



Asma

INFLAMAÇÃO ALÉRGICA

Para a melhor compreensão sobre os mecanismos da inflamação da asma, focaremos no endótipo da forma mais comum de asma, a asma alérgica, cujos sintomas são frequentemente desencadeados por alérgenos. Em pacientes com asma alérgica, a provocação com alérgenos pode causar ativação de mastócitos de forma antígeno-específica, dependente de IgE, levando à liberação de mediadores de mastócitos.

Interações: Célula Apresentadora de Antígenos, Linfócito T e a Sua Ativação

Interações: Linfócito T Ativado e Linfócito B – Síntese de Anticorpos IgE

Imunoglobulina E

Mastócitos

Receptor para IgE – Receptor de Alta Afinidade FcεRI

Estudos evidenciam que após a inalação de alérgenos em indivíduos suscetíveis, falhas no epitélio favorecem a penetração, ativação e liberação de citocinas derivadas pelo epitélio respiratório, através da ativação de receptores toll-like (TLRs) ou receptores ativados por protease (PARs).¹ Estas recrutam e ativam as células apresentadoras de antígenos (APCs), em particular as células dendríticas (CDs), que capturam os alérgenos e os apresentam aos linfócitos T *naïve*, que se tornam TH2 polarizadas. Células TH2 liberam citocinas pró-inflamatórias como IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. As citocinas derivadas do epitélio também ativam as células linfoides inatas Tipo 2 (ILC2s), que também liberam IL-5 e IL-13. A IL-5 favorece a eosinofilia nos tecidos e na circulação.^{2,3-6}

Interações entre a Célula Apresentadora de Antígenos, Linfócito T e a Sua Ativação

Na asma alérgica as células dendríticas (CDs) são as principais células apresentadoras de antígenos (APCs) e entre as APCs são as únicas a ativar as células T *naïves*. Derivam do precursor CD34+ da medula óssea, e correspondem a 0,2% dos leucócitos no sangue, onde transitam por curto espaço de tempo. Recebem esta denominação por apresentar longos braços, ou dendritos, sendo encontradas em vários tecidos, particularmente na pele e nas mucosas. São encontradas no epitélio brônquico, onde são 4 a 8 vezes mais potentes do que os macrófagos alveolares como células apresentadoras de antígeno.⁷ Nas vias aéreas, existem diversos subtipos de CDs, com funções especializadas dependendo da localização (epitélio, submucosa, parênquima pulmonar) e do estado imunológico (homeostase vs inflamação). Atualmente, com o avanço da citometria de fluxo, transcriptômica e *single-cell RNA-seq* (scRNA-seq), já foram identificados mais de cinco subtipos distintos — tanto convencionais quanto plasmocitoides e monocitoides. Constitutivamente produzem um

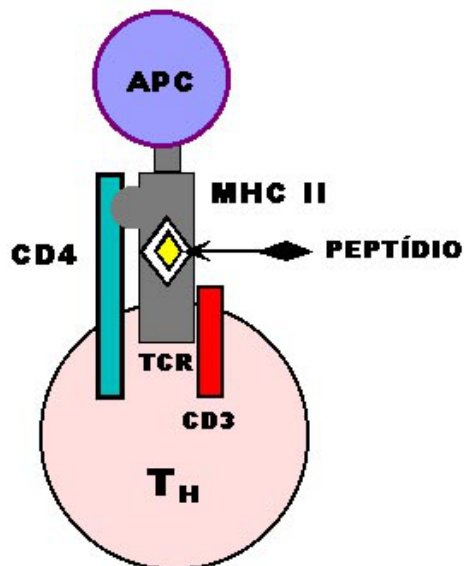


alto nível de proteínas MHC Classe II e a proteína coestimuladora B-7, estando presentes em grande número no epitélio e submucosa das vias aéreas superiores e inferiores. A mucosa está coberta por uma extensa rede de CDs, que se encontram nos canais para e intercelulares que circundam as células do epitélio basal. As CDs têm um papel importante não apenas na sensibilização a alérgenos, mas também na asma, sendo que o seu número se encontra bastante elevado na mucosa em pacientes com asma.⁸ Nos brônquios, o espaço intercelular lateral é isolado do ambiente externo por união compacta do epitélio. Para interagir com as CDs, potenciais aeroalérgenos devem atravessar o epitélio para alcançar este espaço. Em todos os tecidos não linfoides, as CDs encontram-se em estado latente, também conhecido como estado imaturo, especializado para a captação de antígenos, que pode ocorrer por três mecanismos: via endocitose receptor-mediada, envolvendo *clathrin-coated*, via macropinocitose e via fagocitose particulada.

O sistema imunológico contém três tipos de APCs "profissionais", isto é, macrófagos, CDs e células B.

Outras APCs são também encontradas constitutivamente ou sob condições inflamatórias no trato respiratório, como os macrófagos, os linfócitos B e os pneumócitos Tipo II, os quais apresentam também funções na atividade imune e de supressão.

As CDs, em particular, participam na sensibilização alérgica primária e



secundária. Durante a resposta primária, as CDs provenientes da medula óssea são atraídas por quimiocinas inflamatórias MIP-3a (*macrophage inflammatory protein*) até os tecidos, onde capturam os antígenos. O reconhecimento do alérgeno constitui um sinal de alerta, que induz à maturação das CDs. Migram até os linfáticos regionais, tornam-se responsivas às células de revestimento sinusoidal expressas no endotélio do linfático aferente e a MIP-3B, expressa na área de células T dos linfonodos. Nos linfonodos as CDs se agrupam. Caracterizam-se pela expressão constitutiva das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade MHC classe II, e moléculas coestimuladoras. Atraem e interagem com células T *naïves* para induzir uma resposta imune primária, gerando células TH2 efetoras e células T reguladoras que controlam a síntese de IgE pelos linfócitos B. As células TH2 efetoras, por sua vez, migrarão via linfáticos eferentes para recirculação na corrente sanguínea. No caso de se depararem repetidamente ou continuamente com o alérgeno, estes linfócitos TH2 estão disponíveis para migrar até os locais de inflamação e provavelmente podem ser estimulados pelas CDs locais, que apresentam a IgE via receptor FcεRI, para gerar inflamação eosinofílica das vias aéreas, hiperplasia de células caliciformes e hiper-responsividade brônquica. As CDs têm a capacidade de produzir *monocyte derived chemokine* (MDC) e *thymus and activation regulated chemokine* (TARC) que são quimiotáticos para as células TH2. **(Figura 1)**

As moléculas MHC são glicoproteínas transmembrana codificadas por um extenso grupo de genes conhecido como complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Sua característica estrutural mais notável é a presença de uma fenda na superfície extracelular, onde peptídeos podem se ligar.

As moléculas MHC classe II são proteínas heterodímeras, compostas por duas cadeias polipeptídicas *a* e *b*, cada qual contribuindo com um domínio ao sítio de ligação ao peptídeo e um domínio de suporte semelhante à imunoglobulina. São sintetizadas no retículo endoplasmático da célula, de onde se transferem para o aparelho de Golgi, ligadas a uma terceira proteína chamada de cadeia invariante (Ii) (CD74), que evita qualquer ligação prematura de peptídeos endógenos ao seu sítio de ligação, até que ela atinja o local da degradação proteica extracelular. Uma segunda função da cadeia invariante é enviar moléculas MHC II para as vesículas endocíticas (de pH baixo) onde elas se ligam ao peptídeo. Do aparelho de Golgi, as MHC II são transferidas para vesículas onde se acumulam. Os peptídeos antigênicos, provenientes de proteínas estranhas fagocitadas, degradadas e digeridas por enzimas proteolíticas da família das catepsinas, apresentam um tamanho que varia de 13–18 aminoácidos de comprimento e acumulam-se nos fagolisossomos da célula. Posteriormente as vesículas que contêm as MHC classe II se fundem com os lisossomos, em ambiente ácido, dissociando-se das cadeias Ii, permitindo que os peptídeos provenientes dos antígenos fagocitados se unam à fenda de ligação do peptídeo da molécula MHC.⁹

Como as moléculas MHC são altamente polimórficas e a mesma célula exprime várias moléculas MHC, isso explica como uma mesma célula pode apresentar um conjunto de peptídeos aos linfócitos T.

