus e só induzem a síntese de algumas classes de imunoglobulinas. As células Th2, que têm uma função de auxiliares, estão vocacionadas para a síntese de Igs, particularmente de IgE e estão ligadas preferencialmente à hipersensibilidade imediata. As células Th2 induzem a síntese pelo LB de IgM, IgG, IgA e IgE, sendo a IL4 considerada essencial para a síntese desta última.

A análise extensa de células CD4, mostrando fenótipos definidos Th1 ou Th2, tem permitido a definição de outras propriedades funcionais destas populações.

As células Th1 aumentam a produção de IgG e de IgM, que facilita a fagocitose direccionada quer à destruição de microorganismos quer à função de apresentação antigénica, nomeadamente por macrófagos, e induzem ainda a função citotóxica [165,166]. As células Th1 têm também uma actividade citolítica induzindo a migração transendotelial e o *homing* das células inflamatórias, como macrófagos, neutrófilos e linfócitos.

Estas células expressam receptores para a IL1 e produzem citocinas do tipo IFN $\gamma$ , IL2 e TNF $\beta$ . A presença de IL12, produzida fundamentalmente pelas células apresentadoras, na altura da apresentação antigénica às células T *naive* induz a polarização no sentido Th1. Ambas as sub-populações, Th1 e Th2, segregam em quantidades diferentes TNF $\alpha$ , IL3, GM-CSF, IL6 e IL10. A produção de TNF $\alpha$  é

superior nas células Th1, enquanto as Th2 produzem mais IL3, GM-CSF, IL6 e IL10. As células Th2 produzem também citocinas do tipo IL4, IL5, IL9, IL13 e participam de modo particular na resposta a microrganismos mediada por anticorpos. A relação Th1/Th2 vai ser determinante para que ocorra um tipo de resposta imunológica predominantemente mediada por células ou por anticorpos. As sub-populações Th respondem de forma diferente a certas citocinas. A IL2 aumenta a resposta proliferativa induzida por antigénios e a síntese de citocinas por ambos os tipos de células, enquanto a IL4 tem um efeito potenciador na proliferação e síntese das Th2, mas não das Th1 [167].

As células Th3 produzem principalmente  $TNF\beta$  estando envolvidas em processos de cicatrização [167].

No idoso a capacidade de produção de citocinas está modificada com redução do padrão Th1 e produção aumentada de citocinas do tipo Th2 [163,164].

A caracterização de clones de células T obtidos de idosos centenários evidenciou perfis intermédios de secreção, produzindo simultaneamente IL4 e  $IFN\gamma$  (Th0), em cerca de 50% dos indivíduos deste grupo etário comparativamente aos cerca de 25% observados na população estudada mais jovem, segundo refere Paganelli (1996) [168].

Apesar do conhecimento existente relativamente a alguns receptores expressados preferencialmente em células Th1 e em células Th2 não é possível estudar com segurança estes dois subtipos do linfócito CD4 baseado em aspectos fenotípicos.

### **Subpopulações de linfócitos T CD8**

Os linfócitos T CD8 também apresentam heterogeneidade quanto à produção de citocinas com padrões idênticos aos Th1 e Th2. São conhecidos pelas suas actividades citolíticas e também pela capacidade de produção de citocinas características dos Th1, particularmente o  $IFN\gamma$ .

O papel patogénico destas citocinas seria coadjuvado pela IL1, IL6 e TNF $\alpha$  bem como pela acção de espécies reactivas de oxigénio e de nitrogénio. Estes linfócitos têm também capacidade de produzir citocinas Th2, nomeadamente IL4 e IL10 podendo por isso igualmente desempenhar um papel imunorregulador. A produção de TGF $\beta$  (do inglês *Transforming Growth Factor  $\beta$* ) pelos linfócitos CD8 é responsável pela supressão da inflamação das doenças autoimunes de mediação celular [166,169].

### **Monócitos e células apresentadoras de antígeno**

As células dendríticas são importantes células apresentadoras de antígeno com capacidade única para estimular células T *naive*. Trabalhos experimentais com desenvolvimento em laboratório destas células a partir de monócitos revelaram que células dendríticas, mesmo de indivíduos idosos conservavam a capacidade de estimulação e indução de proliferação de células T. Ainda de acordo com Lung (2000), esta função de apresentação antigénica parece, no entanto, estar reduzida nos monócitos da população idosa [170].

### **Resposta a antígenos**

Um problema crucial do sistema imunológico no idoso consiste na reduzida capacidade proliferativa do componente celular ou seja, o pool de células diferenciadas diminui por diminuição das células estaminais estando a expansão clonal em resposta aos estímulos antigénicos diminuída. Parece, no entanto, que esta modificação motiva sobretudo um atraso na resposta, tendo uma repercussão mais modesta relativamente à intensidade dessa resposta. Uma célula apresentadora eficiente e um micro ambiente adequado podem, por ventura garantir, o estímulo necessário para o processamento mais eficiente dessa resposta.

As modificações imunológicas que ocorrem no repertório de linfócitos B do idoso incluem alterações a nível da especificidade de

anticorpos, alterações nos isotipos de acs (comutação do isotipo IgG para o IgM que tendencialmente manifesta especificidade para auto-antigénios) e ainda no grau de afinidade, havendo uma mudança, neste grupo etário de ac de alta para baixa afinidade [171].

Sabe-se que a produção de anticorpos específicos tanto em resposta à inoculação antigénica através da administração de vacinas como contra antigénios ambientais, se encontra reduzida com a idade. A produção de auto anticorpos estará aumentada, não sendo notória qualquer alteração importante da concentração sérica total de Igs [172].

A capacidade de produção de IL2 e de IFN $\gamma$  diminui com a idade, não se verificando alterações na produção de IL4 e IL6. Esta alteração no equilíbrio de citocinas tem interferência no padrão da resposta imunitária no envelhecimento manifestado por uma resposta humoral normal ou aumentada, e uma resposta celular diminuída [173].

### **Marcadores de activação**

Para que os linfócitos estabeleçam respostas imunológicas eficazes é necessário que estejam activados. Nesse processo expressam receptores de superfície que irão facilitar as suas funcionalidades. A expressão desses marcadores está intimamente associada ao tipo de antigénio que desencadeou a resposta e conseqüentemente à acção que irão exercer.

