Copyright © 1997 - 2025 Dr. Pierre d'Almeida Telles Filho

Asma

Tratamento da Asma

BRONCODILATADORES BETA-AGONISTAS

O músculo liso das vias aéreas não apresenta inervação adrenérgica direta. A broncodilatação adrenérgica e outros efeitos ß-adrenérgicos na asma são mediados via estimulação de ß-receptores pelas catecolaminas circulantes.

A maioria dos receptores proteicos de superfície celular pertence a uma das três grandes famílias:

1. Receptores associados a canais iônicos
2. Receptores associados à proteína G
3. Receptores associados a enzimas

Os receptores adrenérgicos são membros da superfamília de receptores cujo sinal para o interior da célula ocorre via proteínas G. Os receptores de proteínas G são a maior família de receptores de superfície celular envolvidos em uma ampla gama de processos fisiológicos e compõem uma família de proteínas farmacologicamente importante, com aproximadamente 450 genes identificados até o momento.

Em 1948 Ahlquist[1] propôs as designações a e ß para receptores no músculo liso onde as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) produziam respostas excitatórias e inibitórias, respectivamente. Uma análise mais detalhada levou Lands[2] em 1967 a diferenciar farmacologicamente os subtipos a_1 e a_2 e $ß_1$ e $ß_2$.

Atualmente são descritos no genoma humano nove genes que codificam para receptores adrenérgicos, divididos em três subtipos segundo suas propriedades farmacológicas e vias de sinalização:[3-5]

- Receptores a_1-adrenérgicos (codificados pelos genes ADRA1A, ADRA1B e ADRA1D)
- Receptores a_2-adrenérgicos (codificados pelos genes ADRA2A, ADRA2B e ADRA2C)
- ß-receptores não adrenérgicos (codificados pelos genes ADRB1, ADRB2 e ADRB3)

Cada subtipo de receptor adrenérgico tem padrões de expressão específicos do tecido e funções fisiológicas distintas.

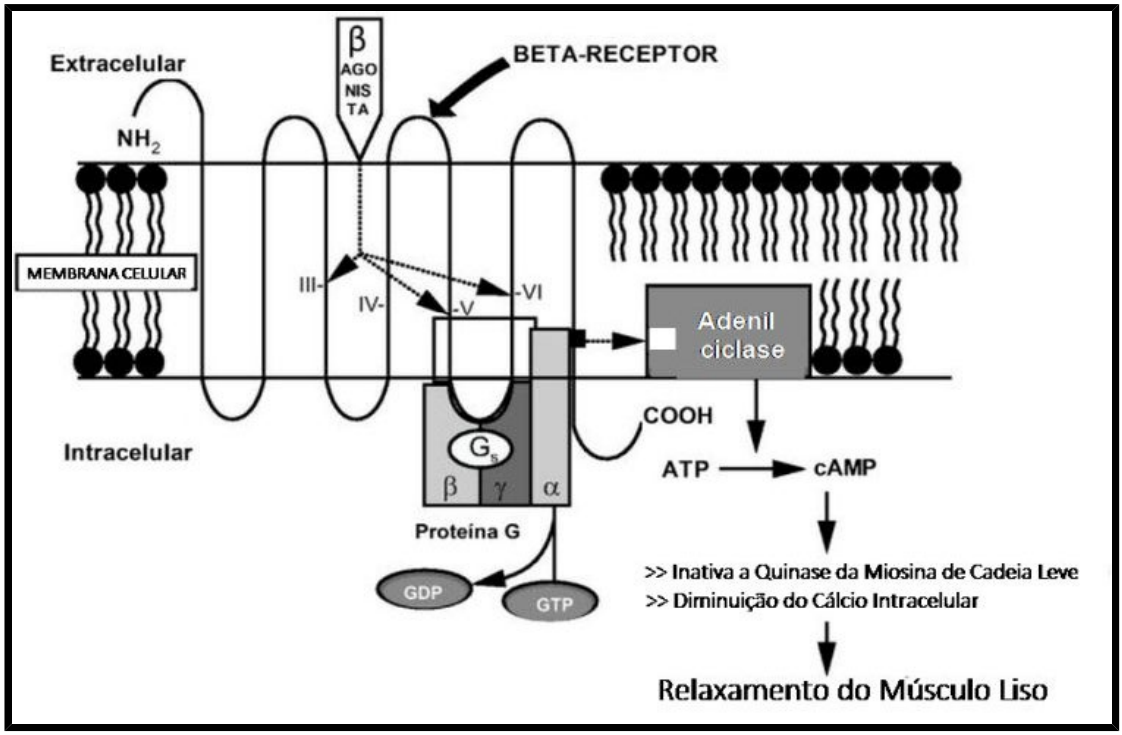
Os receptores a-adrenérgicos se apresentam na forma de dois subtipos a_1 e a_2, estando distribuídos de forma diferente no corpo humano e apresentam funções distintas. São em sua grande maioria pós-juncionais, quando presentes na parede dos vasos sanguíneos promovem a vasoconstrição e quando no coração aumentam o inotropismo. Apesar de existirem outros receptores adrenérgicos nos vasos ($ß_2$, e em menor número a_2) a resposta predominante do estímulo simpático vascular é decorrente do efeito da estimulação do receptor a_1.[6]

Basicamente todas as células humanas nucleadas expressam receptores ß-adrenérgicos. Os ß-receptores encontrados nos pulmões de humanos são predominantemente do tipo $ß_2$ (70%), incluindo brônquios, bronquíolos – na superfície muscular, epitélio, glândulas serosas e mucosas, fibroblastos e músculo liso vascular – e nos alvéolos, enquanto que os $ß_1$ (30%) encontram-se nas células epiteliais das vias aéreas.[7,8] Nos brônquios de pacientes asmáticos os ß-receptores são também encontrados nos macrófagos, e em uma variedade de células recrutadas durante o processo inflamatório abrangendo linfócitos T, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e mastócitos. Não há redução na densidade dos receptores $ß_1$ ou $ß_2$ nos pulmões de pacientes com asma, seja no nível do receptor ou do mRNA quando comparado aos não asmáticos.[9]

Os receptores ß-adrenérgicos, $ß_1$ ($ß_1$AR), $ß_2$ ($ß_2$AR) e $ß_3$ ($ß_3$AR), são codificados por genes localizados respectivamente nos cromossomos 10, 5 e 8. O gene do receptor $ß_1$AR está localizado no cromossomo 10 (10q 24-26). O receptor B_2AR humano é codificado por um gene sem íntrons e está situado no braço longo do cromossomo 5 (5q31-q32). O gene do receptor B_3 AR está situado no cromossomo 8 ((8p11.2-8p12).[10]

Os três receptores ß-adrenérgicos apresentam semelhanças nas respectivas estruturas, com uma única cadeia polipeptídica que ziguezagueia atravessando sete vezes a bicamada lipídica da membrana celular, apresentando três alças intracelulares, três alças extracelulares com extremidades *amino* (NH2) extracelular e *carboxi* (COOH) dentro da célula. Os receptores ß-adrenérgicos expressam sequências idênticas de aminoácidos em cerca de 65–70%. São compostos por 413 aminoácidos com peso molecular de 46.500 Da.[8] Os receptores $ß_2$-agonistas foram clonados por Dixon et al. em 1966.[11] O $ß_2$-receptor é um receptor clássico acoplado à proteína G (GPCR) para sinalização intracelular de sete domínios transmembrana com trechos hidrofóbicos de 20–25 aminoácidos que assumem a forma de uma α-hélice que atravessa a membrana celular.

Os $ß_2$-agonistas são substâncias broncodilatadoras que ativam diretamente os $ß_2$-receptores que são expressos abundantemente nas células do músculo liso das vias aéreas, sendo os seus mecanismos intracelulares razoavelmente bem conhecidos. Ao se ligar no receptor o agonista formará pontes de hidrogênio com aminoácidos específicos dentro da proteína receptora, determinando alteração conformacional que leva à ativação da proteína estimuladora G, designada de G_s (proteínas reguladoras de nucleotídeos G_s – guanina). A proteína G faz parte de uma família de proteínas homólogas e triméricas consistindo em três subunidades — a, ß e g que parecem ancorar ou estabilizar a subunidade na membrana, mas também podem participar em mais eventos de sinalização de longo prazo **(Figura 1)**.[12,13] Dentre as diversas formas, a proteína G_s atua como proteína estimuladora da adenilciclase (AC).



No estado de repouso, a proteína G_s está 'conectada' com GDP (5' difosfato guanosina). A ativação desses receptores $ß_2$-agonistas promove a dissociação da GDP da subunidade a da proteína associada. Isto permite que o GTP (5' trifosfato guanosina) se ligue a essa proteína G e a subunidade a se dissocie da unidade ß. A subunidade a então se dissocia do $ß_2$-receptor e ativa a adenilciclase (AC), que catalisa a conversão de ATP em segundo mensageiro adenosina 3' 5' monofosfato cíclico (3'5'AMPc). O AMPc atua como o principal mensageiro intracelular dos $ß_2$-receptores e ativa a proteína quinase A (**PKA**), fosfolipase C e canais iônicos.

A PKA, capaz de fosforilar inúmeros substratos, fosforila certas proteínas-chave na célula levando à queda na concentração intracelular do cálcio e ao consequente relaxamento do músculo. A AMPc é continuamente destruída por uma ou mais fosfodiesterases de AMPc, as quais hidrolizam a AMPc transformando-a em adenosina 5' monofosfato (5'-AMP). A ação dos $ß_2$-agonistas resulta em curto espaço de tempo na elevação intracelular > 400 vezes no valor basal da concentração de AMPc.[14,15] A elevação da AMPc também determina redução do cálcio intracelular.

Após o broncodilatador $ß_2$-agonista se ligar ao $ß_2$-receptor no músculo liso das vias aéreas uma cascata de sinalização é ativada, resultando em mecanismos que participam do processo de relaxamento do músculo liso brônquico.[16-20] **(Tabela 1)**

Tabela 1 – Mecanismos que Participam do Processo de Relaxamento do Músculo Liso Brônquico

Inibição da produção de inositol 1,4,5 trifosfato induzida por espasmógeno

Inibição de cálcio livre intracelular por espasmógeno

Sensibilidade alterada do aparelho contrátil ao cálcio

Ativação de canais de K+ controlados por cálcio

Aumento da extrusão/recaptação de cálcio do citoplasma

Hiperpolarização da membrana celular

Elevações nos níveis de AMPc intracelular levam ao relaxamento do músculo liso por vários mecanismos incluindo: a) ativação da proteína quinase A (PKA); b) proteína de troca ativada por AMPc – (**EPAC**) independente da PKA; c) proteínas de troca e diminuição de concentrações intracelulares de cálcio e sinalização associada.[21-27]

A PKA é a via de sinalização a jusante tradicional do AMPc e a sua ativação resulta na fosforilação de várias proteínas alvo selecionadas no interior da célula,[25] trazendo a maioria dos efeitos fisiológicos da estimulção do β_2-receptor **(Figura 2)**. O PKA promove a ativação da MLCP, reduzindo a fosforilação do MLC20. A via do Gs, tanto diretamente quanto através do aumento do AMPc e subsequente ativação do PKA, leva à abertura de grandes canais de K+ ativados por Ca^{2+} (BK_{Ca}) de alta condutância. Esses processos culminam no relaxamento muscular, com a abertura dos BK_{Ca} induzindo a hiperpolarização celular e, consequentemente, o relaxamento do músculo **(Figura 2)**. Epac é um fator de troca de nucleotídeos de guanina Rap1 ativado diretamente pelo AMP cíclico, ocorrendo independentemente da PKA.[22] Os canais iônicos dependentes de nucleotídeos (CNGs) estão envolvidos na regulação do tônus e da contração da musculatura brônquica, afetando diretamente o diâmetro das vias respiratórias. Os íons de cálcio desempenham um papel central no acoplamento excitação/contração permitindo a interação entre a actina e a miosina e é da mesma forma essencial, permitindo que o músculo liso relaxe.

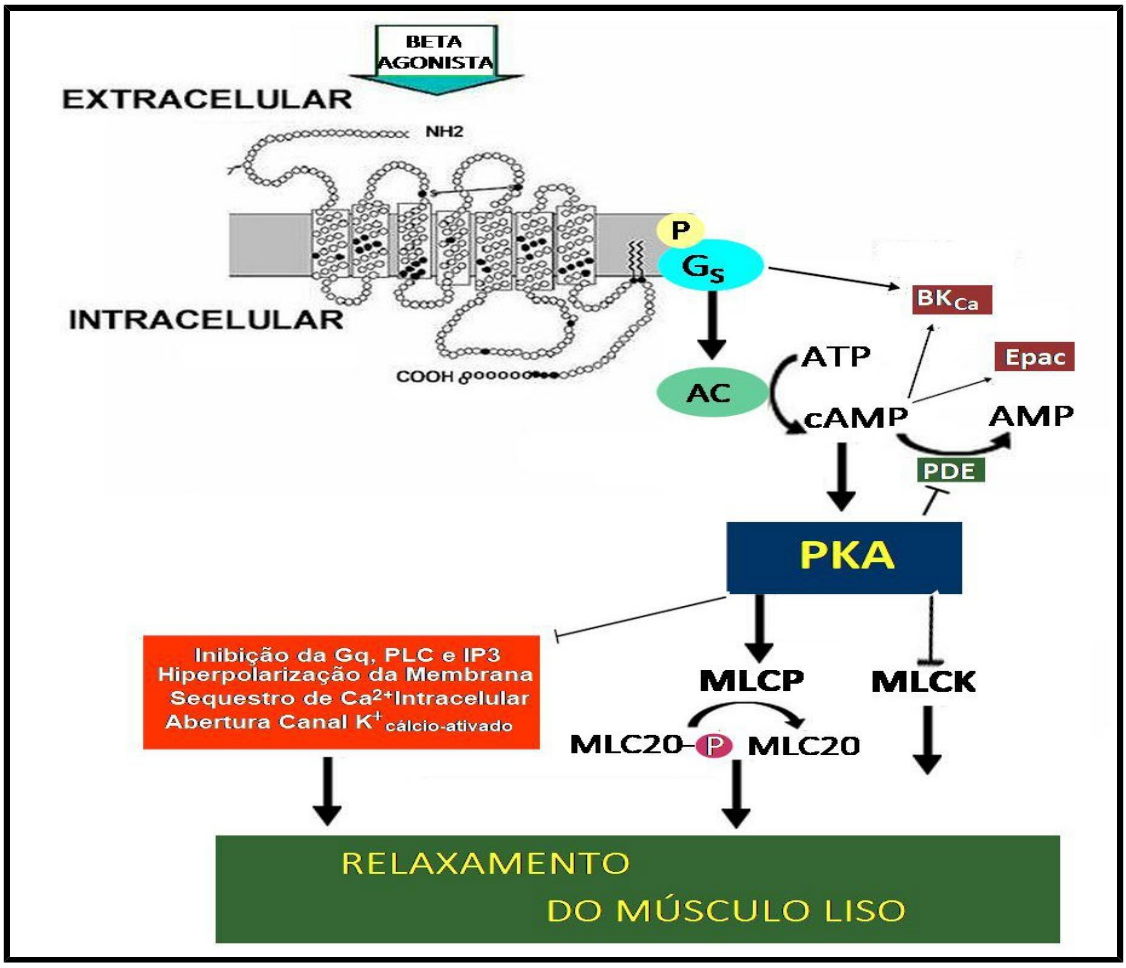


Figura 2 – Transdução do Sinal de Relaxamento do Músculo Liso — AC – adenilciclase; BKca – K+ ativado por Ca2+ de grande condutância; cAMP – monofosfato cíclico de adenosina; ATP – adenosina trifosfato; Epac – proteína de troca ativada por AMPc; IP3 – inositol trifosfato; MLCK – miosina quinase de cadeia leve; MLCP – fosfatase de cadeia leve da miosina; PDE – fosfodiesterase; PKA – proteína quinase A; PLC – fosfolipase.

