



Asma Brônquica

Novas Perspectivas no Tratamento da Asma

Avanços nos conhecimentos dos mecanismos imunológicos e na biologia molecular proporcionaram o aparecimento de potenciais novas formas de abordagem terapêutica que poderão prevenir ou reverter as anormalidades que caracterizam a inflamação crônica da asma assim como o remodelamento brônquico.

Genética

A asma é uma doença poligênica, e a descoberta de todos os genes relacionados à doença ainda está longe de acontecer. Existem dois fatores preponderantes na asma: o ambiental e o genético, cada um responsável por um risco de 50%. O fator genético está ligado às variações no DNA entre indivíduos. Estas variações quando são freqüentes (mais de 1% de freqüência do alelo mais raro) são chamadas polimorfismos (literalmente "muitas formas"). A base genética para esta variação pode ser a troca de bases no DNA, uma duplicação ou deleção de um ou vários pares de bases (pb). Estimativas atuais sugerem que variações de uma única base entre indivíduos (*single nucleotide polymorphisms*, ou SNPs) ocorrem na freqüência de 1 SNP a cada 1300 pb, ou seja, existem mais de 1.4 milhão de polimorfismos de substituição de uma única base em nosso genoma (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001) (1). Desta forma, um único gene pode conter 20 a 40 polimorfismos, os quais apenas uma pequena proporção apresentará alguma conseqüência na função do gene (2).

O efeito mais óbvio dos polimorfismos aparece quando eles alteram a codificação de seqüências protéicas e causam mutações. Entretanto, a maioria dos polimorfismos que causam as doenças comuns, como a asma, alteram a função do gene através de mecanismos mais sutis. Estes mecanismos podem afetar as seqüências *upstream* e a iniciação da transcrição do gene e seqüências intrônicas, as quais regulam ambas o *timing* e a expressão celular ou tecidual do gene assim como os fatores que regulam o "*splicing*".

Com a conclusão do projeto Genoma Humano, todos os 30.000 genes podem agora ser estudados e com os bancos de dados públicos disponíveis e os modernos métodos de genotipagem através da bioinformática, a descoberta de genes e a identificação de variações genéticas (polimorfismos) poderão identificar candidatos para os diferentes tipos de asma existentes, alvos para futura terapêutica genética, incluindo antisenso oligonucleotídeos respiráveis (RASONS) (3), interferência RNA (RNAi) (4), pequenas moléculas ou outras terapias.

Bloqueadores da Adesão Celular

O surgimento de drogas que regulem a adesão celular, o recrutamento e a migração de células inflamatórias são esperados a médio prazo, assim como o bloqueio seletivo de fatores quimiotáticos, através de antagonistas de seus receptores (5,6). Estudos em modelo de asma em animais (primatas) com o anticorpo monoclonal antimolécula de adesão leucocitária endotelial (ELAM) demonstraram redução tanto na migração de células inflamatórias para as vias aéreas como na hiper-responsividade brônquica (7).

Antagonistas de selectina por infusão ou inalação mostraram-se capazes de inibir a resposta precoce da asma em modelos animais (8). Inibidores de selectinas baseados na estrutura de sialyl-Lewis (particularmente L-selectina, a qual é expressa em granulócitos e linfócitos T) inibem o influxo de células inflamatórias em resposta a alérgenos em carneiros sensibilizados (9) e a adesão de eosinófilos *in vitro* (10).

O anticorpo monoclonal contra a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) nas células endoteliais previne a infiltração de eosinófilos nas vias aéreas e o aumento da responsividade brônquica após exposição a alérgenos em primatas sensibilizados (11), experimentação que não se repetiu em outras espécies (12).

A interação entre VLA4 e a molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1) é importante na inflamação eosinofílica. Pequenas moléculas peptídicas inibidoras de VLA4 foram desenvolvidas, inibindo respostas alérgeno-induzidas em carneiros sensibilizados (13) e agora estão sendo testadas em pacientes com asma.

A CD63, membro da família de proteínas tetraspanin tornou-se um alvo contra os mastócitos. A CD63 interfere com a sinalização das integrinas, localização ou tráfego e interage com as cadeias $\alpha 3$, $\alpha 4$ e $\alpha 6$ das $\beta 1$ integrinas, modificando a adesão celular dos mastócitos a fibronectina e vitronectina (85). Anticorpos monoclonais (mAB) anti-CD63 suprimem reações alérgicas IgE dependentes, inibindo a ativação mediada Fc ϵ RI dos mastócitos que são aderentes às proteínas da matrix extracelular porém não em células não-aderentes.

Inibição de Citocinas

Quanto às citocinas, estão sendo desenvolvidos estudos para a obtenção de drogas que neutralizem ou inibam aquelas implicadas na inflamação da asma, tais como as IL-4, 5, 9, 13 e o TNF- α . Por outro lado busca-se uma forma de aumentar o recrutamento de citocinas que possam ser utilizadas como drogas antiinflamatórias, como a IL-10 e a IL-12.

No que concerne ao bloqueio das citocinas, existem quatro possíveis estratégias em estudo:

Interrupção de síntese, o que poderá acontecer através de bloqueio dos fatores de transcrição que determinam a expressão de cada citocina ou interferir na síntese protéica, agindo diretamente sobre o seu mRNA.

Inibição da citocina quando ativada, através dos chamados anticorpos monoclonais.

Antagonismo de receptores ou a utilização de receptores solúveis, os quais se ligariam com alta afinidade à citocina, competindo com os receptores verdadeiros. A inibição dos receptores das citocinas não é uma tarefa fácil e está longe de acontecer, pois devido à complexidade dos mesmos torna-se muito difícil inibi-los com pequenas moléculas.

Interrupção dos sinais de transdução. Isto também ainda não é viável, pois os mecanismos de transdução são usualmente compartilhados por várias citocinas.