Os complexos resultantes desta fusão são carregados para a superfície destas células, onde linfócitos CD4+ T auxiliares (TH2) residentes intraepiteliais os reconhecem através de receptores específicos de sua superfície (TCR), compostos heterodímeros constituídos por um par de cadeias polipeptídicas (*α/β* ou *γ/d*) cuja análise da sequência de aminoácidos mostra uma grande similaridade com a estrutura domínio das imunoglobulinas. A ligação do TCR ao MHC + peptídeo representa um complexo trimolecular.

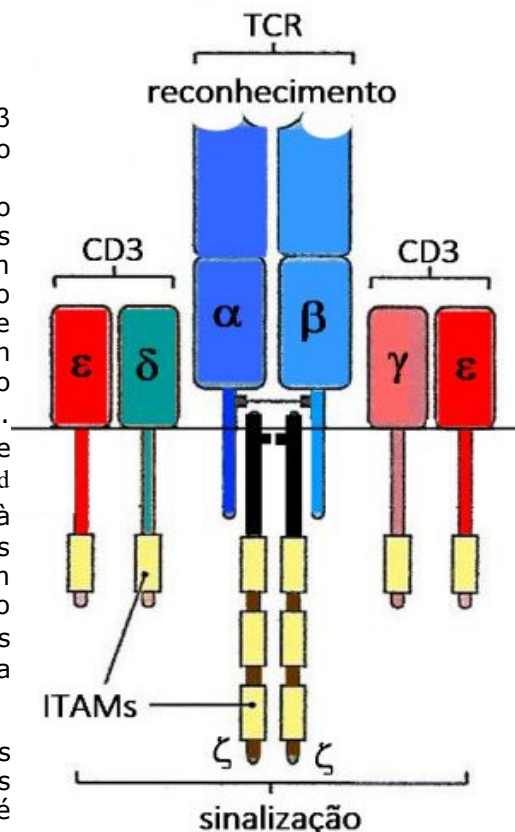
A ativação das células T *naïves* requer uma sinalização direta por duas vias:

- Através da ligação entre o TCR e o complexo MHC-II da célula apresentadora de antígeno e
- Pela via coestimuladora através da família B7 e o CD28 dos linfócitos

Uma vez que o TCR tenha reconhecido seu antígeno cognato apresentado pela molécula MHC II, o próximo passo é a transmissão de um sinal da superfície da célula, onde ocorre o reconhecimento até o núcleo da mesma, para que a célula T passe do estado "inativo" para o estado de "ativação". Para isto, torna-se necessária a alteração na gene expressão no núcleo da célula. Normalmente este tipo de sinalização através da membrana celular envolve uma proteína transmembrana que apresenta duas partes: uma região externa (ligante), cuja função é a de ligar-se à molécula que está fora da célula e uma região interna que inicia a cascata bioquímica que conduz o sinal ao núcleo celular. O receptor de células T reconhece características tanto do antígeno peptídico quanto da molécula do MHC à qual ele está ligado. Isso introduz uma dimensão extra ao reconhecimento de antígenos pelas células T, conhecida como restrição do MHC porque qualquer receptor de células T é específico para um peptídeo específico ligado a uma molécula específica do MHC.

As cadeias β do TCR apresentam um domínio extracelular TCR $\alpha:\beta$ que se une ao seu ligante (combinação da molécula MHC e o peptídeo).

Os seus prolongamentos internos citoplasmáticos são muito curtos para qualquer sinalização, pois são constituídos por apenas três aminoácidos. Esta sinalização prossegue através de um complexo de proteínas coletivamente chamado de CD3. O complexo CD3 é necessário para a transdução do sinal durante o processo de reconhecimento do antígeno, resultante de sua ligação ao TCR. Em humanos este complexo de sinalização é constituído por quatro diferentes polipeptídeos: γ , δ , ϵ e ζ (gama, delta, épsilon e zeta). Torna-se necessário salientar, todavia, que as proteínas γ e δ que fazem parte do complexo CD3 não são as mesmas proteínas γ e δ que constituem o $\gamma\delta$ TCR. As proteínas CD3 estão fixadas à membrana celular e apresentam prolongamentos citoplasmáticos que são suficientemente longos, e cada cadeia de CD3 tem um ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*), mostrado como um segmento amarelo enquanto cada cadeia ζ tem três ITAMs para iniciar o sinal de ativação e a transmissão do sinal para o núcleo. **(Figura 2)**



Além de terem o TCR ligado ao complexo MHC-peptídeo, as células T devem também receber sinais de coestimulação antes que elas possam ser ativadas. O sinal de coestimulação melhor estudado é aquele constituído por uma família de moléculas expressa na superfície das APCs, chamada B7. As moléculas desta família, a B7-1 (CD80) e a B7-2 (CD86), produzem a coestimulação das células T pela ligação a receptores de sua superfície. Dois destes receptores foram identificados: CD28 e CTLA-4 (*cytolytic T lymphocyte associated antigen-4*). A maioria das células T expressa o CD28, enquanto que o CTLA-4 somente é expresso após a ativação da célula, podendo funcionar como um regulador negativo ("desativador"). Além das moléculas B7, as APCs secretam citocinas que também contribuem para a coestimulação. O que tem sido descrito é que diferentes APCs em diferentes lugares expressam diferentes combinações de moléculas coestimuladoras e citocinas. Por exemplo, os macrófagos expressam B7-1 e a citocina IL-1; as CDs expressam iguais quantidades de B7-1 e B7-2; as células B ativadas expressam mais B7-1 do que B7-2. A conclusão mais plausível é de que diferentes APCs produzem diferentes tipos de sinais de coestimulação para as células T e estes diferentes sinais podem influenciar os tipos de citocinas que as células TH produzem. Quando as APCs veem um antígeno e o cortam em peptídeos para apresentação em um complexo com moléculas de MHC para ativar as células T, eles também aumentam a regulação dos ligantes para algumas dessas moléculas coestimulatórias, tornando-os capazes de ativar as células T específicas. Por exemplo, os ligantes de CD28 (B7-1 e B7-2, também chamados CD80 e CD86) são induzidos em APCs e permitem a ativação de CD28 nas células T.