O CD29 correspondendo à cadeia  $\beta$ 1 de uma molécula de adesão da família das integrinas, expressa-se quando as células entram na fase G1 do ciclo celular, representa um dos principais mecanismos de adesividade celular, particularmente importante para os eosinófilos e tem tendência a aumentar no indivíduo idoso [174,175].

A molécula DR do MHC está presente nas cadeias celulares envolvidas em processos imunoinflamatórios. Associado ao envelhecimento está descrito uma redução do número de moléculas

expressas por LT, embora o número de HLADR em LT activados, esteja aumentado nos idosos. Considerando a expressão molecular DR em linfócitos B constata-se que existe uma diminuição significativa no número de células HLADR, embora se mantenha inalterada a sua expressão por célula [176,177].

O CD25 é uma glicoproteína formada pela cadeia  $\alpha$  do receptor de interleucina 2 (IL2R $\alpha$ ) e está presente em linfócitos B e T activados e em macrófagos. Como o CD25 aumenta em linfócitos Th2 e Th1 activados mas está também presente em linfócitos T reguladores é necessário identificar outros marcadores para se fazer a distinção entre células reguladoras e células activadas. Este marcador de activação parece aumentar com o envelhecimento [177,178].

### **Células T reguladoras**

A acção das células T supressoras promove um importante mecanismo de regulação da resposta imunológica. Está geralmente implicada em processos de anergia clonal, tais como os dependentes da exposição a altas concentrações de antigénios proteicos; da exposição a haptenos sem a presença em simultâneo de adjuvantes; dos dependentes do reconhecimento do Antígeno na ausência de APC e do MHC ou da secreção de factores supressores/inibidores específicos para o Ag [179].

A actividade supressora que se verifica nas respostas imunológicas continua muitas vezes a ser atribuída a uma acção conjunta de uma série de factores, não directamente ligados aos linfócitos T supressores.

Os linfócitos T *helper* são reconhecidos como intervenientes fundamentais na indução e manutenção da resposta imunológica. Contudo, surgiram recentemente dados irrefutáveis, como os de Pyzik (2007) que, atribuem aos linfócitos CD4 capacidade importante de regulação negativa neste processo [180]. Esta capacidade é hoje reconhecida quer nas células reguladoras naturais quer nas reguladoras

induzidas ou adaptativas. Assim diversos subtipos de células reguladoras têm vindo a ser descritos nomeadamente linfócitos NKT, CD8CD25, CD8CD28, linfócitos  $\gamma\delta$ , Linfócitos CD4 produtores de interleukin-10 -Tr1 (do inglês *T-regulatory-1 cell*), linfócitos secretores de TGF- $\beta$  (Th3) e linfócitos reguladores naturais CD4- TREGs (do inglês *regulatory T-cells*).

As células T reguladoras naturais expressam CD4CD25 e constituem cerca de 10% dos LT auxiliares (CD4) totais, expressando ainda CD28, receptor do factor de necrose tumoral induzido por corticosteroide, CTLA-4, TGF $\beta$  e receptor do TGF $\beta$  tipo II. Demonstram incapacidade de proliferação e, *in vitro*, inibem a proliferação de outros linfócitos T, tendo necessidade de contacto directo para exercer a sua acção de modulação. Foi entretanto reconhecido que as células reguladoras podiam ser CD25 – e que o receptor da cadeia  $\alpha$  da IL2, CD25, aparecia em outras células activadas e não necessariamente envolvidas em mecanismos de regulação. A presença do factor de transcrição FoxP3 (do inglês *forkhead/winged helix transcription factor*) afigura-se como essencial para a identificação de células T reguladoras naturais. As células reguladoras exercem uma acção benéfica na redução da resposta a enterobactérias, na tolerância aos enxertos e de um modo geral em todas as situações em que a resposta é exagerada e lesiva. São reconhecidas como mediadores da resposta imunológica reguladora periférica e desempenham um papel central no controlo da autoimunidade e das respostas imunológicas específicas a patogénios. A eliminação de linfócitos CD4 e CD8 activados pode estar dependente da perforina ou da granzima, ou ser mediada pelo receptor CTLA-4, sendo as suas capacidades de modulação susceptíveis de ser influenciadas pelo TGF $\beta$ , IL10 e IL2. Contudo, a sua intervenção, pode permitir um desenvolvimento mais facilitado de patologia tumoral e autoimune. Pesquisa desenvolvida em animais e observações directas em seres humanos revelaram que a ausência de FoxP3 está associada a perda de tolerância e a desregulação imunológica. A transcrição retroviral de FoxP3 a células CD4CD25– é suficiente para induzir células CD4CD25

com função reguladora. O FoxP3 não demonstra uma regulação positiva como resposta à activação, ao contrário do CD25 que é um marcador de activação. O TGF $\beta$  pode induzir o FoxP3 em células CD4CD25-, transformando-as desse modo em células CD4CD25 reguladoras. As células T reguladoras naturais parecem desempenhar uma acção limitada na resposta inicial das células T, de *priming*, reservando um papel mais activo na supressão das respostas subsequentes, inibindo desta forma uma resposta mantida. Existe aparentemente alguma heterogeneidade na população de Treg, apresentando algumas células grande longevidade, sem contudo se dividirem enquanto outras conservam capacidade de replicação, nomeadamente como resposta a autoantígenos periféricos, dependendo por isso mais de sinais co-estimulatórios locais, conforme referem Vukmanovic-Stejic (2006) e Akdis (2005) [181,182].

