



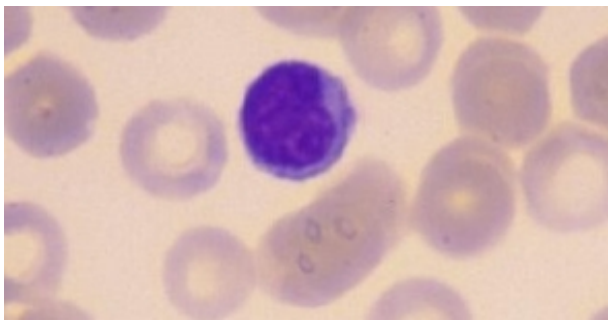
Asma Brônquica

Resposta Tardia da Asma

Linfócitos

Os linfócitos contribuem para a imunopatologia da asma, sobretudo através das células TH2, que sintetizam citocinas que participam do processo da elaboração da IgE, maturação e ativação de mastócitos e basófilos, assim como pela infiltração eosinofílica mediada via IL-5, determinando dano epitelial e hiper-responsividade brônquica. Alguns estudos também demonstraram citocinas dos linfócitos TH1 no soro e no lavado broncoalveolar de pacientes com asma, especialmente durante as exacerbações da doença, embora a grande maioria dos estudos evidencie predomínio de citocinas TH2.

O tráfego dos linfócitos nos pulmões ocorre continuamente através de dois sistemas funcionalmente distintos: o BALT (*bronchus-associated lymphoid tissue*) onde os antígenos inicialmente penetram no sistema e iniciam a resposta imune e o restante do parênquima pulmonar onde células diferenciadas T e B de memória, que se desenvolveram nos folículos secundários, transitam para interagir com os antígenos. O aumento nos linfócitos T de memória após provocação antigênica pode ser consequência de uma proliferação local ou migração do BALT e de linfonodos que drenam o parênquima regional pulmonar.



Os linfócitos apresentam uma participação muito importante na asma. Representam 20-40% das células brancas sanguíneas circulantes e 99% das células na linfa. São células redondas, menores que os outros elementos do sangue, com um grande núcleo e fino citoplasma com a forma de rim (**Figura 1**). Dividem-se em linfócitos T, linfócitos B e células nulas. Todos os três tipos são pequenos, móveis, não fagocitam e não podem ser distinguidos morfologicamente um dos outros. Os linfócitos antes de interagirem com antígenos são chamados de precursores ou *naives*. Uma vez estimulados (por citocinas apropriadas/sinais celulares) sofrem um ciclo de alterações e posteriormente se diferenciam em células efetoras ou de memória (plasmócitos, células TH *helper* ou auxiliares e TC *cytotoxic* ou supressoras).

Diferentes linhagens ou diferentes estágios de maturação dos linfócitos podem ser caracterizados através da expressão de moléculas da membrana, reconhecidas por anticorpos monoclonais específicos. Estas moléculas são chamadas de moléculas CD (*cluster of differentiation*), sendo contabilizadas atualmente mais de 150 tipos. As células nulas constituem um pequeno grupo de linfócitos do sangue periférico, não expressam moléculas de membrana Ig ou receptores de células T (TCR) ou moléculas típicas CD.

Uma população funcional dos linfócitos que representa 5-10% dos linfócitos do sangue periférico é composta por células que derivam de grandes linfócitos granulares e são denominadas células NK (*natural killer cells*).

Dentre os leucócitos, somente os linfócitos T são capazes de iniciar respostas imunes após o reconhecimento de antígenos externos através de receptores antígeno-específicos, exercendo também funções como células apresentadoras de antígenos (APCs). Na atualidade já existe considerável conhecimento para a aceitação da hipótese de que a asma represente uma forma especializada de imunidade celular-mediada, na qual citocinas e possivelmente outros mediadores secretados e ativados pelos linfócitos T, promovam acumulação específica e ativação de eosinófilos na mucosa brônquica.

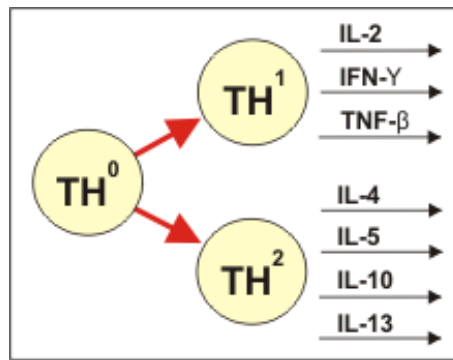
Nos brônquios, tanto de pacientes com asma atópica como na não-atópica, têm sido encontrados linfócitos T auxiliares ativados, que expressam o receptor IL-2 (CD25+) em sua superfície (1-3). O número de linfócitos ativados correlaciona-se com a gravidade da doença, com o número de eosinófilos ativados, com o valor do PFE (4) e com a concentração de metacolina necessária para produzir queda de 20% no VEF₁ (PC₂₀).

Os linfócitos ativados são células muito importantes na resposta imune, coordenando e amplificando a atividade efetora antígeno-específica e não-específica de células inflamatórias, como os linfócitos B e os eosinófilos. Os linfócitos T dividem-se em duas categorias distintas de acordo com os marcadores de superfície e atividade. Os que expressam o antígeno CD4+ participam principalmente da imunidade humoral e são chamados de T auxiliares, incitando a produção de IgE e IgG4, enquanto que os que expressam o antígeno CD8+ são chamados de T supressores, participam da resposta imune celular e síntese de IgG2a e interagem com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I.

As células T representam a grande maioria dos linfócitos encontrados no trato respiratório de indivíduos normais. São encontrados nas vias aéreas, no epitélio alveolar e no interstício. Aproximadamente 1×10^6 linfócitos são recolhidos quando de lavado bronco-alveolar em indivíduos normais. São geralmente células T de memória CD45RO que co-expressam o receptor de célula T α/β (TCR). Por outro lado, apenas um pequeno número de células normais pulmonares (5%) se coram com o anticorpo monoclonal TCR δ 1 que reconhece o epitopo comum da cadeia δ expresso por todas células TCR γ/δ .