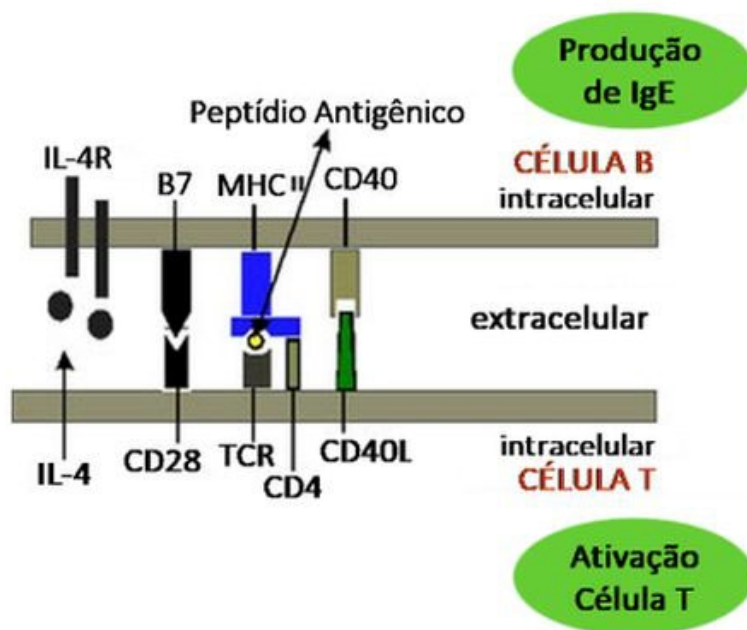
Além da apresentação de antígenos peptídicos específicos por moléculas MHC, outros sinais são necessários para a ativação dos linfócitos T (CD25) como a IL-1 secretada pelas CDs e a própria interação física entre as duas células. Uma vez ativados, os linfócitos T apresentam em sua superfície receptores para sua autoproliferação. Isto ocorre após as células T serem ativadas, pois necessitam proliferar (clonagem seletiva) e esta proliferação é acionada pelas citocinas como a IL-2 que atua como um fator de crescimento. As células T estimuladas via TCR, em ausência de sinais de coestimulação, são incapazes de secretar a IL-2 e de ativar-se e por esta razão entram em um estado anérgico. As células T ativadas passam então a secretar citocinas necessárias para ativar os linfócitos B.

Interações entre o Linfócito T Ativado e o Linfócito B, Proliferação e Síntese de Anticorpos IgE

Parte dos linfócitos TH2 dos linfonodos que drenam os pulmões interagirá com linfócitos B que se diferenciarão em plasmócitos e células produtoras de anticorpos para secretarem a imunoglobulina E (IgE) através do que se convencionou chamar de modelo de dois sinais.

O primeiro é fornecido pelas IL-4 e IL-13 sintetizadas pelos linfócitos TH2.^{10,11} Os mastócitos, os basófilos e os eosinófilos também produzem IL-4, enquanto que a IL-13 também é sintetizada pelas células NK. As IL-4 e IL-13 compartilham a cadeia α do receptor IL-4 (IL-4R α), quando estas citocinas se ligam aos receptores nas células B.^{12,13} As citocinas e quimiocinas produzidas pelas células TH2 amplificam a resposta TH2 e estimulam a mudança de classe das células B ativadas para a produção de IgE. A IL-4 ou a IL-13 fornecem o primeiro sinal que muda as células B para a produção de IgE. A IL-4 e a IL-13 que atuam nos linfócitos T e B ativam as tirosina-quinases Jak1 e Jak3 da família Janus, conduzindo, em última análise, à fosforilação (e, por conseguinte, à ativação) do regulador da transcrição regulador de transcrição STAT-6 (*signal transduction-activated transcription-6*). Uma vez acopladas, resulta a translocação para o

núcleo do STAT-6, o qual estimula a transcrição do lócus do gene $C\epsilon$, contendo sequências codificadoras (éxons) para as regiões constantes da cadeia pesada e da IgE. O segundo sinal ocorre, por contato, através da interação entre a proteína transmembrana chamada Ligante CD40 (CD40L ou CD154) expressa na superfície dos linfócitos T auxiliares ativados, com o receptor CD40, uma molécula coestimuladora dos linfócitos B.¹⁴⁻¹⁶ Esta ação mútua entre as duas moléculas desencadeia uma reorganização genética (*deletion switch recombination*) que aproxima todos os elementos da cadeia funcional pesada ϵ . O resultado é uma completa codificação genética multiéxon da cadeia pesada ϵ . A combinação destes dois sinais determina um desvio de classe para a IgE e proliferação das células B.



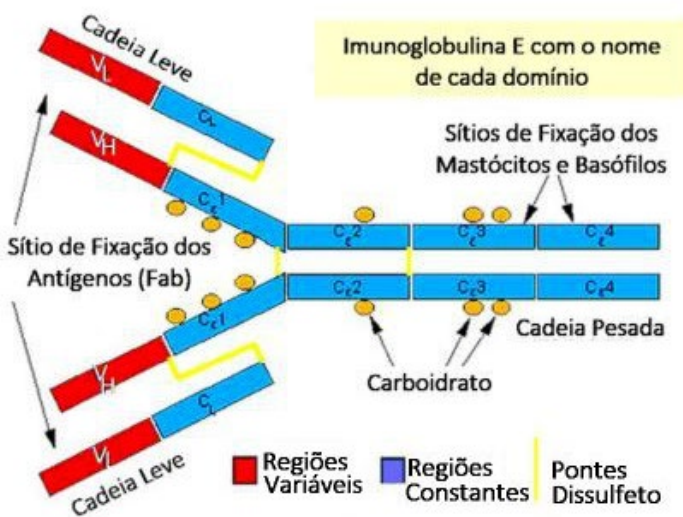
Interações adicionais entre outros pares de ligantes e receptores (entre B7-2/CD28 e B7-2/CTLA-4 e entre a integrina $\alpha\beta_2$ e a molécula de adesão intercelular-1-ICAM-1) podem complementar ou *upregulate* a ativação dependente de célula T dos linfócitos B, que se segue à ligação do CD40 ao seu ligante.

Os linfócitos B diferenciam-se em células secretoras de anticorpos (plasmócitos), cujo resultado é a expressão dos RNA mensageiros (curto e longo) da IgE e consequente síntese proteica da IgE específica para alérgenos específicos (Figura 3).

Embora a produção de IgE ocorra principalmente em órgãos linfoides secundários, há evidências de que esse evento também possa acontecer na mucosa pulmonar de pacientes com asma (a chamada produção local de IgE).¹⁷ Uma vez

sintetizados e ativados (um só linfócito B é capaz de produzir mais de 10 milhões de anticorpos por hora), os anticorpos IgE circulam por curto período de tempo no sangue antes de se ligarem aos receptores de alta afinidade (Fc ϵ RI) na superfície dos mastócitos teciduais, nos basófilos, eosinófilos, do sangue periférico, em células musculares lisas das vias aéreas, células endoteliais e epiteliais¹⁸ e a receptores IgE de baixa afinidade (Fc ϵ RII, ou CD23) na superfície de linfócitos, eosinófilos, plaquetas e macrófagos.

Imunoglobulina E – IgE



Desde o final da década de 1960 a relação entre a síntese de anticorpos da classe IgE e a resposta imediata de hipersensibilidade contra alérgenos ambientais (sensibilização) está bem estabelecida. A IgE (o "E" foi escolhido devido ao eritema e pápula da reação cutânea alérgica) apresenta um peso molecular de 188 kDa. A sua concentração sérica normal no adulto é de aproximadamente 100 UI/mL ou (100 kU/L) e corresponde a 0,002% do total das imunoglobulinas. A meia-vida da IgE livre é de cerca de 2-3 dias, porém uma vez ligada aos seus receptores nos mastócitos e basófilos, mantém-se estável por semanas. A IgE é constituída por duas cadeias leves (L) idênticas e duas cadeias pesadas (H) idênticas, sendo cada cadeia constituída por 110 aminoácidos, unidas por ligações covalentes, através de pontes dissulfeto. Cada cadeia apresenta uma região variável (V) e outra constante (C). O sítio de reconhecimento do antígeno ocorre na região variável, enquanto que na extremidade oposta acontece o acoplamento à célula, via receptores específicos de imunoglobulinas. A IgE caracteriza-se por apresentar uma longa região constante, com quatro domínios C ϵ 1, C ϵ 2, C ϵ 3 e C ϵ 4, ao contrário das outras imunoglobulinas que só possuem três. Este fato proporciona uma excepcional habilidade de acoplamento a receptores especializados de alta afinidade Fc ϵ RI. O exato local de união ocorre na sequência N-terminal do terceiro domínio (C ϵ 3) da cadeia pesada, perto da junção com C ϵ 2.^{19,20} (Figura 4)