Estudos demonstram correlação entre as concentrações de IL-5 e o aumento da responsividade brônquica e conseqüente exacerbação da asma (14-16). A IL-5 é importante na estimulação da eosinofiloese, promovendo a diferenciação final dos precursores mielóides em eosinófilos. A IL-5 participa ainda no recrutamento, ativação, adesão e sobrevida dos eosinófilos (17,18). Uma das descobertas mais importantes em relação a IL-5 foi

a de que a supressão do gene da IL-5 no rato não comprometia sua sobrevivência, o que sugere que a inibição da IL-5 em humanos não estaria associada a maiores conseqüências. Ensaio promissores em animais apontam para a possibilidade da utilização também em humanos de anticorpos monoclonais anti-IL-5, que bloqueiam a migração de eosinófilos da medula óssea até os pulmões após testes de provocação (19-21). O anticorpo monoclonal anti-IL-5 (TRFK-5) reduz e/ou depleta a infiltração eosinofílica no tecido pulmonar e no lavado broncoalveolar após teste de provocação em porquinhos-da-índia (22), ratos (23) e em macacos com asma áscaris-induzida (24). Uma simples injeção de anticorpo TRFK-5 no rato e em macacos bloqueia a eosinofilia por mais de três meses (25).

O mepolizumab, um anticorpo monoclonal humanizado contra a IL-5 foi testado em pacientes com asma leve, sendo que uma simples dose de infusão intravenosa reduz a eosinofilia por mais de três meses, prevenindo o recrutamento de eosinófilos para as vias aéreas após teste de provocação alérgica (26). Todavia, este tratamento não apresenta efeito significativo nas respostas precoce e tardia da doença após o teste de provocação ou na hiper-responsividade brônquica basal, o que sinaliza que os eosinófilos podem não ter um papel tão importante nestas respostas em humanos.

De fato, um estudo clínico com um anticorpo anti-IL-5 em pacientes com asma moderada a severa não controlados com corticóides inalados confirmou a redução dos eosinófilos circulantes porém, não proporcionou nem melhora dos sintomas nem na função pulmonar (27). Em ambos os estudos, entretanto, altas doses de corticóides foram capazes de melhorar estes parâmetros. Uma alternativa seria a utilização de antagonistas não peptídicos do receptor da IL-5, que teriam a vantagem de permitir a administração por via oral. Encontra-se em fase de avaliação um inibidor seletivo deste receptor, o YM-90709 (28).

Outro alvo nas investigações é a IL-4, que modula o crescimento e a diferenciação dos mastócitos, regula a síntese de IgE pelos linfócitos B, estimula a produção de quimiocinas e a adesão de moléculas na membrana endotelial vascular (expressão VCAM-1), com influxo de células inflamatórias. Como estudos em animais demonstraram que anticorpos anti-IL-4 bloqueavam a hiper-responsividade das vias aéreas, partiu-se para o desenvolvimento de anticorpos IL-4 humanizados. Pesquisas mais adiantadas têm sido efetuadas com o receptor solúvel IL-4, o qual é aplicado sob a forma de nebulização, e que já demonstrou benefício em pacientes com asma moderada, prevenindo a queda dos parâmetros funcionais respiratórios após a suspensão do corticóide (58), sendo que uma simples sessão de inalação produz efeito por uma semana (29). A pitrakinra, uma proteína mutante que inibe a ligação IL-4 e IL-13 aos complexos IL-4R α , tem mostrado eficácia limitando a resposta antígeno-induzida e as respostas tardias da asma, quando utilizada por via subcutânea ou por inalação (86).

Fatores de transcrição que participam na sinalização da IL-4, tais como STAT-6 e c-maf, se constituem em mais uma opção para uma possível terapêutica molecular. Agentes que interferem com a função do Fc ϵ RI também são alvo de investigações, tais como os peptídeos que bloqueiam interações entre a IgE e o Fc ϵ RI-a ou inibidores de Syk (necessário para a sinalização intracelular direta Fc ϵ RI- α) (30).

A IL-9 e seus receptores estão com sua expressão aumentada na vias aéreas de pacientes com asma (70). O bloqueio desta citocina em um modelo de asma em murídeos (31) inibe a inflamação e a hiper-responsividade brônquica. Estratégias para o bloqueio da IL-9 incluem os anticorpos humanizados, que se encontram em fase de desenvolvimento (32). Dois estudos Fase I, utilizando IL-9 mAb específico (MEDI-528) em voluntários saudáveis foram efetuados sem maiores problemas. Estudos Fase II estão em curso para o tratamento de pacientes sintomáticos com asma persistente moderada a severa (87).

Trabalhos recentes em ratos avaliaram o papel da IL-13 na patogênese da asma alérgica crônica (33). O anti-IL13 suprimiu o recrutamento de eosinófilos e o acúmulo de células inflamatórias nas vias aéreas. Esta forma

de tratamento suprimiu parcialmente as mudanças de remodelamento brônquico, como a hiperplasia de células caliciformes/metaplasia e fibrose subepitelial, não inibindo, entretanto, a hiper-responsividade.

Em dois estudos controlados (34,35) efetuou-se o bloqueio seletivo da IL-13 através de uma nova proteína de fusão — IL-13 α 2-IgGFc — antes de provocação com ovoalbumina solúvel intratraqueal. O bloqueio da IL-13 resultou em reversão total do broncoespasmo e da hipersecreção. As pesquisas avaliam a possibilidade futura de utilização terapêutica em humanos (36). Anticorpos humanizados solúveis contra o receptor específico IL-13R α 2 estão em fase de testes clínicos como terapêutica na asma (36).