Os linfócitos T apresentam papel essencial na iniciação e regulação das respostas inflamatórias, pois ajudam a ativar as respostas de outras células, através da secreção de uma variedade de mediadores locais, coletivamente denominados de citocinas. O termo citocina inclui linfocinas e monocinas, palavras pouco usadas na atualidade. As citocinas são proteínas de baixo peso molecular e funcionam como moléculas mensageiras do sistema imunológico. Em geral atuam localmente, em tecidos contíguos, de forma gradiente-dependente. Podem apresentar atividade sistêmica como agentes endócrinos. São secretadas por uma variedade de células e atuam sobre outras células, ligando-se a receptores de citocinas. Esta ligação de alta afinidade entre a citocina e seu receptor permite que pequenas quantidades da substância apresentem ação potente. Quando a citocina liga-se ao receptor, ele emite sinais intracelulares (sinais de transdução) que conduzem a específicas modificações na expressão de genes. Muitas das citocinas são designadas de interleucinas (IL) e atuam na comunicação entre os leucócitos.

As citocinas produzidas pelos linfócitos T, mais de 20, têm participação importante na resposta inflamatória crônica da asma. Atuam em receptores específicos de células-alvo, transmitindo sinais que determinam ativação, proliferação, quimiotaxia, imunomodulação, ativação de outras citocinas ou mediadores, crescimento e diferenciação celular e apoptose. Apresentam também participação na regulação da expressão de moléculas de adesão, tanto nas células endoteliais da circulação brônquica como nas células epiteliais. Os linfócitos possuem vida longa e memória imunológica e também podem ser ativados por antígenos específicos. Sua importância na doença é sugerida pelo aumento de CD4+ ativados encontrados no lavado bronco-alveolar, em biópsias brônquicas e no sangue periférico.



Os linfócitos T CD4+ auxiliares (em inglês - *helper*) se subdividem em duas categorias fenotípicas funcionais, de acordo com a sua capacidade de secretar citocinas, o tipo 1 T *helper* (TH1) e o tipo 2 T *helper* (TH2), que derivam do TH0 ou células nulas, linfócitos que não tiveram ainda interações

com antígenos (**Figura 2**). O

linfócito TH0 *naive* produz primariamente a IL-2, entretanto, pode também sintetizar citocinas características das células TH1 e TH2. O fator determinante da diferenciação dos precursores do linfócito CD4+ em TH1 e TH2 ainda não é conhecido, porém acredita-se que possa estar relacionado à ação de citocinas do ambiente circundante do linfócito, especialmente a IL-4, IL-6, IL-12 e IFN- γ , que influenciam intensamente as células T antes que ocorra a clonagem de diferenciação em células TH. Após estimulação dos linfócitos TH0, estas células sofrem diferenciação e de acordo com as citocinas do meio, começam a produzir um perfil particular de citocinas. Na presença de IL-12 ou IFN- γ estas células são induzidas a secretar citocinas tipo TH1 como o IFN- γ e a IL-2. Por outro lado, a presença de IL-4 no meio circundante, proveniente de fontes como mastócitos, basófilos, células T CD4+ NK1.1 e do próprio TH *naive* (auto-regulando a própria produção), estimula as células TH0 a desenvolver um padrão TH2 com expressão de citocinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13 e IL-25. Embora ambos os subtipos de linfócitos secretem IL-3, TNF- α e GM-CSF, o TH1 produz preferencialmente a IL-2, que estimula a proliferação de células T, o TNF- β e o interferon gama (IFN- γ) que inibe a ativação do linfócito B e a síntese de IgE. Estas citocinas são responsáveis pelo desenvolvimento da clássica reação tardia de hipersensibilidade (tipo IV), importante na imunidade celular (ativação de macrófagos e linfócitos T supressores) contra patógenos intracelulares.

Mais recentemente, demonstrou-se que as células T produzem citocinas que não são classificadas como pelo exposto acima, em linfócitos TH1 ou TH2. A interleucina-17 está entre estas citocinas e as células T que preferencialmente produzem a IL-17, porém não o interferon- γ ou a interleucina-4, foram nomeadas de células TH17. Desde que estas células se constituem em uma distinta linhagem, agora dispomos de três tipos de células T auxiliares efetoras: TH1, TH2 e TH17. O mecanismo de indução e funções efetoras deste novo tipo de célula T ainda não são bem compreendidas. Sua função é a de "liquidar" organismos infecciosos, sendo que a sua participação na indução da inflamação e os eventos moleculares que determinam sua diferenciação são foco de importantes estudos na imunologia. Como as células TH1 e TH2, as células TH17 produzem um grupo de citocinas distintas - interleucina-17 (também chamada de IL-17A), interleucina-17F, interleucina-22 e interleucina-21, - todas participantes da orquestração de determinado tipo específico de resposta inflamatória.

As principais ações das interleucinas relacionadas às células TH2 na asma são:

IL-3 – A IL-3 estimula o desenvolvimento de mastócitos nos tecidos. Atua na diferenciação e ativação de eosinófilos hipodensos, neutrófilos, basófilos e mastócitos. Prolonga a sobrevivência de eosinófilos. A maior fonte de IL-3 é o linfócito T porém, na inflamação alérgica, também é sintetizada por eosinófilos e mastócitos.

IL-4 – Os efeitos biológicos proeminentes da IL-4 na asma são exercidos através de sua ligação aos seus receptores (IL-4R), expressos na superfície de várias células. O receptor IL-4 é um heterodímero, consistindo na ligação da IL-4 com a cadeia alfa do receptor IL-4 (IL-4R α) e com uma segunda cadeia que pode ser a γ c (compartilhada em comum com os receptores para IL-2, IL-7, IL-9 e IL-15) ou o IL-13R α (5,6). Um aumento da expressão IL-4R α é encontrado no epitélio e subepitélio das vias aéreas de pacientes com asma. Polimorfismos dos genes IL-4 e IL-4R α relacionam-se com a gravidade da asma.