O mecanismo alternativo da EPAC é uma via de sinalização importante na regulação do tônus muscular e pode funcionar de forma independente ou em conjunto com a via da PKA para promover o relaxamento da célula muscular lisa brônquica.[17,28]

A ativação da EPAC pelo cAMP no músculo liso das vias aéreas geralmente leva ao relaxamento do músculo liso, contribuindo para a broncodilatação. Esse efeito é especialmente relevante em situações como a asma, onde o tônus broncomotor é aumentado. Ela pode reduzir a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático ou aumentar a recaptura de cálcio para o retículo, diminuindo assim a disponibilidade de cálcio livre no citosol, que é necessário para a contração muscular. No contexto da broncodilatação, o EPAC complementa a ação da PKA ao mediar o relaxamento muscular, sendo uma via alternativa ou sinérgica.

Os receptores ß-adrenérgicos regulam muitos aspectos da função das vias aéreas, incluindo o tônus do músculo liso, a liberação de mediadores de mastócitos e a exsudação plasmática.[29] A proposição de que os receptores ß sejam anormais na asma tem sido investigada, possivelmente como resultado da inflamação. Se isso ocorre por um defeito do receptor, tal fato poderia estar relacionado a diversas causas: anormalidade de sua função no músculo liso brônquico,[30] com diminuição no número de receptores ß; falha no acoplamento do receptor; falha nas vias bioquímicas que conduzem ao relaxamento. Contudo ainda não se tem uma resposta precisa, embora a densidade dos receptores ß no músculo liso das vias aéreas pareça ser normal[31] e não se detecte redução na densidade de receptores $ß_1$ ou $ß_2$ no pulmão asmático, no receptor ou no nível do mRNA.[9]

Os broncodilatadores são substâncias importantes em todas as etapas do tratamento da asma e na profilaxia da asma induzida por esforço. Embora a broncodilatação seja sua principal ação, há evidências de que a ativação dos receptores $ß_2$-adrenérgicos nas células imunes pode levar à redução da produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, que contribuem para a resposta inflamatória na asma,[32] assim como ação anti-inflamatória decorrente da supressão da ativação dos leucotrienos e histamina pelos mastócitos.[33]

Os receptores $ß_2$-adrenérgicos estimulam a atividade ciliar, estimulam a secreção de surfactante pelas células alveolares tipo II, diminuem a permeabilidade capilar e podem inibir a fosfolipase A_2.[34,35] Inibem no músculo liso das vias aéreas a liberação de acetilcolina pré-juncional de neurônios parassimpáticos. Promovem também a estimulação da secreção de íons cloro através da membrana apical das células epiteliais das vias aéreas e a secreção de células serosas e de células mucosas nas glândulas mucosas. A estimulação das células serosas produz proteínas com propriedades antibacterianas, como lisossomas e lactoferrina. Inibem a liberação de peptídeos inflamatórios e broncoconstritores como a substância P dos nervos sensoriais. Reduzem o reflexo colinérgico de broncoconstrição.

Simpaticomiméticos –

A adrenalina purificada (epinefrina) foi a primeira substância a ser utilizada, sob a forma injetável, em 1903, por Bullowa e Kaplan[36] do *Montefiore Home for Chronic Invalids*. A adrenalina apresenta curto tempo de ação e, além de atuar sobre os receptores ß, estimula os receptores a-adrenérgicos, resultando em vasoconstrição. Em 1910, Melland descreveu excepcional resultado após utilização da adrenalina injetável em três casos críticos de asma que não responderam ao tratamento habitual para a asma.[37]

Em 1924, Chen e Schmidt[38] demonstraram que a efedrina (amina não catecólica), princípio ativo da planta medicinal chinesa *Ma Hung,* também conhecida como *Ephedra sinica*, apresentava propriedades semelhantes às da adrenalina (agonista a e ß-adrenérgico), podendo ser utilizada por via oral. Em 1926 Thomas descreveu o uso da efedrina na asma.[39] No músculo liso brônquico a efedrina atua como agonista $ß_2$, no coração sobre receptores $ß_1$ e no músculo liso vascular há efeitos combinados a1 e $ß_2$. Em 1941 surgiu a isoprenalina, o primeiro ß-agonista sintético não seletivo, porém sem atuação a, com curta duração de ação, entre 60 a 120 minutos.

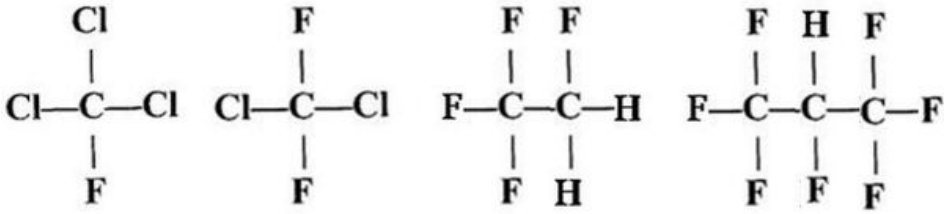
Na primeira metade do século XX as medicações para o tratamento de asma e doença obstrutiva pulmonar crônica (DPOC) eram inaladas principalmente por meio de "pulverizadores" manuais. Esses inaladores eram frágeis e uma vez que a dose variava com a pressão da mão, eles não liberavam a dose correta de medicamentos.

Em 1956 Maison, consultor médico no *Riker Laboratory* (adquirido em 1970 pela *3M Pharmaceuticals*), desenvolveu um aerossol dosimetrado pressurizado (*pressurized metered-dose inhaler* pMDI), conhecido como ***spray*-dosificador**, que veio facilitar o manejo da asma.[40] Trata-se de uma pequena lata pressurizada **(Figura 3)**, que contém a medicação em solução ou mais frequentemente, em suspensão aerossol microcristalina, num propelente líquido. Um ou mais surfactantes podem estar presentes para ajudar a manter o fármaco em suspensão na mistura e ajudar a lubrificar a válvula unidirecional, medidora de dose, capaz de livrar a mesma quantidade de broncodilatador por jato.[41] A mistura de propelentes é volátil à temperatura ambiente, o que proporciona uma pressão ejetora quando a válvula é aberta. Os propelentes mais utilizados inicialmente eram os clorofluorcarbonados (CFCs), incluindo o triclorofluormetano (CFC 11), diclorodifluormetano (CFC 12) e diclorotetrafluormetano (CFC 114).

Um artigo publicado em 1974 por Molina e Rowland[42] demonstraram que os propelentes CFC fraccionam e liberam radicais de cloro quando expostos à luz solar em alta Estratosfera. Demonstrou-se que esses radicais de cloro têm a capacidade de decompor muitas moléculas de ozônio. Em meados da década de 1980, surgiram evidências de que os níveis de ozônio estratosférico estavam diminuindo de forma alarmante e que os CFCs estavam contribuindo significativamente para esse esgotamento.

Ao nível do mar, os CFCs são moléculas estáveis, relativamente inertes, e portanto, quimicamente não são reativos ou tóxicos aos seres humanos. A sua interação biológica com o ambiente na Troposfera (os primeiros 10 km acima da superfície da Terra) é mínima. São relativamente insolúveis na água e não são removidos da Troposfera pela chuva. Não sofrem fotólise pois são transparentes a comprimentos de onda maior que 2500 A. Como consequência, os CFCs têm uma vida extremamente longa, possivelmente de 40 a 150 anos. Quando liberados os CFCs são levados por correntes de vento até a Estratosfera inferior (cerca de 10 a 50 km acima da superfície da Terra) dentro de 6 a 24 meses, quando eventualmente são degradados pelo sol liberando cloro. O cloro é uma molécula altamente reativa que pode destruir o ozônio, que age como uma manta protetora (filtro) entre a superfície da Terra e a radiação solar ultravioleta (UV). Apesar da contribuição estimada de menos de 1% à depleção de ozônio, o Protocolo de Montreal sobre Substâncias que Depletam a Camada de Ozônio (1987) determinou a descontinuação de tais compostos, que foram retirados totalmente do mercado em 31 de dezembro de 2008. Surgiram então estudos com outros propelentes alternativos sem cloro — como hidroclorofluorcarbonetos (HCFC) e hidrofluorcarbonetos (HFC) que se

decompõem na atmosfera a uma taxa mais rápida que os CFCs, resultando em um efeito menor de destruição da camada de ozônio. Os aerossóis medicinais utilizam o norfluano – (HFA134a) (1,1,1,2-tetrafluoroetano) **(Figura 4)**, além de novos dispositivos sem propelentes, como os inalantes de substâncias broncodilatadoras de pó.[43]



CFC-11 **CFC-12** **HFA 134a** **HFA 227ea**

Recentemente voltou-se a debater o papel dos *sprays* que usam hidrofluorcarbonetos (HFCs) como propelente no efeito estufa e aquecimento global. Embora os HFAs não danifiquem a camada de ozônio, eles contribuem para o aquecimento global, pois o HFA 227ea ainda mantém um potencial de aquecimento global de 3350, isto é, 3350 vezes o **GWP** do dióxido de carbono, estando o GWP do HFA 134a em 1430 — com efeito estufa não tão ruim quanto o CFC-11 que apresenta potencial de aquecimento global de 5.000 e o CFC-12 de 11.900.[44]

Wilkinson et al.[45] analisaram o impacto sobre emissões de gases de efeito estufa dos *sprays* na Inglaterra em 2017 e relataram que cerca de 50 milhões de inaladores foram prescritos, sendo que sete em dez destes eram *sprays* (pMDI), em comparação com apenas um em cada dez na Suécia onde se utiliza principalmente dispositivos inaladores de pó. Estes aerossois pressurizados são responsáveis por liberar o equivalente a 635.000 toneladas métricas de dióxido de carbono a cada ano (635 kt CO2e). Se 10% desses pacientes migrassem para dispositivos de pó, 58 kt CO2e poderiam ser mantidas fora da atmosfera. A grosso modo, esta é a mesma emissão de carbono de 180.000 carros à gasolina durante viagens de ida e volta entre Londres e Edimburgo – cerca de 1.300 km cada.

As últimas orientações das diretrizes da GINA[46] (*Global Initiative for Asthma*) manifestam crescente interesse em se reduzir o impacto da asma sobre o meio ambiente, no que se relaciona desde a fabricação e potencial reciclagem de dispositivos inalatórios, assim como aos propelentes de *sprays* que ainda são os inaladores mais utilizados em todo o mundo.[47-49]

Mudanças sistemáticas nos hábitos de prescrição devem ser consideradas em uma perspectiva mais ampla. Iniciar novos pacientes com inaladores de pó seco (DPIs) ou substituir, de forma criteriosa, os *sprays* com propelentes por DPIs em pacientes selecionados pode resultar em uma redução significativa da pegada de carbono, além de contribuir para um melhor controle da doença. Atualmente, DPIs e inaladores de névoa suave estão disponíveis como dispositivos inaladores que não utilizam gás propelente e, portanto, têm uma pegada de carbono significativamente reduzida.

Em 1967, Lands et al.[2] subdividiram os receptores ß em duas classes – $ß_1$ presentes no miocárdio e em células justaglomerulares relacionadas à secreção da renina e $ß_2$ encontrados na musculatura lisa brônquica, vascular, gastrintestinal, geniturinária e de outros órgãos. Os $ß_3$ estão localizados no tecido adiposo. Quando estimulados, os receptores $ß_1$ causam lipólise e um efeito cronotrópico e inotrópico no coração. Os receptores $ß_2$ causam vasodilatação, broncodilatação, tremores em músculos esqueléticos e glicogenólise muscular.[2] Desde então, estudos foram efetuados na busca de substâncias que apresentassem ação seletiva sobre os receptores $ß_2$ da árvore traqueobrônquica e tempo de ação cada vez mais longo. Na realidade a isoetarina lançada em 1951 foi a primeira droga $ß_2$ seletiva, com início de ação rápido e duração média de ação de 60 a 90 minutos.

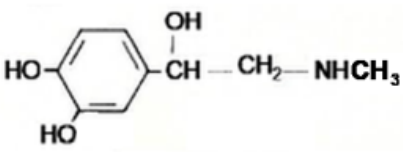


Figura 5 – Adrenalina

A adrenalina **(Figura 5)**, o isoproterenol e a isoetarina fazem parte do grupo das catecolaminas (contém anel catecol e um átomo de nitrogênio), que apresentam curta duração de ação, sendo metabolizadas nos tecidos por uma rápida O-metilação na posição 3 dos grupos hidroxila (OH) pela catecol-O-metiltransferase (COMT), formando derivados inativos 3-metoxi. Não são utilizadas por via oral devido à rápida inativação na mucosa intestinal e na primeira passagem pelo fígado, antes de alcançarem a circulação sistêmica.

O Isoproterenol (isopropilarterenol) **(Figura 6)** é um potente broncodilatador agonista ß-adrenérgico não seletivo lançado em 1947 com muito baixa afinidade em receptores a-adrenérgicos. Consequentemente, o isoproterenol tem efeitos potentes em receptores ß e quase nenhum em a receptores. Na década de 1960, a introdução no Reino Unido de uma apresentação de *spray* dosimetrada de isoproterenol (Medihaler-Iso Forte) que era mais concentrada foi associada a um aumento dramático de sete vezes no número de mortes por asma.[50]

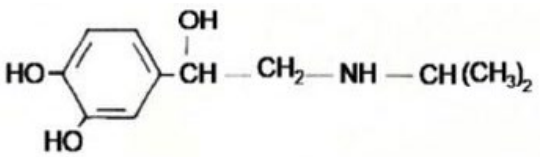


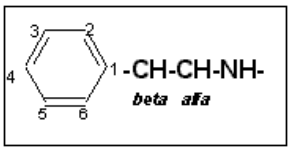
Figura 6 – Isoproterenol

Pesquisas evoluíram para a obtenção de drogas broncodilatadoras que apresentassem um tempo de ação mais

prolongado, o que foi obtido pela alteração do núcleo catecol, por substituições ou reposicionamento nos grupos 3 e 4-hidroxila do anel benzeno **(Tabela2)**. A ausência de um ou ambos substituintes, especialmente o grupo 3-OH, torna as drogas imunes à degradação pela COMT, incrementa a atividade por via oral e a duração da ação.

Tabela 2 — Estrutura Química dos Broncodilatadores Simpaticomiméticos

ß- feniletilemina que pode ser considerada como precursora das aminas simpaticomiméticas: com um núcleo aromático e uma cadeia alifática – etilamina.



	1	2	3	4	5	6	beta	alfa	NH	Ação
Adrenalina	H	H	OH	OH	H	H	OH	H	CH_3	α ≈ β
Noradrenalina	H	H	OH	OH	H	H	OH	H	2	α > β
Isoproterenol	H	H	OH	OH	H	H	OH	H	$CH(CH_3)_2$	β_{1+2} >> α
Isoetarina	H	H	OH	OH	H	H	OH	C_2H_5	$CH(CH_3)_2$	β_2 > α
Efedrina	H	H	H	H	H	H	OH	CH_3	CH_3	β_1 β_2 α
Metaproterenol	H	H	OH	H	OH	H	OH	H	$CH(CH_3)_2$	β_{1+2} > α
Salbutamol	H	H	CH_2OH	OH	H	H	OH	H	$C(CH_3)_3$	β_2
Terbutalina	H	H	OH	H	OH	H	OH	H	$C(CH_3)_3$	β_2
Fenoterol	H	H	OH	H	OH	H	OH	H	$CH(CH_3).CH_2.C_8H_4OH$	β_2
Obs: alfa e beta na fórmula fundamental referem-se às posições de átomos na cadeia lateral de etilamina.										

Em 1961 surgiu o metaproterenol **(Figura 7)** (chamado de orciprenalina na Europa) estruturalmente similar ao isoproterenol não sendo, entretanto, uma catecolamina e sim um composto resorcinol. Apresenta dois grupos hidroxila, nas posições 3 e 5 (a meta-orientação) do anel benzeno, ao invés de 3 e 4. Por conseguinte, o metaproterenol é resistente à metilação pela COMT. O tempo de ação que não ultrapassava os 120 minutos com a isoetarina, passou a 4 horas com a orciprenalina.[51]

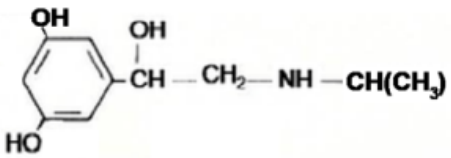
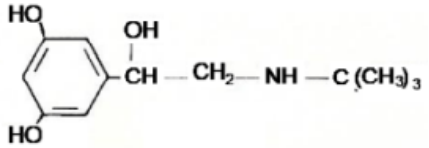


Figura 7 – Metaproterenol

Desta mesma conformação química derivaram análogos, através de substituições e aumento no grupo aminoterminal como na terbutalina o $C(CH_3)_3$ (N-terc-butil) e o fenoterol com uma longa porção inserida no grupo amino terminal ($CH(CH_3).CH_2.C_8H_4OH$).