O número de linfócitos CD4CD25 e CD4CD25<sup>hi</sup> em voluntários saudáveis aumenta com a idade, atingindo os valores mais elevados depois dos 60 anos de idade segundo Gregg (2005). Do ponto de vista funcional, de acordo com estudos *in vitro*, terão comportamentos de supressão semelhantes nos grupos etários jovens e idosos [183]. O CD25 sendo, sem dúvida, um marcador dos linfócitos com fenótipo CD4 com actividade supressora é também um marcador de activação celular. Contudo, nestes linfócitos CD4CD25 não se observa a expressão de outros marcadores de activação recente como HLADR ou CD69 ou de activação antiga como o CD71. A expressão de CTLA-4 é preferencial nesta população linfocitária, não se modificando com a idade. É pois, de acordo com Bryl (2004) de considerar que a população de linfócitos CD4CD25 identificada como Treg esteja aumentada na população idosa. Reconhecida a involução tímica decorrente da idade especula-se sobre possíveis causas que motivem o acréscimo destas células. Admite-se que, pelo menos em parte, possam resultar da acção da IL10, produzida por Tr1. Por outro lado, no idoso, não existirá um estado anérgico persistente, e a presença de uma inflamação crónica quiescente já

reconhecida nesta população, pode favorecer a ocorrência de linfócitos Treg na periferia. A sua acção pode traduzir-se num contributo negativo por favorecer um declínio na resposta adaptativa, característico da imunosenescência [133,183,184,185,186,187].

## **Apoptose**

A apoptose é um mecanismo importante na regulação do sistema imunológico e estabelece tolerância central e periférica. A apoptose nos linfócitos é regulada por produtos genéticos que induzem ou bloqueiam este processo.

A molécula Fas, ou APO1 (designada também por CD95), faz parte integrante da regulação fisiológica da apoptose e é um receptor presente à superfície celular. Pertencendo à família do receptor do factor de crescimento neural (CD40) e do receptor do factor de necrose tumoral alfa (RTNF $\alpha$ ) da superfamília das moléculas de sinalização da apoptose, a porção citoplasmática do Fas é muito semelhante ao CD40 e ao RTNF $\alpha$  [188, 189].

Além de favorecer a eliminação de células auto-reactivas, o Fas tem também interferência na apoptose das células activadas que se encontrem em excesso no decurso de uma resposta imunitária normal. Verificou-se que a expressão de Fas aumenta durante a activação celular sendo a sua desregulação susceptível de causar doença.

Segundo Donnini (2004) e outros autores, na idade avançada o processo de apoptose é importante, uma vez que determina a eliminação das células senescentes, constituindo uma forma de depuração celular que garante a homeostasia [190,191].

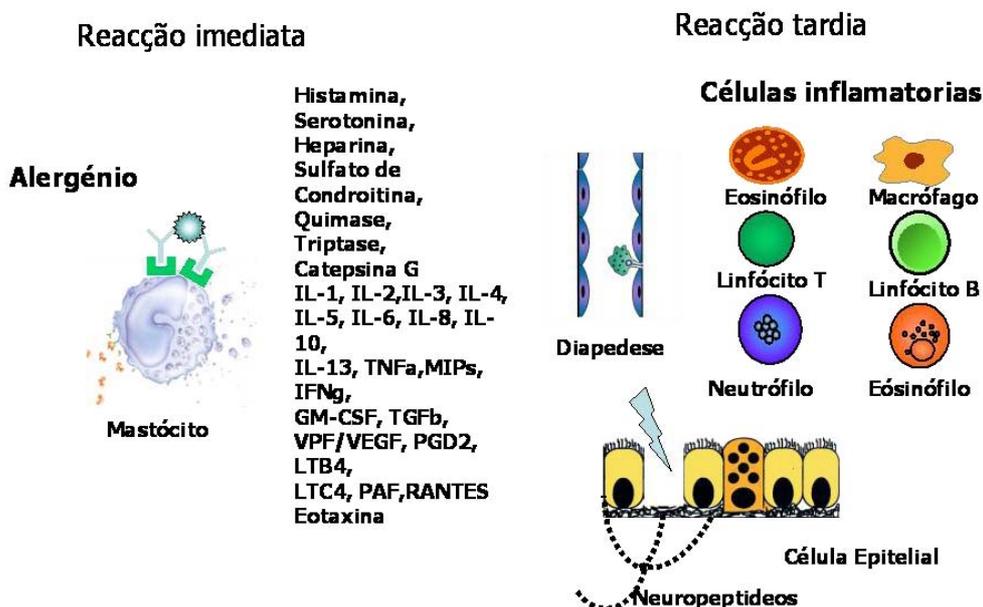
Durante o envelhecimento a apoptose pode ser modelada por diversos factores que terão impacto variável no envelhecimento saudável, estando demonstrado que quando este mecanismo é menos eficiente, é favorecido o aparecimento de doença [192].

## Patogenia da Asma

### Reacção Imediata: o mastócito e a imunoglobulina E

A patogenia da asma tem subjacentes mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo inflamatório das vias aéreas (Fig. 3)

### Reacção Alérgica



**Figura 3** - Esquema com representação sucinta da patogenia da asma alérgica. Está representada a reacção imediata, com desgranulação do mastócito mediada pela IgE e a reacção tardia em que ocorre vasodilatação e infiltração dos tecidos por células inflamatórias, destruição de células epiteliais e exposição de terminais nervosos. A libertação continuada de mediadores celulares com origem nas diferentes células envolvidas favorece a cronicidade do processo.

Na asma alérgica essa inflamação é em larga medida dependente da sensibilização mediada pela IgE, que tem capacidade de reconhecer alérgenos ambientais. Assim, conforme referido acima na introdução ao conceito de alergia, o contacto do alérgeno sensibilizante com a IgE ligada a receptores de alta afinidade, que se encontram na membrana celular de mastócitos e de basófilos, ricos em mediadores da inflamação, através de uma reacção antigénio-anticorpo, provoca a

desgranulação destas células. Dá-se então a libertação de mediadores pré-formados (histamina, proteoglicanos, proteases séricas, carboxil peptidase A e sulfatases) e derivados lipídicos de membrana (leucotrienos e prostaglandinas), susceptíveis de causar contracção do músculo liso brônquico e inflamação da mucosa respiratória ou seja, provocar broncospasmo e edema. Os mastócitos são também fontes importantes de citocinas que podem estar armazenadas no meio intracelular ou surgir apenas depois de transcrição génica. Uma extensa lista de citocinas foi associada aos mastócitos que incluem a IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL13, IL16, TNF- $\alpha$ , GM-CSF e MIP-1 $\alpha$ .

A etiologia da asma intrínseca é múltipla e frequentemente mal esclarecida estando muitas vezes subjacentes agressões de agentes infecciosos e de químicos, também susceptíveis de originar inflamação brônquica e hiperactividade das vias aéreas.