A IL-4 apresenta múltipla e relevante participação na fisiopatologia da asma, mencionando-se:

- 1 modulação no crescimento, na diferenciação e na degranulação dos mastócitos;
- 2 regulação da síntese de IgE pelos linfócitos B;
- 3 diferenciação/proliferação das células TH2;
- 4 inibição do desenvolvimento TH1;
- 5 *upregulation* da FcεRII e a atuação na expressão antigênica do complexo maior de histocompatibilidade II (MHC classe II) sobre as células apresentadoras de antígenos (APCs);
- 6 *upregulation* da expressão da molécula-1 de adesão vascular (VCAM-1);
- 7 *downregulation* da expressão da molécula-1 de adesão endotelial intercelular (ICAM-1);
- 8 *downregulation* da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF-α e IL-1β) e quimiocinas (IL-8);
- 9 em associação com a IL-3 promove o crescimento de basófilos e eosinófilos;
- 10 quimiotaxia e ativação de fibroblastos (remodelamento) e;
- 11 estimulação das células produtoras de muco e fibroblastos, tendo implicações na patogênese do remodelamento das vias aéreas.

Estudos efetuados através de biópsia brônquica evidenciaram ao nível do epitélio e subepitélio, o aumento na expressão da IL-4, tanto sob a forma protéica como sob a forma mRNA, em pacientes com asma atópica e não-atópica, o que não foi demonstrado em controles não-asmáticos (7-9). A IL-4 parece ser um pré-requisito para que os linfócitos T iniciem a produção da IL-5.

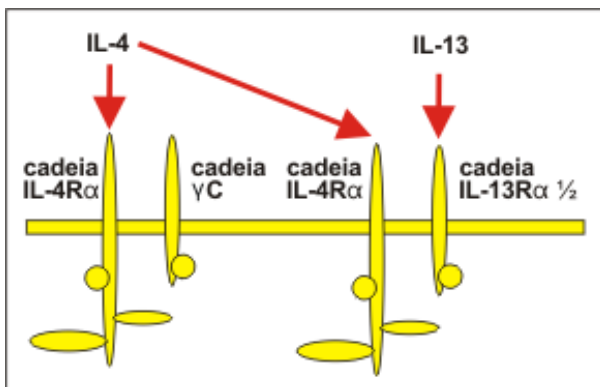
IL-5 – A IL-5 é o determinante primário da diferenciação, recrutamento, ativação, adesão e sobrevivência dos eosinófilos, bloqueando sua apoptose (10,11). Em condições alérgicas atua como uma eosinofiloetina. A administração exógena de IL-5 ocasiona eosinofilia em uma variedade de modelos *in vivo*. Por outro lado, a expressão da IL-5mRNA correlaciona-se com os índices clínicos de gravidade da asma (12,13). Outros trabalhos, através de biópsias brônquicas, comprovaram que a expressão do receptor IL-5 é restrita praticamente aos eosinófilos (> 90%), enquanto que a expressão IL-5Rα na membrana celular correlaciona-se inversamente com o VEF₁ basal, ao passo que a expressão do IL-5Rα solúvel (sIL-5Rα), com ação antagônica a IL-5, correlaciona-se positivamente com o VEF₁ (14). Em ratos transgênicos a expressão aumentada de IL-5 no epitélio respiratório resulta em maior hiper-responsividade brônquica. A IL-5 promove o acúmulo de eosinófilos nas doenças alérgicas inflamatórias através da *upregulation* de respostas de quimiocinas e integrinas α_dβ₂ nos eosinófilos, promovendo desta forma sua aderência a VCAM-1 expressa nas células endoteliais e subsequente migração transendotelial.

IL-6 – A IL-6 estimula a proliferação de tímócitos e linfócitos T, *upregulate* a produção de IgE dependente da IL-4 e 14, medeia a diferenciação de células B (15). Níveis de IL-6 estão aumentados no escarro e na circulação sistêmica de pacientes com asma severa. A IL-6 pode ser uma das responsáveis pelo aumento dos níveis circulantes de proteína C reativa nestes pacientes.

IL-8 – A IL-8 determina ativação e quimiotactismo para neutrófilos e fraca quimiotaxia para eosinófilos. Ratos *knock-out* para receptor IL-8 apresentam redução na hiper-responsividade brônquica (16).

IL-9 – A IL-9 antigamente denominada de fator de crescimento das células T passou a apresentar grande interesse por induzir produção preferencial de células T do tipo TH2. Esta citocina estimula a proliferação de células T ativadas e aumenta a produção de IgE pelas células B através de um sinergismo com a IL-4. A IL-9 promove a proliferação e diferenciação dos mastócitos e de células hematopoiéticas precursoras. Apresenta outras ações na inflamação alérgica como a indução da expressão da eotaxina, dos receptores IL-5 e receptor 4 para quimiocina. Em sinergismo com a IL-5 estimula a diferenciação e sobrevivência dos eosinófilos. Induz a expressão das quimiocinas e mucina nas células epiteliais brônquicas. A IL-9 pode ainda mediar seus efeitos nas vias aéreas pela habilidade que apresenta de induzir a ação da IL-13.

IL-11 – A IL-11 favorece a polarização TH2 a partir da célula T *naive* (17). Desta forma, a IL-11 pode estar associada à respostas TH2 e a reparação crônica e remodelamento das vias aéreas.



IL-13 – Um aumento na expressão de IL-13 tem sido descrita tanto na asma atópica como na não-atópica, após provocação antigênica. A IL-13 apresenta muitas similaridades biológicas e bioquímicas com a IL-4. Ambas têm atividades biológicas muito parecidas, em decorrência da estrutura de seus receptores. O receptor da IL-13 consiste nas cadeias IL-13Rα 1 ou a 2 que se ligam a IL-13, apresentando ainda, uma cadeia IL-4Rα. A IL-4 pode, portanto, ligar-se a ambos os receptores (IL-4 e IL-13) através da cadeia IL-4Rα, enquanto que a IL-13 liga-se somente ao seu próprio receptor (**Figura 3**). A IL-13 atua

na regulação da resposta imune. Induz a expressão CD23 nos linfócitos B, agindo como a IL-4 na síntese de IgE e prolongando a sobrevivência dos mastócitos nos tecidos. A IL-13 promove o recrutamento seletivo de eosinófilos através do aumento da expressão VCAM-1 no endotélio vascular e inibe a IL-12 e o IFN-α que promovem normalmente resposta TH1. A IL-13 apresenta ainda importante papel na secreção de muco (metaplasia) e hiper-responsividade do músculo liso das vias aéreas. IL-4 e IL-13 podem ainda atuar como *co-mitogens* para a proliferação de células B, prolongando a sobrevivência de células T e B em cultura, regulando a fisiologia vascular tecidual e induzindo a produção de quimiocinas importantes (p. ex. CCR2) para o recrutamento de células que participam das respostas alérgicas imunes. A IL-13 estimula a elaboração de enzimas proteolíticas chamadas matrix-metaloproteinases (MMP-9, MMP-12) que apresentam importante papel na resposta inflamatória do paciente com asma. As múltiplas funções da IL-4 e IL-13 decorrem da habilidade que ambas apresentam em ativar várias vias de sinalização de transdução dentro da célula. A IL-13 participa do remodelamento brônquico, através da estimulação da produção e ativação de citocinas fibrogênicas como a TGF-β₁.

