UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
ESPECIALIZAÇÃO *LATO SENSU* EM BIOLOGIA CELULAR E TECIDUAL

PATRICIA MACHADO

MECANISMOS ENVOLVIDOS NA CONTRAÇÃO DA MUSCULATURA LISA TRAQUEOBRÔNQUICA NA ASMA

CURITIBA
2012

PATRICIA MACHADO

MECANISMOS ENVOLVIDOS NA CONTRAÇÃO DA MUSCULATURA LISA TRAQUEOBRÔNQUICA NA ASMA

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de especialista ao curso de Pós Graduação *Latu Sensu* em Biologia Celular e Tecidual, área de concentração em Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.ª Drª Anita Nishiyama.

CURITIBA

2012

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para conclusão do mesmo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos Deuses ODIN e THOR, por me dar força todos os dias.

À minha mãe, Lourdes, que sempre me apoiou e incentivou todos esses anos de estudos, com paciência e compreensão nas minhas horas de estresse.

À professora Anita Nishiyama, que me aceitou de última hora como orientadora e teve muita paciência comigo, e me ajudou a realizar este trabalho.

À equipe do laboratório: Vanessa Rodrigues de Souza (Vane), Dalva Terezinha de Souza Zardo Miranda, Akemi, Bruna, Ana, Heloísa, que me incentivaram a executar este trabalho e me ensinaram as técnicas utilizadas no laboratório.

Aos Amigos do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas da UFPR, que sempre apoiaram os estudos.

Aos Amigos: Michele R.Z. Varasquim (Michevixe), Michele M. Okuma Rosner (Mi Japa do BSHC), Mariangela Borges (BSHC/HEMEPAR).

“A ignorância afirma ou nega veementemente: a ciência duvida.”
Voltaire

SUMÁRIO

1. Asma 13
2. Classificação da Asma 14
3. Patogenia da asma 15
4. O músculo liso 17
5. Sistema de contração do músculo liso 20
6. Regulação da contração pelos íons cálcio 22
7. Os potenciais de ação do músculo liso 23
8. Receptores muscarínicos no músculo liso 24
9. Inervação do músculo liso 24
10. Estruturas traqueobrônquicas normais. 25
11. Remodelamento traqueobrônquico na asma 27
12. Alterações do Músculo Liso na Asma 31
13. Os mastócitos nas reações de hiperreatividade 32
14. Inflamação: 32
15. Fator de Ativação Plaquetária no Músculo Liso 35
16. Histamina - Receptores Agonistas 36
17. Corticosteróides utilizados na asma 36
18. Receptores leucotrienos e a asma 37
19. Receptores - Beta 2 Adrenérgicos 38
20. Óxido nítrico no sistema respiratório 38
21. Termoplastia brônquica 39
22. CONCLUSÃO 40
23. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

([Ca2] i) - concentração de cálcio intracelular

5-HT - 5-hidroxitriptamina

Ach - acetilcolina

ADAM33 - Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 33

ADP - adenosina difosfato

AGEPC (acetil-gliceril-éter-fosforilcolina)

ASM músculo liso das vias aéreas

ATP - adenosina trifosfato

BCs - células basais

C3b – fragmento do complemento C3 principal produto da C3 convertase

Ca^{++} - íon cálcio

cAMP – adenosina monofosfato cíclico

Ca_v – cálcio voltagem

CCR3, CCR4 e CCR8

$CD4^+$ - proteína de superfície para o reconhecimento pelo receptor Linfócito T de peptideos antigênicos ligados a MHC de classe II.

cGMP – guanidina monofosfato cíclíco

CICR - canais iónicos sarcolemal

COX-2 - ciclooxigenase-2

CysLT - receptores de leucotrienos cisteínicos

DAG - diacilglicerol

DNA – "*deoxyribonucleic acid"* - ácido desoxirribonucleico

ECP - proteína catiônica eosinofilica

FcεRI – receptor de alta afinidade para IgE

FDA - Food and Drug Administration

HCM – metacolina

HR1 - receptor H1

ICS - corticosteróides inalados

IgE – Imunoglobulina E

IL- interleucina

iNANC - Inibidor do sistema não-adrenérgico não-colinérgico

InsP3 - inositol-1,4,5-trifosfato

K^+ - íon potássio

LOX-5 - lipooxigenase do tipo 5

LTB_4, LTC_4, e PGE_2 LTC_4 e a LTD_4

LTRA - receptores dos leucotrienos

M_1, M_3, M_5 M_2, M_4 – receptores muscarínicos da acetilcolina

MBP - proteína básica principal

MHC - Major Histocompatibility Complex – complexo de histocompatibilidade principal

MIP-1α - *Macrophage inflammatory protein 1 alpha*

MLB - músculo liso brônquico

MMPs - metaloproteinases

NA - neurocinina A

NANC - chamados sistemas não-adrenérgicos e não colinégicos (NANC).