A expressão da IL-1 está aumentada nas vias aéreas de pacientes com asma (37) e ativa vários genes expressos nesta doença. Não existem ainda pequenas moléculas capazes de bloqueá-la, porém um antagonista endógeno do receptor da IL-1 (IL-1ra) (38) demonstrou reduzir a hiper-responsividade brônquica induzida por alérgenos em modelos animais. O antagonista sintético IL-1ra recombinante humano (anakinra (Kineret; Amgen)) não pareceu eficaz na asma, ao contrário de sua atuação na artrite reumatóide (39).

Citocinas como Drogas

A investigação de citocinas que suprimem a inflamação também evoluiu. A IL-10 inibe a liberação de várias citocinas inflamatórias por linfócitos T de murídeos. A maior fonte celular de IL-10 nas vias aéreas parece ser o macrófago. A IL-10 inibe a síntese de TNF- α , IL-1 b , GM-CSF, eotaxina RANTES, moléculas de adesão e enzimas inflamatórias como a iNOS e a Cox-2 (25), podendo ter, portanto, participação relevante no tratamento da asma, especialmente nos casos mais severos. A IL-10 inibe a produção de citocinas TH2, sendo um potente inibidor da IL-5. Vários estudos demonstram produção deficiente de IL-10 em asmáticos (40), sendo que seus níveis se correlacionam com a gravidade da doença. Os efeitos da IL-10 são parcialmente mediados via inibição do NF- κ B (41). A secreção de IL-10 pode ser restabelecida com tratamento tópico de corticóides e inibidores de fosfodiesterase-4. Estudos utilizando IL-10 recombinante antes do teste de provocação com alérgenos não produziram efeitos significativos nas respostas precoces e tardias. Outras pesquisas buscam aumentar a produção endógena da IL-10 ou ativar as vias dos sinais de transdução ativadas pelo receptor IL-10. No rato, drogas que elevam a AMPc aumentam a produção de IL-10 porém, o mesmo não foi provado ainda em células humanas (42). A administração de IL-10 a voluntários normais reduz o número de linfócitos T circulantes CD4+ e CD8+ com supressão da proliferação de células T mitogen-induzidas, reduzindo a produção de TNF α e IL-1 β (88). RhIL-10 tem sido sintetizada e sendo testada na artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal, psoríase, transplante de órgãos e hepatite "C" crônica porém, seu efeito na asma ainda carece de estudos mais aprofundados.

A utilização da IL-12 encontra-se em processo de avaliação, pois existe redução na expressão de IL-12 mRNA em biópsias brônquicas de pacientes com asma, quando comparado a normais, predispondo assim a síntese em excesso de IgE e da IL-5. A IL-12 é importante na diferenciação dos linfócitos T em células TH1. A IL-12 é primariamente sintetizada por monócitos, macrófagos e células dendríticas. Investigações recentes em modelos animais (murídeos) demonstraram que a IL-12 tem a capacidade de inibir a secreção inapropriada da síntese de IgE e a inflamação alérgica resultante da exposição a aeroalérgenos, favorecendo também o desenvolvimento de resposta TH1. Em ratos tratados com IL-12 durante sensibilização ativa, após teste de provocação, ocorreu redução nos eosinófilos do lavado broncoalveolar, inibição da síntese de IgE e abolição da hiper-responsividade brônquica (43). Estes resultados indicam que a IL-12 pode ter um papel na modulação da reação alérgica *in vivo*. Entretanto, o uso sistêmico da IL-12 em humanos foi acompanhado de sintomas *flu-like*, provas funcionais hepáticas alteradas e de arritmias cardíacas, merecendo maiores observações clínicas.

A IL-12 e IL-18 apresentam sinergismo na indução da liberação de IFN- γ , inibição da produção de IgE-IL-

4-dependente e na hiper-responsividade brônquica (44), não existindo, todavia, registros na literatura sobre estudos clínicos da IL-18 na asma.

O interferon (IFN- γ) inibe as células TH2 e teoricamente deveria reduzir a inflamação atópica pelo bloqueio da liberação de IL-4, 5 e 13. A administração de IFN- γ recombinante por nebulização em pacientes com asma não reduz de forma significativa a inflamação eosinofílica, possivelmente por não se obter concentrações locais elevadas da substância na mucosa brônquica (45). Todavia, a imunoterapia específica aumenta o IFN- γ através dos linfócitos T circulantes demonstrando efeito benéfico na asma (46). O IFN- γ é útil no tratamento de pacientes com asma severa que apresentam baixa resposta aos corticóides (47). Culturas *in vitro* de células epiteliais de vias aéreas de pacientes com asma infectadas com Rinovírus demonstram exacerbada citotoxicidade a replicação viral quando comparada a de normais. Isto é atribuído a produção deficiente de IFN- β induzida pelo TLR-3. Entretanto, estudos em curso demonstram que o IFN- β humano exógeno recombinante mostra-se capaz de restaurar a capacidade do epitélio brônquico de eliminar o Rinovírus e prevenir sua replicação (89,90). O IFN- β administrado por inalação está em fase de desenvolvimento para o tratamento das exacerbações severas da asma (91).

Quimocinas

Mais de 50 diferentes quimocinas são conhecidas e participam no recrutamento de células inflamatórias, através da ativação de mais de 20 receptores celulares de superfície (48). Novas estratégias para reduzir o número de eosinófilos incluem a inibição de algumas quimocinas (CC) que atraem e ativam células que tipicamente infiltram os locais onde ocorrem reações alérgicas. A inibição destas quimocinas bloqueia a inflamação eosinofílica *in vivo*. Por esta razão quimocinas como CCR1 (RANTES), eotaxinas, MCP-3, MCP-4 e o receptor CCR3 (receptor com o qual se ligam à eotaxina e outras quimocinas aos eosinófilos) tornaram-se foco de pesquisas em alguns laboratórios (49).