O metaproterenol é considerado uma droga $ß_2$-seletiva, porém é menos seletiva que a terbutalina **(Figura 8)** e o fenoterol **(Figura 9).**



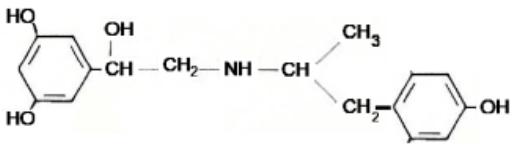


Figura 8 – Terbutalina **Figura 9 – Fenoterol**

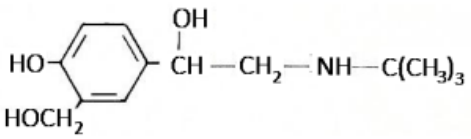


Figura 10 – Salbutamol

Uma segunda modificação no anel benzeno, a substituição do grupo hidroxila no carbono 3 por um grupo hidroximetil ($-CH_2OH$), criou o grupo das saligeninas, do qual fazem parte o salbutamol **(Figura 10)** introduzido em 1968 e o salmeterol. A cadeia lateral do salbutamol é idêntica à encontrada na terbutalina, apresentando o mesmo N-terc-butil substituinte.

Broncodilatadores agonistas seletivos dos receptores $ß_2$-adrenérgicos de curta ação (SABA) como a terbutalina, o fenoterol e o salbutamol e outros menos utilizados como o pirbuterol, reproterol, rimeterol, procaterol e bitolterol (profármaco do colterol), também $ß_2$-seletivos apresentam início de ação em 1 minuto, pico de ação aos 45 minutos, com efeitos que persistem por três a quatro horas quando usados por inalação, porém com menor tempo de ação quando de asma severa.

O uso regular de SABAs, mesmo por 1–2 semanas leva à tolerância, diminuindo os efeitos broncoprotetores e broncodilatadores, com atenuação da resposta aguda aos ß-agonistas, tendo como resultante mais evidente maior broncoconstrição associada à hiper-responsividade brônquica e à resposta alérgica.[52] Esses dados sustentam a hipótese de que os ß-agonistas de curta ação têm um efeito permissivo na inflamação das vias aéreas por meio de um mecanismo pró-inflamatório.[53] Em um estudo foi demonstrado aumento no número total de eosinófilos e seu *status* de ativação em biópsias brônquicas.[54]

Em 2019 ocorreu uma das maiores alterações nas diretrizes do tratamento da asma, quando a GINA[55] passou a não recomendar a utilização isolada de SABA na 'asma leve'. Passou a recomendar que adultos e adolescentes nas **Etapas 1 e 2** do tratamento da asma utilizem preferencialmente a combinação de corticoide inalatório (CI) e formoterol ($ß_2$-agonista de longa ação) [LABA] com rápido início de ação quando sintomáticos. Esta estratégia foi fundamentada em evidências de que o tratamento da asma isoladamente com SABA está associado à possibilidade de desfechos desfavoráveis de exacerbações severas, asma quase fatal, óbitos e que o uso de CI em dose baixa diminui esses riscos.

Os LABAs salmeterol e formoterol foram desenvolvidos na década de 1990 com tempo de ação de 12 horas ou mais,[56] sendo que na década seguinte surgiram novas drogas denominadas UltraLABAs com ação por 24 horas, protegendo contra a broncoconstrição. O salmeterol **(Figura 11)** tem seu início de ação mais lento do que o salbutamol, não sendo utilizado para alívio sintomático imediato, pois um efeito broncodilatador significante ocorre somente de 20 a 30 minutos, após a sua administração.[57] Já o formoterol **(Figura 12)** apresenta broncodilatação 1 a 3 minutos após a inalação,[58,59] podendo ser utilizado também como medicação de alívio.

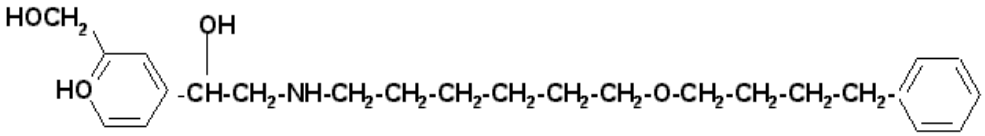


Figura 11– Salmeterol

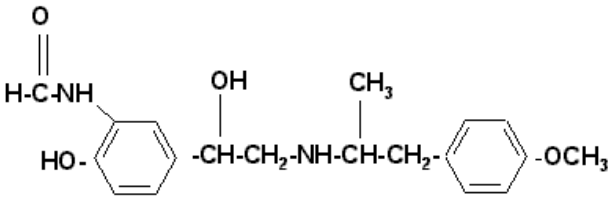
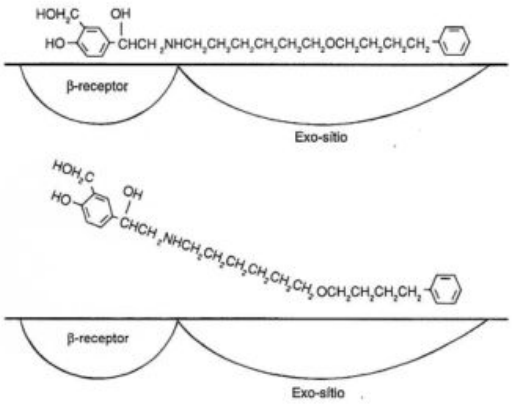


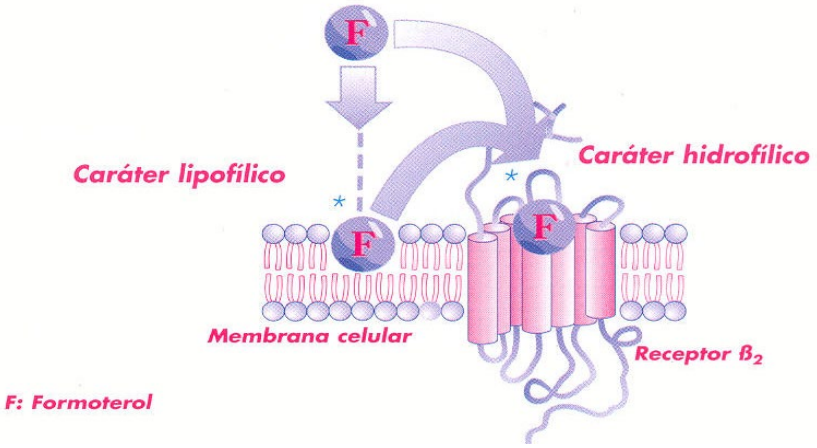
Figura 12 – Formoterol

Do ponto de vista químico, o salmeterol consiste numa cabeça de feniletanolamina polar, semelhante àquela dos $ß_2$-agonistas convencionais; mas, além disso, possui uma longa cadeia alifática lipofílica lateral não polar, que o torna muito diferente das drogas convencionais. Foi sugerido que a molécula de salmeterol se fixa próximo ao receptor $ß_2$ através de uma interação entre a sua cadeia lipofílica lateral não polar e uma área não polar da membrana celular, conhecida como exo-sítio.[60-62] A molécula fica ancorada de modo a permitir a sua própria oscilação em torno do átomo de oxigênio da cadeia lateral.[63] Devido a esse movimento, a cabeça de feniletanolamina pode se encaixar no sítio do receptor $ß_2$ e dele se soltar **(Figura 13)**. Portanto, além da ligação no local agonista ativo, foi proposto que o salmeterol também se liga com uma afinidade muito alta em um segundo local, denominado "exo-sítio", e que

esse exo-sítio contribui para a longa duração da ação do salmeterol.



O salmeterol e o formoterol apresentam pequenas diferenças no que concerne ao mecanismo de ação e ao perfil farmacológico. O formoterol tem o início de ação mais rápido (~5 min), enquanto que o início de ação do salmeterol é bem mais lento (20–30 min). A duração de ação é semelhante, embora a duração do efeito pareça ser dose dependente no formoterol. A hipótese para estas diferenças está relacionada à lipofilia (solúvel em gordura). O formoterol é menos lipofílico que o salmeterol, sendo capaz de entrar no receptor $ß_2$ a partir do espaço extracelular. O formoterol penetra também no $ß_2$-receptor pela membrana celular, que funciona como um "depósito" para a droga. O salmeterol entra mais rapidamente na membrana celular sem, entretanto, alcançar o $ß_2$-receptor a partir do espaço extracelular **(Figura 14)**. Ambos penetram na membrana celular, o que explica a longa duração da ação. O formoterol é considerado um agonista pleno (*full agonist*) quanto a sua ação no $ß_2$-receptor, sendo o salmeterol um agonista parcial. Formoterol e salmeterol são no mínimo 1.000 vezes mais seletivos ao $ß_2$-receptor que ao $ß_1$-receptor, significando, que em doses terapêuticas, eles se tornam ß-agonistas puros.



O salmeterol é 10.000 vezes mais lipofílico do que o salbutamol e outras drogas ß-agonistas de curta duração de ação.[64,65] A lipofilia está diretamente relacionada à afinidade da membrana lipídica às drogas. No músculo brônquico humano o salmeterol é quinze vezes mais potente do que o salbutamol nos receptores $ß_2$. Nos receptores $ß_1$ cardíacos, é 10.000 vezes menos potente do que o isoproterenol e cerca de quatro vezes menos potente do que o salbutamol.

A fórmula estrutural do formoterol possui uma **região hidrofílica e outra lipofílica**, enquanto que os $ß_2$-agonistas de curta ação (SABAs) são hidrofílicos. O caráter hidrofílico assegura um rápido início de ação, enquanto que a lipofilia é responsável pela duração de ação prolongada.[66] O formoterol é aproximadamente 30 vezes mais potente que o salmeterol e 400 vezes mais potente que o salbutamol em inibir a liberação de LTC_4 e LTD_4 pós-provocação antigênica. Em cobaias o formoterol reduz significativamente a permeabilidade capilar, induzida pela histamina nas vias aéreas.[67,68]

O aumento da morbidade da DPOC e além disso a não aderência ao tratamento aumentou a importância de se buscar novas drogas com ação mais prolongada, com uma única dose diária, os chamados ação ultralonga (ULABAs) (24 h). Além disso, novos e revolucionários dispositivos de inalação passaram a ser desenvolvidos para otimizar a liberação das drogas nos pulmões, aperfeiçoando-se também a sua facilidade de uso.

Em 2011 foi aprovado o indacaterol **(Figura 15)** uma droga inalada quiralmente pura, com potente ação $ß_2$-agonista, com início de ação em 30 ± 4 min e atuação sustentada de 24 h. Em comparação ao agonista completo

isoproterenol *in vitro*, o indacaterol tem efeito de 73% comparado a 38% do salmeterol. Sua relação $ß_2$:$ß_1$ é semelhante ao formoterol com maior margem de segurança cardiovascular do que as de salmeterol ou formoterol.[69]

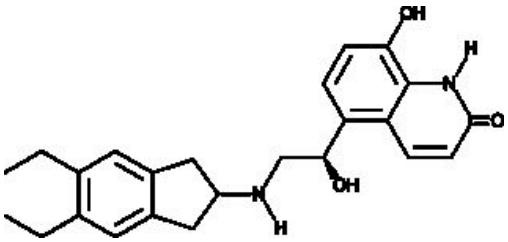


Figura 15– Indacaterol

Em 2013 foi aprovado o vilanterol como um componente de drogas combinadas **(Figura 16)**, com maior potência que o indacaterol, maior seletividade $ß_2$ do que salbutamol, formoterol ou indacaterol. Trata-se de uma molécula altamente lipofílica, levando à formação de "depósitos" na membrana celular, resultando na sua persistência e manutenção no receptor $ß_2$-agonista.[70] Tem início de ação em ~5 min, ocorrendo o tempo médio para níveis plasmáticos máximos após a inalação em cerca de 10 minutos. É utilizado para o tratamento regular da DPOC em adultos e da asma em adultos e adolescentes a partir de 12 anos de idade.[71] Até o momento o vilanterol é comercializado apenas em combinação de doses fixas para asma e DPOC. Estudos foram realizados com o vilanterol em monoterapia, evidenciando aumento do VEF_1 em comparação ao placebo, sem aumento nas reações adversas, que incluem o eletrocardiograma (QTc), glicose ou potássio.[72]

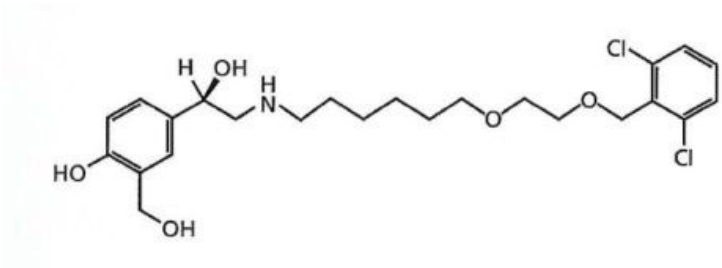


Figura 16– Vilanterol

Em 2014 surgiu o olodaterol **(Figura 17)**, utilizado unicamente na DPOC. ULABA inalado altamente seletivo e potente, com início rápido de ação e duração sustentada. Sua seletividade sobre os receptores $ß_2$ é cerca de 241 vezes superior aos $ß_1$. Demonstra uma potência maior do que o indacaterol com eficácia de 88% em relação ao isoproterenol. Sua ação sustentada não parece ser em decorrência de lipofilia. Uma parte das moléculas liberadas forma complexos semiestáveis com o receptor e sua proteína G acoplada. Sua duração de ação sustentada é de t½ – 17 h.[73,74] Tosse, nasofaringite e cefaleia são os efeitos colaterais mais frequentes.

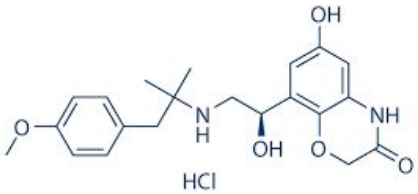


Figura 17– Olodaterol

Encontra-se em fase IIa de investigação um novo broncodilatador para utilização uma vez ao dia na asma e DPOC, o abediterol (LAS100977) **(Figura 18)**. É um agonista completo do receptor $ß_2$-agonista humano ($E_{máx}$ = 91 ± 5% do efeito máximo do isoproterenol). Apresenta uma afinidade pelo receptor $ß_2$-agonista maior do que o salmeterol, formoterol ou indacaterol. A relação $ß_2$:$ß_1$ é maior do que a de formoterol e indacaterol. O início da ação é de aproximadamente 7,4 min, sendo a sua duração de ação mais sustentada do que a do indacaterol, salmeterol ou formoterol. Perde quanto ao início de ação somente para o formoterol. Apresenta um perfil de segurança cardiovascular favorável.[75] Um estudo randomizado, duplo-cego, cruzado, fase IIa comparou três doses de

abediterol (5, 10 e 25 mcg) com salmeterol e placebo combinado a um CI em 25 indivíduos com asma leve a moderada persistente.[76,77] Em comparação com o placebo e o salmeterol, todas as três doses de abediterol provocaram aumentos significativos no VEF_1 mínimo que foram mantidos por 36 horas.