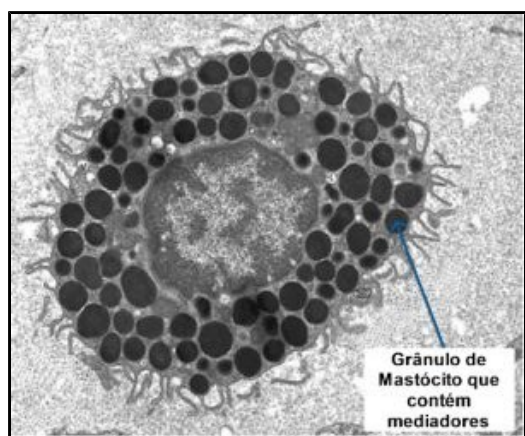
Os efeitos biológicos da IgE são mediados por seus dois receptores:²¹ um receptor de alta afinidade de

membrana – FcεRI – constitutivamente expresso em mastócitos e basófilos e um receptor de baixa afinidade – FcεRII ou CD23 – solúvel e ligado à membrana.²² O receptor FcεRII é uma lectina dependente de cálcio de baixa afinidade para IgE expresso em diversas células, abrangendo linfócitos B e T, macrófagos, monócitos, eosinófilos e células epiteliais. Trata-se de glicoproteína de membrana Tipo II, cujo terminal carboxila apresenta uma cabeça de lectina Tipo C, responsável pela ligação à IgE de forma dependente de cálcio.²³

Uma reação dita precoce ou imediata se manifesta por aumento da resistência das vias aéreas, 10 a 15 minutos após contato com o alérgeno nos pacientes sensibilizados. Neste estágio a obstrução brônquica é reversível espontaneamente ou através de inalação de um broncodilatador.

Mastócitos

Imediatamente após a inalação do alérgeno, os mastócitos tipo MC_T (fenótipo que contém triptase) no pulmão e os mastócitos tipo MC_{TC} (fenótipo que contém proteases neutras triptase e quimase) predominante na mucosa nasal,²⁴ sensibilizados previamente pela IgE, são ativados pelo acoplamento do antígeno (ligação cruzada) aos receptores IgE da superfície de sua membrana celular. Deve ser salientado que ambos os tipos de mastócitos expressam o receptor de alta afinidade FcεRI e podem, portanto, participar das reações alérgicas dependentes da IgE. Funcionalmente, entretanto, os dois tipos de célula apresentam diferenças: o MC_T está relacionado ao sistema imune, enquanto que o MC_{TC} apresenta ações de angiogênese e remodelamento tecidual (p. ex. fibrose), sem ações imunológicas protetoras.



Os mastócitos foram descritos pela primeira vez em 1878 por Paul Ehrlich.²⁵ São células imunes multifuncionais, de vida longa, originam-se na medula óssea, em resposta ao fator de célula tronco (ligante KIT), o qual é ligante do receptor transmembrana tirosina CD117, codificado pelo KIT. CD117 regula o crescimento, a migração, a sobrevivência e as funções efectoras dos mastócitos. Os progenitores subsequentemente migram do sangue para os vários tecidos incluindo pele, pulmões, interfaces mucosas, onde adquirem seus fenótipos específicos teciduais.²⁶ Expressam em sua superfície uma variedade de moléculas de adesão que podem promover sua fixação às outras células, incluindo em particular as células endoteliais. Migram para os tecidos sob influência de citocinas, onde sofrem processo de maturação até adquirirem seu fenótipo final, de acordo com o microambiente. Por último, os mastócitos

apresentam a característica de migrar para a superfície epitelial das mucosas após provocação antigênica.

São recrutados até a superfície das vias aéreas pelo fator de célula tronco (SCF) liberado pelas células epiteliais, os quais atuam nos receptores c-KIT expressos pelos mastócitos. O SCF desempenha papel crítico na diferenciação, proliferação e modulação de mastócitos humanos.²⁷ Os mastócitos humanos respondem a ampla profusão de estímulos, incluindo fatores de crescimento, citocinas, nucleotídeos, complemento, lipídios, proteases, produtos de infecção (MCs humanos expressam todos os receptores TLR), poluentes, agentes ocupacionais, estímulos físicos, drogas e sinalização célula a célula.²⁸ Entretanto, durante décadas a investigação da sinalização MC concentrou-se na IgE dependente de alérgenos ativação, através do receptor IgE de alta afinidade FcεRI.

A maioria dos mastócitos nas vias aéreas está localizada abaixo do epitélio brônquico, mas um número considerável de células é encontrado inserido entre as células epiteliais e adjacente à superfície brônquica. Estas células em função de sua localização entrariam em contato imediato com os antígenos inalados, apresentando grande importância na modulação das fases iniciais da resposta alérgica.²⁹

Nos pulmões, a reação antígeno induzida determina a liberação de mediadores de um pequeno número de mastócitos localizados na luz brônquica, o que pode determinar aumento da permeabilidade local e aumentar a exposição antigênica aos mastócitos de localização mais profunda, como os da submucosa, os das glândulas mucosas e da musculatura lisa. No músculo liso das vias aéreas os mastócitos contribuem para sua hipertrofia e hiperplasia e contribuem para a hiper-responsividade brônquica (HRB).³⁰ Os mastócitos que se localizam perto das glândulas mucosas e submucosas onde a liberação de PGD₂, LTC₄, IL-4 e IL-13 podem desencadear maior produção de muco pelas células caliciformes.³¹ Sua sobrevivência varia de semanas a meses. Na mucosa das vias aéreas existem cerca de 20.000 mastócitos por mm³ ^{32,33} e representam 1–2% das células alveolares. **(Figura 5)** Provavelmente também proliferam nos tecidos.

A presença de mastócitos no músculo liso das vias aéreas é outra característica da asma, existindo uma correlação inversa entre o número de mastócitos na musculatura lisa brônquica e a PC₂₀ para metacolina nos indivíduos com asma.³⁴ Outra doença pulmonar eosinofílica, a bronquite eosinofílica, apresenta inflamação na via aérea similar à da asma, incluindo a fibrose subepitelial, porém não manifesta a hiper-responsividade, tida como a principal característica da asma.

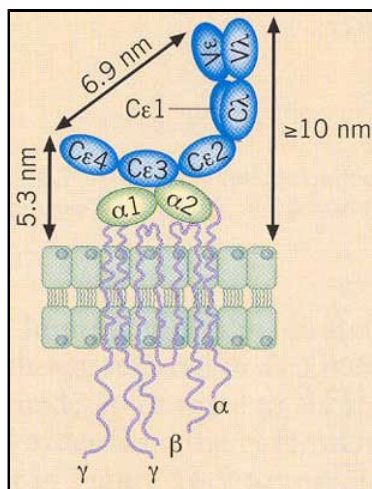
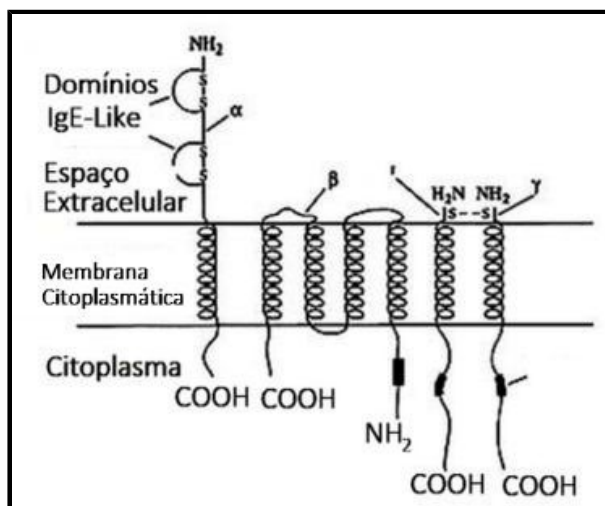
Os mastócitos exibem um fenótipo heterogêneo e isto tem sido demonstrado em função de sua aparência pois, tal como os basófilos, os mastócitos contêm grânulos ricos em proteoglicanos ácidos que absorvem corantes básicos. O proteoglicano dominante do mastócito humano é a heparina, que constitui mais de 75% do total, sendo o restante composto por uma mistura de condroitina sulfatos. O mastócito das mucosas contém a protease triptase e tem sido funcionalmente associado ao sistema imunológico e a reações de defesa do hospedeiro.