Anticorpos neutralizadores contra a eotaxina reduzem em ratos tanto o recrutamento de eosinófilos como a hiper-responsividade brônquica (50). Várias pequenas moléculas inibidoras da CCR3, incluindo UCB35625, SB-297006 e SB-328437 são efetivas na inibição do recrutamento de eosinófilos em modelos de alergia na asma e estão no momento em fase de ensaio na clínica (51).

A pequena molécula AMD3100 inibe em modelo de asma em murídeos, a inflamação alérgeno-induzida pela inibição da CXCR4, a qual é expressa seletivamente nas células TH2.

Inibidores de Quinases

Existe particular interesse na via p38 *mitogen-activated protein* (MAP) quinase que atua na expressão de várias proteínas inflamatórias relevantes na asma (52). A p38 MAP quinase é bloqueada por uma nova classe de drogas, a CSAIDs (*cytokine suppressant anti-inflammatory drugs*), que abrange a SB203580, SB239063 e RWJ67657. Estas drogas inibem a síntese de várias citocinas inflamatórias, quimocinas e enzimas, produzidas pelas células TH2, motivo pelo qual poderão ter participação no tratamento das doenças atópicas (53). Os inibidores da p38 MAP quinase agem reduzindo o tempo de sobrevivência do eosinófilo, interferindo em sua apoptose (54).

Várias proteínas tirosinoquinases estão relacionadas à inflamação alérgica, como a quinase Syk (p72^{syk}), essencial na sinalização nos mastócitos do receptor de alta afinidade para a IgE (Fc ϵ RI). Em ratos deficientes em syk, a degranulação está inibida, o que indica que esta possa ser um alvo importante para o desenvolvimento de drogas estabilizadoras de mastócitos (55). A Syk participa da sinalização antígeno receptor dos linfócitos B e T e

na sobrevivência de eosinófilos em resposta a IL-5 e ao GM-CSF (56). As tirosinocinasas SRC (SYK) - FYN e LYN são importantes na sinalização da reação *cross-linking* IgE FcεRI que culmina com a liberação de mediadores (92). Devido a seu papel sentinela, a inibição da SYK quinase que propaga a sinalização FcεRI representa um novo alvo nos mastócitos para interromper a ligação-ativação-secreção (93), tendo-se identificado um inibidor reversível da SYK quinase, a 2,4-diaminopirimidina (R 112) (94). A administração nasal da R 112 na rinite alérgica, seguida por provocação com pólen, foi capaz de inibir a obstrução nasal e rinorréia, bem como a supressão da geração de prostaglandina D2 pelos mastócitos.

Lyn, outra proteína tirosinoquinase, atua *upstream* ao Syk e sua quinase inibidora, PP1, inibe a inflamação e ativação de mastócitos (57). A Lyn participa da ativação dos eosinófilos e sinalização IL-5 (58,59) e um peptídeo bloqueador Lyn é capaz de inibir a inflamação eosinofílica em modelos de asma murédeos. Como Lyn e Syk estão amplamente distribuídos no sistema imune, a inibição seletiva pode ter repercussões sobre o organismo, cujas conseqüências ainda não foram completamente avaliadas.

Imunoterapia, Imunomodulação e Vacinas

Outras terapêuticas no campo da alergia podem ser assinaladas, dentre elas a imunoterapia utilizando determinantes antigênicos (epítomos) peptídicos das células T; as vacinas de ADN induzindo respostas fortes tipo TH1 e a utilização de vetores plasmídicos, contendo genes com seqüências de alérgenos, que quando injetadas experimentalmente em animais, antes ou após teste de provocação, inibem respostas mediadas via TH2, estimulando respostas TH1, suprimindo a resposta alérgica (60).

Motivos CpG são seqüências específicas de ADN-*like* contendo dinucleotídeos citosina-guanina que se constituem em potentes ativadores tanto de respostas imunológicas inatas como adquiridas. Estes motivos CpG são relativamente raros no ADN humano (metilados e não-funcionais) porém, são comumente encontradas no ADN de organismos infecciosos como as bactérias. O sistema imune humano desenvolveu-se para reconhecer moléculas CpG como um sinal precoce de infecção e iniciar pronta e vigorosa resposta imune contra patógenos ou outros organismos estranhos. Como resultado, produtos baseados no CpG proporcionam uma potente e natural resposta que causa ao organismo humano poucas reações adversas, freqüentemente vistas com outros agentes estimuladores do sistema imunológico. Motivos CpG ativam células do sistema imunológico (macrófagos, células NK) a sintetizarem citocinas como o IFN- γ e IL-12, que desenvolvem respostas imunes tipo TH1. Os motivos CpG não atuam diretamente nos linfócitos T porém agem de forma indireta pela indução de citocinas celulares inatas, as quais demonstram respostas imunes TH1.

A via de sinalização mediando o efeito intracelular do CpG ainda não é bem compreendida, porém a indução de MAP-quinases e NF- κ B por CpG tem sido demonstrada. A potencial aplicabilidade do CpG como forma de tratamento para doenças alérgicas e asma foi inicialmente demonstrada em estudos de Eyal Raz (61) que relatou a inibição de resposta IgE *in vivo* pela CpG. Estudos subseqüentes de outros grupos mostraram que o CpG inibe respostas TH2 e a hiper-responsividade brônquica em modelos de asma em ratos (62). Publicação de JN Kline, da Universidade de Iowa, apresentou resultados que confirmaram a eficácia da CpG quando administrada por via oral em modelo de asma no rato (63). Estudos prévios também em ratos evidenciaram que a CpG é efetiva na inibição da produção de citocinas TH2 e inibição da inflamação eosinofílica, quando administrada por via sistêmica ou através de mucosas (nasal e intratraqueal). A inibição da inflamação eosinofílica é mediada pela inibição da síntese de IL-5, sendo que a CpG não induz a apoptose do eosinófilo porém, inibe a sua geração na medula óssea.