NFκB – "*factor nuclear kappa B"* - fator de transcrição nuclear

NO - oxido nítrico

PAF – fator de ativação plaquetária

PDGF - fator de crescimento derivado de plaquetas

PG - prostaglandina

PGD2 - Prostaglandina D2

RANTES - *Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*

RYR - receptor rianodina

SCF *"stem cell fator*" – fator estimulante de colônias

SNA - sistema nervoso autônomo

SP - substância P

SR - retículo sarcoplasmático

SRS-A - substância de reação lenta da anafilaxia

TGF-β - Fator de transformação do crescimento beta

Th2 - linfócitos T *helper 2*

TNF-α - fator de necrose tecidual

TXA2 - tromboxano A2

VIP - peptídeo intestinal vasoativo

β_2 – beta 2

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

FIGURA 1. Estrutura esquemática do músculo liso:.....18
FIGURA 2. Filamentos grossos não helicoidais polares-laterais.....19
FIGURA 3. Modelo sugestivo de contração da célula muscular lisa.....20
FIGURA 4. Fotomicrografia de um corte de traquéia.....26
FIGURA 5. Esquema ilustrativo mostrando o fechamento da luz brônquica.....30
FIGURA 6. Desenho esquemático da resposta inflamatória.....33
TABELA 1. Estímulos utilizados para avaliar hiperresponsividade.....15
TABELA 2. Mediadores da Concentração do Músculo Liso das vias aéreas.....22

RESUMO

A asma é caracterizada como uma doença inflamatória crônica de vias aéreas que são hiperresponsivas a diferentes alergenos. Agentes físicos como ar frio, ar quente, exercícios físicos, e agentes alergenos como pólen podem causar a constrição brônquica em asmáticos. Dentre os componentes celulares dos processos inflamatórios temos: mastócitos ativados, macrófago alveolar, eosinófilos e os linfócitos Th2. O remodelamento brônquico na asma é caracterizado por descamação e metaplasia das células do epitélio, aumento da massa muscular lisa traqueobrônquica, aumento das glândulas submucosas, espessamento da camada subepitelial e alterações da matriz extracelular. O processo de contração do músculo liso é ativado pelo íon cálcio e a combinação entre cálcio e calmodulina ativa a miosina quinase a qual fosforila as cadeias leves de miosina, que fixa os filamentos de actina e realiza a contração muscular. Os receptores mais importantes que participam dos processos de contração são os adrenérgicos beta 2, muscarínicos M3, acetilcolina (Ach), histamina, leucotrienos, prostaglandinas. A ativação destes receptores promove a liberação de cálcio iônico e permitir o deslizamento dos filamentos de miosina com os de actina, contraindo o músculo liso.

Palavras-chave: Contração do Músculo liso, asma, inflamação.

ABSTRACT

Asthma is characterized as a chronic inflammatory disease of the airways that are hyperresponsive to different allergens. Physical agents such as cold air, hot air, exercise, and agents such as pollen allergens can cause asthma bronchial contrition. Among the cellular components of the inflammatory processes are: activated mast cells, alveolar macrophages, eosinophils and Th2 lymphocytes, specific allergen stimulates the formation of IgE. Bronchial asthma remodeling is characterized by scaling and cell metaplasia of the epithelium, increased bronchial smooth muscle mass, an increase in the submucosal glands, subepithelial layer thickness and changes the extracellular matrix. The process of smooth muscle contraction is activated by calcium ion and ATP to ADP is degraded in the power supply. The combination of calcium and calmodulin, this combination activates myosin kinase that phosphorylates myosin light chains, fixing actin filaments and makes muscle contraction. The most important receptors that participate in contraction are the beta-adrenergic 2, M3 muscarinic, acetylcholine (Ach), histamine, leukotrienes, prostaglandins that promote release of calcium ion and allow the sliding of myosin filaments with actin, contracting smooth muscle.

Keywords: Asthma, contraction smooth muscle,

INTRODUÇÃO

A asma afeta cerca de 300 milhões de pessoas no mundo, sendo uma doença das vias respiratórias, caracterizada pela hipersensibilidade da árvore traqueobrônquica a vários estímulos. Caracteriza-se por paroxismo de dispnéia, tosse e sibilo que ocorrem em associação com as contrações espasmódicas do músculo liso nos brônquios. Vários estudos mostram que a hipertrofia e hiperplasia do músculo liso é um fator chave na patogenia da asma. O músculo liso é remodelado alterando a contração na doença asmática que pode ser muitas vezes fatal. Também podemos citar a importância do músculo liso traqueobrônquico como uma importante fonte de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. O objetivo geral deste trabalho é estudar os mecanismos envolvidos na contração do músculo liso traqueobrônquico, seus efeitos agonistas, antagonistas que modificam a contração. A justificativa de estudo é alto índice de internação de pessoas por asma, doença crônica que pode ser controlada por medicações e dieta e acompanhamento médico.

1. Asma

A asma é uma das doenças mais comuns que afeta crianças e adultos e é responsável por até 300 milhões de casos em todo o mundo (DOTTORINI et al. 2011). Estudos epidemiológicos têm relatado diferenças na prevalência de asma entre os países (KIM et al. 2011). No Brasil, ocorrem anualmente cerca de 350.000 internações por asma, constituindo-se na quarta causa de hospitalizações pelo Sistema Único de Saúde (DALCIN, 2011).

A asma é definida como uma doença inflamatória crônica de vias aéreas que são hiperresponsivas a diferentes alergenos, podendo levar a episódios recorrentes de sibilos, dispnéia, dor torácica e tosse, particularmente à noite e pela manhã (GINA, 2010). Os pacientes sofrem paroxismo de constrição brônquica e aumento da produção de muco espesso, que induz obstrução brônquica e exacerba as dificuldades respiratórias (ABBAS, 2003).