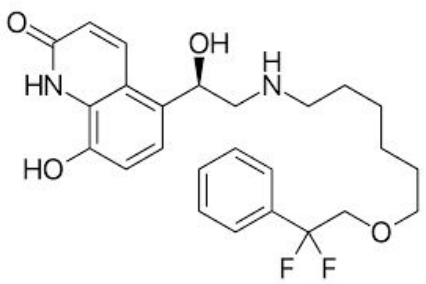
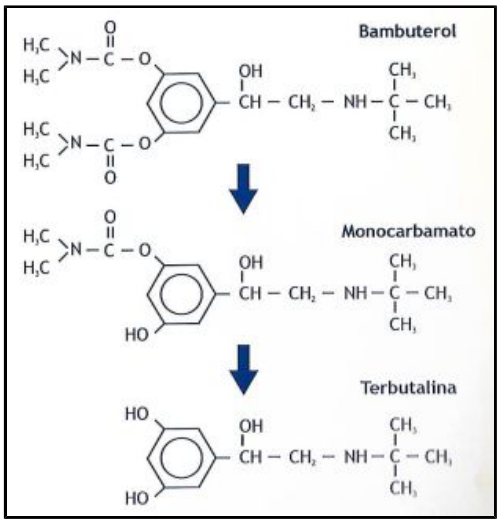


Figura 18– Abediterol

Embora existam muitos outros ULABAs em vários estágios de desenvolvimento, a maioria dos testes clínicos desses novos agentes foi interrompida ou prossegue de forma lenta, como TD-5471, TD-4306, AZD3199 e trantinerol.



O bambuterol, pró-fármaco da terbutalina, apresenta duração de ação de aproximadamente 24 horas, podendo ser administrado somente uma vez ao dia, ao deitar-se e por via oral na dose de 10–20 mg, sendo preconizado principalmente para o controle da asma noturna.[78,79] Na primeira passagem pelo fígado é metabolizado produzindo uma droga lipofílica que é seletivamente fixada pelos pulmões onde é transformada lentamente na forma ativa de terbutalina, por hidrólise, por ação da colinesterase plasmática **(Figura 19)**. A meia-vida do bambuterol após administração oral é de 9 a 17 horas, apresentando biodisponibilidade de 10 a 12%.[80] Durante longo tempo os broncodilatadores ocuparam a principal posição no tratamento da asma. Com o melhor entendimento de sua fisiopatologia decorrente de inflamação crônica, os broncodilatadores de curta ação passaram a um plano secundário.

Alguns estudos demonstraram que o controle da asma é mais difícil nos pacientes em uso regular de SABA do que naqueles que os utilizam somente quando necessário. Acreditam, estes autores, que o tratamento de manutenção com $ß_2$-agonistas induz à piora da asma e contribui para o aumento da morbidade e da mortalidade.[81] Spitzer et al.[82] relataram associação no aumento do risco de morte por asma com o uso regular de $ß_2$-agonistas. O risco de morte aumenta significativamente quando o consumo mensal ultrapassa o conteúdo de dois *sprays.*[66] Estudos clínicos evidenciaram que o uso contínuo destas drogas conduz a uma piora nos sintomas, na função pulmonar e na responsividade brônquica. Era consenso que a necessidade de inalações frequentes de $ß_2$-agonistas para alívio de sintomas era indicação para introdução de terapia anti-inflamatória ou aumento de suas doses.

O aumento da responsividade brônquica foi observado com fenoterol, salbutamol e terbutalina, após tratamento por períodos de duas a 52 semanas.[83] Acredita-se que o uso regular de $ß_2$-agonistas favoreça o ataque da asma quando o paciente é exposto ao agente desencadeante, tornando-o ainda menos responsivo ao $ß_2$-agonista nesta situação.[84] Outro estudo[85] comparou os efeitos na função pulmonar com o uso regular e intermitente do salbutamol na asma e bronquite crônica. Houve piora significativa na função pulmonar no grupo que usou o salbutamol regularmente.

O risco de crises de asma grave aumenta para pacientes que usam apenas SABA isoladamente sem concomitância com corticoide inalatório (CI), ou com baixa adesão ao tratamento com CI. Altas doses de SABA também aumentam o risco de crises de asma. O uso regular e contínuo de SABA pode levar à tolerância dos receptores pela exposição excessiva com diminuição de seus efeitos broncoprotetores e de sua ação broncodilatadora, o que pode resultar em resposta inadequada (reduzida) quando do tratamento emergencial para asma severa.[86]

> Na atualidade a ***preferência para alívio*** da asma segundo as recomendações da GINA, vigentes a partir de 2019,[55] em qualquer etapa do tratamento da asma em que o paciente necessite de broncodilatador, é a associação de um CI e um LABA em baixa dose — p. ex. CI-formoterol em baixa dose. Outra opção para alívio seria o $ß_2$-agonista de curta ação (SABA) conforme a necessidade.

Formoterol é o único LABA com início de ação rápido (1–3 minutos).[58,59,87] Dispositivos contendo outros LABAs (p. ex. indacaterol, salmeterol, vilanterol) não podem ser usados como alívio ou devido ao início de ação mais lento como o salmeterol, com início de ação de 10 a 30 min[57] ou porque são aprovados apenas para uso uma vez ao dia unicamente (indacaterol, vilanterol).[70,

A estratégia da atual recomendação da GINA foi baseada em evidências de que o tratamento da asma com $ß_2$-agonista de curta ação (SABA) isoladamente está associado a risco de desfechos desfavoráveis, sendo que uma proporção significativa das exacerbações e de mortes por asma ocorre entre pacientes com asma leve e que o uso do corticoide por inalação veio a reduzir este risco.[88]

O uso máximo recomendado de budesonida-formoterol em baixa dose, conforme necessário em um único dia, corresponde a um total de 72 mcg de formoterol (dose administrada de 54 mcg). Os pacientes não precisam esperar um certo número de horas antes de tomar mais doses de alívio (ao contrário do SABA), mas não deve tomar mais de 12 doses de budesonida-formoterol (total conforme necessário mais doses de manutenção, se usado). No entanto, em ensaios clínicos randomizados em asma leve, essa alta dose raramente foi empregada, com aplicação média em torno de 3–4 doses por semana.[89-91]

Um número de possíveis mecanismos tem sido descrito para explicar os efeitos adversos do uso crônico terapêutico dos SABAs isoladamente.[92] A administração prolongada resulta em *downregulation* no número e/ou função dos receptores ß-adrenérgicos nas células sanguíneas[93,94] e na musculatura lisa das vias aéreas.[95-97] Supõe-se que o número de receptores ß e a responsividade brônquica não são estáticos, variando no tempo em resposta a vários estímulos: pacientes com asma estável não recebendo drogas ß-agonistas mostram número normal de ß-receptores nos leucócitos, e presumivelmente na musculatura lisa brônquica, enquanto que a utilização prolongada[98] ou exposição antigênica aguda[99] reduzem o número de receptores. Outro estudo, entretanto, se contrapõe a esta teoria, demonstrando um aumento de três vezes no número de receptores ß-adrenérgicos na musculatura lisa brônquica de pacientes com asma, pela técnica da auto-radiografia.[100] Estes resultados significam que a *downregulation* da função dos ß-receptores na asma deve estar relacionada a anormalidades na transdução do sinal *downstream* do receptor**.**

Outra hipótese contrária à utilização prolongada de SABA, relaciona-se a sua interação medicamentosa negativa com os corticoides, devido aos efeitos de ambas as drogas em fatores nucleares de transcrição.[101] Dois estudos demonstraram que a adição de $ß_2$-agonistas ao tratamento com corticoides inalados reduz o efeito protetor dos corticoides quando de testes de provocação alergênica.[99,102]

Muitas das ações anti-inflamatórias dos corticoides ocorrem por ativação do receptor de corticoide (GR) que interage com o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB), impedindo sua ligação ao DNA,[103] e a transcrição de genes de citocinas,[104] enzimas inflamatórias e moléculas de adesão. Por outro lado, os $ß_2$-agonistas elevam os níveis de AMPc intracelular e desse modo ativam o fator de transcrição CREB (*cAMP reponse element binding protein)* que também pode ser necessário para a transcrição de certos genes.[92]

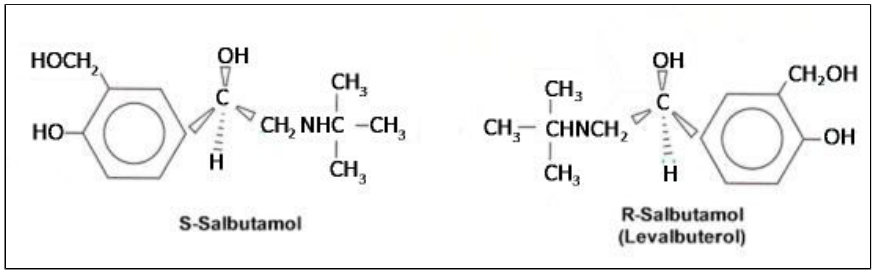
Uma interação entre o GR e CREB foi demonstrada em pulmões de ratos *in vitro*. Incubação com corticoides aumenta a ligação do GR a sequências específicas do DNA, enquanto que a incubação de $ß_2$-agonistas aumenta a ligação do CREB ao DNA. No pulmão do rato a incubação simultânea de corticoides e $ß_2$-agonistas, salbutamol e fenoterol diminui a ligação de GRs aos sítios específicos do DNA em 40–50%[105] sem influenciar a afinidade ou número de GRs. Este efeito parece decorrer de uma interação entre o GR e o fator de transcrição CREB. Existem evidências de que os efeitos da associação dos SABAs e dos corticoides nos fatores de transcrição nuclear sejam reciprocamente inibitórios.

Como consequência, na prática clínica, $ß_2$-agonistas podem inibir a ação anti-inflamatória dos corticoides. Estas conclusões são importantes para pacientes que utilizam regularmente SABAs e corticoides, pois esta associação *in vivo* pode determinar uma interação negativa entre as duas drogas.

Uma outra teoria contra o uso prolongado dos $ß_2$-agonistas está relacionada ao fato de serem moléculas assimétricas ou moléculas quirais e serem administradas como misturas racêmicas. A adrenalina endógena é sabidamente um simples isômero, *R*-adrenalina. Por outro lado, todos $ß_2$-agonistas comercializados têm um centro assimétrico devido à presença do grupo ß-OH na cadeia alifática – etanolamina. O centro assimétrico resulta em um par de isômeros óticos (ou imagem espelho), denominados de enanciômeros *R* (análogo da adrenalina) e S [ou (-) e (+)], não idênticos, em mistura racêmica (50:50). Alguns agonistas, entretanto, como o fenoterol, o formoterol e o procaterol, têm dois centros assimétricos, e quatro enanciômeros, RR, SS, RS e SR. O benefício terapêutico é obtido pelo *R*-isômero, enquanto que o *S*-isômero era considerado inerte, o que evidências não confirmam. Geralmente os *R*-isômeros são 2-3 log mais potentes que os *S*-isômeros.

O salbutamol é administrado sob a fórmula *R,S*-salbutamol, sendo um eutômero farmacologicamente ativo (*R*-salbutamol) e um distômero inativo (*S*-salbutamol). Apenas o *R*-enanciômero apresenta propriedades broncodilatadoras, reduzindo os níveis de cálcio intracelular.[106] O *S*-isômero não se liga ao ß-receptor e nem causa broncodilatação. *In vitro* ele causa aumento do cálcio intracelular nas células do músculo liso, e consequente contração muscular. O *S*-isômero pode também induzir a hiper-responsividade brônquica a uma variedade de estímulos não específicos ou alérgenos, e pode também apresentar ação pró-inflamatória.

No que concerne ao salbutamol, a remoção do *S*-isômero deu origem ao levalbuterol, que retém os benefícios clínicos do salbutamol racêmico sem os efeitos colaterais do *S*-isômero **(Figura 20)**. O levalbuterol pode ser usado em qualquer paciente como droga de primeira linha para o tratamento das crises agudas de asma. Sua utilização na prática clínica está liberada para pacientes com idade acima de 12 anos de idade, sendo que a duração de ação estende-se por aproximadamente 5 a 8 h. A dose inicial é de 0,63 mg da solução de levalbuterol HCl diluído em 3 ml de SF 0,9% sob nebulização, podendo ser aumentada até 1,25 mg. O intervalo entre as nebulizações é de 6-8h.



A atividade *R*-enanciômera resulta provavelmente de uma ótima interação entre a "*down*" orientação do grupo ß-OH e a Ser 165. Para o salbutamol o *R*-enanciômero é no mínimo 100 vezes mais potente como $ß_2$-agonista do que o *S*-enanciômero, enquanto que esta diferença é maior em cerca de 1.000 vezes para as formas RR e SS do formoterol. Quanto ao salmeterol existe significativa atividade $ß_2$-agonista no *S*-enanciômero, o qual é apenas 40 vezes menos potente do que a forma R e 15 vezes mais fraco do que a mistura racêmica.

A possibilidade de que os distômeros sejam os responsáveis pelos efeitos tóxicos que ocorrem durante o tratamento crônico com racêmicos (*R,S*-salbutamol ou *R,S*-fenoterol) ainda se discute,[107,108] embora ainda não se tenha chegado a uma conclusão definitiva, sendo, entretanto, a biodisponibilidade do *S*-salbutamol significativamente maior, tanto por administração oral como por inalação. Acredita-se que tenham ação pró-inflamatória, ativando eosinófilos e aumentando a resposta contrátil das células musculares das vias aéreas. A broncoconstrição paradoxal tem sido atribuída às formas *S* dos $ß_2$-agonistas atualmente comercializados.

Estudos em animais com a administração de racêmicos e distômeros têm demonstrado aumento da hiper-responsividade brônquica *in vitro* e *in vivo*,[109-112] enquanto que Nelson et al.[113] obtiveram melhor efeito terapêutico broncodilatador em asmáticos, com a forma levógira (*R*-salbutamol) quando comparada à forma racêmica.

LABAs –

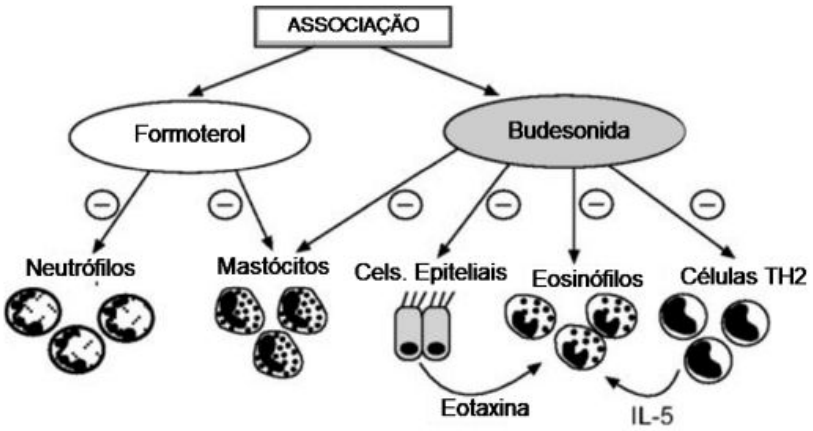
Publicações sugerem que os LABAs inibem a ativação e degranulação dos mastócitos humanos *in vitro*,[114,115] com inibição da liberação de mediadores broncoconstritores, incluindo os cisteinil-leucotrienos e a histamina. A proteção do formoterol contra a broncoconstrição provocada pela adenosina monofosfato (AMP) pode ser vista duas horas após a administração, indicando uma rápida ação de estabilização dos mastócitos. Previnem o aumento da permeabilidade vascular decorrente da ação de vários mediadores e consequente extravasamento de proteínas plasmáticas, reduzindo o edema da mucosa na resposta aguda inflamatória.[116,117] Reduzem o fluxo e a atividade de células inflamatórias (incluindo neutrófilos, mastócitos, linfócitos TH2, eosinófilos e células epiteliais) nas vias aéreas em modelos animais de asma.[116,118,119] Os receptores $ß_2$ são expressos nos neutrófilos humanos e os $ß_2$-agonistas inibem a liberação de oxigênio reativo. Os LABAs apresentam efeito inibidor no recrutamento de neutrófilos para os pulmões, o que pode ser mediado pelo efeito inibidor na molécula de adesão CD11b, na sua superfície celular. Estudos clínicos têm demonstrado que em pacientes com asma leve ocorre uma diminuição de neutrófilos em biópsias brônquicas e no BAL após tratamento com salmeterol, assim como na redução de mieloperoxidase e lipocalin neutrofílica humana, indicando um efeito inibidor na degranulação dos neutrófilos. O salmeterol inibe a hiperplasia muscular lisa induzida por mitógenos, como a trombina, via ação no ciclo celular regulador de proteínas e também ao inibir a liberação de citocinas pró-inflamatórias tais como a eotaxina e a IL-8 pelas células musculares.