IL-17 – É uma citocina do linfócito Th-17 com características de quimiotactismo (18), capaz de induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias (inclusive o GM-CSF) pelos fibroblastos (19). A IL-17 libera IL-8, GRO-α e TNF-α das células epiteliais e é uma das responsáveis pela orquestração da inflamação neutrofílica da asma. A IL-17 estimula as células epiteliais *in vitro* a liberarem o fator ativador dos neutrófilos IL-6. O efeito da IL-17 na IL-6

e na IL-8 é em parte mediado via MAP (*mitogen-activated protein*) quinase.

IL-25 – A IL-25 é uma citocina recém descrita, atuando na diferenciação TH2, com homologia a IL-17, induzindo as células T de murídeos a secretar IL-4, IL-5 e IL-13. A transferência adenoviral de IL-25 para pulmões de ratos, causa inflamação eosinofílica, danos epiteliais, hipersecreção de muco e hiper-responsividade brônquica (20).

IL-33 - In vivo, IL-33 induz a expressão da IL-4, IL-5 e IL13 e determina severas mudanças patológicas nas mucosas de órgãos. Comparando-se as biópsias brônquicas de pacientes com asma às de controles, foi observado nível elevado dos transcritos IL-33 em pacientes quando confrontados com grupo sem doença. Quando os pacientes com asma foram analisados de acordo com a gravidade da doença, o nível de IL-33 mRNA era estatisticamente elevado na asma severa quando comparado aos controles normais, enquanto nenhuma diferença foi encontrada entre asmáticos leves e controles. Em asmáticos severos e moderados, a expressão da proteína e mRNA IL-33 está localizada nas células de músculo liso das vias aéreas (51).

Todas estas citocinas (exceto a IL-25) apresentam elevada expressão nas vias aéreas de pacientes com asma, quando comparado aos níveis de controles voluntários não-asmáticos, sendo a IL 33 e a IL-11 detectadas principalmente em pacientes com asma grave, na qual acredita-se, possam atuar no remodelamento (21-24).

Recentemente, certos linfócitos CD4+ que produzem altos níveis de TGF- β com várias quantidades de IL-4 e IL-10 têm sido bem caracterizados como um subtipo, recebendo a denominação de TH3 (25). São células, entretanto, que não participam da inflamação alérgica.

Os linfócitos T CD8+ supressores (*cytotoxic*) podem também ser classificados em função do perfil de suas citocinas em TC1 e TC2. Ao contrário das células T CD4+, as células T CD8+ interagem com o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I. As células TC2 têm sido responsabilizadas também pelas reações de hipersensibilidade tardia na asma, enquanto que as células TC1 podem estar envolvidas na dermatite de contato e auto-imunidade.

Como exposto, os linfócitos TH2 apresentam importante papel na orquestração da resposta inflamatória associada a asma, sendo que recentemente avançamos nosso conhecimento a cerca dos fatores de transcrição, moléculas sinalizadoras, citocinas e sinais de transdução responsáveis pelo desenvolvimento destas células.

Na atualidade, estudos são efetuados visando compreender o que direciona um linfócito para uma resposta TH1 ou TH2. Podem ser citadas:

A interação da afinidade do antígeno-peptídeo com o receptor de células T (TCR) pode determinar esta resposta. Uma interação do antígeno-peptídeo de alta afinidade/TCR promoveria resposta TH1, enquanto que uma interação antígeno-peptídeo de baixa afinidade/TCR geraria uma resposta TH2. A interação entre antígeno de fraca afinidade e TCR não recruta CD45 e CD4+ para o complexo TCR e isto pode resultar na expressão de moléculas de sinalização que promovem respostas TH2 e /ou inibir respostas TH1, o que normalmente ocorre com a interação antígeno-peptídeo de alta afinidade/TCR.

A diferenciação de linfócitos TH é regulada, em particular, pela STAT 4 e STAT 6. A STAT 6 é um dos sete membros da família de fatores de transcrição Janus Kinase STAT (*signal transducers and activators of transcription*) que é ativado pela IL-4. Estudos comparando linfócitos precursores (*naives*) com linfócitos

deficientes em STAT 4, deficientes em STAT 6 e linfócitos deficientes em ambos (STAT 4 e STAT 6) apóiam um modelo de diferenciação de células TH na qual a *geração de células TH2 requer STAT 6, enquanto que uma via STAT 4 existe para desenvolvimento de células TH1* (26). Ratos STAT 6 knock-out não apresentam resposta a IL-4, não desenvolvem células TH2 em resposta a IL-4, não produzem IgE ou hiper-responsividade brônquica (27).

A STAT 4 é ativada apenas em resposta à citocina IL-12. O desenvolvimento de células TH1 em resposta a IL-12 está prejudicado no rato deficiente em STAT 4. A IL-12-ativada aumenta a produção de INF- γ , a proliferação celular, sendo a citotoxicidade (*natural-killer*) suprimida em linfócitos de ratos deficientes em STAT 4. Além disso, linfócitos STAT 4 deficientes demonstram uma propensão para o desenvolvimento de células TH2. Estes estudos revelam que STAT 4 é essencial na mediação de respostas da IL-12 em linfócitos, regulando a diferenciação de células TH1 e TH2. A STAT 6 é importante na sinalização IL-4 e na diferenciação celular TH2. Por outro lado, a IL-4 também parece sinalizar por IRS-2 (*insulin receptor-substrate-2*) assim como STAT 6. Estudos em ratos deficientes em IRS-2 e STAT 6 (27) demonstram que ambos (STAT 6 e IRS-2) são importantes na proliferação celular de células T pela IL-4 e na diferenciação de células TH2.