Em indivíduos suscetíveis, o início da sensibilidade alérgica ocorre nas superfícies mucosas onde alergenos ambientais reconhecem o epitélio da mucosa. A interação de inalação do(s) alergeno (s) com sensibilização das células do sistema imunológico nas vias aéreas resulta em asma alérgica. Dermatite tópica, rinite alérgica e asma, que constituem condições atípicas, ocorrem em indivíduos com acentuado aumento dos níveis de anticorpos IgE (MUKHERJEE, 2011).

A alteração mais marcante, e onde as repercussões funcionais são mais claramente observadas, é no músculo liso brônquico (MAUAD, 2008). Histologicamente, as alterações mais características e significativas são descamação epitelial, espessamento da membrana basal, edema da submucosa, infiltração de linfócitos e de eosinófilos, hipertrofia do músculo liso e grande quantidade de secreção na luz brônquica (MAUAD, 2000).

2. Classificação da Asma

Alérgica (extrínseca):

Atualmente, é reconhecido que asma alérgica é uma doença complexa que resulta das interações entre vários fatores genéticos e ambientais (HOLLOWAY, 2010). Existe uma resposta imune direcionada aos alérgenos ambientais. De uma maneira geral, a maior parte dos alérgenos são antígenos de natureza protéica, relativamente pequena e muito solúvel. Quando em contato com as mucosas, o alérgeno difunde-se através do epitélio e é capturado por células dendríticas que migram para os linfonodos, onde irão apresentar os antígenos para os linfócitos T. As células dendríticas, bem como as demais células apresentadoras de antígenos, apresentam peptídeos presentes nos alergenos complexados às moléculas de MHC (do inglês, *Major Histocompatibility Complex* – MHC) de classe II aos linfócitos T $CD4^+$ *naive* 0 (Th0) específicos que, devido ao microambiente, se diferenciam em linfócitos T $CD4^+$ Th2. Estes linfócitos Th2 ativados secretam preferencialmente citocinas tipo 2 que são principais responsáveis pela reação inflamatória característica da asma extrínseca alérgica (CASTRO, 2010).

Idiossincrásica – não alérgica (intrínseca):

Outros desencadeantes, que não os imunológicos, podem ser citados como os contatos com estímulos ambientais, como o frio, exercício físico, poluição, soluções hipotônicas ou hipertônicas, hiperventilação, infecções virais ou bacterianas ou até mesmo fatores emocionais. (PAVANELLI et al, 2011).

A hiperresponsividade das vias aéreas (AHR) geralmente é descrita como inespecífica ou específica (tabela 1) AHR não específica é uma característica comum de asma, embora também seja encontrada em alguns pacientes sofrendo de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) ou rinites alérgicas. Os estímulos que induzem a AHR inespecífica podem ser diretos ou indiretos (tabela 1). (OZIER, 2011).

ARH	Mecanismo	Tipos	Estímulos
Não específica	Direto	Farmacológico	Metacolina Histamina
Não específica	Indireta	Físico	Exercícios Ar Frio/ Ar Seco Hiperventilação eucapnia Solução hipo-osmolar (hipotônica)
Não específica	Indireta	Químico	Adenosina monofosfato Manitol
Especifico	Indireta	Alergenos	Polens, Ácaros

Tabela 1: Os estímulos utilizados para avaliar hiperresponsividade das vias aéreas (AHR) in vivo. Fonte: (OZIER, 2011)

3. Patogenia da asma

Segundo Pierre d´Almeida (2008), o componente principal da asma brônquica é a limitação ao fluxo aéreo, que ocorre em decorrência de três fatores:

1) Vaso dilatação e congestão dos vasos brônquicos e consequente edema. Infiltração de células inflamatórias nos brônquios, principalmente por eosinófilos, linfócitos, mastócitos e macrófagos, com espessamento da membrana basal reticular do epitélio brônquico.

2) Hipersecreção mucosa, hipertrofia das glândulas mucosas, aumento das células caliciformes, com aumento de secreção intraluminal, e obstrução das vias aéreas por "rolhas" de muco.

3) Contração e encurtamento da musculatura lisa que envolve a via aérea, com aumento da massa muscular, hipertrofia e hiperplasia muscular.

A contração da musculatura lisa brônquica é o principal fator responsável pela obstrução de vias aéreas. Quando ocorre a interação entre o alérgeno e a IgE presente nos mastócitos há liberação de histamina, prostaglandina (PG) D2, e leucotrienos, sendo que estes últimos parecem ser os principais mediadores responsáveis pelas alterações encontradas na resposta imediata (GINA, 2008).

A inflamação das vias aéreas na asma é um processo multicelular envolvendo principalmente eosinófilos, neutrófilos, linfócitos T $CD4^+$ e mastócitos, com infiltração eosinofílica (KAY, 2005).