A Sociedade Britânica de Tórax[120] foi uma das primeiras sociedades a recomendar (1993) a utilização dos LABAs em pacientes não convenientemente controlados com altas doses de corticoides inalados. Por outro lado, a Sociedade Sueca[121] na mesma época já recomendava o seu uso como uma alternativa ao aumento da dose do corticoide. Seria o correspondente atual para a asma de difícil tratamento e que não é controlada apesar do tratamento segundo as normas do *Guideline* GINA Etapas 4 ou 5.

Woolcock et al.[122] (1996), em estudo multicêntrico em pacientes com asma sintomáticos, compararam os resultados da associação de 500 mcg de beclometasona duas vezes ao dia com o salmeterol nas doses de 42 e 84 mcg a cada 12 h com o uso isolado da beclometasona na dose de 1.000 mcg duas vezes ao dia. Os pacientes que utilizaram a associação obtiveram resultados melhores no controle clínico da doença, assim como na melhora apresentada nas provas funcionais. Greening et al.[123] estudaram pacientes em uso de 400 mcg/dia de beclometasona. Obtiveram redução superior nos sintomas e melhora na função pulmonar no grupo em que adicionou salmeterol duas vezes ao dia, quando comparado ao simples aumento da beclometasona para 1.000 mcg/dia.

Atualmente recomenda-se a partir da Etapa 3 do manejo da asma como opção preferida a utilização de baixa dose de CI-formoterol como tratamento de manutenção e alívio. Se necessário a dose de manutenção de CI-formoterol pode ser aumentada para média (Etapa 4) aumentando-se a dose de manutenção para duas vezes ao dia 2 inalações, mas a dose de alívio permanece uma inalação de baixa dose de CI-formoterol quando necessário.[89]

Ao contrário dos SABAs, os de longa ação quando utilizados por longo tempo são capazes de controlar os sintomas de forma sustentada com melhora dos parâmetros funcionais, sem que ocorra aumento na hiper-responsividade brônquica ou redução progressiva na broncoproteção.[124] O uso da associação entre CI



e broncodilatador de longa ação, em um único dispositivo de inalação, apresenta ações complementares, atuando de forma sinérgica ao nível molecular, reduzindo sintomas, a frequência e intensidade das exacerbações **(Figura 21)**.

As *combinações aprovadas e disponíveis* de CI/LABA por inalação para o tratamento da asma em baixas doses disponíveis incluem: fluticasona propionato/salmeterol; fluiticasona furoato/vilanterol; budesonida/formoterol; mometasona/formoterol; beclometasona/formoterol.

Em 2023 foi aprovada a primeira combinação CI-SABA incluindo budesonida e salbutamol. A associação é aplicada unicamente como tratamento de alívio, *não* podendo ser usada como tratamento de manutenção para asma.

A atividade farmacológica dos $ß_2$-agonistas não está restrita somente ao relaxamento da musculatura lisa brônquica, pois exibem outras propriedades não relacionadas à broncodilatação. Inúmeras publicações demonstraram a ação, principalmente de LABAs, nas células implicadas na inflamação brônquica da asma. Dentre elas:

Inibem a liberação de mediadores inflamatórios pelos mastócitos;[125]

O salmeterol reduz o número de mastócitos ativados (AA-1(+)) após teste de broncoprovocação, quando comparado ao placebo;[126]

O salmeterol apresenta ação sustentada (20h) na supressão da liberação por mastócitos de histamina, leucotrienos C_4 e D_4 e de prostaglandina D_2, enquanto que o formoterol apresenta ação intermediária (8h) entre o salbutamol e o salmeterol;[127]

O salbutamol, porém não o salmeterol, inibe a liberação de EPO pelo eosinófilo do sangue periférico humano *in vitro*;[128]

O formoterol na dose de 24 µg duas vezes ao dia, em pacientes com asma leve a moderada, foi capaz de reduzir o número de eosinófilos na submucosa, o que não foi evidenciado quando de uso de placebo;[129]

O salmeterol foi capaz de atenuar a elevação dos níveis séricos da ECP e da EPX após teste de provocação com alérgenos;[130]

Após teste de provocação utilizando alérgenos, Boulet et al.[130] obtiveram a redução no número de CD4+, CD3+, CD25+, CD45+ e células T de memória (CD45RO+) no BAL, em pacientes que utilizaram salmeterol na dose de 50 mcg duas vezes ao dia, por um período de seis semanas;

Vários trabalhos relatam a inibição pelos $ß_2$-agonistas da liberação de citocinas *in vitro* por monócitos humanos. O salmeterol inibe a liberação de TNF-α, IL-6 e IL-4, ocorrendo a inibição acima de 40% a concentrações de 10-8 mol/l;[129]

Os $ß_2$-agonistas exibem *in vivo* e *in vitro* atividades antineutrófilo. O salmeterol inibe a adesão[131] e a ativação de neutrófilos ao epitélio brônquico, como evidenciado pela redução da "*bacterial permeability-increasing protein*"[132] e na diminuição da liberação de lipocalin e mieloperoxidase;[133]

Kleine-Tebbe et al.[134] relataram a inibição pelo fenoterol e salmeterol da liberação de histamina IgE-mediada de basófilos humanos;

O salbutamol e o salmeterol são capazes de aumentar a frequência dos batimentos ciliares nas células epiteliais das mucosas nasal e brônquica, sendo o salmeterol, entretanto, mais potente que o salbutamol.[135] Os efeitos do salbutamol são modestos e transitórios (<2 h), enquanto que o salmeterol produz um aumento sustentado na frequência por 15-20 h;

Os $ß_2$-agonistas por um efeito antagonista funcional, mediado pelo aumento intracelular de AMPc, podem manter a integridade do endotélio vascular, limitando a saída de proteínas plasmáticas.[136] Este efeito foi confirmado por Allen et al.[137] que demonstraram, entretanto, ser o salmeterol mais potente que o salbutamol, prolongando esta ação.

Interações dos Corticoides com os LABAs

Existem evidências de que a associação entre o uso regular de SABAs e os corticoides pode determinar uma interação negativa entre as duas drogas.[100-102,105] Por outro lado, a associação CI e LABA apresenta interações

sinérgicas **(Figura 22)**, dentre elas:

Os corticoides aumentam a transcrição gênica dos $ß_2$-receptores, resultando em aumento da expressão dos receptores da superfície celular, protegendo contra a *downregulation* dos $ß_2$-receptores em resposta à exposição prolongada a $ß_2$-agonistas.[138,139]

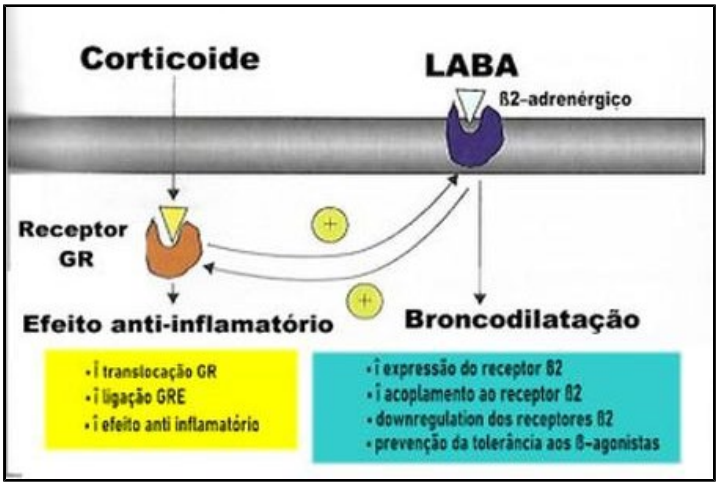
Os corticoides podem também aumentar a união de $ß_2$-agonistas às proteínas G, e desta forma, intensificar os seus efeitos, ou reverter com a desconexão de receptores $ß_2$ (*downregulation*) que pode ocorrer em resposta a mediadores inflamatórios, como p.ex. a IL-13, por meio de um efeito estimulador sobre cinases receptoras acopladas à proteína G.[140]

O efeito primário dos LABAs ocorre nos receptores $ß_2$ mas, além de sua ação broncodilatadora, os LABAs complementam os efeitos dos corticoides por meio da interação com a transdução de sinal de glicocorticoide.[125]

A transcrição gênica *in vitro* induzida por dexametasona, budesonida ou fluticasona através do elemento de resposta glicocorticoide (GRE) é aumentada pela adição de um LABA.[142]

Interações entre LABAs e transcrição gênica relacionada a corticoides também foram demonstradas em pacientes com asma, com a administração concomitante de salmeterol e fluticasona, levando à translocação nuclear aumentada do GR em comparação com monoterapia isolada com fluticasona.[141]

Dados *in vitro* indicam que tanto os LABAs quanto os CIs suprimem a proliferação de células musculares lisas. Esse efeito é aumentado quando as duas classes de medicamentos estão presentes, apoiando ainda mais a potencial importância clínica do uso desses medicamentos em combinação na terapia da asma.[143]



Outra indicação para a utilização de $ß_2$-agonistas é a profilaxia da asma decorrente do exercício. Tanto os corticoides como os $ß_2$-agonistas por inalação são permitidos para uso por pacientes com asma que praticam esportes em competições, não sendo considerados como *doping*. $ß_2$-agonistas e corticoides por via sistêmica, entretanto, não são permitidos. Desde 1993, apenas os $ß_2$-agonistas por inalação, salbutamol e terbutalina eram permitidos no esporte. Posteriormente estudos demonstraram que estas drogas e mais o salmeterol não interferem na performance dos atletas,[143-147] tendo este último sido liberado em fevereiro de 1996. O formoterol também é aceito em competições olímpicas desde 2003. Preconiza-se a utilização dos SABAs 10 a 15 minutos antes do esforço. Quanto aos LABAs, duas inalações de salmeterol ou formoterol são capazes de prevenir a obstrução pós-esforço por 10 a 12 horas[149] ou promover grande redução na variação diurna do pico de fluxo expiratório (PFE).

Efeitos Colaterais

Os efeitos colaterais dos $ß_2$-agonistas dependem da dose e via de administração. São mais frequentes com administração parenteral, intermediários com administração oral e reduzidos quando usados por inalação, a via mais preconizada no tratamento moderno da asma. As apresentações dos $ß_2$-agonistas em comprimidos e xaropes são menos seletivas, sendo na atualidade raramente utilizadas (< 10% das vendas). A apresentação injetável, especialmente a adrenalina, está reservada para emergências extremas, como anafilaxia.

Dentre as várias razões para priorizar a via inalatória podem ser citadas:

As doses podem ser 10 vezes mais baixas do que aquelas que são administradas por via oral;

O efeito terapêutico por inalação é mais eficaz, pois as drogas inaladas começam a atuar em minutos e alcançam maiores concentrações locais do que as por via sistêmica;

A flexibilidade das doses por inalação é maior, podendo ser aumentada várias vezes durante as exacerbações, sem efeitos colaterais maiores. Isto não é possível quando se utiliza a via oral.

As reações adversas mais comuns são decorrentes da estimulação simpática, incluindo tremores finos (> 20% dos pacientes no início do tratamento, reduzindo-se com o uso continuado da droga), agitação, nervosismo, palpitações (em 5% — dependendo da seletividade da droga), taquicardia e outras arritmias e efeitos eletrofisiológicos (prolongamento do intervalo QTc).[149] Pacientes com doenças cardiovasculares são mais propensos aos efeitos adversos pois 30% dos receptores encontrados nos átrios e 20% nos ventrículos são do tipo $ß_2$.[150] Maior índice de complicações cardiovasculares em pacientes com asma está associado ao tratamento com $ß_2$-agonistas inalados, podendo aumentar o risco de insuficiência cardíaca congestiva, IAM, fibrilação atrial, parada cardíaca e morte súbita.[151]

Uma precaução particular é requerida se o paciente faz uso de antidepressivos como os tricíclicos ou os inibidores da monoaminoxidase. Estas drogas podem potencializar os simpaticomiméticos e causar alterações na pressão arterial, tais como crises hipertensivas.[149]

Os efeitos metabólicos só ocorrem quando da utilização em altas doses e sua significação clínica ainda não está bem definida. Podem ocorrer hiperglicemia, aumento de corpos cetônicos, ácidos graxos livres, glicerol e lactato.[149] Outra consequência metabólica hoje mais bem estudada é a hipopotassemia devido ao desvio transcelular do potássio pelos $ß_2$-agonistas com captação pelas hemácias. Como a estimulação do $ß_2$AR aumenta a atividade celular da Na-K-ATPase, pode ocorrer hipopotassemia o que requer terapêutica de reposição naqueles pacientes em quadro agudo, recebendo altas doses de $ß_2$-agonistas. Deve ser ressaltado que o uso concomitante de outros agentes como corticoides e teofilina podem agravar a hipopotassemia. Uma dose-padrão de salbutamol, por inalação, reduz o potássio sérico de 0,2 a 0,4 nmol por litro, elevando-se para 1 nmol quando a dose é repetida uma hora após, mantendo-se a hipopotassemia por mais de quatro horas.[148-150,153,154] Publicações têm demonstrado a hipomagnesemia, a hipofosfatemia e a hipocalcemia após a administração de $ß_2$-agonistas em indivíduos normais assim como em pacientes com asma.[152-158] A causa e o mecanismo destas alterações ainda não foram, entretanto, elucidadas.

Todos os ß-agonistas, incluindo a adrenalina, reduzem a PaO_2. Esta alteração, de pouca significação clínica, ocorre cerca de 5 minutos após a administração do ß-agonista inalado, retornando aos valores normais em 30 minutos. Esta redução é secundária ao aumento do fluxo sanguíneo pulmonar em regiões mal ventiladas, resultante de desigualdades na relação ventilação/perfusão. O aumento no fluxo sanguíneo é secundário à vasodilatação pulmonar via estimulação dos $ß_2$-receptores no músculo liso vascular e também pelo aumento do débito cardíaco após estimulação dos receptores cardíacos.

Outras possíveis e raras reações incluem broncospasmo paradoxal,[159,160] taquifilaxia,[160-162] hiper-responsividade brônquica[159] e morte por uso abusivo.[163]

Os broncodilatadores também são afetados por alterações relacionadas ao envelhecimento em suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas.[164] Os agonistas $ß_2$-adrenérgicos, tanto os de curta ação (SABAs) como os de longa ação (LABAs), se ligam ao $ß_2$AR cuja resposta é diferente em pacientes idosos com asma devido ao aumento da atividade simpática, redução nas respostas da adenilciclase e redução no número e na afinidade de receptores ß-adrenérgicos que ocorrem com o envelhecimento.[165] Os $ß_2$-agonistas induzem um influxo líquido de potássio intravascular para as células, com subsequente distúrbio eletrolítico. Assim, em asmáticos mais idosos, a hipopotassemia, o prolongamento do intervalo QT, a taquicardia e o tremor, que são mediados pela absorção sistêmica do medicamento e são dose dependentes, são os efeitos adversos mais sérios. Certamente, a coexistência de distúrbios cardiovasculares aumenta a frequência e a gravidade dos efeitos colaterais.[166]

O uso regular dos ß-agonistas por inalação pode desencadear a tolerância (subsensibilidade). A tolerância é definida como uma responsividade diminuída, que se desenvolve quando os receptores ß são repetidamente expostos aos agonistas, durante dias ou semanas, fato este provavelmente devido à *downregulation* do receptor. Deve ser feita a distinção entre tolerância e taquifilaxia, esta última ocorrendo de forma mais rápida, não havendo relação com o receptor.

O reduzido efeito dos broncodilatadores ß-agonistas na asma crônica, como consequência do remodelamento brônquico, tem sido investigado. Acredita-se que as modificações na musculatura lisa, como a hipertrofia e a hiperplasia, conduzam a mudanças na velocidade de contração do músculo liso. Com a contração muscular normal, se formam as pontes cruzadas de actina-miosina, e à medida que o músculo se hipertrofia e cresce, estas pontes também aumentam em número. Acredita-se que por esta razão o músculo não relaxe com o uso dos ß-agonistas, que perdem sua eficiência.[167]

Dados indicam um possível aumento de risco de morte relacionado à asma, associado ao uso de salmeterol em um pequeno grupo de pacientes.[160] Um estudo identificou que um tipo de asma, pouco comum, com um genótipo incomum para o receptor β-adrenérgico (com substituição da arginina pela glicina na posição B-16) pode se agravar com o uso regular do salmeterol se estiver ou não associado ao corticoide.[168,169]

Prescreva broncodilatadores por inalação apenas após o treinamento do paciente com o dispositivo que irá utilizar e demonstrar pleno conhecimento da técnica. O aprendizado de como utilizar corretamente o inalador melhora a efetividade do tratamento.