Novas evidências demonstram a importância do GATA-3 (GATA-binding protein 3), um fator de transcrição pleiotrópico expresso em células T, eosinófilos, mastócitos e basófilos, que se liga a seqüências consenso WGATAR, na regulação de respostas TH2. O GATA-3 pertence à família de fatores de transcrição que induz a expressão de certos genes, pela ligação *upstream* desses genes que contêm uma seqüência de nucleotídeos GATA com o sítio de transcrição. Este fator é expresso nas células TH2, o que não acontece com células TH1. Estudos de Nakamura *et al.* (28) sugerem um papel importante para o GATA-3 em pacientes com asma nas respostas TH2 nas vias aéreas. A expressão GATA-3 mRNA encontra-se aumentada de forma significativa nos brônquios de pacientes com asma, quando comparado aos controles normais. O número de células que expressam transcrições GATA-3 tem correlação significativa com o aumento da resistência e hiper-responsividade das vias aéreas em asmáticos. Estudos de co-localização evidenciaram que a maioria (aproximadamente 60 a 90%) de células GATA-3 mRNA+ nos brônquios de asmáticos era constituída de células T CD3(+), e em menor quantidade por eosinófilos MBP-positivos e mastócitos triptase-positivos. A densidade celular GATA-3 mRNA+ correlacionava-se significativamente com o número de células que expressavam a citocina TH2 IL-5 mRNA. A expressão do mutante negativo-dominante do GATA-3 em células T de ratos determina a redução dos níveis de citocinas TH2 IL-4, IL-5 e IL-13 (29). Em conseqüência, a eosinofilia brônquica, a produção de muco e a síntese de IgE sofrem considerável atenuação no rato transgênico. Em função destes estudos, pôde-se demonstrar que a inibição da atividade GATA-3 é suficiente para "abrandar" respostas TH2 *in vivo*, tornando-se um novo alvo para a terapêutica no tratamento da asma e doenças alérgicas.

Após simultânea ligação do receptor da célula T e co-receptor CD28 pelas células apresentadoras de antígenos, GATA-3 é fosforilada e ativada pela mitogen-ativada p38 da proteína quinase. A GATA-3 ativada transloca-se do citoplasma para o núcleo, onde ativa a gene transcrição. A expressão GATA-3 nas células T é regulada pelo fator de transcrição STAT 6 (*signal transducer and activator transcription*) via ativação do receptor IL-4.

Um grupo internacional (30-32) identificou recentemente o gene *T-bet*, que produz uma proteína que converte células CD4+ (mesmo aquelas já do subtipo TH2) em células TH1. O *T-bet* é um fator de transcrição que ativa o IFN- γ nos linfócitos TH1. Esta proteína foi encontrada em baixas concentrações nas vias aéreas de pacientes com asma. Para determinar se a baixa concentração da proteína *T-bet* leva a uma excessiva resposta TH2 e conseqüentemente à asma, este grupo criou um rato no qual o gene *T-bet* foi deletado (*T-bet* - / - knock-out). Estes ratos desenvolveram manifestações típicas funcionais e histológicas de asma como: importante broncoconstrição após inalação de metacolina, maior número de eosinófilos e linfócitos CD4 do subtipo TH2, vias aéreas com espessa camada de colágeno, e mais células musculares (miofibroblastos), bem como aumento dos níveis de citocinas (IL-4, IL-5 e IL-13). No rato o gene *T-bet* está localizado no cromossomo 11, na região associada a susceptibilidade de asma tanto em humanos como em ratos. Segundo Laurie

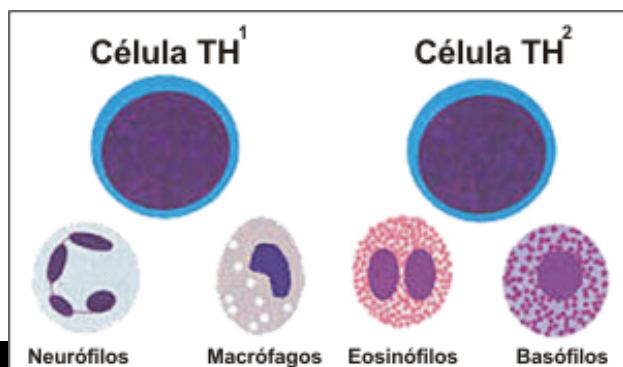
Glimcher (*Harvard School of Public Health and Harvard Medical School, Boston, MA, USA*) estes estudos mostram que a eliminação do gene *T-bet* no rato desencadeia a doença de forma "espontânea", assemelhando-se mais à asma humana do que aos modelos que utilizam antígenos externos (33). Estes achados nos direcionam para uma nova vertente, expondo o papel modulador do IFN- γ na asma, sugerindo que um desequilíbrio entre as citocinas TH1 e TH2 possa significar a característica principal da patogênese da asma.

Quando fosforilado o *T-bet* pode inibir a função GATA-3, impedindo a sua ligação à sequências alvo do DNA. O rato deficiente em *T-bet* demonstra maior expressão do GATA-3 e produção de citocinas TH2, confirmando que *T-bet* é um importante regulador do GATA-3. A expressão GATA-3 é também regulada pela IL-27, uma interleucina recentemente identificada como membro da família da IL-12, que *downregulate* a expressão GATA-3 e *upregulate* a expressão *T-bet*, favorecendo a produção de citocinas TH1, que atuam também promovendo inibição da expressão GATA-3. Por outro lado, GATA-3 inibe a produção de citocinas TH1 pela inibição STAT4, o maior fator de transcrição ativado pela citocina IL-12.