Na fase imediata, é na resposta inicial aos estímulos irritantes que atuam os receptores de fibras sensoriais (colinérgicas) presentes no músculo liso das vias aéreas, glândulas produtoras de muco e brônquios. Os estímulos, que provocam a tosse, bronco constrição e aumento de produção de muco, estão relacionados com infecções respiratórias e agentes exógenos, como poluentes, fumaça de cigarro, alérgenos e ar frio (CORRÊA, 2008; RANG et al. 2004). Nesta fase a resposta inicial à provocação pelo alérgeno, ocorre bruscamente, sendo devida principalmente ao *espasmo do músculo liso brônquico*. As interações do alérgeno com IgE fixada aos mastócitos liberam histamina; todavia, a histamina não é o único nem sequer o principal espasmógeno - sabe-se, na atualidade, que a LTC_4 e a LTD_4 são mais importantes, podendo haver também participação de outros mediadores (p. ex., PDG_2, neurocinina A). Várias quimiotaxinas (LTB_4) e quimiocinas atraem os leucócitos, os eosinófilos e células mononucleares para área afetada, preparando para fase tardia (RANG, 2004).

A fase tardia da asma é caracterizada pela migração de células inflamatórias, principalmente eosinófilos, para o tecido pulmonar, sendo que o dano tecidual, hiper-reatividade brônquica e produção de muco são outros atributos dessa fase. A produção de citocinas pelas células linfócitos T $CD4^+$ tem influencia direta no perfil inflamatório. O micro-ambiente formado com o início da fase tardia através da produção de citocinas do tipo 2, quimiocinas (eotaxina, RANTES, MIP-1α, e outras), moléculas de adesão e seus receptores (como VLA-1, VLA-4, α4β7, ICAM-1, VCAM-1), mediadores lipídicos (principalmente PAF, LTB_4, LTC_4, e PGE_2), e diversas substâncias secretadas por eosinófilos, tais como a proteína básica principal (MBP), proteína catiônica eosinofilica (ECP), ânion superóxido e o PAF, contribuem para o quadro asmático (FAUSTINO, 2010). A perda do epitélio significa que os receptores irritantes e as fibras C são mais acessíveis a estímulos irritantes; acredita-se que isto constitua a base da hiper-reatividade. Outros fatores que foram considerados supostos mediadores do processo inflamatório na fase tardia incluem a adenosina (que atuam no receptor A_1), o oxido nítrico induzido e os neuropeptídios (RANG, 2004).

Os fatores de crescimento liberados pelas células inflamatórias atuam sobre as células musculares lisas, causando hipertrofia e hiperplasia, e o próprio músculo liso pode liberar mediadores inflamatórios e fatores de crescimento autócrinos (RANG, 2004).

4. O músculo liso

O músculo liso é formado por associação de células longas, mais espessas no centro e afilando-se nas extremidades (fusiforme), com núcleo único e central. O tamanho da célula pode variar entre 20 µm a 500µm. As células musculares lisas são revestidas por lâmina basal e mantidas juntas por uma rede muito delicada de fibras reticulares. Essas fibras amarram as células umas as outras, de tal maneira que a contração simultânea de apenas algumas células ou de muitas células se transforme da contração do músculo inteiro (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

As células musculares lisas são interligadas por junções de comunicação especializadas. Moléculas pequenas ou íons podem passar de uma célula para outra por essas junções e proporcionar elos de comunicação que regulam a contração de todo feixe ou folheto de músculo liso (ROSS & PAWLINA, 2008).

O citoplasma perinuclear contém mitocôndrias, ribossomos, reticulo endoplasmático rugoso, um aparelho de Golgi, e uma rede de filamentos espessos de **miosina**, filamentos delgados de **actina** e filamentos intermediários constituídos de desmina e vimentina (KIERSZEMBRUM, 2007). O processo contrátil é ativado pelos íons cálcio e a adenosina trifosfato (ATP) é degradada a adenosina difosfato (ADP) para o fornecimento de energia para a contração. O músculo liso não apresenta a disposição estriada dos filamentos de actina e de miosina encontrada nos músculos esqueléticos e cardíacos. Durante muito tempo foi impossível identificar, mesmo em microfotografias eletrônicas, qualquer organização específica na célula muscular lisa que pudesse explicar sua contração. Existe grande número de filamentos de actina presos aos chamados **corpos densos**. *(Figura: 1)(*GUYTON, 2006).

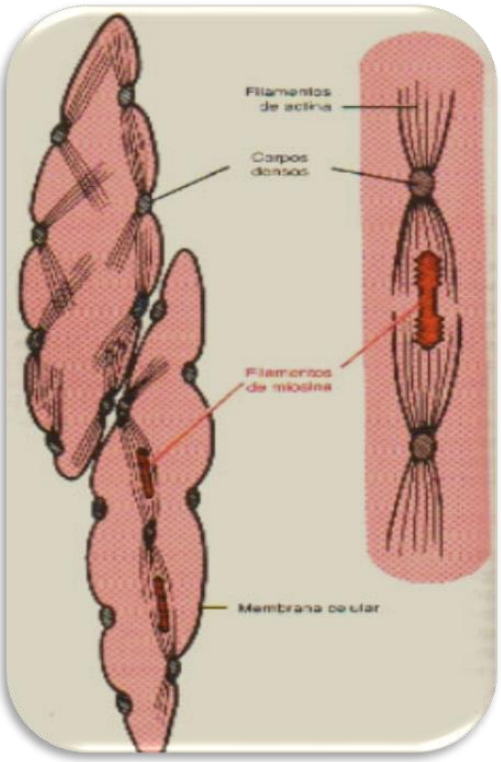

Figura - 1: Estrutura esquemática do músculo liso: visualizamos as fibras de actina e miosina e corpos denso. Fonte: (GUYTON, 2006)

A função do armazenamento de cálcio no reticulo sarcoplasmático é suplementada por pequenas vesículas que se agrupam perto da membrana celular denominada **cavéolas** (SILVERTHORN, 2003).