Devido a um real interesse de pesquisadores e da própria indústria farmacêutica estão em estudos, mas em sua maioria ainda em fase pré-clínica, o desenvolvimento de novas classes de broncodilatadores assim como de novas

moléculas nas classes já existentes. Alguns destes fármacos são candidatos atraentes para o tratamento multimodal de doenças pulmonares obstrutivas como a asma, isoladamente ou em combinação com os regimes atuais. Outros são descartados devido ao perfil de segurança.

Foram identificadas pelo menos nove novas classes potenciais de broncodilatadores:

1) agonistas do receptor do sabor amargo (TAS2R); 2) agonistas do receptor 4 de E-prostanoide (EP); 3) inibidores da Rho quinase; 4) calcilíticos; 5) agonistas do receptor ativado por proliferador de peroxissoma tipo gama (PPAR)-γ; 6) agonistas do receptor 1 do peptídeo da família relaxina (RXFP1); 7) ativadores de guanilil ciclase solúveis (sGC); 8) pepducinase e 9) inibidores seletivos da fosfodiesterase, uma classe já existente, onde prosseguem com a pesquisa de novos inibidores seletivos da PDE, novas xantinas. **(Tabela 3)**[170,171]

Segundo Cazzola et al. dentre as classes acima relacionadas três merecem maior atenção:[172] Os broncodilatadores TAS2R atuam nos receptores de sabor amargo do tipo 2 (TAS2R), que compõem uma família de receptores G-proteína acoplados. Esses receptores são encontrados em várias partes do corpo, inclusive as vias aéreas. A ativação dos receptores TAS2R no músculo liso das vias aéreas estimula a broncodilatação através de complexos mecanismos cujos componentes de sinalização incluem os receptores GPCR, a proteína Gβγ, a fosfolipase C β e o receptor de inositol trisfosfato que são expressos nas células do músculo liso das vias aéreas humanas.[173]

As dificuldades no desenvolvimento de agonistas específicos residem sobretudo na identificação de compostos palatáveis e no fato de os compostos amargos poderem ser agonistas de um TAS2R porém antagonistas de outro TAS2R fora do sistema respiratório, provocando assim efeitos adversos, o que precisa ser cuidadosamente avaliado.[173]

A sinalização ROCK hiperativa é uma característica marcante da patologia da asma e os inibidores da Rho-quinase foram identificados como uma classe de medicamentos potenciais para o tratamento da asma devido à sua capacidade de reduzir a inflamação das vias aéreas e a força ativa no músculo liso das vias aéreas.[174] Assim, houve grande interesse na identificação de moléculas capazes de interferir com a via Ras-homologous (Rho)A/Rho-associated coiled-coil forming kinase (ROCK), que desempenha um importante papel na regulação da fosfatase da cadeia leve da miosina (MLCP), que é crítica na remoção do fosfato da MLC fosforilada para induzir o relaxamento do músculo liso das vias aéreas. Foi demonstrado que a inibição da RhoA induz o relaxamento das pequenas vias aéreas humanas contraídas pela metacolina.[175] Três inibidores da Rho-quinase, o fasudil, o ripasudil e o netarsudil, foram aprovados em alguns países para uso clínico (tratar aumento da pressão intraocular, vasoespasmo, hipertensão pulmonar),[176] mas não como broncodilatadores.

Novas drogas inibidoras de ROCK estão sendo desenvolvidas, incluindo hidroxifasudil, HA-1152P, netarsudil (AR-13324), AMA0076 e Y-39983, mas até o momento não foram relatados estudos clínicos com esses medicamentos em pacientes com asma ou DPOC. Sua implementação é limitada devido à alta semelhança entre os domínios de cinase de ROCK-1 e ROCK-2, o que dificulta a obtenção de especificidade dos inibidores.[177] Como citado, os inibidores das ROCK apresenram ações pleiotrópicas, assim, a sua utilização como broncodilatador pode ser limitada pela ocorrência de efeitos adversos. Estão em curso estudos de inibidores ROCK por via inalatória, por nebulização ou pó seco.[178]

Pepducinas são peptídeos lipídicos sintéticos, modulam a sinalização dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Eles têm como alvo alças intracelulares específicas de GPCRs e surgiram como moduladores alostéricos eficazes da atividade de GPCR, sendo que a ação broncodilatadora das pepducinas se baseia em sua capacidade de interferir com a sinalização celular que regula o tônus do músculo liso das vias aéreas.[179]

Evidências indicam que tanto os inibidores de pequenas moléculas de Gαq quanto as pepducinas direcionadas a receptores acoplados a Gq podem inibir amplamente a função do músculo brônquico induzida por agonistas contráteis.[180] No entanto, as pepducinas da terceira alça intracelular do receptor β2-adrenérgico medeiam a sinalização com base na Gs e as da primeira alça intracelular medeiam a sinalização com base na β-arrestina.[180]

Em termos de broncodilatação, as pepducinas podem inibir a sinalização que leva à contração do músculo liso das vias aéreas. Por exemplo, ao interferir na via de sinalização do receptor muscarínico ou de outros receptores que promovem a contração, elas podem reduzir a contração muscular e promover o relaxamento.

Broncodilatador Bifuncional

A praticidade decorrente do uso de combinações de doses fixas de dois ou mais medicamentos para tratamento de várias doenças vem aumentando no decorrer da última década para patologias como a tuberculose, a hipertensão arterial, a SIDA, o câncer e outras doenças infecciosas.

Na atualidade o tratamento para a asma ocorre essencialmente por via inalatória e é quase que totalmente regido pelo uso de combinações em doses fixas através de LABAs com CIs. Para a DPOC as combinações em doses fixas mais amplamente utilizadas são aquelas entre um LABA e um antagonista do receptor muscarínico de ação prolongada (LAMA) e em pacientes mais graves pode ser tripla, associada ao CI.[171]

As drogas bifuncionais oferecem uma abordagem nova e estimulante para o tratamento da asma e da DPOC. Evoluímos no tratamento de dispositivos com duas ou três drogas combinadas para fármacos com duas ações farmacológicas primárias diferentes na mesma molécula. Uma série de novos medicamentos que apresentam na mesma molécula tanto com antagonismo muscarínico (mAChR) e atividade agonista $ß_2$AR no nível celular, ou seja com ações farmacológicas distintas, receberam a denominação de MABAs (*muscarinic acetylcholine receptor antagonist- ß2-adrenoceptor agonist*), se encontram em avaliação pré-clínica.

O batefenterol (GSK961081, anteriormente TD-5959) **(Figura 23)** é uma nova molécula bifuncional composta por um MA em uma extremidade e um ß-agonista separado por uma porção ligante inerte.[181] A combinação de um MA com um ß-agonista resulta em maior broncodilatação nas vias aéreas do que qualquer um dos componentes isoladamente.[182] A natureza bifuncional de batefenterol foi previamente demonstrada *in vitro*[183] e *in vivo*.[184]

O batefenterol que, em estudos animais mostraram sucesso, se encontra em fase de ensaios clínicos IIb. Segundo Wielders et al.,[181] após tratamento de quatro semanas em pacientes com DPOC moderada a grave com 400 mcg em dose diária, o batefenterol determinou potente broncodilatação, com elevação do VEF_1 como desfecho primário. Outro ensaio clínico de duas semanas comparou o batefenterol 400 mcg com a combinação tiotrópio e salmeterol. O MABA induziu broncodilatação semelhante à terapia combinada, foi bem tolerado com um início de ação mais rápido e apresentou broncodilatação sustentada.[155]

O navafenterol (AZD8871) **(Figura 24)** é um outro MABA que foi avaliado em estudo de doses ascendentes em pacientes com asma leve e persistente. As doses crescentes de 50, 200, 400, 900, 1.800 e 2.100 mcg foram bem toleradas, sendo que doses acima de ≥ 200 mcg produziram broncodilatação clinicamente sustentada.[185,186]

Através da técnica de cortes de alta precisão de pulmão humano (geralmente em torno de 250–500 µm de espessura) por intermédio de medidas fisiológicas diretas das pequenas vias aéreas, que têm imenso valor fisiológico e translacional em comparação com outros modelos pré-clínicos, Jude et al. obtiveram efeitos broncoprotetores do navafenterol contra dois agentes constritores, a histamina e um análogo do tromboxano A_2 (TxA_2) (U46619).[187]

Outros MABAS bifuncionais com longa duração de ação, se encontram ainda em desenvolvimento clínico com bom potencial e ampla margem de segurança, o AZD-2115, AZD8999, AZS-LAS190792 e o CHF6366.[188,189, 190]

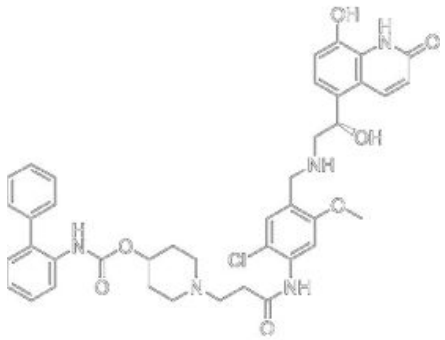


Figura 23 - Batefenterol

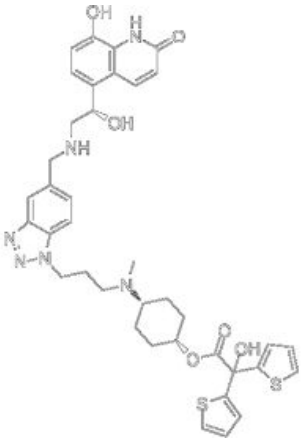


Figura 24 -Navafenterol

Início << Tratamento da Asma: Índice **Anterior << Modificadores de Leucotrienos**	**Home**	**Próximo >> Anticolinergicos**

Referências

4. Position Statement, The Environment and Lung Health 2020, British Thoracic Society (BTS). 2020. Available online: **https://www.brit-thoracic.org.uk/document-library/governance-and-policy-documents/position-statements/environment-and-lung-health-position-statement-2020/**

21. Fulford B, Mezzi K, Aumônier S, et al. Carbon footprints and life cycle assessments of inhalers: a review of published evidence. Sustainability 2022; 14: 7106. doi: **10.3390/su14127106**

01.Ahlquist, RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 1948; 153:586-600.

02.Lands AM, Arnold A, McAuliff JA, Luduena FB, Brown JG. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* 1967; 214:597-8.

03.Hoffmann C, Leitz MR, Oberdorf-Maass S, Lohse MJ, Klotz KN. Comparative pharmacology of human beta-adrenergic receptor subtypes--characterization of stably transfected receptors in CHO cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369:151-9.

04.Perez DM, Papay RS. Adrenergic receptor genes: structure, expression, and evolution. *Genomics* 1998; 51:176-185.

05.Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP, Molinoff PB, Ruffolo RR Jr, Trendelenburg U. International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoceptors. *Pharmacol Rev* 1994; 46:121-36.

06.Schwinn DA, Lomasney JW, Lorenz W, Szklut PJ, Fremeau RT Jr, Yang-Feng TL, Caron MG, Lefkowitz RJ, Cotecchia S. Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel alpha 1-adrenergic receptor subtype. *J Biol*

Chem 1990; 265:8183-9.

07.Johnson M. Molecular mechanisms of beta(2)-adrenergic receptor function, response, and regulation. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:18-24.

08.Barnes PJ. Beta-adrenergic receptors and their regulation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:838-60.

09.Haddad EB, Mak JC, Belvisi MG, Nishikawa M, Rousell J, Barnes PJ. Muscarinic and beta-adrenergic receptor expression in peripheral lung from normal and asthmatic patients. *Am J Physiol* 1996; 270:L947–L953.

10.Pereira SB, Gava IA, Giro C, Mesquita ET. Os polimorfismos dos receptores adrenérgicos na insuficiência cardíaca: o que a genética explica? *Arq Bras Cardiol* 2010; 94:(6).jun 201.

11.Dixon RA, Kobilka BK, Strader DJ, Benovic JL, Dohlman HG, Frielle T, Bolanowski MA, Bennett CD, Rands E, Diehl RE, Mumford RA, Slater EE, Sigal IS, Caron MG, Lefkowitz RJ, Strader CD. Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 1986; 321(6065):75-9.

12.Taussig R, Gilman AG. Mammalian membrane-bound adenylyl cyclases. *J Biol Chem* 1995; 270:1-4.

13.Harden TK. The role of guanine nucleotide regulatory proteins in receptor-selective Direction of Inositol lipid signalling. *In* : Michell RH, Downes CP. *Inositol Lipidis in Cell Signalling* . London, Academic Press, 1989, 113-133.

14.Stadel JM, Lefkowitz RJ. Beta-adrenergic receptors: identification and characterization by radioligand binding studies. In: Perkins JP, ed. *Beta-adrenergic receptors.* Clifton, NJ:Humana Press 1991; 1-41.

15.Bai TR - Role of b 2 -Adrenergic Receptors. In: Peter J Barnes, Michael M Grunstein, Alan R Leff and Ann J Woolcock, ed *Asthma* . Philadelphia: Lippincott-Raven;1997:985-995.

16.Hall IP, Tattersfield AE. ß-Adrenoceptor Agonists. *In* : Barnes PJ, Rdger IW, Thomson NC. *Asthma.* San Diego, Academic Press, 1998, 651-676.

17.Roderick HL, Berridge MJ, Botman MD. – The Endoplasmic Reticulum: A Central Player in Cell Signalling and Protein Synthesis. *In*: Martin Falcke, Dieter Malchow Eds. *Understanding Calcium Dynamics.* Berlin: Springer; 2003: 17-34.

18.Pfitzer G. Signal Transduction in Smooth Muscle Invited Review: Regulation of myosin phosphorylation in smooth muscle. *J Apppl Physiol* 2001; 91:497-501.

19. Billington CK, Ojo OO, Penn RB, Ito S. cAMP regulation of airway smooth muscle function. *Pulm Pharmacol Ther* 2013; 26:112-20.

20.Narayanan D, Adebiyi A, Jaggar JH. Inositol trisphosphate receptors in smooth muscle cells. Am *J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302:H2190-210.

21.Walsh DA, Perkins JP, Krebs EG. An adenosine 3',5'-monophosphate-dependant protein kinase from rabbit skeletal muscle. *J Biol Chem* 1968; 243:3763-5.

22.de Rooij J, Zwartkruis FJ, Verheijen MH, Cool RH, Nijman SM, Wittinghofer A, Bos JL. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature* 1998; 396:474-7.

23.Kawasaki H, Springett GM, Mochizuki N, Toki S, Nakaya M, Matsuda M, Housman DE, Graybiel AM. A family of cAMP-binding proteins that directly activate Rap1. *Science* 1998; 282:2275-79.

24.Komalavilas P, Penn RB, Flynn CR, Thresher J, Lopes LB, Furnish EJ, et al. The small heat shock-related protein, HSP20, is a cAMP-dependent protein kinase substrate that is involved in airway smooth muscle relaxation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294: L69–L78.

25.Morgan SJ, Deshpande DA, Tiegs BC, Misior AM, Yan H, Hershfeld AV, et al. ß-Agonist-mediated relaxation of airway smooth muscle is protein kinase A-dependent. *J Biol Chem* 2014; 289:23065–23074.

26.Janssen LJ. Ionic mechanisms and Ca2+ regulation in airway smooth muscle contraction: do the data contradict dogma? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282:L1161–78.

27.Perez-Zoghbi JF, Karner C, Ito S, Shepherd M, Alrashdan Y, Sanderson MJ. Ion channel regulation of intracellular calcium and airway smooth muscle function. *Pulm Pharmacol Ther* 2009; 22:388–97.

28.Roscioni SS, Maarsingh H, Elzinga CR, Schuur J, Menzen M, Halayko AJ, Meurs H, Schmidt M. Epac as a novel effector of airway smooth muscle relaxation. *J Cell Mol Med* 2011; 15:1551–63.