Outra linha nas pesquisas avalia os efeitos de um anticorpo monoclonal anti-CD4, sobre os linfócitos T CD4+ do sangue periférico de pacientes com asma crônica, corticosteróide-dependente. A droga utilizada foi o Keliximab (IDEC CE9.1), anticorpo monoclonal (mAb) quimérico (64) da imunoglobulina (Ig)G1, que se

liga especificamente ao antígeno humano CD4. Um estudo randomizado duplo-cego, placebo-controlado, utilizando vinte e dois pacientes com asma crônica severa, dependentes de corticóide oral, avaliou a eficácia de uma simples dose por via endovenosa, de uma infusão efetuada em aproximadamente 2 h de keliximab ou placebo, tendo o grupo sido acompanhado por cerca de quatro semanas. Aumentos significantes nos valores do PFE pela manhã e à noite foram relatados com a dose mais elevada utilizada ($3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) (43,44). A ligação aos CD4+ foi rápida e efetiva, com uma redução transitória no número de células T CD4 circulantes, ocorrendo também modulação na expressão dos receptores CD4+. Anticorpos antiidiótipos não foram detectados após 28 dias da infusão (65).

Um grupo internacional (66-68) identificou recentemente o gene *T-bet*, que produz uma proteína que converte células CD4+ (mesmo aquelas já do subtipo TH2) em células TH1. O *T-bet* é um fator de transcrição que ativa o IFN- γ nos linfócitos TH1. Esta proteína foi encontrada em baixas concentrações nas vias aéreas de pacientes com asma. Para determinar se a baixa concentração da proteína *T-bet* leva a uma excessiva resposta TH2 e conseqüentemente a asma, este grupo criou um rato no qual o gene *T-bet* foi deletado. Estes ratos desenvolveram manifestações típicas funcionais e histológicas de asma como: importante broncoconstrição após inalação de metacolina, maior número de eosinófilos e linfócitos CD4+ do subtipo TH2, vias aéreas com espessa camada de colágeno, e mais células musculares (miofibroblastos), bem como aumento dos níveis de citocinas (IL-4, IL-5 e IL-13). No rato o gene *T-bet* está localizado no cromossomo 11, na região associada a susceptibilidade de asma tanto em humanos como em ratos. Segundo Laurie Glimcher (*Harvard School of Public Health and Harvard Medical School, Boston, MA, USA*) estes estudos mostram que a eliminação do gene *T-bet* no rato desencadeia a doença de forma "espontânea", assemelhando-se mais a asma humana do que os modelos que utilizam antígenos externos (69). Estes achados nos direcionam para uma nova vertente, sugerindo que um desequilíbrio entre as citocinas TH1 e TH2 possa significar a característica principal da patogênese da asma. Se o aumento da atividade do *T-bet* puder ser obtido, através do desenvolvimento de uma nova droga, poderemos dispor de uma nova abordagem terapêutica, devendo este novo medicamento agir, entretanto, de forma localizada, restrita aos pulmões.

Modificadores de Leucotrienos

A descoberta dos leucotrienos trouxe evidências inequívocas de sua participação na mediação da obstrução das vias aéreas induzidas por vários estímulos, contribuindo para a patogênese da asma. Os antileucotrienos atuais são antagonistas competitivos potentes e seletivos dos receptores CysLT₁, os quais medeiam a broncoconstrição, exsudação plasmática, e a secreção de muco. Algumas novas drogas já estão em vias de serem aprovadas para uso e uma nova geração de substâncias encontra-se em fase de avaliação, dentre elas o Bay u9773 com ação em dois tipos de receptores, o CysLT₁ e o CysLT₂, que poderá se tornar um importante alvo terapêutico. O receptor CysLT₂ está localizado principalmente nas veias pulmonares embora também seja expresso em células inflamatórias e no músculo brônquico, onde medeia algumas respostas como a proliferação de células musculares lisas das vias aéreas (70,71).

Corticóides

Restam os corticóides por inalação, que se mantêm como tratamento de ponta, sendo os mais eficazes da atualidade. As pesquisas continuam em busca da droga ideal, com tomada única diária, com alta potência tópica, rápido *clearance* quando absorvido, baixa biodisponibilidade sistêmica, alta afinidade com os receptores de corticóide e metabólitos praticamente inativos, atenuando-se, assim, os efeitos colaterais.

Um conceito novo independente da farmacocinética e farmacodinâmica é o do "corticóide dissociado". Sabe-se que o principal mecanismo de ação antiinflamatório dos corticóides ocorre por inibição dos efeitos pró-inflamatórios dos fatores de transcrição que são ativados por citocinas pró-inflamatórias através uma ação inibitória

de transrepressão sobre a acetilação das histonas e estimulação de sua des-acetilação (72). Por outro lado, os efeitos sistêmicos dos corticóides decorrem predominantemente através da ligação ADN, por transativação. Os novos corticóides, deverão atuar seletivamente transreprimindo genes pró-inflamatórios sem determinar a transativação de genes envolvidos nos efeitos metabólicos dos corticóides, geradores dos principais efeitos colaterais deste grupo de drogas.

Corticóides dissociados, como o RU24858 e RU40066 têm efeitos antiinflamatórios *in vitro* (73) embora apresentem pouca separação dos efeitos antiinflamatórios e efeitos sistêmicos *in vivo* (74). Entretanto, os novos corticosteroides dissociados estão agora em fase de desenvolvimento clínico e mostram uma boa separação entre a transrepressão e as atividades de transativação *in vivo*. A recente caracterização da estrutura cristal do receptor de corticóide deverá contribuir no projeto de obtenção de corticóides dissociados aperfeiçoados (75).