Filamentos finos contendo actina, a isoforma da tropomiosina e duas proteínas especificas do músculo liso, **caldesmona** e **calponina** são proteínas de ligação da actina que bloqueiam o local de ligação da miosina, são dependentes de Ca^{++} e controladas pela fosforilação das cabeças de miosínicas no músculo liso. (ROSS & PAWLINA, 2008).

Filamentos grossos contendo **miosina II,** constituídos de 2 cadeias polipeptídicas pesadas e de quatro cadeias leves, estão orientadas numa direção de um lado do filamento e na direção oposta do outro lado do filamento. Neste arranjo as moléculas de miosina estão escalonadas paralelamente entre dois vizinhos imediatos e também estão ligadas de maneira antiparalela, por uma curta superposição, à própria extremidade de sua cauda. *(Figura: 2)*

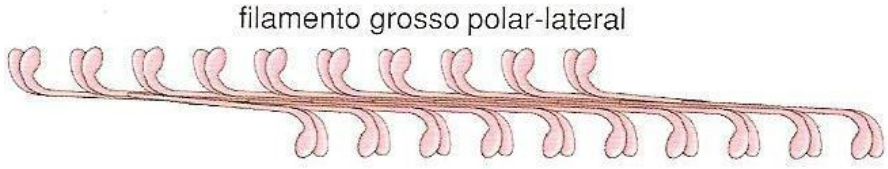

Figura - 2: Filamentos grossos não helicoidais polares-laterais presente no músculo liso. (ROSS & PAWLINA, 2008).

Esse filamento de miosina polar-lateral aumenta ao máximo a interação entre filamentos grossos e finos, possibilitando aos filamentos finos superpostos ser puxados por toda a extensão dos filamentos grossos (ROSS & PAWLINA, 2008).

A cinase (quinase) das cadeias leves miosínicas (MLCK), a α-actinina e a calmodulina são outras proteínas musculares lisas associadas ao aparelho contrátil. Um complexo de Ca^{++} - Calmodulina se liga a MLCK para ativar essa enzima. *(Figura: 3)* Ele pode também, juntamente com a caldesmona, regular sua fosforilação e sua liberação a partir de actina F. (ROSS & PAWLINA, 2008).

Invaginações da membrana plasmáticas, chamadas de **cavéolas**, funcionam como um sistema de túbulo T primitivo, transmitindo os sinais de despolarização ao retículo sarcoplasmático pouco desenvolvido. As células musculares lisas estão unidas entre si por junções comunicantes que, por sua vez, permitem a contração sincrônica do músculo liso (KIERSZEMBRUM, 2007).

Alguns desses corpos densos estão fixados à membrana celular. Outros ocorrem dispersos no interior da célula e são mantidos em seus lugares por malha de proteínas estruturais que os interconecta. Alguns dos corpos densos fixados à membrana de células adjacentes estão interligados por pontes de proteínas intracelulares, É principalmente por meio dessas interligações que a força da contração é transmitida de uma célula para a seguinte. (GUYTON, 2006)

Por longos anos, acreditou-se que as células musculares lisas se desenvolviam como os músculos esqueléticos, e perdiam a capacidade de sofrer mitose. Não somente as fibras musculares lisas duplicam-se, mas se proliferam (SILVERTHORN, 2003).