A síntese de IgE pelos plasmócitos é induzida pela acção de citocinas como a IL4 e a IL13 produzidas pelos linfócitos Th2, presentes na mucosa brônquica, de acordo com Parronchi (1999) e outros autores. Por definição todos os asmáticos alérgicos têm níveis elevados de IgE específica para determinantes conformacionais do mesmo alergénio inalante ao qual os linfócitos Th2 apresentam especificidade relativa. Para Humbert (1996) e outros autores quantidades muito reduzidas destes determinantes e também muito reduzidas de IgE sérica específica, podem ser suficientes para proporcionar uma resposta retardada de hipersensibilidade mediada por linfócitos Th2. Uma vez que estas doses são inferiores às necessárias para serem detectadas em testes de sensibilidade cutânea por picada, esse processo pode ocorrer em asma intrínsecas [193,194]. Os alérgicos têm respostas intensas mesmo a doses ínfimas de alergénio e com a intervenção da IgE, podem produzir respostas biológicas de grande extensão. Os doentes com asma não mediada por IgE, ou seja, com asma intrínseca, têm achados imunopatológicos muito idênticos aos dos alérgicos, com

uma resposta inflamatória rica em eosinófilos, sugerindo um processo imunopatológico idêntico nas duas situações. Admite-se, por isso que a inflamação nas asma intrínsecas possa resultar também de respostas mediadas por IgE mas de menor intensidade, direccionadas a numerosos alergénios já conhecidos ou ainda desconhecidos, mas presentes no meio ambiente e capazes de mobilizar uma resposta preferencial do tipo Th2. Os mecanismos de inflamação mediados pela IgE, podem pois ocorrer na ausência de padrões de hipersensibilidade a aeroalergénios reconhecidos. Pode também acontecer o recrutamento de linfócitos T com receptores  $\alpha\beta$  específicos para os mesmos tipos de desencadeantes e conducentes a uma resposta inflamatória do tipo eosinofílica por mecanismo de hipersensibilidade retardada mediada por linfócitos Th2. Na asma intrínseca podem ainda ser desenvolvidas respostas mediadas por IgE a agentes infecciosos que contactam a mucosa respiratória ou ainda a moléculas do indivíduo, num mecanismo semelhante ao que ocorre em patologia autoimune [195,196,197].

De acordo com Dakhama (2004) a infecção pulmonar com vírus sincicial respiratório (RSV) induz a expressão de mRNA para a IgE e para os seus receptores, atingindo a IgE específica no soro um pico, 21 dias após infecção. Este vírus promove a desgranulação mastocitária das células sensibilizadas sendo reconhecido que a IgE específica para o RSV contribui para a fisiopatologia da disfunção das vias aéreas. Do mesmo modo a IgE específica para *Chlamidia pneumoniae* está presente na asma, particularmente em idade pediátrica [198,199,200].

Ying (2001) refere que a avaliação na mucosa brônquica de mRNA de transcrição de IgE revelou valores semelhantes em asmáticos atópicos alérgicos e não alérgicos [201].

Na asma podem ser necessárias quantidades mais reduzidas de alergénio e, conseqüentemente, graus de sensibilização menores para a ocorrência de doença, comparativamente ao que acontece nas situações de rinosinusite ou de dermatite. Estes dados, evidentemente,

não excluem a intervenção adicional de outros agentes etiológicos, particularmente infecciosos, mas sem intervenção de IgE, na asma intrínseca [202,203].

### **Reacção Tardia: infiltrado celular**

As células inflamatórias têm origem na medula óssea, sofrem um processo de maturação e diferenciação, são libertadas para a circulação e, na asma dirigem-se preferencialmente para as vias aéreas onde está a decorrer uma resposta inflamatória. De facto esta resposta tardia ocorre como consequência de uma regulação positiva de aminas vaso activas, citocinas, quimiocinas e de moléculas de adesão que motivam a activação e o recrutamento de células inflamatórias, em particular dos linfócitos, basófilos e eosinófilos e ainda, de uma forma mais modesta, de neutrófilos e monócitos/macrófagos para o local onde ocorreu o contacto. Conforme refere Busse (2001) e Pearlman (1999), a resposta tardia, fortemente condicionada pela acção das células inflamatórias e respectivos mediadores, está associada a congestão, produção de muco e hiperactividade brônquica [204,205].

A mediação do factor de crescimento para granulócitos e macrófagos GM-CSF, com origem em linfócitos Th2 tem capacidade amplificadora sobre a diferenciação e activação das células inflamatórias chamadas a contribuir neste processo. A IL5, libertada por linfócitos Th2 e mastócitos, estimula a mobilização de eosinófilos a partir da medula óssea e a sua activação. A infiltração de tecidos por eosinófilos é uma característica da inflamação da asma brônquica [206].

Está, aliás, também demonstrado que, mesmo em asma não alérgicas se observam na mucosa brônquica valores elevados de citocinas pró-eosinofílicas, nomeadamente de IL5.

Os eosinófilos que infiltram a mucosa brônquica fixam também IgE na sua membrana e respondem ao contacto com o alergénio, libertando mais mediadores. A acumulação de eosinófilos gera

quimiocinas pró-inflamatórias e enzimas citolíticas incluindo a proteína catiónica eosinofílica e a proteína básica *major* que provocam ruptura da integridade do epitélio das vias aéreas. De facto, três tipos celulares principais estão envolvidos no processo alérgico: Eosinófilos, Basófilos/Mastócitos e Linfócitos Th2. De acordo com Wenzel (2005), Schuh (2003) e outros autores, as células epiteliais, endoteliais e os macrófagos são fontes importantes de eotaxinas, de RANTES e de MCP (*Monocyte Chemotactic Protein*) 3 e MCP4 que potenciam o dano decorrente no processo alérgico [2,207,208].

Segundo Karagiannidis (2006), alterações ocorridas a nível da micro circulação brônquica, com ruptura da parede vascular e transudação plasmática, acentuam o edema e o estreitamento das vias aéreas. O número e dimensão dos vasos sanguíneos aumentados na asma, a hipertrofia do músculo liso brônquico e os depósitos proteicos a nível da membrana basal completam o quadro de remodelação observado na asma de longa evolução [209].