O mastócito é um componente essencial da imunidade inata e pode servir para amplificar a imunidade adaptativa. Os mastócitos podem responder a patógenos, como bactérias e vírus, por meio de múltiplos receptores do tipo Toll expressos em sua superfície celular. Por último deve ser ressaltado que mesmo um nível muito baixo de alérgenos é suficiente para desencadear a desgranulação do mastócito, que se inicia em segundos após a ligação ao antígeno, liberando uma série de mediadores pré-formados e recém-formados.

Receptor para IgE – Receptor de Alta Afinidade FcεRI

O mastócito pode ser considerado como uma célula primária participante de reação alérgica precoce assim como de inflamação alérgica crônica.

Possuem em sua superfície 10.000 – 100.000 receptores para a fração Fc da IgE.³⁵ A IgE está fixada à membrana de mastócitos teciduais e basófilos circulantes,^{36,37} por um receptor tetramero de alta afinidade FcεRI ($K_D = 1-2 \times 10^{-9} M$) (**Figura 6**).



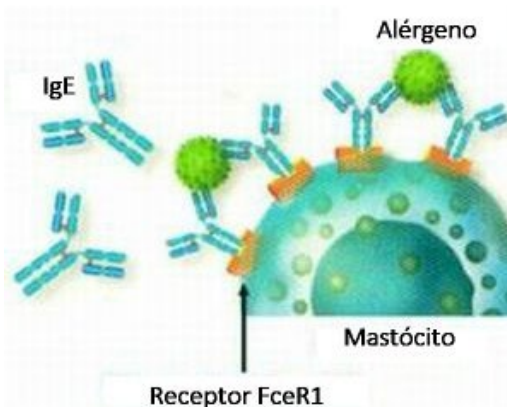
A cadeia β com 263 aminoácidos transpõe a membrana celular quatro vezes e as duas cadeias γ com 86 aminoácidos se prolongam a considerável distância no citoplasma. O receptor FcεRI interage com os domínios C_H³/C_H³ e C_H⁴/C_H⁴ da molécula de IgE via dois domínios *immunoglobulin-like* da cadeia alfa. O FcεRI envolve um simples domínio Cε3, fazendo contato em ambos os lados ou interage com faces opostas do domínio Cε3 de um lado da IgE. As cadeias beta e gama estão envolvidas na transmissão de sinais que partem da superfície da célula, ocorrendo uma série de eventos na membrana e citoplasma (transdução de sinal, tradução e amplificação de sinal e ativação de proteínas alvos/efetoras) do mastócito, utilizando Ca²⁺ e mecanismos energia dependente. As cadeias β e γ possuem em seu domínio citoplasmático dois resíduos de tirosina ITAM. (**Figura 7**) Os receptores na fisiologia celular do mastócito cumprem um papel relevante, podendo atuar na sua ativação, maturação e proliferação.³⁸

Ativação, Degranulação, Excitose e Apoptose dos Mastócitos

Os mastócitos são ativados pelo acoplamento do antígeno (ligação cruzada) (**Figura 8**) aos receptores IgE da superfície de sua membrana celular, resultando em agregação dos receptores de alta afinidade FcεRI e a secreção de substâncias que podem ter ações efetoras, imunorreguladoras ou autócrinas.

A interação entre o complexo alérgeno-IgE e o receptor FcεRI na superfície dos mastócitos desencadeia a desgranulação dos mastócitos e a liberação de histamina, citocinas/quimiocinas, enzimas como triptase e quimase, e a geração de eicosanoides (ou seja, LTC₄ e PGD₂).^{39,40}

Os mastócitos não ativados apresentam mais de 1.000 grânulos secretórios que contêm um complexo de natureza cristalina, constituído pelos mediadores inflamatórios pré-formados, ionicamente ligados à matriz dos proteoglicanos. Quando os mastócitos são ativados, os grânulos se expandem, perdem a característica cristalina quando o complexo se solubiliza, movem-se para



a periferia da célula junto à membrana plasmática, onde ocorre a fusão, e os mediadores são expostos ao ambiente extracelular, através do processo de exocitose.

Os processos exocíticos podem acontecer por três modalidades diferentes:⁴¹

1. *Kiss and run* – quando ocorre a liberação rápida e parcial do conteúdo do grânulo secretor através de um poro de fusão transitório e reversível, preservando-se o grânulo;
2. Exocitose completa – o grânulo se funde totalmente à membrana plasmática, liberando todo o conteúdo;
3. Exocitose composta – fusão homotípica de vários grânulos entre si antes da fusão com a membrana plasmática, expandindo a liberação. A exocitose composta é a forma predominante de exocitose regulada durante a resposta alérgica, IgE/antígeno.⁴²

Nas últimas décadas foram efetuados avanços nos conhecimentos da maquinaria da secreção e exocitose dos mastócitos devido ao papel central que desempenham nas reações alérgicas e na asma. Como consequência, o papel das guanosina trifosfatases (GTPases) no transporte vesicular foi revelado pela primeira vez, quando o análogo de guanosina trifosfato (GTP) resistente à hidrólise, GTP γ S, induziu exocitose quando introduzido no interior do mastócito.⁴³ Trabalhos subsequentes mostraram que várias famílias de GTPase, incluindo Rabs, fatores de ribosilação de adenosina difosfato, dinamina e proteínas G triméricas, regulam aspectos distintos do transporte intercompartimental.⁴⁴⁻⁴⁶ As proteínas Rabs são pequenas proteínas de ligação ao GTP relacionadas à Ras, que se acredita atuam como reguladoras em cada etapa do tráfego da membrana intracelular. Assim, as Rab GTPases, especialmente Rab27a, Rab3d e Rab5, têm se mostrado fundamentais na orquestração da mobilização, acoplamento e fusão dos grânulos de secreção com a membrana plasmática.^{41,47,48} Alterações na expressão ou função dessas proteínas afetam o tipo de exocitose e, com isso, a intensidade da liberação de mediadores alérgicos como histamina, triptase, prostaglandinas e leucotrienos — diretamente implicados na asma.

As proteínas SNARE (Soluble NSF Attachment Protein Receptor) — como VAMP8, syntaxin-4, SNAP-23 — são agora reconhecidas como os principais determinantes do tipo de fusão.⁴⁹⁻⁵¹

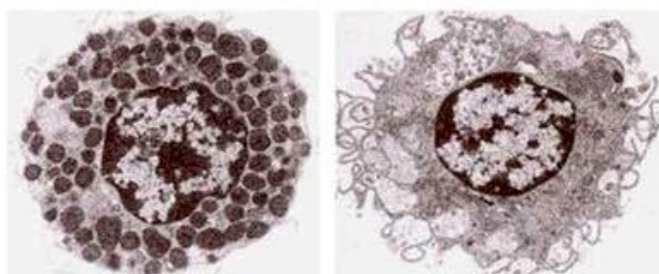
A inibição seletiva de SNAREs pode redirecionar o tipo de exocitose (por exemplo, de completa para *kiss-and-run*), o que tem sido explorado como alvo terapêutico experimental para limitar a liberação de mediadores inflamatórios na asma.