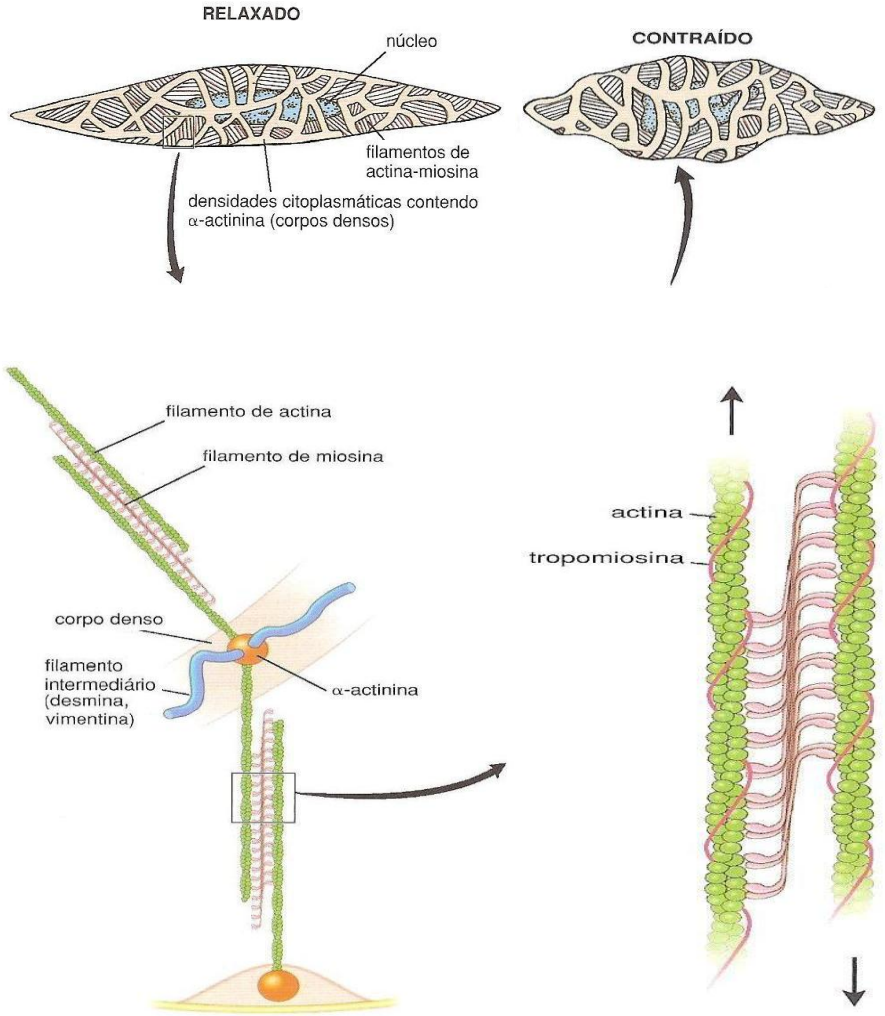

Figura - 3: Modelo sugestivo de contração da célula muscular lisa. Os feixes de miofilamento contendo filamentos finos e grossos estão ancorados em corpos densos. Essas densidades estão ancoradas no sarcolema. Elas contêm proteína de ligação de actina α-actinina. (ROSS & PAWLINA, 2008).

5. Sistema de contração do músculo liso

No músculo liso, a duração dos ciclos lentos das pontes cruzadas (a fixação da actina e em seguida seu desligamento dessas actina, e nova fixação para outro ciclo) é muito maior no músculo liso que no músculo esquelético; é o principal fator determinante da força de contração. Uma razão possível para esses lentos ciclos é a de que as cabeças de miosina conteriam menos atividade de ATPase que no

músculo esquelético, de modo que a degradação do ATP, energizadora dos movimentos das cabeças, ficaria muito reduzida, com diminuição correspondente da frequência dos ciclos. Apesar do número relativamente pequeno de filamentos de miosina no músculo liso e da duração prolongada dos ciclos das pontes cruzadas, a força máxima de contração que pode ser desenvolvida pelo músculo liso é, muitas vezes, bem maior que a do músculo esquelético (GUYTON, 2006).

A importância do mecanismo de “tranca” é a de que ele permite a manutenção de contração tônica prolongada, no músculo liso, por horas e horas, com consumo mínimo de energia. Por outro lado, quase nenhum sinal excitatorio, de fontes neurais ou hormonais, é necessário. A causa do fenômeno de “tranca” é, fora de qualquer dúvida, relacionada ao prolongado período de fixação das pontes cruzadas de miosina aos filamentos de actina. Entretanto, desconhece-se por que esse mecanismo é mais evidente em certos tipos de músculo liso que em outros, bem como por que sua intensidade pode variar. (GUYTON, 2006)

Quando a miosina quinase e a miosina fosfatase são muito intensamente ativadas, a frequência dos ciclos das cabeças de miosina fica muito aumentada, e também aumenta a velocidade da contração. Em seguida, à medida que a ativação das enzimas declina, a frequência dos ciclos diminui, mas, ao mesmo tempo, a menor ativação também faz com que as cabeças de miosina fiquem fixadas aos filamentos de actina por proporção crescentemente maior da duração do ciclo. Por conseguinte, o número de cabeças fixadas ao filamento de actina, em determinado instante, permanece muito grande. Visto que é o número de cabeças fixadas à actina o determinante da força de contração, a tensão é mantida, ou "trancada"; contudo, muito pouca energia é usada, porque o ATP não é degradado a ADP, exceto nas raras ocasiões em que uma cabeça é desligada. (GUYTON, 2006).

A contração do músculo liso das vias aéreas (ASM) pode ser induzida por uma variedade de mensageiros extracelulares, que atuam através da interação com receptores específicos no local da membrana plasmática da ASM (Tabela 2). Estes agonistas contráteis, requer mediadores inflamatórios ou neurotransmissores, que são libertados em concentrações elevadas nos brônquios principalmente em relação aos mediadores dos mastócitos.(OZIER, 2011)

Tipos de mediadores	Ação	Estimulo
Inflamatório	Contração	Histamina Triptase Prostanóides (PGF2α, PGD2, TXA2) Cisteinil-leucotrienos (LTC4, LTD4, LTE4) Endotelina
Neurotransmissores	Contração	Acetilcolina Neuroquinina A Substancia P Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP)
Inflamatório	Relaxamento	Prostanóides (PGE2, PG12)
Neurotransmissores	Relaxamento	Adrenalina Noradrenalina Peptídeo intestinal vasoactivo (VIP)

Tabela 2: Mediadores de Contração e Relaxamento do Músculo Liso das vias aéreas. Fonte: (OZIER, 2011)

6. Regulação da contração pelos íons cálcio

Como a musculatura lisa não possui a troponina, proteína reguladora presente no músculo esquelético, que é ativada pelos íons Ca^{++} para promover a contração muscular, a contração da musculatura lisa ocorre devido à combinação entre o cálcio e a calmodulina. Essa combinação ativa uma enzima fosforilativa, a miosina quinase, que tem a função de fosforilar as cadeias leves da miosina, adquirindo a capacidade de se fixar ao filamento de actina e realizar a contração muscular. Dessa forma, a diminuição da concentração de Ca^{++} impediria a combinação cálcio/calmodulina, gerando um relaxamento da musculatura lisa vascular e a conseqüente vaso dilatação (WEBB, 2003).