29.Barnes PJ, Thomson NC. ? Neural and Humoral Controlol of the Airways. *In* : Bs PJ, Drazen JM, Rennard SI, Thomson NC., *Asthma and COPD* . San Diego: Academic Press; 2009:381-397.

30.Bai TR. Abnormalities in airway smooth muscle in fatal asthma: A comparison between trachea and bronchus. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:441-43.

31.Spina D, Rigby PJ, Paterson JW, Goldie RG. Autoradiographic localization of beta-adrenoceptors in asthmatic human lung. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1410-15.

32.Peters SP. Asthma: phenotypes and co-morbidities. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 2006; 97:669-676.

33.Hughes JM, Seale JP., Temple, D.M. Effect of fenoterol on immunological release of leukotrienes and histamine

from human lung in vitro: selective antagonism by ß -adrenoreceptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1983; 95:239-45.

34.Seale JPW. Beta-adrenoreceptor agonists in treatment of asthma? *Proc Clin Biol Res* 1988; p. 263-367.

35.Wanner A, Salathé M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1868-902.

36.Bullowa JGM, Kaplan DM. On the hypodermatic use of adrenalin chloride in the treatment of asthmatic attacks. *Med News* 1903; 83:787.

37.Melland B. The treatment of spasmodic asthma by the hypodermic injection of adrenalin. *Lancet* 1910; i:1407–1411.

38.Chen KK, Schmidt CF. The action of ephedrine: the active principle of the Chinese drug Ma Huang. *J Pharmacol Exp Ther* 1925; 24:339-57.

39.Thomas WS. Ephedrin in asthma: a clinical report. *Am J Med Sci* 1926; 171:719-727.

40.Freedman T. Medihaler therapy for bronchial asthma: a new type of aerosol therapy. *Postgrad Med* 1956; 20:667-73.

41.Grossman J. The evolution of inhaler technology. *J Asthma* 1994; 31:55-64.

42.Molina M, Rowland F: Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: Chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature* 1974; 249:810-812.

43.About Montreal Protocol. https://www.unep.org/ozonaction/who-we-are/about-montreal-protocol Acesso em: 31/03/2023.

44.World Meteorological Organization. Executive summary: scientific assessment of ozone depletion: 2022. October 2022 (**https://ozone.unep.org/system/files/documents/Scientific-Assessment-of-Ozone-Depletion-2022-Executive-Summary.pdf . opens in new tab**)

45.Wilkinson AJK, Braggins R, Steinbach I, Smith J. Costs of switching to low global warming potential inhalers. An economic and carbon footprint analysis of NHS prescription data in England. BMJ Open 2019;9:e028763. doi:10.1136/bmjopen-2018-028763.

46.Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2023. Updated May 2023. Disponível em: www.ginasthma.org

47.Panigone S, Sandri F, Ferri R, Volpato A, Nudo E, Nicolini G. Environmental impact of inhalers for respiratory diseases: decreasing the carbon footprint while preserving patient-tailored treatment. *BMJ Open Respir Res* 2020; 7:e000571.

48.Janson C, Henderson R, Löfdahl M, Hedberg M, Sharma R, Wilkinson AJK. Carbon footprint impact of the choice of inhalers for asthma and COPD. *Thorax* 2020; 75:82-84.

49.Carroll WD, Gilchrist FJ, Horne R. Saving our planet one puff at a time. *Lancet Respir Med*. 2022; 10:e44-e45.

50.Stolley PD. Asthma mortality. Why the United States was spared an epidemic of deaths due to asthma. *Am Rev Respir Dis* 1972; 105: 883-890.

51.Brandon ML. Long-term metaproterenol therapy in asthmatic children. *JAMA* 1976; 736-737.

52.Hancox RJ, Cowan JO, Flannery EM, Herbison GP, McLachlan CR, Taylor DR. Bronchodilator tolerance and rebound bronchoconstriction during regular inhaled beta-agonist treatment. *Respir Med* 2000; 94:767-71.

53.Aldridge RE, Hancox RJ, Robin Taylor D, Cowan JO, Winn MC, Frampton CM, Town GI. Effects of terbutaline and budesonide on sputum cells and bronchial hyperresponsiveness in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1459-64.

54.Manolitsas ND, Wang J, Devalia JL, Trigg CJ, McAulay AE, Davies RJ. Regular albuterol, nedocromil sodium, and bronchial inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1925-30.

55.Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Uptdated 2021. Disponível em: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2021/05/GINA-Main-Report-2021-V2-WMS.pdf . Acesso em: 28 de maio de 2021.

56.Faulds D, Hollingshead LM, Goa KL. Formoterol. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in reversible obstructive airways disease. *Drugs* 1991; 42:115-37.

57.Boyd G, Anderson K, Carter R. A 12 hour placebo controlled comparison on bronchodilator performance of salmeterol and albuterol. Am Rev Respir Dis 1990; 141 (4 part 2): A206.

58.Maesen FPV, Smeets JJ, Costongs MAL, van Noord JA, Zweers PG. The onset of action of inhaled formoterol by dry powder (abstract). *Eur Respir J* 1992; 5(Suppl):15.

59.Wallin A, Sandström T, Rosenhall L et al. Time course and duration of bronchodilatation with formoterol dry powder in patients with stable asthma. *Thorax* 1993; 48:611-4.

60.Bradshaw J, Brittain RT, Coleman RA et al. The design of salmeterol, a long acting selective ß 2 -adrenoceptor agonist. *Br J Pharmacol* 1987; 92:590P.

61.Nials AT, Summer MJ, Johnson M, Coleman RA. Investigations into factors determining the duration of action of the ß 2 -adrenoceptor agonist, salmeterol. *Br J Pharmacol* 1993; 108:507.

62.Jack D. The challenge of drug discovery. *Drug Des Discov* 1989; 4:167-86.

63.Johnson M. Approaches to the design of long-acting agonists at b -adrenoceptors. *In* Small R, Johnson M, ed. b -*adrenoceptor agonists and the airways* . London: Royal Society of Medicine Press Ltd, 1995;13.

64.Jeppsson AB, Löfdahl C-GA, Waldeck B, Widmark E. On the predictive value of *in vitro* experiments in the evaluation of the effect duration of bronchodilator drugs for local administration. *Pulm Pharmacol* 1989; 2:81-5.

65.Löfdahl C-GA. Basic pharmacology of new long-acting sympathomimetics. *Lung* 1990; 168 (Suppl):18-21.

66.Anderson GP, Lindén A, Rabe KF. Why are long-acting ß -adrenoceptor agonists long-acting? *Eur Respir J* 1994; 7:569-78.

67.Löfdahl C-GA, Chung KF. Long-acting ß 2 -adrenoceptor agonists: a new perspective in the treatment of asthma. *Eur Respir J* 1991; 4:218-26.

68.Tokuyama K et al. Inahled formoterol inhibits histamine-induced airflow obstruction and airway microvascular leakage. *Eur J Pharmacol* 1991; 193:35-9.

69.Sturton RG, Trifilieff A, Nicholson AG, Barnes PJ. Pharmacological characterization of indacaterol, a novel once daily inhaled 2 adrenoceptor agonist, on small airways in human and rat precision-cut lung slices. *J Pharmacol Exp Ther* .2008;324:270-75.

70.Slack RJ, Barrett VJ, Morrison VS, Sturton RG, Emmons AJ, Ford AJ, et al. In vitro Pharmacological Characterization of Vilanterol, a Novel Long-Acting 2-Adrenoceptor Agonist with 24-Hour Duration of Action. *J Pharmacol Exp Ther* 2013;344:218–230.

71.Monaco TJ, Hanania NA. Emerging inhaled long-acting beta-2 adrenoceptor agonists for the treatment of COPD. *Expert Opin Emerg Drugs* 2017;22:285-299.

72.Kempsford R, Norris V, Siederer S. Vilanterol trifenatate, a novel inhaled long-acting beta2 adrenoceptor agonist, is well tolerated in healthy subjects and demonstrates prolonged bronchodilation in subjects with asthma and COPD. *Pulm Pharmacol Ther* 2013;26:256–264.

73.Bouyssou T, Casarosa P, Naline E, Pestel S, Konetzki I, Devillier P, Schnapp A. Pharmacological characterization of olodaterol, a novel inhaled beta2-adrenoceptor agonist exerting a 24-hour-long duration of action in preclinical models. *J Pharmacol Exp Ther* 2010;334:53-62.

74.Casarosa P, Kollak I, Kiechle T, Ostermann A, Schnapp A, Kiesling R, Pieper M, Sieger P, Gantner F. Functional and biochemical rationales for the 24-hour-long duration of action of olodaterol. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;337:600-9.

75.Aparici M, Gómez-Angelats M, Vilella D, Otal R, Carcasona C, Viñals M, Ramos I, Gavaldà A, De Alba J, Gras J, Cortijo J, Morcillo E, Puig C, Ryder H, Beleta J, Miralpeix M. Pharmacological characterization of abediterol, a novel inhaled ß(2)-adrenoceptor agonist with long duration of action and a favorable safety profile in preclinical models. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 342:497-509.

76.Beier J, Fuhr R, Massana E, et al. Abediterol (LAS100977), a novel long-acting ß2-agonist: efficacy, safety and tolerability in persistent asthma. *Respir Med* 2014;108:1424–1429.

77.Burkes RM, Panos RJ. Ultra long-acting agonists in chronic obstructive pulmonary disease. *J Exp Pharmacol* 2020; 12:589-602.

78.Persson G, Baas A, Knight A, Larsen B, Olsson H. One-month treatment with the once daily oral ß 2 -agonist bambuterol in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1995; 8:34-9.

79.Petrie GR, Chookang JY, Hassan WU, et al. Bambuterol: effective in nocturnal asthma. *Respir Med* 1993; 87:581-5.

80.Holstein-Rathlou NH, Laursen LC, Madsen F, Svendsen UG, Gnosspelius Y, Weeke B. Bambuterol: dose response study of a new terbutaline prodrug in asthma. *Eur J Clin Pharmacol* 1986;30:7-11.

81.Fahy JV, Boushey HA. Controversies involving inhaled ß -agonists and inhaled corticosteroids in treatment of asthma. *Clin Chest Med* 1995; 16:715-33.

82.Spitzer WO, Suissa S, Ernst P, et al. The use of ß - agonists and the risk of death and near death from asthma. *N Engl J Med* 1992; 326:501-6.

83.Crane J, Burgess N, Pearce N, Beasley R. The ß -agonist controversy: a perspective. *Eur Respir Rev* 1993; 3:475.

84.Vathenen AS, Knox AK, Jiggins BC, Britton JR, Tattersfield AE. Rebound increase in bronchial responsiveness after treatment with inhaled terbutaline. *Lancet* 1988;i:554-8.

85.Van Schayck CP, Dompeling E, Herwaarden CLA, et al. Bronchodilator treatment in moderate asthma or chronic

bronchitis: continuous or on demand? A randomized controlled study. *Br Med J* 1991; 303:1426-31.

86.National Asthma Council Australia. Australian Asthma Handbook, Version 2.1. Melbourne: National Asthma Council Australia, 2020.

87.Wegener T, Hedenström H, Melander B. Rapid onset of action of inhaled formoterol in asthmatic patients. *Chest* . 1992; 102:535-8.

88.Cazzola M, Rogliani P, Matera MG. The future of bronchodilation: lookinlg for new classes of bronchodilators. *Eur Respir Rev* 2019; 28: 190095; DOI: 10.1183/16000617.0095-2019.

89.Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2023. Updated May 2023. Disponível em: www.ginasthma.org

90.Matera MG, Page CP, Calzetta L, Rogliani P, Cazzola M. Pharmacology and therapeutics of bronchodilators revisited. *Pharmacol Rev* 2020; 72:218–252.

91.Norris V, Ambery C, Riley T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of GSK961081, a novel inhaled muscarinic antagonist b2-agonist, and fluticasone propionate administered alone, concurrently and as a combination blend formulation in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev* 2014;3:305–313.

92.Taylor DR, Sears MR, Cockcroft DW. The beta-agonist controversy. *Med Clin North Am* 1996; 80:719-48.

93.Galant SP, Duriseti L, Underwood S, et al. Decreased beta-adrenergic receptors on polymorphonuclear leukocites after adrenergic therapy. *N Engl J Med* 1978; 299:933-6.

94.Busse WW, Bush RK, Cooper W. Granulocyte response *in vitro* to isoproterenol, histamine, and prostaglandin E 1 during treatment with beta-adrenergic aerosols in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:377-84.

95.Conolly ME, Tashkin DP, Hui KKP, et al. Selective subsensitization of beta-adrenergic receptors in central airways of asthmatics and normal subjects during long-term therapy with inhaled salbutamol. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:423-31.

96.Tashkin DP, Conolly ME. Deutsch RI, et al. Subsensitization of beta-adrenoceptors in airways and lymphocytes of healthy and asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125:185-93.

97.Bruynzeel PLB. Changes in the b -adrenergic system due to ß-adrenergic therapy: Clinical consequences. *Eur J Respir Dis* 1984; 135(Suppl 65):62-71.

98.Galant SP, Duriseti L, Underwood S, et al. Beta-adrenergic receptors of polymorphonuclear particulates in bronchial asthma. *J Clin Invest* 1980; 65:577-85.

99.Meurs H, Koeter GH, de Vries K, et al. Dynamics of the lymphocyte beta-adrenoceptor system in patients with allergic bronchial asthma. *Eur J Respir Dis* 1984;135(Suppl 65):47-61.

100.Bai TR, Mak JC, Barnes PJ. A comparison of beta-adrenergic receptors and *in vitro* relaxant responses to isoproterenol in asthmatic airway smooth muscle. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 6:647-51.

101.Adock IM, Stevens DA, Barnes PJ. Interactions of glucocorticoids and ß2-agonists. *Eur Respir J* 1996; 9:160-8.

102.Cockcroft DW, Swystun VA, Bhagat R. Interaction of inhaled ß 2 -agonist and inhaled corticosteroid on airway responsiveness to allergen and metacholine. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1485-9.

103.Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 sybunit of transcription factor NF k B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:752-6.

104.Mukaida N, Morita M, Ishikawa Y et al. Novel mechanism of glucocorticoid-mediated gene repression: nuclear factor- k B is target for glucocorticoid-mediated interleukin 8 gene repression. *J Biol Chem* 1994; 269:13289-95.

105.Janknecht R, Hunter T. Transcriptional control:versatile molecular glue. *Curr Biol* 1996; 8:951-4.

106.Mitra S, Ugur O, et al. (S)-albuterol increases int r acellular free calcium by muscarinic receptor activation and a phospholipase C-dependent mechanism in airway smooth muscle. *Mol Pharmacol* 1998; 53:347-54.

107.Morley J. Sympathomimetic enantiomers *in vivo* : pre-clinical pharmacology. *In* : Costello JF, ed. Sympathomimetic Enantiomers in the Treatment of Asthma. London, The Parthenon Publishing Group, 1997;pp.71-90.

108.Handley DA, McCullough JR, Crowther SD, Morley J. Sympathomimetic enantiomers and asthma. *Chirality* 1998; 10:262-72.

109.Galland BC, Blackman JG. Enhancement of airway reactivity to histamine by isoprenaline and related ß -adrenoceptor agonists in the guinea-pig. *Br J Pharmacol* 1993; 108:1016-23.

110.Mazzoni L, Naef R, Chapman ID, Morley J. Hyperresponsiveness of the airways following exposure of guinea-pigs to racemic mixtures and distomers of ß2-selective sympathomimetics. *Pulm Pharmacol* 1994; 7:367-76.

111.Hoshiko K, Morley J. Exacerbation of airway hyperreactivity by racemic salbutamol in sensitised guinea-pigs. *Jpn J Pharmacol* 1993; 63:159-63.

112.Johansson F, Rydberg I, Aberg G, Andersson RGG. Effects of albuterol enantiomers on *in vitro* bronchial

reactivity. *Clin Rev Allergy Immunol* 1996; 14:57-64.

113.Nelson HS, Bensch G, Pleskow WW et al. Improved bronchodilat at ion with levalbuterol compared with racemic albuterol in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:943-52.