Em algumas formas de asma grave, há evidências de que a exocitose composta esteja aumentada, contribuindo para uma liberação massiva de mediadores.

O modelo das três vias ainda é útil, especialmente para fins didáticos e descritivos. Mas hoje sabemos que:

- Há regulação fina por proteínas específicas (Rabs, SNAREs, Munc13-4, etc.),
- A escolha da via de exocitose é dinâmica e influenciável por sinalização celular, fosforilação de proteínas, cálcio intracelular e citocinas,
- Isso abre caminho para novos tratamentos para doenças alérgicas como a asma.

Mastócitos



Não Ativado

Ativado

Publicações indicam que o monômero da IgE (ausência de acoplamento em ligação cruzada) pode tornar o mastócito resistente à apoptose induzida pela privação de fatores de crescimento *in vitro* e, sob certas circunstâncias, pode induzir à liberação de citocinas. Desta forma o acoplamento da IgE ao FcεRI pode influenciar a sobrevivência do mastócito direta ou indiretamente, podendo também regular a função celular. A ligação monomérica da IgE ao FcεRI aumenta a expressão do FcεRI na superfície, a qual está associada ao aumento da sensibilidade ao estímulo antigênico e ao aumento da produção de mediadores e citocinas após o acoplamento.⁵²

Dependendo das circunstâncias, o acoplamento no FcεRI pode aumentar a sobrevivência ou a proliferação dos mastócitos, promover a apoptose ou não ter consequências na sobrevivência. As decisões sobre a sobrevivência ou morte dos mastócitos são influenciadas por vários fatores endógenos ou exógenos. Os fatores endógenos incluem as citocinas secretadas pela própria célula, receptores de citocinas, moléculas de adesão, caspases, proteínas da família BCL-2, moléculas de sinalização intracelular (proteínas e lipídios) e fatores de transcrição.

» Figura 10 >> Vias de Ativação Mediadas por FcεRI (link).

O mediador mais conhecido dos mastócitos é a histamina, que se encontra presente nos grânulos em concentrações de 100 nmol/l, equivalente a 1–4 pg por célula, dependendo do número de grânulos presentes. A histamina participa na reação alérgica imediata, desenvolvendo vasodilatação com aumento da permeabilidade vascular, contração da musculatura lisa brônquica e intestinal, e aumento da secreção de muco. Sua ação é curta pois a histamina é rapidamente metabolizada em 1–2 minutos, sendo 70% metabolizados pela histamina *N*-metiltransferase e 30% pela diamina oxidase (histaminase). Os efeitos da histamina dependem do tipo de receptor encontrado nos tecidos: H1 – contração do músculo liso, H2 – dilatação dos vasos sanguíneos, H3 – inibição da liberação da noradrenalina e H4 – pode estar envolvido na patogênese da alergia e inflamação, ativando as células TH2 e TH17.⁵³

Na atualidade credita-se aos mastócitos um papel bastante relevante na orquestração das respostas inflamatórias alérgicas pois, além do exposto, os mastócitos tanto em roedores como em humanos expressam moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC),⁵⁴⁻⁵⁶ podendo ter participação na apresentação de antígenos às células T secretando IL-4 e IL-13, podem manifestar potencial influência na produção de IgE pelos linfócitos B,^{57,58} e são também capazes de regular a diferenciação celular TH2.^{59,60} Os mastócitos podem causar mudanças estruturais via produção de laminina, colágeno IV e ativação de fibroblastos.

A ativação de mastócitos pulmonares humanos libera um vasto arsenal de mediadores lipídicos pré-formados e recentemente sintetizados, citocinas, quimiocinas, fatores angiogênicos e linfangiogênicos.^{61,62} **(Tabela 1)**

Tabela 1 – Mediadores Liberados pelos Mastócitos

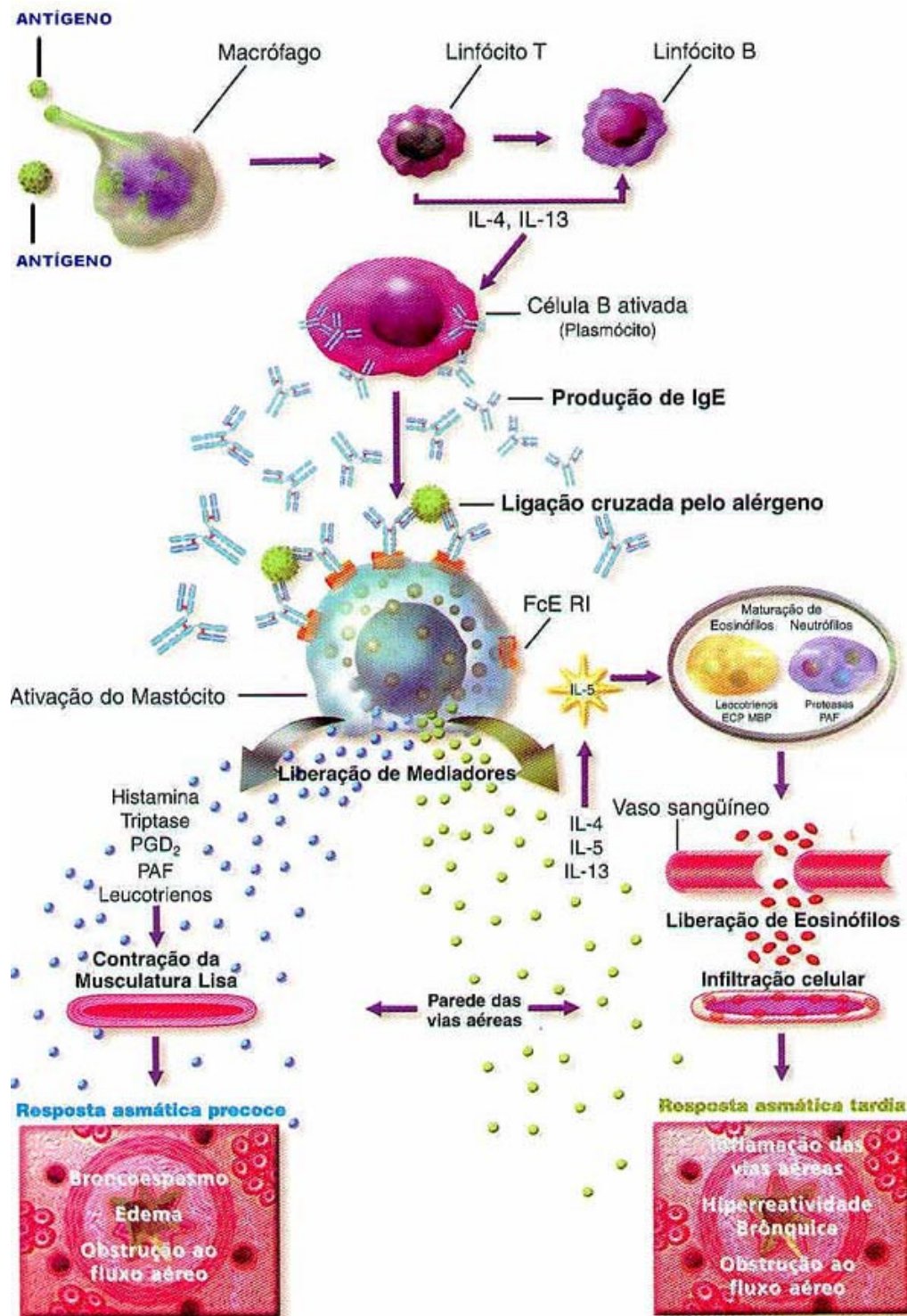
Pré-formados	
● Histamina	
● Quimase	● β-triptase
● Carboxipeptidase A3	● Catepsina G
● Metaloproteinase de Matriz (MMPS)	● Granzima B
● Heparina	● Condroitina Sulfato
Mediadores Lipídicos	
● Leucotrienos – LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	● Prostaglandina D ₂ (PGD ₂)
● Tromboxanos	● Fator de Ativação Plaquetária (PAF)
Citocinas	
● Fator de Célula Tronco (SCF)	● Fator de Necrose Tumoral-α (TNF-α)
● IL-1β, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6	● IL-9, IL-10, IL-11, IL-13
● IL-16, IL-22, IL25/17E	● Linfopietina Estromal Tímica (TSLP)
● Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF)	● Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF)
● Fator de Crescimento Neural (NGF)	● Fator de Crescimento de Fibroblastos-2 (FGF-2)
● Anfiregulina	
Quimiocinas	
● CXCL8/IL-8, CCL1/I-309	● CXCL10/IP-10
● CCL2/MCP-1	● CXCL1/GRO-α
● CCL3/MIP-1α	