A contração das células musculares lisas das vias aéreas resulta em um estreitamento das paredes da árvore traqueobrônquica associada com doença pulmonar obstrutiva, como a asma. Nas células do músculo liso das vias aéreas, a mudança na concentração citosólica de cálcio iônico é o principal sinal de regulação

da função contrátil; o aumento de cálcio iônico ativa a cadeia leve de miosina quinase que, por sua vez, fosforila a miosina, estimulando o ciclo contração das pontes cruzadas. (WANG, 2010).

Foi estabelecido que a contração de células musculares lisas normalmente requer um aumento na concentração de cálcio intracelular ([Ca^{++}] i), e isso tem sido observado que ocorre uma série de oscilações de íons de Ca^{2} nas células do músculo liso das vias aéreas de muitas espécies (DAI, 2007).

Essas alterações do [Ca^{++}] i não são simplesmente aumentadas, e sim ocorre por ondas oscilatórias. Estas ondas oscilatórias de cálcio iônico das células da musculatura lisa das vias aéreas são observadas em diferentes espécies e em preparações de células e são geralmente iniciadas por agonistas contráteis como a acetilcolina (ACh), metacolina (HCM), ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) (WANG, 2010).

A liberação de cálcio iônico pelo retículo sarcoplasmático (SR) é através do receptor rianodina (RYRs) e ocorre em duas formas de destaque no músculo liso: (a) evento espontâneo do SR para a liberação ou Ca^{++} em potenciais de pontas (*spikes*), e (b) Ca^{++} que é lançado acionado pelo influxo de Ca^{++} através de canais iônicos sarcolemal (CICR). O último processo tem sido demonstrado que ocorrem em algumas células da musculatura lisa por meio de processos que são geralmente semelhantes aos do músculo cardíaco, mas que os atributos são distintos (JI, 2006).

7. Os potenciais de ação do músculo liso

Os potenciais de ação do músculo liso visceral ocorrem sob duas formas: (1) potenciais em ponta [spikes] e (2) potenciais de ação com platôs. Potenciais de ação em ponta típicos, semelhantes aos registrados no músculo esquelético, ocorrem na maioria dos tipos de músculo liso de uma só unidade. A duração desse tipo de potencial de ação é de cerca de 10 a 50 ms. Tais potenciais de ação podem ser induzidos por muitos modos, como, por exemplo, por estimulação elétrica, pela ação de hormônios sobre o músculo liso, pela ação de substâncias transmissoras das fibras nervosas ou pela geração espontânea da própria fibra muscular. Uma característica importante da entrada de cálcio para o interior da célula, durante o potencial de ação, é que esse mesmo cálcio atua diretamente sobre o mecanismo

contrátil do músculo liso, para desencadear a contração. Dessa forma, o cálcio desempenha duas funções a um só tempo. (GUYTON, 2006)

8. Receptores muscarínicos no músculo liso

Os receptores M_3 (“glandulares/ músculo liso”) produzem principalmente efeito excitatórios, isto é, estimulação das secreções glandulares (salivares, brônquicas, sudoríparas, etc.) e contração da musculatura lisa visceral. Os receptores M_3 atuam também como mediadores do relaxamento da musculatura lisa (principalmente vascular), que resulta da liberação de óxido nítrico das células endoteliais adjacentes. Todos os receptores muscarínicos pertencem à família de receptores acoplados à proteína G. os membros do grupo com numeração ímpar (M_1, M_3, M_5) atuam através da via do fosfato de inositol, enquanto os receptores com numeração par (M_2, M_4) atuam ao inibir a adenilatociclase e, portanto, reduzindo o cAMP intracelular. (RANG, 2004).

Mediadores diretos estimulam os receptores de membranas das células do músculo liso das vias aéreas. Por exemplo, metacolina ativa o receptor M_3 muscarínico e induz a contração do músculo liso das vias aéreas. Os mediadores indiretos, inversamente, estimulam as células intermediárias, levando à liberação de agonistas contrateis, induzindo a contração do músculo liso. (ver tabela 1). (OZIER, 2011)

9. Inervação do músculo liso

O músculo liso não contém as junções neuromusculares. Os axônios dos nervos autonômicos percorrem toda a extensão do tecido, ao longo dos axônios, há muitas expansões ou varicosidades, que são os locais de liberação das substâncias transmissoras, em resposta aos potenciais de ação do nervo (RHOADES & TANNER, 2005).

Os pulmões são ricamente inervados com fibras nervosas do sistema parassimpático (vagal), simpático, e dos chamados sistemas não-adrenérgicos e não colinérgicos (NANC).

As fibras aferentes incluem:

(a) Fibras parassimpáticas, com eferentes colinérgicos muscarínicos que medeiam a bronco constrição, a vaso dilatação pulmonar, e a secreção das glândulas mucosas;

(b) Fibras simpáticas, cuja estimulação produz o relaxamento do músculo liso brônquico, a vaso constrição pulmonar e a inibição da atividade secretora;

(c) O Sistema NANC, com múltiplos transmissores implicados, incluindo adenosina-trifosfato (ATP), o óxido nítrico (NO), e os neurotransmissores peptídeos, com a substância P (SP) e o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) (MACPHEE & GANONG, 2007).