## **Macrófago**

De um modo geral aceita-se que a resposta imunológica mediada por células depende da activação dos linfócitos T do tipo Th1 os quais caracteristicamente produzem e libertam interferão gama ( $IFN\gamma$ ) e interleucina 2. Por outro lado, os linfócitos do tipo Th2 quando activados, promovem a libertação de citocinas como a IL3, IL4, IL5, IL9, IL10, IL13, GM-CSF e ainda IL2. Estão por isso envolvidos na resposta imunitária humoral, particularmente em patologia alérgica, na produção de IgE específica, conforme foi referido anteriormente [210].

Os macrófagos alveolares são células presentes no lúmen das vias aéreas, por isso localizadas na interface entre o hospedeiro e o meio ambiente. Reconhecem agentes agressores e participam na sua eliminação. As endotoxinas presentes em ambientes domésticos e profissionais têm também capacidade de activar macrófagos. A

exposição de asmáticos a estas endotoxinas, consideradas parte integrante dos poluentes de interior pode provocar reacções de broncoconstricção [211].

Os macrófagos podem ainda desempenhar o papel de células apresentadoras de antigénio, embora essa actividade seja muito reduzida em indivíduos saudáveis. Na asma, segundo John (1998) e Tang (2001), assiste-se a uma activação rápida dos macrófagos presentes nas vias aéreas bem como ao influxo de monócitos que expressam moléculas MHC classe II possuindo, por isso, uma capacidade aumentada para o desempenho como células apresentadoras e contribuindo, deste modo, para a inflamação das vias aéreas. Os macrófagos dos asmáticos quando estimulados produzem níveis elevados de  $TNF\alpha$  e mais reduzidos de IL10. O  $TNF\alpha$  produzido nas vias aéreas dos asmáticos funciona como um factor amplificador da doença. Os monócitos e os macrófagos expressam ainda o receptor de baixa afinidade para a IgE, CD23 e podem, por isso, ser activados por exposição a alergénios. A apresentação antigénica efectuada por macrófagos promove preferencialmente a activação de linfócitos com perfil de citocinas do tipo Th1 ao mesmo tempo que reduz a produção de IL5, estando contudo, essa capacidade diminuída em asmáticos [212,213].

De acordo com Ledochowski (2001), Kaski (2003), Mildvan (2005) e outros autores, a neopterina (NPT) é produzida em quantidades aumentadas por monócitos e macrófagos durante a resposta do tipo Th1 pela estimulação de interferão- $\gamma$ , sendo possível monitorizar a activação imunitária mediada por células do tipo Th1 com a determinação da sua concentração [214,215,216,217].

### **Epitélio brônquico**

O epitélio brônquico desempenha um duplo papel na imunopatogenia da asma brônquica. Por um lado, as células colunares

são lesadas e destacam-se, originando um desnudamento epitelial que, abre caminho à penetração do alergénio e ao seu contacto com células dendríticas e simultaneamente expõe fibras não-mielinizadas do sistema nervoso autónomo (SNA). As células dendríticas captam o alergénio e apresentam-no aos LTh2. Por outro lado, as células epiteliais quando activadas podem sintetizar diversos mediadores nomeadamente citocinas e factores de crescimento biologicamente activos. As células epiteliais são capazes de libertar quantidades importantes de espécies reactivas de oxigénio e de espécies reactivas de nitrogénio e de se comportar também como células apresentadoras [218].

## **Neuropeptídeos**

A acção de neuropeptídeos pró-inflamatórios, nomeadamente da substância P (SP), facilita a ocorrência de broncoconstrição. Se ocorrer falência de metabolização de agonistas específicos destes receptores do SNA e das enzimas responsáveis pela degradação de neuropeptídeos o seu tempo de acção é naturalmente prolongado.

Estão identificados receptores distintos para as taquicininas, tendo a SP afinidade máxima para o receptor neuroquinina 1. Da activação deste receptor resulta secreção de muco, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, migração e activação de células inflamatórias como linfócitos, mastócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos [219].

A SP tem acções pró-inflamatórias e de broncomotricidade contribuindo para as alterações das vias aéreas dos asmáticos pela capacidade de provocar a desgranulação dos mastócitos, por activação directa das proteínas G de membrana. Também os linfócitos e os macrófagos expressam receptores para a SP susceptíveis de serem activados e de estimularem a produção de citocinas. Este facto, associado à capacidade que as células inflamatórias têm para produzirem SP pode conduzir a mecanismos de auto entretenimento do

processo inflamatório. Segundo Todo-Bom (2006), Springer (2005) e outros autores, a activação de células polimorfonucleares humanas pela SP é susceptível de induzir a produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS), de IL8 e libertação de mieloperoxidase [220,221,222,223,224].

Várias enzimas estão envolvidas no metabolismo da substância P, como a endopeptidase neutra (NEP) a enzima conversora da angiotensina (ECA) e a dipeptilpeptidase IV (DPPIV). O antigénio de activação linfocitário CD26 é reconhecido como o marcador celular correspondente à DPPIV, uma peptidase membrana [225,226]. De acordo com Gabrilovac (2003), Dourado (2000) e outros autores a DPPIV/CD26 é uma molécula multifuncional que paralelamente à sua actividade enzimática exerce outras funções: pode agir como molécula interveniente nos processos de adesão celular, já que se liga com a fibronectina; pode servir como um receptor para outras enzimas, como a adenosina desaminase; é o receptor funcional do colagénio e pode agir como uma molécula de co-estimulação na transdução de sinais através do receptor CD3 nos linfócitos T. Embora tendo apenas 6 aminoácidos na porção intracelular, o CD26 tem uma participação importante na sinalização celular devido à sua associação com o CD45, que reconhece uma proteína tirosina fosfatase transmembrana do tipo 1, identificada como a proteína de superfície de maior expressão nas células hematopoiéticas nucleadas, resultando na modulação da proliferação celular. Em células de sangue periférico a sua presença é detectada quase exclusivamente nos linfócitos T activados [227,228,229].

### **Espécies reactivas de oxigénio e defesa antioxidante**

Vários tipos celulares envolvidos no processo inflamatório brônquico particularmente células epiteliais, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos produzem espécies reactivas de oxigénio nos períodos de agudização, provocando um desequilíbrio no balanço oxidante/antioxidante que habitualmente persiste [230,231].