Fatores Angiogênicos	
• VEGF-A	
• Angiopoietinas (ANGPT1 e ANGPT2)	• VEGF-C, VEGF-D
Fatores Linfangiogênicos	
• VEGF-C, VEGF-D	
Neuromediadores	
• Serotonina	• Substância P

O lavado broncoalveolar, na fase precoce da asma,⁶³ demonstra aumento das concentrações principalmente de triptase, histamina, LTC₄, LTD₄, LTE₄, PGD₂, PGF₂ (9- α , 11- β) e tromboxane, todos potentes broncoconstritores, e que determinam também aumento da permeabilidade vascular, aumento da produção de muco e estimulação nervosa aferente.

Mastócitos secretam ADN mitocondrial, com ações estimulatórias autócrinas e parácrinas. Como foi citado acima, os mastócitos liberam leucotrienos, prostaglandinas, fator de atividade plaquetária, citocinas e quimiocinas (CXCL8, CCL2 e CCL5).

O que até aqui foi descrito configura a resposta imediata que ocorre entre 10 e 15 minutos após exposição ao antígeno e que geralmente se resolve em duas horas. Um segundo período de broncoconstrição ocorre em 30 a 70% dos pacientes e configura a resposta asmática tardia, que se inicia 3 a 4 horas após a inalação, podendo durar mais de 24 horas. **(Figura 11)**



Home

Anterior << Características Patológicas

Próximo >> Mediadores Lipídicos

Referências

01. Mitchell PD, O'Byrne PM. Epithelial-derived cytokines in asthma. *Chest* 2017;151: 1338–1344.
02. Wang W, Li Y, Lv Z, et al. Bronchial allergen challenge of patients with atopic asthma triggers an alarmin (IL-33, TSLP, and IL-25) response in the airways epithelium and submucosa. *J Immunol* 2018; 201:2221–2231.
03. Han H, Headley MB, Xu W, Comeau MR, Zhou B, Ziegler SF. Thymic stromal lymphopoietin amplifies the differentiation of alternatively activated macrophages. *J Immunol* 2013;190:904–12.
04. Patarini L, Trichot C, Bogiatzi S, Grandclaoudon M, Meller S, Keuylian Z, Durand M, Volpe E, Madonna S, Cavani A, Chiricozzi A, Romanelli M, Hori T, Hovnanian A, Homey B, Soumelis V. TSLP-activated dendritic

cells induce human T follicular helper cell differentiation through OX40-ligand. *J Exp Med* 2017; 214:1529-1546.

05.Salter BM, Oliveria JP, Nusca G, Smith SG, Watson RM, Comeau M, Sehmi R, Gauvreau GM. Thymic stromal lymphopoietin activation of basophils in patients with allergic asthma is IL-3 dependent. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136:1636-1644.

06.Cook EB, Stahl JL, Schwantes EA, Fox KE, Mathur SK. IL-3 and TNF α increase Thymic Stromal Lymphopoietin Receptor (TSLPR) expression on eosinophils and enhance TSLP-stimulated degranulation. *Clin Mol Allergy* 2012; Jul 28;10(1):8.

07.Lambrecht BN. Allergen uptake and presentation by dendritic cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:51-9.

08.Hammad H, Lambrecht BN. The basic immunology of asthma. *Cell* 2021; 184:1469-1485.

09.Smith WB, Holt PG. – Professional antigen-presenting cells. *In* : William W. Busse & Stephen T. Holgate. *Asthma & Rhinitis 1*. Oxford: Blackwell Science Ltd; 2000:650-670.

10.Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbison GP, Hewitt CJ, Holdaway MD. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med* 1991; 325:1067-71.

11.Siraganian RP. Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Curr Opin Immunol* . 2003; 15:639-646.

12.Del Prete GF, Maggi E, Parronchi P, Chretien I, Tiri A, Maccgia D et al. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988; 140:4193-8.

13.Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie ANJ, Menon S, Zurawski G, de Waal Malefyt R, de Vries JE. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:3730-4.

14.Parronchi P, Tiri, A, Macchia D, De Carli M, Biswas P, Simonelli, C, Maggi E, Del Prete GF, Ricci M, Romagnani S. Noncognate contact-dependent B cell activation can promote IL-4-dependent *in vitro* human IgE synthesis. *J Immunol* 1990; 144:2102-8.

15.Jabara HH, Fu SM, Geha RS, Vercelli D. CD40 and IgE: synergism between anti-CD40 monoclonal antibody and interleukin 4 in induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 1990; 172:1861-4.

16.Fuleihan R, Ramesh N, Loh R, Jabara HH, Rosen FS, Chatila T, Fu SM, Stamenkovic I, Geha RS. Defective expression of the CD40 ligand in X chromosome-linked immunoglobulin deficiency with normal or elevated IgM. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:2170-3.

17.Manise M, Holtappels G, Van Crombruggen K, Schleich F, Bachert C, Louis R. Sputum IgE and cytokines in asthma: relationship with sputum cellular profile. *PLoS One* 2013; 8:e58388.

18.Redhu NS, Gounni AS. The high affinity IgE receptor (Fc ϵ RI) expression and function in airway smooth muscle. *Pulm Pharmacol Ther* 2013; 26:86-94.

19.Sutton BJ, Gould HJ. The Human IgE Network. *Nature* 1993, 366:421-8.

20.Sutton. BJ, Beavil AJ, Beavil R, Hunt, J. –IgE and IgE Receptors. *In* A.B.Kay, J.Bousquet, P.G.Kaplan. *Allergy and Allergic Diseases. Vol 1 The Scientific Basis of Allergy*. Hoboken NJ; 2008:10-18.

21.Pelaia G, Canonica GW, Matucci A, Paolini R, Triggiani M, Paggiaro P. Targeted therapy in severe asthma today: focus on immunoglobulin E. *Drug Des Devel Ther* 2017; 11:1979-1987.

22.Novosad J, Krcmová I. Evolution of our view on the IgE molecule role in bronchial asthma and the clinical effect of its modulation by omalizumab: Where do we stand today? *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 2020 Jan-Dec;34:2058738420942386.

23.Conrad DH, Ford JW, Sturgill JL, Gibb DR. CD23: na overlooked regulator of allergic disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2007; 7:331-7.

24.Igarashi Y, Goldrich MS, Kaliner MA, Irani AMM, Schwartz LB, White MV. Quantification of inflammatory cells in the nasal mucosa of allergic rhinitis and normal subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:716. *N Engl J Med* 2015; 373:163-172.