Broncodilatadores

Quanto aos broncodilatadores, novos β -agonistas de longa duração de ação em tomada única diária estarão brevemente à disposição. Buscam-se outras alternativas aos broncodilatadores β -agonistas e anticolinérgicos como:

As drogas que promovem a abertura dos canais de cálcio determinando efeito broncodilatador (76). Abridores seletivos de canais de K^+ (KCOs) têm sido desenvolvidos, principalmente os KCOs que abrem canais de K^+ + ATP-dependentes, como a levocromakalim, em fase de testes na asma (77). São broncodilatadores efetivos nas vias aéreas de humanos *in vitro*, sem ação *in vivo*, mesmo utilizando altas doses por via oral.

O peptídeo atrial natriurético, relaxa o músculo liso brônquico através do aumento da GMPc e desta forma, atua por uma via diferente dos β_2 -agonistas que incrementam a AMPc. O urodilatin (ularitide) é um efetivo broncodilatador na asma, podendo ser utilizado por via endovenosa nas exacerbações da doença, apresentando ação tão potente quanto o salbutamol (78,79).

O peptídeo vasoativo intestinal (VIP) é um potente relaxante do músculo brônquico *in vitro* porém, sua rápida degradação no epitélio brônquico o torna ineficaz como terapêutica (80). Um droga mais estável análoga ao VIP (Ro-25-1553) apresenta uma ação mais longa tanto *in vitro* como *in vivo*, sendo efetivo em pacientes com asma mesmo por inalação (81).

Novas opções de tratamento podem ser citadas, ainda em fase de testes, como os diuréticos furosemida, bumetanida e amilorida por inalação, com mecanismo de ação semelhante às cromonas (82), com efeitos, entretanto, indesejáveis sobre os rins; moléculas co-estimuladoras (83); terapia anti-CD23 (84); novos anti-histamínicos (JNJ7777120) atuando sobre receptores H_4 expressos em mastócitos, inibindo a ativação de mastócitos e quimiotaxia; antagonistas de prostaglandinas; inibidores de triptase; antagonistas da endotelina; antagonistas da adenosina; inibidores do óxido nítrico, etc.

Informações Médicas
Home

[Anterior << Omalizumabe](#)

[Próximo >> Tratamento das Exacerbações da Asma](#)

Bibliografia:

01. International Human Genome Sequencing Consortium 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860.
02. Cookson W, Moffatt M. Making sense of asthma genes. *N Engl J Med* 2004 351:1794.
03. Sandrasagra A et al. Discovery and development of respirable antisense therapeutics for asthma. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2002; 12:177.
04. Zhang X et al. Small interfering RNA targeting heme oxygenase-1 enhances ischemia-reperfusion-induced lung apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279:10677.
05. Wegner CD, Gundel RH, Reilly P, Haynes N, Letts LG, Rothlein R. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990; 247:456.
06. Jose PJ, Truong O, Hsuan JJ, Williams TJ. Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J Exp Med* 1994; 179:881.
07. Gundel RH, Wegner CD, Torcellini CA, Clarke CC, Haynes N, Rothlein R, Smith CW, Letts LG. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 mediates antigen-induced acute airway inflammation and late-phase airway obstruction in monkeys. *J Clin Invest* 1991; 88:1407.
08. Casale TB. – Future Perspectives on Asthma Treatment. In : Hugo E Neffen , Carlos E. Baena-Cagnani, Leonardo Fabri, Steven Holgate, Paul O'Byrne. *Asthma – A Link Between Environment, Immunology, and Airways* . Buenos Aires : Indugraf S.A. 1999:190-199.
09. Abraham WM et al. Selectin blockade prevents antigen-induced late bronchial responses and airway hyperresponsiveness in allergic sheep. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:1205.
10. Kim MK, Brandley BK, Anderson MB, Bochner BS> Antagonism of selectin-dependent adhesion of human eosinophils and neutrophils by glycomimetics and oligosaccharide compounds. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19:836.
11. Wegner CD et al. Intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990; 247:456.
12. Sun J et al. Contribution of intracellular adhesion molecule-1 in allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammation in sensitized Brown-Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 104:291.
13. Lin Kc et al. Selective, tight-binding inhibitors of integrin $\alpha 4\beta 1$ that inhibit allergic airway responses. *J Med Chem* 1999; 42:920.
14. Robinson DS, Ying S, Bentley AM, Meng Q, North J, Durham SR, Kay AB, Hamid Q. Relationships among numbers of bronchoalveolar lavage cells expressing messenger of nucleic acid for cytokines, asthma symptoms, and airway methacholine responsiveness in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92:397.
15. Ohnishi T, Kita H, Weiler D, Sur S, Sedgwick JB, Calhoun WJ, Busse WW, Abrams JS, Gleich GJ. IL-5 is the predominant eosinophil-active cytokine in the antigen-induced pulmonary late-phase reaction. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:901.
16. Motojima S, Akutsu I, Fukuda T, Makino S, Takatsu K. Clinical significance of measuring levels of sputum and serum ECP and serum IL-5 in bronchial asthma. *Allergy* 1993; 48:98.
17. Chutterbuck EJ, Hirst EMA, Sanderson CJ. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood* 1989; 73:1504.
18. Kroegel C, Virchow JC, Luttmann W, Walker C, , Warner JA. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (part I). *Eur Respir J* 1994; 7:519.
19. Kung TT, Stelts DM, Zurcher JA, Adams GK, Egan RW, Kreutner W, Watnik AS, Jones H, Chapman RW. Involvement of IL- 5 in a murine model of allergic pulmonary inflammation: prophylactic and therapeutic effect of an anti-IL-5 antibody . *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13:360.
20. Brusselle GG, Kips JC, Tavernier JH, vanDer Heyden JG, Cavelier CA, Pauwels RA, Bluethmann H. Attenuation of allergic airway inflammation in IL-4 deficient mice. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:73.
21. Murali DS, Kumar A, Choi H, Bansal NK, Fink JN, Kurup VP. Aspergillus fumigatus antigen induced eosinophilia in mice is abrogated by anti-IL-5 antibody. *J Leuk Biol* 1993; 53:264.