Para fazer face às agressões oxidativas, as células estão equipadas com um sistema de defesa antioxidante, conforme refere Comhair (2000) e Todo-Bom (2003). Os antioxidantes enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), a glutathiona peroxidase e a catalase bem como os não enzimáticos como a vitamina C, a vitamina E e a glutathiona reduzida terão um papel fundamental na limitação da agressão oxidativa provocada pelas espécies reactivas de oxigénio. O equilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade antioxidante pode ser comprometido no caso de as células possuírem um sistema antioxidante deficiente, com uma capacidade antioxidante total do plasma-TAS, (do inglês *Total Antioxidate State*) reduzida ou no caso de ocorrer uma produção excessiva de ROS, tais como o anião superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) que, actuando como mensageiros intra e intercelulares, podem induzir proliferação celular, conforme tem sido observado em doentes asmáticos graves [232,233].

## **Linfócitos**

Os linfócitos T exercem um papel central na coordenação da resposta inflamatória na asma, pela libertação de citocinas, de que resulta o recrutamento e sobrevivência de eosinófilos e manutenção de mastócitos nas vias aéreas. Existem já evidências claras que confirmam a intervenção determinante dos LT particularmente da sub-população Th2, quer na asma alérgica atópica quer na não atópica e na ocupacional. Embora os mediadores inflamatórios como a histamina e os leucotrienos tenham um papel importante na resposta inflamatória aguda e subaguda e conseqüentemente, nas exacerbações da asma, são as citocinas e as quimiocinas que exercem uma acção determinante na manutenção da inflamação crónica que caracteriza a asma.

Os linfócitos *helper* constituem a principal população que infiltra as vias aéreas dos doentes com asma, desde as formas mais recentes até às formas mais arrastadas e até graves, estando documentada a sua participação em análises histológicas de biópsias brônquicas, no

Líquido de Lavagem Broncoalveolar (LLBA) e no sangue periférico. Quando activados expressam marcadores de membrana tais como o receptor de IL2 (CD25) e como o antigénio de histocompatibilidade leucocitário HLADR (do inglês *Human Leucocyte Antigen*) também envolvido na apresentação antigénica, sugerindo a sua acção determinante no palco da inflamação das vias aéreas. Aliás, a presença de um elevado número de linfócitos T *helper* no LLBA é um sinal de gravidade para a asma, tal como o é a presença de LT activados nas biópsias brônquicas. Os linfócitos T citotóxicos (CD8), constituindo uma minoria dos LT (CD3) da mucosa brônquica, podem exercer um ligeiro efeito de modulação sobre a acção dos CD4. Ambas as sub-populações podem estar activadas e expressar CD25, mas apenas o número de *helper* activados se correlaciona com o número de eosinófilos do LLBA e com a gravidade da doença [234,235,236,237,238].

A inflamação asmática está claramente associada ao aumento das citocinas produzidas por linfócitos Th2 como a IL3, IL4, IL5, IL13, IL9, IL25 e GM-CSF com implicações claras no infiltrado celular e noutras modificações das vias aéreas ocorridas na asma. Factores anti-inflamatórios como a IL10, IL19, IL20, IL22 e IL24 e factores predominantemente associados à imunidade celular, como a IL16, IL17 e IL21 serão produzidos no decurso do processo inflamatório concomitantemente com as citocinas pró-inflamatórias acima referidas ou de forma sequencial numa tentativa de atenuar esse processo. Diferenciam-se aparentemente do Interferão gama e das proteínas do surfactante, que presentes em áreas pulmonares não lesadas, regulam a inflamação de forma continuada mesmo em condições basais [234,239,240].

A IL3 é determinante para a sobrevivência dos mastócitos nos tecidos. A IL5 promove a diferenciação, sobrevivência e o *priming* eosinofílico, e a IL4 e IL13 promovem a formação de IgE pelo linfócito B e a adesão eosinofílica às células endoteliais. Estas citocinas e ainda a

IL9 induzem a descamação das células epiteliais, a hipersecreção de muco assim como o crescimento de fibroblastos e a síntese de proteínas da matriz extra celular. Aliás, a IL5, IL6 e a IL9 têm sido associadas à ocorrência de fibrose sub-epitelial e remodelação das vias aéreas [241,242].

De acordo com Smith (2004) e outros autores, a IL10 tem capacidade de modular a resposta inflamatória por diminuir a síntese de citocinas associadas aos fenótipos Th1 e Th2 como a IL1 $\beta$ , o factor de necrose tumoral alfa - TNF  $\alpha$ , IL12, GM-CSF, G-CSF, de quimiocinas pró-inflamatórias como a IL8, MIP1 $\alpha$ , RANTES, eotaxina e ainda de enzimas como a inductora da sintetase do óxido nítrico (iNOS) (do inglês *inducible Nitric Oxide Synthase*) Cyclooxygenase tipo 2 (Cox-2) e a Metaloproteinase da matriz-MMP2 (do inglês *Matrix Metalloproteinase 2*). A IL10 parece ter também intervenção a nível do controlo da contracção do músculo liso [243,244].

O factor indutor de crescimento  $\beta$  (TGF $\beta$ ) secretado por LT CD4 contribui para depósitos na matriz, remodelação das vias aéreas, ocorrência de alterações estruturais a nível do epitélio e submucosa e expressa-se em macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e fibroblastos. Os seus níveis elevados correlacionam-se com hiperreactividade brônquica, deposição de colagénio e fibrose sub-epitelial. Mais recentemente, segundo Hansen (2000), é também considerado um regulador negativo da inflamação das vias aéreas na asma. O TGF $\beta$  exerce um mecanismo de *feedback* negativo, eliminando a eosinofilia induzida por alergénios [245].

Os LT helper marcados pelo CD4, constituem um grupo heterogéneo de células que expressam vários marcadores de membrana permitindo subdividi-las em vários subgrupos populacionais. Conforme foi já referido a expressão das isoformas CD45RA e CD45R0 correspondem a duas subpopulações divergentes, expressando a primeira, um fenótipo virgem/*naive*, e a segunda um fenótipo de memória. As células CD45RA

são essenciais para a manutenção da capacidade de resposta a novos antígenos [246].