25.Ehrlich, P. Beitrage sur Theorie und Praxis der Histologischen Farbung. Ph.D. Thesis, University of Leipzig, Leipzig, Germany, 1878.

- 26.Theohatides TC, Valent P, Akin C. Mast cells, mastocytosis, and related disorders. *N Engl J Med* 2015; 373:163-172.
- 27.Tsai M, Valent P, Galli SJ. KIT as a master regulator of the mast cell lineage. *J Allergy Clin Immunol* 2022; 149:1845-1854.
- 28.Bradding P, Arthur G. Mast cells in asthma--state of the art. *Clin Exp Allergy* 2016; 46:194-263.
- 29.Altman MC, Lai Y, Nolin JD, Long S, Chen CC, Piliponsky AM, Altemeier WA, Larmore M, Frevert CW, Mulligan MS, Ziegler SF, Debley JS, Peters MC, Hallstrand TS. Airway epithelium-shifted mast cell infiltration regulates asthmatic inflammation via IL-33 signaling. *J Clin Invest* 2019; 129:4979-4991.
- 30.Eliah Ali Komi D, Bjermer L. Mast Cell-Mediated Orchestration of the Immune Responses in Human Allergic Asthma: Current Insights. *Clin Rev Allergy Immunol* 2019; 56:234-247.
- 31.Carter RJ, Bradding P. The role of mast cells in the structural alterations of the airways as a potential mechanism in the pathogenesis of severe asthma. *Curr Pharm Des* 2011; 7:685-98.
- 32.White MV, Kaliner MA. Mast cells and asthma. In: *Asthma: Its Pathology and Treatment*. Edited by Kaliner MA, Persson C, Barnes P, New York: Marcel Dekker; 1990-409-440.
- 33.Kaliner MA. Pathogenesis of asthma. In: *Clinical Immunology: Principles and Practice*. Edited by Rich RR. St Louis: Mosby; 1996;909-923.
- 34.Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002; 346:1699-705.
- 35.Wasserman SI. Mast cell-mediated inflammation in asthma. *Ann Allergy* 1989; 63:546-50.
- 36.MacGlashan DW Jr, Bochner BS, Adelman DC et al. Down-regulation of Fc(epsilon)RI expression on human basophils during in vivo treatment of atopic patients with anti-IgE antibody. *J Immunol* 1997; 158:1438-45.
- 37.Galli SJ. The Paul Kallos Memorial Lecture: the mast cell: a versatile effector cell for a challenging world. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 113:14-22.
- 38.Siraganian RP. Mast cell signal transduction from the high-affinity IgE receptor. *Curr Opin Immunol* . 2003; 15(6):639-646.
- 39.Banafea GH, Bakhashab S, Alshaibi HF, Natesan Pushparaj P, Rasool M. The role of human mast cells in allergy and asthma. *Bioengineered* 2022; 13:7049-64.
- 40.Theoharides TC, Tsilioni I, Ren H. Recent advances in our understanding of mast cell activation - or should it be mast cell mediator disorders? *Expert Rev Clin Immunol* 2019; 15:639-56.
- 41.Azouz NP, Matsui T, Fukuda M, Sagi-Eisenberg R. Decoding the regulation of mast cell exocytosis by networks of Rab GTPases. *J Immunol* 2012; 189:2169-80.
- 42.Dvorak, AM. – *Basophil and Mast Cell Degranulation and Recovery*. Blood Cell Biochemistry. New York: Springer;1991.
- 43.Fernandez JM, Neher E, Gomperts BD. Capacitance measurements reveal stepwise fusion events in degranulating mast cells. *Nature* 1984; 312:453-5.
- 44.Nuoffer C, Balch WE. GTPases: multifunctional molecular switches regulating vesicular traffic. *Annu Rev Biochem* 1994; 63:949-90.
- 45.Dickey BF and Birnbaumer L. editors. *GTPases in Biology*. Berlin: Springer-Verlag; 1993.
- 46.Pfeffer SR. Rab GTPases: master regulators of membrane trafficking. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6:522-6.
- 47.Mizuno K, Tolmachova T, Ushakov DS, Romao M, Abrink M, Ferenczi MA, Raposo G, Seabra MC. Rab27b regulates mast cell granule dynamics and secretion. *Traffic* 2007; 8:883-92.
- 48.Tuvim MJ, Adachi R, Chocano JF, Moore RH, Lampert RM, Zera E, Romero E, Knoll BJ, Dickey BF. Rab3D, a small GTPase, is localized on mast cell secretory granules and translocates to the plasma membrane upon exocytosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:79-89.
- 49.Shukla A, Berglund L, Nielsen LP, Nielsen S, Hoffmann HJ, Dahl R. Regulated exocytosis in immune function: are SNARE-proteins involved? *Respir Med* 2000; 94:10-7.
- 50.Woska JR Jr, Gillespie ME. SNARE complex-mediated degranulation in mast cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16:649-56.

- 51.Lorentz A, Baumann A, Vitte J, Blank U. The SNARE Machinery in Mast Cell Secretion. *Front Immunol* 2012; 3:143.
- 52.Kawakami T, Galli SJ. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:773-86.
- 53.Thangam EB, Jemima EA, Singh H, Baig MS, Khan M et al. The role of histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: The hunt for new therapeutic targets. *Front Immunol*;2018; 9:1873, doi: 10.3389/fimmu2018.01873.
- 54.Reshef A, MacGlashan DW. Immunogold probe for the light-microscopic phenotyping, of human mast cells and basophils. *J Immunol Methods* 1987; 99:213-9.
- 55.Suzumura Y, Ohasi M. Immunoelectron microscopic localization of HLA-DR antigen on mast cells and vessels in normal and tuberculin-reactive skin. *Am J Dermatopathol* 1991; 13:568-74.
- 56.Love KS, Lakshmanan RR, Butterfield JH, Fox CC. IFN-gamma-stimulated of MHC class II antigen expression by the human mast cell line HMC-1. *Cell Immunol* 1996; 170:85-90.
- 57.Gauchat JF, Henchoz S, Mazzei D et al. Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils. *Nature* 1993; 365:340-3.
- 58.Pawankar R, Okuda M, Yssel H, Okumura K, Ra C. Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the FcεRI, CD40L, IL-4 and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *J Clin Invest* 1997; 99:1492-9.
- 59.Bradding P, Feather IH, Howarth PH, Mueller R, Roberts JA, Britten K, Bews JP, Hunt TC, Okayama Y, Heusser CH, et al. Interleukin 4 is localized to and released by human mast cells. *Journal of Experimental Medicine* 1992; 176:1381-6.
- 60.Huels C, Germann T, Goedert S, Hoehn P, Koelsch S, Hültner L, Palm N, Rüde E, Schmitt E. Co-activation of naïve CD4+ T cells and bone marrow-derived mast cells results in the development of TH2 cells. *Int Immunol* 1995; 7:525-32.
- 61.Poto R, Criscuolo G, Marone G, Brightling CE, Varricchi G. Human Lung Mast Cells: Therapeutic Implications in Asthma. *Int J Mol Sci* 2022 Nov 21; 23(22):14466.
- 62.Varricchi G, Raap U, Rivellese F, Marone G, Gibbs BF. Human mast cells and basophils-How are they similar how are they different? *Immunol Rev* 2018; 282:8-34.
- 63.Kavuru MS, Raed A, Dweik MD, Thomassen MJ. Role of bronchoscopy in asthma research. *Clin Chest Med* 1999; 20:153-83.

[Anterior <<Características Patológicas](#)

[Home](#)

[Próximo >> Mediadores Lipídicos](#)