22. Mauser PJ, Pitman A, Witt A et al. Inhibitory effect of the TRFK-5 anti IL-5 antibody in a guinea-pig model asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1623.
23. Kung TT, Stelts D, Zurcher JA, et al. Involvement of IL-5 in a murine model of allergic pulmonary inflammation: Prophylactic and therapeutic effect of an anti-IL-5 antibody. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13:360.
24. Mauser PJ, Pitman AM, Fernandez X, et al. Effects of an antibody to interleukin-5 in a monkey model of asthma. *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 152:467.
25. Barnes JB, Rodger IW, Thomson NC. *Asthma - Basic Mechanisms and Clinical Management*. London, Academic Press, 3rd ed., 1998.
26. Leckie MJ et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hiperresponsiveness and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356:2144.
27. Kips JC et al. Effect of SCH55700, a human humanized anti-human interleukin-5 antibody, in severe persistent asthma: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1655.
28. Morokata T, Ida K, Yamada T. Characterization of YM-90709 as a novel antagonist which inhibits the binding of interleukin-5 to interleukin-5 receptor. *Int Immunopharmacol* 2002; 2:1693.
29. Borish LC et al. Efficacy of soluble IL-4 receptor for the treatment of adults with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:963.
30. Advances in immunology: Allergy and allergic diseases. *N Engl J Med* 2001; 344:109.
31. Cheng G et al. Anti-interleukin-9 antibody treatment inhibits airway inflammation and hiperresactivity in mouse asthma model. *Am J Crit Care Med* 2002; 166:409.
32. Zhou Y, McLane M, Levitt RC. Interleukin-9 as a therapeutic target for asthma. *Respir. Res* 2001; 2:80.
33. Kumar RK, Herbert C, Webb DC, Li L, Foster PS. Effects of anticytokine therapy in a mouse model of chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:1043.
34. Karp M et al. Interleukin-13: Central mediator of allergic asthma. *Science* 1998; 282:2258.
35. Grünig G et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 1998; 282:2261.
36. Wills-Karp M, Chiaramonte M. Interleukin-13 in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9:21.
37. Sousa AR, Lane SJ, Nakhosteen JA, Lee TH, Poston RN. Expression of interleukin-1B (IL-1B) and interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) on asthmatic bronchial epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1061.
38. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol* 1998; 16:27.
39. Rosenwasser LJ,. Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:344.
40. Borish L, Aarons A, Rumblyrt J et al. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1288.
41. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem* 1995; 270:9558.
42. Seldon PM, Giembycz MA. Supression of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor release from human monocytes by cyclic AMP-elevating drugs: role of interleukin 10. *Br J Pharmacol* 2001; 134:58.
43. Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax* 1999; 54:825.
44. Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11:483.
45. Boguniewicz M, Martin RJ, Martin D, Gibson U, Celniker A. The effects of nebulized recombinant interferon- γ in asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:133.

46. Benjaponpitak S et al. The kinetics of change in cytokine production by CD4 T cells during conventional allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:468.
47. Simon HU, Seelbach H, Ehmann R, Schmitz M. Clinical and immunological effects of low-dose IFN- γ treatment in patients with corticosteroid-resistant asthma. *Allergy* 2003; 58:1250.
48. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000; 18:217.
49. Heath H, Qin S, Rao P et al. Chemokine receptor usage by human eosinophils: the importance of CCR3 demonstrated using an antagonistic monoclonal antibody. *J Clin Invest* 1997; 99:178.
50. Gonzalo JA et al. Eosinophil recruitment to the lung in a murine model of allergic inflammation. The role of T cells chemokines, and adhesion receptors. *J Clin Invest* 1996; 98:2332.
51. Erin EM, Williams TJ, Barnes PJ, Hansel TT. Eotaxin receptor (CCR3) antagonism in asthma and allergic disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002; 1:201.
52. Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key diseases. *Nature Rev Drug Discov* 2003; 2:717.
53. Schafer PH, Wadsworth SA, Wang L, Sleekierka JJ. p38a Mitogen-activated protein kinase is activated by CD28-mediated signaling and is required for IL-4 production by human CD4+CD45RO+ T cells and Th2 effector cells. *J Immunol* 1999; 162:7110.
54. Kankaanranta H, Giembycz MA, Barnes PJ, Lindsay DA. SB2035580, an inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase, enhances constitutive apoptosis of cytokine-deprived human eosinophils. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290:621.
55. Costello PS et al. Critical role for the tyrosine kinase Syk in signalling through the high affinity IgE receptor of mast cells. *Oncogene* 1996; 13:2595.
56. Yousefi HU. Requirement of Lyn and Syk tyrosine kinases for the prevention of apoptosis by cytokines in human eosinophils. *J Exp Med* 1996; 183:1407.
57. Amoui M, Draber P, Draberova L. Src family-selective tyrosine kinase inhibitor, PP1, inhibits both Fc epsilonRI- and Thy-1-mediated activation of rat basophilic leukemia cells. *Eur J Immunol* 1997; 27:1881.
58. Lynch OT, Giembycz MA, Daniels I, Barnes PJ, Lindsay MA. Pleiotropic role of lyn kinase in leukotriene B₄-induced eosinophil activation. *Blood* 2000; 95:3541.
59. Adachi T, Stanford S, Sur S, Alam R. A novel Lyn-binding peptide inhibitor blocks eosinophil differentiation, survival, and airway eosinophilic inflammation. *J Immunol* 1999; 163:939.
60. Kay AB. Advances in immunology: Allergy and allergic diseases. *N Engl J Med* 2001; 344:109.
61. Raz E, Tighe H, Sato Y et al. Preferential induction of Th1 immune response and inhibition of specific IgE antibody formation by plasmid DNA immunization. *Proc Natl Acad Sciences* 1996; 93: 5141.
62. Saini SS, MacGlashan Jr DW, Sterbinsky AS et al. Downregulation of human basophil IgE and Fc epsilon RIa surface densities and mediator release by anti-IgE-infusions is reversible *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 1999; 162:5624.
63. Broide D, Schwarze J, Tighe H et al. Immunostimulatory DNA sequences inhibit IL-5, eosinophilic inflammation, and airway hyperresponsiveness in mice. *J Immunol* 1998; 161:7054.
64. Newman R, Alberts J, Anderson D et al. "Primatization" of recombinant antibodies for immunotherapy of human diseases: a macaque/human chimeric antibody against human CD4. *Biotechnology NY* 1992; 10:1455.
65. Kon OM, Sihra BS, Loh LC, Barkans J, Compton CH, Barnes NC, Larché M, Kay AB. The effects of an anti-CD4 monoclonal antibody, keliximab, on peripheral blood CD4+ T-cells in asthma. *Eur Respir J* 2001; 18:45.
66. Vogel G. Missing gene takes mice's breath away. *Science* 2002; 295:253.