Os fatores quimiotáticos são indispensáveis para o recrutamento de células para o local da inflamação. O termo quimiocina foi proposto em 1992 para definir esta família de proteínas de baixo peso molecular com 6-10 kDa com similaridade de 20-55% na seqüência de aminoácidos, sendo relativamente celular específica (34). Até o momento foram identificadas mais de 40 quimiocinas. Estas moléculas foram divididas em quatro grupos estruturais baseados na organização dos resíduos de cisteína próximos ao N-terminal: CXC, CC, C e CX3C. As duas maiores famílias são a CXC e a CC. A plethora de nomes aplicados historicamente aos ligantes frequentemente idênticos das quimiocinas foram condensados após um consenso, em duas grandes subfamílias: de CCL1 a CCL28 e CXCL1 a CXCL16, bem como em duas pequenas subfamílias: XCL1 e XCL2 e CX3CL1, em função da identificação de um resíduo cisteína. Os receptores de quimiocinas estão distribuídos entre duas grandes subfamílias, CCR1 a CCR10 e CXCR1 a CXCR6, assim como duas pequenas subfamílias, XCR1 e CX3CR1.

A inflamação alérgica é regulada pelas células T, do subtipo TH2. O tráfego e recrutamento de células TH2 para os sítios de inflamação depende da expressão de receptores para quimiocinas CC e CD4. As células T que se diferenciam *in vitro* no fenótipo TH2, expressam os receptores de quimiocinas CCR3, CCR4 e CCR8 (35-37) e interagem com seus ligantes: CCL11 (eotaxina-1), CCL22 (*monocyte-derived chemokine* (MDC)), CCL17 (*thymus- and activation-regulated chemokine* (TARC)), e CCL1 (I-309/TCA-3). O CCR4 é fortemente expressa em células TH2 ativadas *in vitro* (38). Além disso, um estudo recente atesta a expressão CCR4 em células T que infiltram as vias aéreas após teste de provocação alérgica em pacientes com asma. Outra publicação demonstra um aumento na CCR4 nos linfócitos do sangue periférico de pacientes com dermatite atópica, quando comparado a normais (39).

Desta forma, antagonistas CCR3 poderiam modular o recrutamento de células TH2 e conseqüentemente regular a inflamação alérgica na asma. Existem evidências de que a quimiocina MCP-1, sinalizando via receptor CCR2, apresenta importante participação na regulação da diferenciação TH2 /TH1.

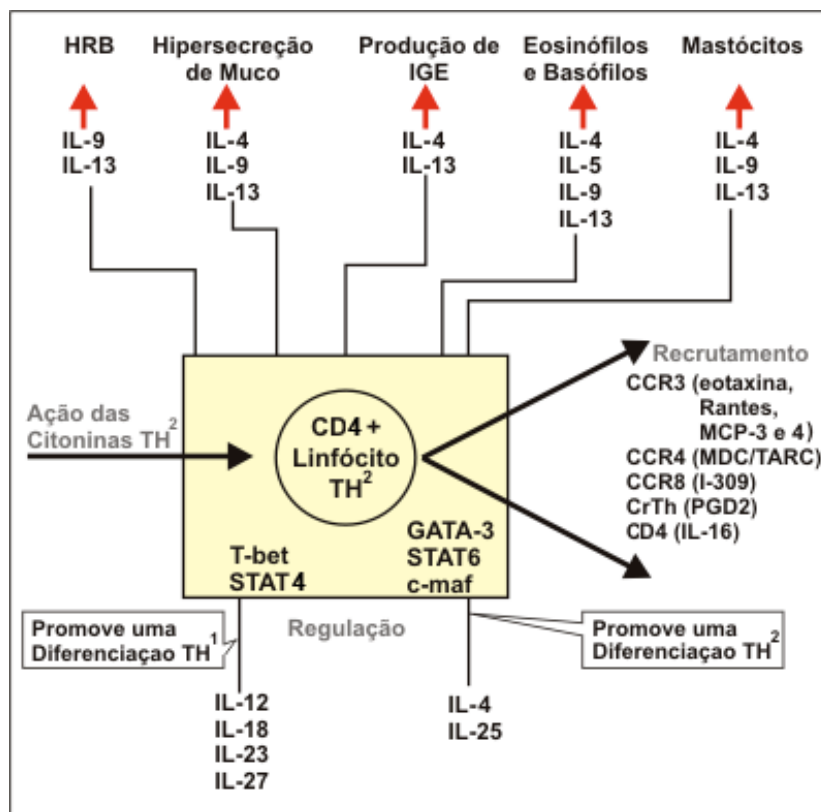


Outro papel das quimiocinas consiste na coordenação dos vários tipos de células que participam das respostas inflamatórias, o que pode ser chamado como "unidades funcionais imunes". As células TH1 co-localizam macrófagos e neutrófilos nos sítios periféricos inflamatórios, enquanto que os eosinófilos e basófilos são encontrados juntos à células TH2. Pelo perfil de produção de citocinas e quimiocinas, as células TH1 e TH2 influenciam a ativação e migração de outras

Neutrófilos	Macrófagos	Eosinófilos	Basófilos
CXR3 - I-TAC, IP-10, Mig		CCR4 - TARC, MDC	
CCR5 - MIP - 1 $\alpha\beta$		CCR3 - eotaxina 1,2	
CCR1 - Rantes		Rantes	
		MCP - 2,3,4	
		CCR8 - I-309	
		CrTh2	

células inflamatórias, bem como de células teciduais residentes (**Figura 4**). A participação das quimiocinas TH2 é importante não só pelo simples recrutamento de uma combinação de células inflamatórias no microambiente, como na determinação das características morfológicas do infiltrado inflamatório (40).

Uma representação diagramática dos fatores que influenciam a regulação, recrutamento e funções das citocinas das células TH2 é apresentada na **Figura 5**.



Células T regularórias

Avanços têm sido feitos para definir os mecanismos que controlam a inflamação e induzem a tolerância imune para antígenos específicos. Subtipos de células CD4+ conhecidas como células T regulatórias - células T que suprimem a inflamação e inibem a autoimunidade - (Treg) apresentam papel importante neste processo e nas vias de sinalização. As células T regulatórias apresentam um efeito supressor sobre outras células CD4+, podendo apresentar um papel na regulação da função TH2 na asma. A pesquisa por mecanismos imunoregulatórios foram direcionadas para um subtipo de Treg, a Treg CD25+. Recentemente foi demonstrado que as Tregs não funcionam adequadamente nos pacientes com alergia. Acredita-se que esta disfunção possa explicar a ativação TH2 encontrada nos pacientes atópicos. Existe forte evidência de que a regulação destas células T na periferia tenha crucial participação no controle das alergias. Teoricamente a célula Treg pode interferir no desenvolvimento de doenças alérgicas, incluindo a asma, em diferentes estágios como: sensibilização alérgica, progressão para inflamação alérgica, remodelamento brônquico, hiperresponsividade e na persistência das manifestações clínicas da doença (41).