Está descrita uma maior percentagem de células CD4CD45RA em indivíduos saudáveis do que em asmáticos, os quais apresentam expansão da população linfocitária CD4CD45R0, sendo esta observação mais marcada na asma intrínseca. O aumento de CD4CD45R0, referido em tecido brônquico e em células de LLBA de asmáticos, não distingue os doentes sensibilizados a aeroalergénios dos não sensibilizados.

Na asma alérgica a provocação específica com alérgenos induz a expressão de marcadores de activação, mas apenas nos linfócitos T de memória [247,248,249,250,251].

As células T reguladoras naturais, bem como as induzidas ou adaptativas referidas como Tr1 e Th3 terão, no seu conjunto, um papel determinante na regulação das respostas imunológicas e inflamatórias e consequentemente na asma, reduzindo a inflamação induzida por citocinas e a activação celular imunitária. Aliás, de acordo com Wahl (2004), as células CD4CD25- por acção do TGF $\beta$  assumem o papel de células T reguladoras e já demonstraram ter um efeito positivo na evolução da asma [252].

As células reguladoras terão uma intervenção que não se esgota no controlo da alergia, podendo a acção de supressão ser preferencialmente dirigida às respostas Th1.

Foi ainda observado por Ginaldi (2004), Van Oosterhou (2005) e Höhler (2005), que o factor de transcrição GATA-3, associado à diferenciação Th2, ao contrário do factor de transcrição Th1 (T-BET), pode estar fortemente expresso nas vias aéreas dos asmáticos [253,254,255].

Os linfócitos T que expressam o receptor  $\gamma\delta$  (TCR $\gamma\delta$ ) estão presentes nas vias aéreas promovendo uma importante protecção contra agressores. As células  $\gamma\delta$  intra-epiteliais apresentam um repertório TCR

restrito, respondendo a antigénios ambientais não peptídicos e que não foram processados. Estas células têm sido identificadas nas vias respiratórias de doentes com rinite alérgica e com asma. Têm capacidade de secretar IL4, IL5 e IL13 podendo eventualmente contribuir para o ambiente citocínico que favorece o desenvolvimento da resposta imunológica do tipo Th2 e a inflamação alérgica das vias aéreas [136]. Também é reconhecida, por Lahn (1999) e outros autores, a sua intervenção como reguladoras exercendo, uma acção de protecção na doença mediada pela IgE [256,257].

### **Células natural killer**

As células NK são activadas em resposta às infecções víricas, produzindo precocemente níveis elevados de IFN $\gamma$ . Como os alergénios não induzem a produção preferencial de IFN $\alpha$  ou de IL12, não promovem a estimulação *Natural Killer*. Aliás, as NK caracterizam-se pela ausência do complexo TCR/CD3 e, uma vez que têm por função essencial a eliminação de células tumorais e infectadas, será provavelmente modesto o seu envolvimento na asma. Contudo, as NK podem ser induzidas a produzir IL5 quando estimuladas na presença de citocinas Th2 e deste modo contribuir para a inflamação eosinofílica [258,259].

### **Linfócitos T natural killer**

Os linfócitos T NK (NKT), expressam um receptor que reconhece antigénios apresentados no contexto do MHC das células apresentadoras de antígeno e podem induzir respostas imunitárias pró e anti-inflamatórias. Estes linfócitos NKT secretam citocinas do tipo Th1 mas também podem secretar citocinas do tipo Th2, como tem sido observado na asma. Os NKT-2, mais numerosos, produzem fundamentalmente citocinas do perfil Th1 enquanto os NKT-1, uma pequena população de NKT, particularmente os que expressam CD4 podem produzir IL4 e promover a produção de IgE e, do ponto de vista teórico, ter alguma

acção no ambiente citocínico favorecedor da inflamação da asma. Os NKT1CD8 também produzem maioritariamente citocinas do tipo Th1.

Como os linfócitos NK conservam a capacidade de efectuar uma produção rápida e em quantidade de  $IFN\gamma$ , em resposta nomeadamente a agentes microbianos, exercem predominantemente uma acção reguladora da inflamação das vias aéreas dependente da agressão alérgica [260,261].

### **Apoptose**

A permanência de células inflamatórias nas vias aéreas depende em parte de factores que favoreçam a sua sobrevivência. A apoptose, também chamada morte programada, tem uma importância central no desenvolvimento e no funcionamento do sistema imunoinflamatório. De acordo com Ramos-Barbón (2005) as células musculares, vasculares e epiteliais brônquicas expressam o receptor Fas, um membro da superfamília do Receptor do Factor de Necrose Tumoral (TNFR), também designado por Apo-1 ou CD95, que por ligação com o seu ligando FasL, pode induzir apoptose e desta forma garantir a homeostasia das vias aéreas [262].

Mecanismos promotores de proliferação celular, necessários à reparação que ciclicamente ocorre na asma, podem condicionar a inibição da apoptose, favorecendo a permanência das células inflamatórias, nomeadamente de linfócitos e de eosinófilos com consequente agravamento da asma brônquica [70,263,264].

### **Aspectos evolutivos**

Quando os mecanismos de regulação falham ou estão alterados o processo inflamatório e a broncoconstrição são mantidos e, consequentemente, a asma tende a evoluir para formas mais graves.

O tipo de factor etiológico e de desencadeantes subjacentes a crises de asma terão um papel determinante na fisiopatologia e na

gravidade da doença. As crises de asma podem ser precipitadas por estímulos variados incluindo exposição a alergénios, infecções e poluentes. Segundo Saarinen (2003) o grau de exposição a alergénios e a poluentes ambientais bem como o contacto com temperaturas extremas, a existência de co-morbilidades, o recurso prévio a serviços de urgência, o stresse físico e psíquico e o estado imunitário são condicionalismos importantes no prognóstico da doença [265]. Os ácaros, pólenes e fungos são biopartículas ambientais frequentes em quase todas as regiões do globo. O fungo *Alternaria alternata* é considerado um alergénio importante em muitas comunidades, sendo para Bush (2004), a sensibilização a este fungo um factor de risco para o desenvolvimento de asma grave, e pode ser extremamente perigoso nos seus picos de incidência atmosférica máxima [266].

O estado nutricional é igualmente um importante condicionante da evolução de todas as doenças crónicas [267].