67. Finotto S et al. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking *T-bet*. *Science* 2002; 295:336.
68. Szabo SJ et al. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN- γ production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295:338.
69. Venis S. Transcription factor shown to have a role in triggering asthma. *Lancet* 2002; 359:138.
70. Back, M. Functional characteristics of cysteinyl-leukotriene receptor subtypes. *Life Sci* 2002; 71:611.
71. Panettieri RA, Tan EM, Ciocca V, Luttmann MA, Leonard TB, Hay DW. Effects of LTD₄ on human airway smooth muscle cell proliferation, matrix expression, and contraction in vitro: differential sensitivity to cysteinyl leukotriene receptor antagonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 453.
72. Barnes PJ, Adcock IM. How do corticosteroids work in asthma? *Ann Intern Med* 2003; 139:359.
73. Vayssiere BM et al. Synthetic glucocorticoids that dissociate transactivation and AP-1 transrepression exhibit antiinflammatory activity *in vivo*. *Mol Endocrinol* 1997; 11:1245.
74. Belvisi MG et al. Therapeutic benefit of a dissociated glucocorticoid and the relevance of *in vitro* separation of transrepression from transactivation activity. *J Immunol* 2001; 166:1975.
75. Bledsoe RK, Montana VG, Stanley TB, Delves CJ, Apolito CJ, McKee DD, et al. Crystal structure of the glucocorticoid receptor ligand binding domain reveals a novel mode of receptor dimerization and coactivator recognition. *Cell* 2002; 110:93.
76. Black JL, Barnes PJ. Potassium channels and airway function: new therapeutic approaches. *Thorax* 1990; 45:213.
77. Kidney JC, Fuller RW, Worsdell Y-M, Lavender EA, Chung KF, Barnes PJ. Effect of an oral potassium channel activator BRL 38227 on airway function and responsiveness in asthmatic patients: comparison with oral salbutamol. *Thorax* 1993; 48:130.
78. Angus RM, Millar ES, Chalmers GW, Thomson NC. Effect of inhaled atrial natriuretic peptide and neutral endopeptidase inhibitor on histamine-induced bronchoconstriction. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:2003.
79. Fluge T, Forssmann WG, Kunkel G et al. Bronchodilation using combined urodilatin-albuterol administration in asthma. a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Med Res* 1999; 4:411.
80. Barnes PJ, Dixon CMS. The effect of inhaled vasoactive intestinal peptide on bronchial hyperreactivity in man. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130:162.
81. Linden A et al. Bronchodilatation by an inhaled VPAC2 receptor agonist in patients with stable asthma. *Thorax* 2003; 58:217.
82. Bianco S et al. Inhaled loop diuretics as potential new anti-asthmatic drugs. *Eur Resp J* 1993; 6:130.
83. Djukanovic R. The role of co-stimulation in airway inflammation. *Clin Exp Allergy* 2000; 30 (Suppl 1), 46.
84. Rosenwasser LJ, Busse WW, Lizambri RG, Olejnik TA, Totorits MC. Allergic asthma and an anti-CD23 mAb (IDEC-152): results of a phase I, single-dose, dose-escalating clinical trial. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:563.
85. Kraft S, Fleming T, Billingsley JM et al. Anti-CD63 antibodies suppress IgE-dependent allergic reactions in vitro and in vivo. *J Exp Med* 2005; 201:385-396.
86. Wenzel S, Wilbraham D, Fuller R et al. Effect of an interleukin-4 variant on late phase asthmatic response to allergen challenge in asthmatic patients: results of two phase 2a studies. *Lancet* 2007; 370:1422-1431.
87. Holgate ST. Novel targets of therapy in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2009; 15:63-71.
88. Chernoff AE, Granowitz EV, Shapiro L et al. A randomized, controlled trial of IL-10 in humans. Inhibition of inflammatory cytokine production and immune responses. *J Immunol* 1995; 154:5492-5499.
89. Wark PA, Johnston SL, et al. Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *J Exp Med* 2005; 201:937-947.

90.Cpntoli M, Message SD, Laz-Stanca V et al. Role of deficient type III interferon-lambda production in asthma exacerbations. *Nat Med* 2006; 12:1023-1026.

91.Holgate ST. Exacerbations: the asthma paradox. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:941-943.

92.Kraft S, Kinet JP. New developments in FcepsilonRI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol* 2007; 7:365-378.

93.Matsubara S, Li G, Takeda K, et al. Inhibition of spleen tyrosine kinase prevents mast cell activation and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:56-63.

94.Rossi ABB, Herlaar E, Braselmann S et al. Identification of Syk kinase inhibitor R 112 by a human mast cell screen. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:749-755.

Informações Médicas
Home

Design by Walter
Serralheiro

Anterior << Omalizumabe

Próximo >> Tratamento das Exacerbações da Asma