Esta célula apresenta uma proteína de membrana chamada CD25, que é uma cadeia alfa do receptor para IL-2. Como outras células T, ela também possui receptor de célula T $\alpha\beta$ (alfa-beta) para antígeno (TCR) e pode

ser ativada, quando passa então, a expressar citocinas supressoras e o fator de transcrição *forkhead box P3* (Foxp3). Ela apresenta uma função importante nas respostas imunes e mantém a tolerância periférica contra antígenos e alérgenos. A perda da tolerância periférica contra alérgenos é causa de doenças alérgicas (42). Existem evidências de que as células T regulatórias CD4+CD25+ que expressam o Foxp3 estão reduzidas em indivíduos com rinite alérgica, quando comparado a indivíduos não-atópicos e isto pode ser importante, capacitando um alto número de células TH2 a desenvolver doença alérgica (50).

As células T regs servem para limitar respostas inflamatórias e promovem tolerância em uma variedade de sistemas experimentais e desordens clínicas. Os dois subtipos mais estudados de T regs são as células T regulatórias naturais (n Treg) e as células T regulatórias adaptativas (a Treg), que previnem respostas imunes contra auto-antígenos e respostas adaptativas imunes, respectivamente (41). Participam de forma importante como células imunoregulatórias, capazes de suprimir respostas imunes adaptativas mediadas TH1 e TH2. As a Tregs são ainda subdivididas em Tregs tipo 1 (Tr1) e tipo 3 (Th3) que medeiam exclusivamente supressão via citocinas IL-10 e TGF- β , respectivamente. O aumento dos níveis de IL-10 e TGF- β que são produzidos pela célula T reg, potencialmente suprimem a produção de IgE, enquanto simultaneamente aumentam a produção de IgG4 e IgA pelos linfócitos B.

Tregs CD25+ podem suprimir uma ampla série de processos imunes de mediação celular, sugerindo um papel regulador em múltiplas doenças, inclusive a asma. A maior evidência experimental indica que as Tregs CD25+ requerem o contato celular, o acoplamento de seu receptor de célula-T, e a IL-2 para que sua função biológica de supressão seja transmitida. Tregs CD25+ podem suprimir diretamente as células T CD25+ ou causam indiretamente a supressão através de células apresentadoras de antígenos.

Células nTreg CD4+CD25+ são geradas no timo e são encontradas no sangue e em tecidos linfóides periféricos, correspondendo a 5-10% de todas as células CD4+ e na medula óssea alcançam 20%, tanto no rato como no homem (43-46). Até a presente data, o único marcador genético para o Treg CD25+ é o fator repressor de transcrição Foxp3. Acredita-se que o Foxp3 seja o regulador máster para função e desenvolvimento do Treg CD25+. Mutações no Foxp3 no rato e em humanos causam uma desregulação imune e doenças auto-imunes órgão-específicas. Acredita-se que o Foxp3 reprima doenças auto-imunes e a expressão de vários genes de citocinas pró-inflamatórias (47).

Mutações no gene que codifica o Foxp3 estão associadas com a ausência de Tregs CD25+ e constituem a causa de desregulação imune ligada ao cromossomo X, poliendocrinopatia, enteropatia, constituindo-se na chamada síndrome ligada ao X (IPEX). Pacientes com a síndrome IPEX apresentam eczema, eosinofilia, aumento nos níveis de IgE e intensificação nas respostas TH2 (48). Portanto, existem evidências de que o Foxp3 e as células Tregs CD25+ apresentam um papel de supressão em humanos, nas respostas imunes TH2, sendo que achados similares foram descritos em ratos.

Recentes avanços no campo da imunologia têm ampliado nossos conhecimentos de como as respostas imunes adaptativas são reguladas, existindo mais evidências de que as células T regs CD25+ constituem um importante componente deste processo, incluindo a inflamação alérgica da asma. Por outro lado, já ficou demonstrado que o número deste tipo de linfócito aumenta durante a imunoterapia específica (49).

Informações Médicas
Home

Design by Walter
Serralheiro

Início << Resposta Tardia da Asma

Anterior << Macrófagos

Próximo >> Eosinófilos

Bibliografia:

01. Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK, et al. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:1407.
02. Bradley BL, Azzawi M, Jacobson M, et al. Eosinophils, T-lymphocytes, mast cells, neutrophils, and macrophages in bronchial biopsy specimens from atopic subjects with asthma: Comparison with biopsy specimens from atopic subjects without asthma and normal control subjects and relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88:661.
03. Hamid Q, Barkans J, Robinson DS et al. Co-expression of CD25 and CD3 in atopic allergy and asthma. *Immunology* 1992; 75:659.
04. Corrigan CJ, Hartnell A, Kay AB. T lymphocyte activation in acute severe asthma. *Lancet* 1988; 1:1129.
05. de Vries JE. The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *J Allergy CLIN immunol* 1998; 102:165.
06. Nelms K, Keegam AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. *Annu Rev Immunol* 1999; 17:701.
07. Humbert M, Durham SR, Ying S et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against intrinsic asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1497.
08. Ying S, Humbert M, Barkans J et al. Expression of IL-4 and IL-5 mRNA and protein product by CD4+ and CD8+ T cells, eosinophils, and mast cells in bronchial biopsies obtained from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *J Immunol* 1997; 158:3539.
09. Kotsimbos TC, Ghaffar O, Minshall EM, et al. Expression of IL-4 receptor α -subunit is increased in bronchial biopsy specimens from atopic and nonatopic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:859.
10. Chutterbuck EJ, Hirst EMA, Sanderson CJ. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood* 1989; 73:1504.
11. Kroegel C, Virchow JC, Luttmann W, Walker C, Warner JA. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (part I). *Eur Respir J* 1994; 7:519.
12. Hamid Q, Azzawi M, Ying S et al. Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J Clin Invest* 1991; 87:1541.
13. Robinson DS, Ying S, Bentley AM et al. Relationships among numbers of bronchoalveolar lavage cells expressing messenger ribonucleic acid for cytokines, asthma symptoms, and metacholine responsiveness in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92:397.
14. Yasrael Z, Humbert M, Kotsimbos TC et al. Membrane-bound and soluble α IL-5 receptor mRNA in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1413.
15. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* 1990; 8:253.
16. Larché M, Robinson DS, Kay B. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:450.
17. Curti A, Ratta M, Corinti S, Girolomoni G, Ricci F, Tazzari P et al. Interleukin-11 induces Th2 polarization of human CD4+ T cells. *Blood* 2001; 97:2758.
18. Center DM, Kornfeld H, Wu MJ, Falvo M, Theodore AC, Bernardo J, et al. Cytokine binding to CD4+ inflammatory cells: implications for asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:S59.

19. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108:430.
20. Hurst SD, Muchamuel T, Gorman DM, Gilbert JM, Clifford T, Kwan S et al. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: in vivo function of the novel cytokine IL-25. *J Immunol* 2002; 169:443.
21. Ying S, Meng Q, Kay AB, Robinson DS. Elevated expression of interleukin-9 mRNA in the bronchial mucosa of atopic asthmatics and allergen-induced cutaneous late-phase reaction: relationships to eosinophils, mast cells and T lymphocytes. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:866.
22. Minshall E, Chakir J, Laviolette M, Molet S, Zhu Z, Olivenstein R et al. IL-11 expression is increased in severe asthma: association with epithelial cells and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:232.
23. Humbert M, Durham SR, Kimmitt P, Powell N, Assoufi B, Pfister R et al. Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:657.
24. Laberge S, Ernst P, Ghaffar O, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM, et al. Increased expression of interleukin-16 in bronchial mucosa of subjects with atopic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17:193.
25. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T cells subsets: T_H¹, TH2, and more. *Immunol Today* 1996; 17:138.
26. Schaefer G, Venkataraman C, Schindler U. – STAT6. In: Hansel TT, Barnes PJ (eds). *New Drugs for Asthma and COPD*. Basel:Karger; 2001:346-349.
27. Tomkinson A, Kanehiro A, Rabinovitch N et al. The failure of STAT6-deficient mice to develop airway eosinophilia and airway hyperresponsiveness is overcome by interleukin-5. *Am J Respir Care Med* 1999; 160:1283.
28. Nakamura Y, Ghaffar O, Olivenstein R et al. Gene expression of the GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:215.
29. Zhang DH, Yang L, Cohn L, Parkyn L, Homer R, Ray A. Inhibition of allergic inflammation in a murine model of asthma by expression of a dominant-negative mutant of GATA-3. *Immunity* 1999; 11:473.
30. Vogel G. Missing gene takes mice's breath away. *Science* 2002; 295:253.
31. Finotto S et al. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking *T-bet*. *Science* 2002; 295:336.
32. Szabo SJ et al. Distinct effects of T-bet in T_H¹ lineage commitment and IFN- γ production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295:338.
33. Venis S. Transcription factor shown to have a role in triggering asthma. *Lancet* 2002; 359 : 138.
34. Cavaillon JM. – Interleukine-8 & Chémokines. In : J.-M.Cacaillon. *Les Cytokines*. Paris:Masson; 1996:217-231.
35. Gerber BO, Zanni MP, Ugocioni M, Loetscher M, Mackay CR, Pichler WJ, Yawalkar N, Baggiolini M, Moser B. Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in T lymphocytes co-localizing with eosinophils. *Curr Biol* 1997; 7:836.
36. Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A. Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T helper 2 cells. *Science* 1997; 277:2005.
37. Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, Allavena P, Gray PA, Mantovani A, Sinigaglia F. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *J Exp Med* 1998; 187:129.
38. D'Ambrosio D, Iellem A, Bonecchi R, Mazzeo D, Sozzani S, Mantovani A, Sinigaglia F. Selective up-regulation of chemokine receptors CCR4 and CCR8 upon activation of polarized human type 2 Th cells. *J Immunol* 1998; 161:5111.
39. Yamamoto J, Adachi Y, Onoue Y, Okabe Y, Itazawa T, Toyoda M, Seki T, Morohashi M, Matsushima K, Miyawaki T. Differential expression of the chemokine receptors by the Th1- and Th2-type effector populations within circulating CD4+ T cells. *J Leukoc Biol* 2000; 68:568.
40. Sinigaglia F, Fabbri LM, D'Ambrosio D. – Chemokine Receptors on Th1 and Th2 Cells. In : Hansel TT, Barnes PJ (eds). *New Drugs for Asthma and COPD*. Basel:Karger; 2001:284-287.

41. van Oosterhout AJM, Bloksma, N. Regulatory T-lymphocytes in asthma. *Eur Respir J* 2005; 26:918.
42. Karagiannidis C, Akdis M, Holopainen P, Woolley NJ, Hense G, Ruckert B et al. Glucocorticoids upregulate FOXP3 expression and regulatory T cells in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:1425.
43. Shevach EM. CD4 + CD25 + suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2:389.
44. Maloy KJ, Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol* 2001;2:816.
45. Fehervari Z, Sakaguchi S. Development and function of CD25 + CD4 + regulatory T cells. *Curr Opin Immunol* 2004;16:203.
46. Zou L, Barnett B, Safah H, et al. Bone marrow is a reservoir for CD4 + CD25 + regulatory T cells that traffic through CXCL12/CXCR4 signals. *Cancer Res* 2004;64:8451.
47. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor foxp3. *Science* 2003; 299:1057.
48. Chatila TA, Blaeser F, Ho N, Lederman HM, Voulgaropoulos C, Helms C et al. JM2, encoding a fork head-related protein, is mutated in X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome. *J Clin Invest* 2000; 106:R75.
49. Akdis CA et al. Role of interleukin-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998; 102:98.
50. Ling E.M. et al. Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363:608-615.
51. Prefontaine D, Lajoie-Kadoch S, Foley S, et al. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *J Immunol* 2009; 183: 5094–5103.

Informações Médicas
Home

Design by Walter
Serralheiro

Início << Resposta Tardia da Asma
Anterior << Macrófagos

Próximo >> Eosinófilos