114.Nials AT, Ball DI, Butchers, PR, et al. Formoterol on airway smooth muscle and human lung mast cells: a comparison with salbutamol and salmeterol. *Eur J Pharmacol* 1994; 251:127-35.

115.Lau HYA, Wong PLE, Lai CKW, et al. Effects of long-acting b 2 -adrenorec e ptor agonists on mast cells of rat, guinea pig, and human. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 105:177-80.

116.Whelan CJ, Johnson M. Inhibition by salmeterol of increased vascular permeability and granulocyte accumulation in guinea-pig lung and skin. *Br J Pharmacol* 1992; 105:831-8.

117.Sulakvelidze I, McDonald DM. Anti-edema action of formoterol in rat trachea does not depend on capsaicin sensitive sensory nerves. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:232-8.

118.Nials AT, Whelan CJ, Vardey CJ. Salmetrol inhibits neutrophil accumulation in rat lung (abstract). *Br J Pharmacol* 1991; 104:294p.

119.Baker AJ, Palmer J, Johnson M, et al. Inhibitory actions of salmeterol on human airway macrophages and blood monocytes. *Eur J Pharmacol* 1994; 264:301-6.

120.British Thoracic Society. Guidelines for management of asthma. *Br Med J* 1993; 300:776-82.

121.Medical Products Agency. *Pharmacological treatment of bronchial asthma II.* 1:1,1993.

122.Woolcock A, Lundback B, Ringdal N, et al. Comparison of addition of salmetrol to inhaled steroids with doubling of the dose of inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:1481-8.

123.Greening AP, Ind PW, Northfield M. Added salmetrol versus higher dose corticosteroid in asthma patients with symptoms on existing inhaled corticosteroid. Allen & Hanburys Limited UK Study Group. *Lancet* 1994; 344:219-24.

124.Rosenthal RR, Busse WW, Kemp JP, Baker JW, Kalberg C, Emmett A, Rickard KA. Effect of long-term salmeterol therapy compared with as-needed albuterol use on airway hyperresponsiveness. *Chest* 1999; 116:595-602.

125.Butchers PR, Vardey CJ, Johnson M. Salmetrol: a potent and long-acting inhibitor of inflammatory mediator release from human lung. *Brit J Pharmacol* 1991; 104:672-6.

126.Boulet LP, Turcotte H, Boutet M et al. Influence of salmeterol on chronic and allergen-induced airway inflammation in mild allergic asthma: a pilot study. *Cur Therap Res* 1987; 92: 590P.

127.Johnson M. Mechanisms of action of ß -adrenoceptor agonists. In: *Beta-Agonists in the Treatment of Asthma.* (Eds JF Costello & RD Mann), Parthenon, Carnforth.

128.Munoz NM, Rabe KF, Vita AJ et al. Paradoxical blockade of beta-adrenergically mediated inhibition of stimulated eosinophil secretion by salmeterol. *J Pharmacol and Exp Ther* 1995; 273: 850-4.

129.Wallin A, Melander B, Rosenhall L et al. Formoterol, a new long acting beta 2 -agonist for inhalation twice daily, compared with salbutamol in the treatment of asthma. *Thorax* 1990; 45: 259-61.

130.Pedersen B, Dahl R, Venge P. The effect of salmeterol on the early and late phase reaction to bronchial allergen challenge and potchallenge variation in bronchial hyperreactivity, blood eosinophils and serum eosinophil cationic protein. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: A649.

131.Bloeman PGM,Van den Tweel MC, Henricks PAJ et al. Increased cAMP levels in stimulated neutrophils inhibit their adhesion to human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol* 1997; 272:L580-7.

132.Dentener MA, Buurman WA, Wouters EFM. Theophilline and the beta-agonists salmeterol and salbutamol potently block neutrophil activation, as indicated by a reduced release of bacterial/permeability-increasing protein. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:A602.

133.Faurschou P, Dahl R, Jeffery P, Venge P, Egerod I. Comparison of the anti-inflammatory effects of fluticasone and salmeterol in asthma: a placebo controlled, double blind, cross-over study with bronchoscopy, bronchial methacoline provocation lavage. *Eur Respi J* 1997; 10:243s.

134.Kleine-Tebbe, Frank G, Josties C, Kunkel G. Influence of salmeterol, a long-action beta 2 -adrenoceptor agonist, on IgE-mediated histamine release from human basophils. *J Invest Allerg Clin Immunol* 1994; 4:12-7.

135.Rusnak C, Sapsford RJ, Davies RJ. Effect of salbutamol and salmeterol on the ciliary beat frequency (CBF) of human bronchial epithelium *in vitro. Am Rev Respir Dis* 1990; 141:A1030.

136.Persson CGA, Svensjö E. Vascular responses and their suppression: drugs interfering with vascular permeability. *In* : *Handbook of Inflammation: The Pharmacology of Inflammation.* (I.L. Bonta, M.A. Bray, M.J. Parnham Eds), Amsterdam, Elsevier, 1985.

137.Allen MJ, Vardey CJ, Coleman RA. Salmeterol and other agonists at $ß_2$ -adrenoceptors enhance endothelial barrier function. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:A189.

138.Baraniuk JN, Ali M, Brody D, Maniscalco J, Gaumond E, Fitzgerald T et al. Glucocorticoids induce $ß_2$-adrenergic

receptor function in human nasal mucosa. *Am J Resoir Crit Care Med*1997; 155:704-10.

139.Mak JCW, Nishikawa M, Shirasaki H, Miyasu K, Barnes PJ. Protective effects of a glucocorticoid on down-regulation of pulmonary $ß_2$-adrenergic receptors in vivo. *J Clin Invest* 1995; 96;99-106.

140.Mak JC, Chuang TT, Harris CA, Barnes PJ. Increased expression of G protein-coupled receptor kinases in cystic fibrosis lung. *Eur J Pharmacol* 2002:436;165-72.

141.Usmani OS , Ito K , Maneechotesuwan K , Ito M , John, Barnes PJ, et al. Translocação nuclear de receptores de glicocorticoides em Glucocorticoid receptor nuclear translocation in airway cells after inhaled combination therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005:172;704-712.

142.Kaur M, Chivers JE, Giembycz MA, Newton R. Long-acting $ß_2$-adrenoceptor agonists synergistically enhance glucocorticoid-dependent transcription in human airway epithelial and smooth muscle cells. *Mol Pharmacol* 2008:73;203-214.

143.Tamm M, Richards DH, Beghé B, Fabbri L. Inhaled corticosteroid and long-acting $ß_2$-agonist pharmacological profiles: effective asthma therapy in practice. *Respir Med* 2012:106;S9-S19.

144.Meeuwisse WH, McKenzie DC, Hopkins S, Road JD, Hopkins SR. The effect of salbutamol on performance in nonasthmatic athletes. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 24:1161.

145.Morton AR, Papalia SM, Fitch KD. Is salbutamol ergogenic? The effects of salbutamol on physical performance in the high-performance nonasthmatic athletes *Clin J Sport Med* 1992; 2:93.

146.Carlsen KH, Ingjer F, Thyness B, Kirkegaard H. The effect of inhaled salbutamol and salmeterol on lung function and endurance performance in healthy well-trained athletes. *Scand J Med Sci Sports* 1997; 7:160.

147.Heir T, Stemshaug H. Salbutamol and high-intensity treadmill running in nonasthmatic highly conditioned athletes. *Scand J Med Sci Sports* 1995; 5:231.

148.McFadden ERJr, Gilbert I.A. Exercise-induced asthma. *N Engl J Med* 1994; 330:1362-7.

149.Goodman LS, Gilman A (Eds). *The Pharmacological Basis of Therapeutics.* New York, The McGraw-Hill Companies, Inc., 9th ed., International Edition, 1996.

150.Brodde OE, Bruck H, Leineweber K. Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance. *J Pharmacol Sci* 2006; 100:323-37.

151.Cazzola M, Rogliani P, Calzetta L, et al. Bronchodilators in subjects with asthma-related comorbidities. *Respir Med* 2019; 151:43–48.

152.Gennari FJ. Current Concepts: Hypokalemia. *N Engl J Med* 1998; 339:451-8.

153.Bremner CD, Burgess C, Beasley R, et al. Nebulized fenoterol causes greater cardiovascular and hypokalaemic effects than equivalent bronchodilator doses of salbutamol in asthmatics. *Respir Med* 1992; 86:419-23.

154.Burgess CD, Flatt A, Siebers R, Crane J, Beasley R, Purdie G. A comparison of the extent and duration of hypokalaemia following three nebulized b 2 -adrenoceptor agonists. *Eur J Clin Pharmacol* 1989; 36:415-17.

155.Alamoudi OSB. Electrolyte disturbances in patients with chronic, stable asthma. *Chest* 2001; 120:431-6.

156.Gustafson T, Boman K, Rosenthal L, et al. Skeletal muscle magnesium and potassium in asthmatics treated with oral b 2 -agonistas. *Eur Respir J* 1996; 9:237-40.

157.Prince RL, Monk KJ, Kent GM, et al. Effects of theophylline and salbutamol on phosphate and calcium metabolism in normal subjects. *Miner Electrolyte Metab* 1988; 14:262-5.

158.Bos WJW, Postma DS, Doormaal JV. Magnesiuric and calciuric effects of terbutaline in man. *Clin Sci* 1988; 74:595-7.

159.Nicklas RA. Paradoxical brochospasm associated with the use of inhaled beta-agonists. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85:959-64.

160.McFadden ER Jr, Gilbert IA. Asthma. *N Engl J Med* 1992; 327:1928-37.

161.Weber RW, Smith JA, Nelson HS. Aerosolized terbutaline in asthmatics: development of subsensitivity with long-term administration. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:417-22.

162.Repsher LH, Anderson JA, Bush RK, et al. Assessment of tachyphylaxis following prolonged therapy of asthma with inhaled albuterol aerosol. *Chest* 1984; 85:34-8.

163.Spitzer WO, Suissa S, Ernst P, et al. The use of ß -agonists and the risk of death and near death from asthma. *N Engl J Med* 1992; 326:501.109.Lötvall J.Bronchodilators. *In* O'Byrne PM, Thomson NC. *Manual of Asthma Management.* London: W.B.Saunders, 2001:237-259.

164.Bellia V, Battaglia S, Matera MG, Cazzola M. The use of bronchodilators in the treatment of airway obstruction in elderly patients. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19: 311-319.

165.Gupta P, O'Mahony MS. Potential adverse effects of bronchodilators in the treatment of airways obstruction in

older people: recommendations for prescribing. *Drugs Aging* 2008; 25: 415-443.

166.Pfeifer MA, Weinberg CR, Cook D, et al. Differential changes of autonomic nervous system function with age in man. *Am J Med* 1983; 75: 249-258.

167.Lotvall L. Bronchodilators. *In*: O'Byrne PM, Thomson NC, *Manual of Asthma Management.* London. W.B. Saunders, 2001:237-259.

168.Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER, Yancey SW, Dorinsky PM.The Salmeterol Multicenter Asthma Research Trial: a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest* 2006;129(1):15-26.

169.Wechsler ME, Lehman E, Lazarus SC, Lemanske RF, Jr., Boushey HA, Deykin A, et al. ß-adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173(5):519-26.

170.Cazzola M, Rogliani P, Matera MG. The future of bronchodilation: lookinlg for new classes of bronchodilators. *Eur Respir Rev* 2019; 28 190095; DOI: 10.1183/16000617.0095-2019.

171.Matera MG, Page CP, Calzetta L, Rogliani P, Cazzola M. Pharmacology and therapeutics of bronchodilators revisited. *Pharmacol Rev* 2020; 72:218–252.

172.Cazzola M, Rogliani P, Matera MG. The Future o Bronchodilators in COPD and Asthma. *Archivos de bronconeumologia* 2022; 58:107-108.

173.Camoretti-Mercado B, Lockey RF. Bitter taste receptors in the treatment of asthma: Opportunities and challenges. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(4):776-779.

174.Yasuda Y, Wang L, Chitano P, Seow CY. Rho-Kinase Inhibition of Active Force and Passive Tension in Airway Smooth Muscle: A Strategy for Treating Airway Hyperresponsiveness in Asthma. *Biology* (Basel). 2024; 13:115.

175.Possa SS, Charafeddine HT, Righetti RF, da Silva PA, Almeida-Reis R, Saraiva-Romanholo BM, Perini A, Prado CM, Leick-Maldonado EA, Martins MA, Tibério Ide F. Rho-kinase inhibition attenuates airway responsiveness, inflammation, matrix remodeling, and oxidative stress activation induced by chronic inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012; 303:L939-52.

176.Berrino E, Supuran CT. Rho-kinase inhibitors in the management of glaucoma. *Expert Opin Ther Pat* 2019; 9:817-827.

177.Sharma P, Roy K. ROCK-2-selective targeting and its therapeutic outcomes. *Drug Discov Today* 2020; 25:446-455.

178.Defert O, Boland S. Rho kinase inhibitors: a patent review (2014 - 2016). *Expert Opin Ther Pat* 2017; 27:507-515.

179.O'Callaghan K, Kuliopulos A, Covic L. Turning receptors on and off with intracellular pepducins: new insights into G-protein-coupled receptor drug development. *J Biol Chem* 2012; 287:12787-96.

180.Panettieri RA, Pera T, Liggett SB, Benovic JL, Penn RB. Pepducins as a potential treatment strategy for asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2018; 40:120-125.

181.Wielders PL, Ludwig-Sengpiel A, Locantore N, Baggen S, Chan R, Riley JH. A new class of bronchodilator improves lung function in COPD: a trial with GSK961081. *Eur Respir J* 2013;42:972–981.

182.Bateman ED, Kornmann O, Ambery C, Norris V. Pharmacodynamics of GSK961081, a bi-functional molecule, in patients with COPD. Pulm Pharm Ther 2013;26:581–587.

183.Aiyar J, Steinfeld T, Pulido-Rios MT, Chin K, Lee TW, Jasper J, Thomas R, Hegde S, Mammen M. In vitro characterization of TD-5959: a novel bifunctional molecule with muscarinic antagonist and ß2-adrenergic agonist activity. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:A4552.

184.Pulido-Rios MT, McNamara A, Kwan K, Martin W, Thomas R, Mammen M, Hegde S. TD-5959: a novel bifunctional muscarinic antagonist-ß2-adrenergic agonist with potent and sustained in vivo bronchodilator activity in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:A6195.

185.Cazzola M, Molimard M. The scientific rationale for combining long-acting beta2-agonists and muscarinic antagonists in COPD. *Pulm Pharmacol Ther* 2010;23:257–267.

186.Jimenez L, Astbury C, Seoane B, et al. A randomized placebo controlled trial of navafenterol a novel dual acting bronchodilator in asthmatics. *Eur Respir J* 2017;50(Suppl. 61):PA1811.

187.Jude JA, Dainty I, Karmacharya N, Jester W, Panettieri R. The bronchoprotective effects of dual pharmacology, muscarinic receptor antagonist and ß2-adrenergic receptor agonist navafenterol in human small airways . *Cells* 2023; 12:240.

188.Aparici M, Carcasona C, Ramos I, Montero JL, Ortiz JL, Cortijo J, Puig C, Vilella D, Doe C, Gavaldà A, Miralpeix M. Pharmacological preclinical characterization of LAS190792, a novel inhaled bifunctional muscarinic receptor antagonist /ß2-adrenoceptor agonist (MABA) molecule. *Pulm Pharmacol Ther* 2017;46:1-10.

189.Carnini C, Cesari N, Rudolph K, Barrett E, Patacchini R, Civelli M, Villetti G, and Chand R (2017) Bronchoprotective activity and safety evaluation of the novel antimuscarinic/ß2-agonist (MABA) CHF6366 in dogs.

Eur Respir J 50 (Suppl 61):PA1804

190. Ora J, Coppola A, Cazzola M, Calzetta L, Rogliani P. Long-Acting Muscarinic Antagonists Under Investigational to Treat Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J Exp Pharmacol* 2020; 12:559-574.

191.Tattersfield, AE. – β-Agonists: mode of action and place in management. *In*: TJH Clark; S Godfrey. *Asthma*. London: Arnold; 2000:263-282.

192.Rau JL. Inhaled adrenergic bronchodilators: historical development and clinical application. *Respir Care* 2000; 45:854-63.