A agressão inflamatória continuada exige processos de reparação repetidos. De novo é atribuído às células migratórias e residentes, assim como às proteínas da matriz extra celular, um papel importante nesses processos de reparação tecidual. Existem quantidades aumentadas de colagénio do tipo III e do tipo V, de fibronectina e de tenascina depositadas na parede brônquica dos asmáticos. Estas proteínas estruturais são diferentes das proteínas típicas da membrana basal. Não se desenvolve, por isso, um verdadeiro espessamento de membrana, mas sim um depósito abaixo dessa membrana.

As alterações, presentes nas vias aéreas dos asmáticos e indicativas de gravidade, só eram susceptíveis de ser observadas em autópsias. Presentemente a broncofibroscopia permite testemunhar que o brônquio do asmático se apresenta ruborizado e edemaciado, com aspectos típicos de um processo inflamatório em curso. Os estudos de celularidade do líquido de lavagem broncoalveolar e os estudos histológicos de biópsias brônquicas têm adicionado informações

importantes sobre o infiltrado brônquico, revelando a presença de mastócitos, linfócitos, eosinófilos e ainda de macrófagos activados nestes doentes [268].

Assim, os diversos meios auxiliares de diagnóstico disponíveis revelam a ocorrência de infiltrado de células inflamatórias activadas presente nas fases precoces da doença e de remodelação das vias aéreas na fase crónica, embora os dois processos possam ocorrer simultaneamente em localizações diferentes da árvore brônquica. A lesão das células epiteliais brônquicas conduz à produção de mediadores que, adicionados aos mediadores com origem em mastócitos, são capazes de activar os fibroblastos produtores de proteínas fibrogénicas, de promover a sua diferenciação em miofibroblastos e de contribuir para o espessamento da parede brônquica característico da asma crónica. A fibrose sub-epitelial apresenta-se particularmente correlacionada com o grau de hiperreactividade brônquica a estímulos inespecíficos. A hiperplasia e a hipertrofia do músculo liso brônquico estão intimamente associadas aos fenómenos de espessamento da parede brônquica decorrentes do processo de remodelação. Este espessamento, que tem tradução imagiológica na tomografia axial computadorizada de alta resolução, persiste inalterado nos estudos de imagem, mesmo com um tratamento anti-inflamatório direccionado que se revele capaz de reverter parcialmente os valores reduzidos de função ventilatória e restituir para a normalidade os valores de óxido nítrico no ar exalado. Estas alterações são mais acentuadas em formas de asma grave comparativamente a formas moderadas da doença [269,270,271,272,273].

O sistema imunológico de cada indivíduo e as respostas que vai dando ao longo da sua vida, condicionadas por uma doença alérgica respiratória, são determinantes na evolução e prognóstico desta patologia.



## Objectivos

Apesar da asma brônquica, a doença alérgica e o envelhecimento saudável terem motivado um interesse crescente por parte da comunidade científica durante os últimos anos, objectivado pelo elevado número de publicações e comunicações nestas áreas do conhecimento, são ainda escassos os trabalhos que analisam de uma forma global a resposta imunológica e inflamatória na asma brônquica de evolução arrastada.

A abordagem global da resposta imunoinflamatória, é importante como uma base alargada de estudo, que permita uma visão ampla das respostas biológicas do doente asmático.

Existe um conhecimento satisfatório dos factores desencadeantes e respectivos modos de actuação, bem como das respostas inflamatórias e dos mecanismos facilitadores e reguladores da ocorrência de doença, mas quase sempre, numa perspectiva temporal curta. Esse conhecimento tem sustentado recomendações diagnósticas e terapêuticas tendo em vista a correcção dos desvios encontrados.

Desconhece-se em larga medida as alterações que subsistem e as que se alteram, condicionadas pela história natural da doença e por factores evolutivos inerentes ao processo natural de envelhecimento. No idoso surge um estado basal de inflamação latente que condiciona e é condicionado por numerosos processos patológicos crónicos.

Existem pois, inúmeras alterações, que inter-dependem num modelo que aparentemente deveria ser simples. De facto, conhecem-se as causas e, por isso, os efeitos daí decorrentes pareceriam evidentes. Contudo ao objectivar os mecanismos conducentes à doença e as suas consequências finais, este modelo revela-se surpreendentemente complexo e sujeito a numerosos condicionalismos.

Pretende-se, com este trabalho, contribuir para a clarificação da rede de interacções que caracteriza a asma de evolução arrastada no

idoso, assim como, contribuir para sustentar, do ponto de vista científico, atitudes diagnósticas e terapêuticas orientadas para este grupo etário.

Para isso, foi decidido estudar em doentes com asma com pelo menos 30 anos de evolução e com mais de 65 anos de idade, a diversidade e amplitude da resposta mediada por IgE a alérgenos ambientais, dependentes de um perfil de citocinas Th2 dominante.

Foi também decidido proceder ao estudo dos mecanismos de defesa antioxidantes, tendo em conta a sua importância em patologia respiratória crónica e no envelhecimento.

Pretende-se ainda avaliar a presença de células *naive*, tendo em consideração a sua funcionalidade como células de reserva, objectivar a activação de células moduladoras, nomeadamente com perfil de secreção dominante Th1 e analisar a susceptibilidade à apoptose como mecanismo facilitador de doença.

Finalmente determinar a intervenção de diferentes tipos celulares com eventual acção reguladora na asma e no envelhecimento.

Para cumprir esses objectivos será efectuada, após caracterização clínica e funcional ventilatória adequada, a avaliação da resposta específica a alérgenos através de testes cutâneos de alergia e da determinação de imunoglobulinas no soro.

Para a análise da resposta imunitária celular será efectuada tipificação das principais subpopulações linfocitárias (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56, CD56CD8, CD45RA, CD45RACD4, CD45RACD8, HLADR, HLADRCD4, HLADRCD8, CD29, CD29CD4, CD29CD8, CD25, CD25CD3, CD26, CD26CD3,  $\gamma\beta$ , CD95, CD95 $\gamma\delta$ , CD3CD4CD25 e CD3CD4CD25CD127), a avaliação das defesas antioxidantes (TAS, SOD, GSH, VitE e GLPx) e ainda a determinação da Neopterinina.

Será também efectuada a caracterização génica de FoxP3, GATA-3 e T-BET em condições basais e após estimulação.