O sistema nervoso autônomo (SNA) pulmonar é constituído por fibras colinérgicas, que liberam acetilcolina (promove contração do músculo liso das vias aéreas), e adrenérgicas, que liberam adrenalina (bronco dilatadora). Acredita-se que o equilíbrio entre esses dois componentes do SNA seja responsável pela manutenção do tônus brônquico normal. Outro componente, conhecido como não-adrenérgico, não-colinérgico (NANC) existe nos pulmões de várias espécies, inclusive em humanos. O sistema NANC possui fibras nervosas sensitivas (fibras C) produtoras de neuropeptídeos, como a substância P (SP) e a neurocinina A (NA), capazes de exacerbar a resposta inflamatória. Essa inflamação neurogênica tem sido documentada em várias doenças inflamatórias, inclusive na asma. Taquicininas (SP e NA) liberadas de terminações nervosas sensitivas causam bronco constrição, vaso dilatação, edema, e secreção de muco. Lesão epitelial na asma expõe terminações nervosas sensitivas que se tornam sensibilizadas por produtos pró-inflamatórias (incluindo prostaglandinas e citocinas) (BOGLIOLO, 2006).

10. Estruturas traqueobrônquicas normais.

O músculo traqueal consiste de uma camada transversal de músculo liso na parede membranosa da traquéia entre a submucosa e a membrana fibroelástica. O músculo é inserido bilateralmente no tecido fibroelástico denso verticalmente e conectando as extremidades dos anéis cartilaginosos (KAMEL, 2009).

Sua parede anterolateral é composta em forma de “C” *(Figura - 4)*, os anéis cartilaginosos interligados por tecido fibroso, que é formada principalmente por fibras colágenas e elásticas do sistema. Sua parede posterior é composta por músculo liso e tecido fibroelástico (MINNICH & MATHISEN, 2007).

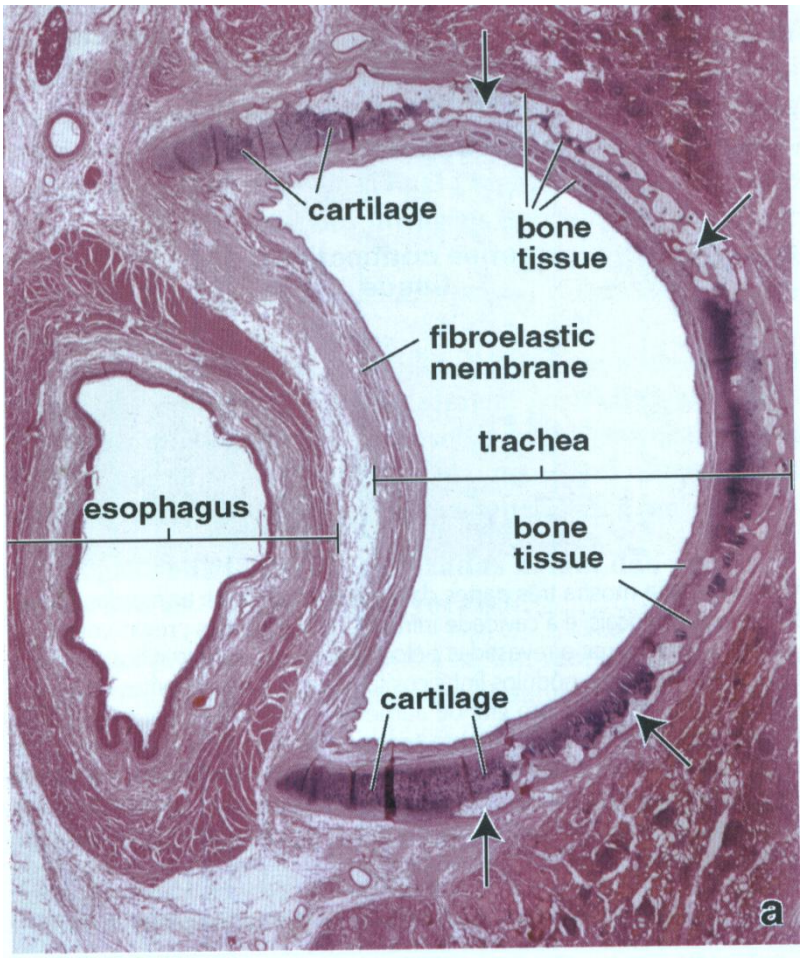

Figura – 4: Fotomicrografia de um corte de traquéia. Os anéis de traquéia cartilaginosos que mantém a traquéia permeável em forma de C. O intervalo entre as duas extremidades da cartilagem em forma de C, onde a traquéia é adjacente à parede do esôfago, é preenchido por uma membrana fibroelástica, que contém o músculo liso traqueal e inúmeras glândulas seromucosas. (ROSS & PAWLINA, 2008)

Em camundongos, anéis cartilaginosos são apenas presentes nas vias aéreas extra pulmonares, porém, em humanos, a cartilagem se estende por várias gerações brônquicas no pulmão. Glândulas submucosas, que produzem mucinas e outros fatores, estão restritas apenas na traquéia proximal no camundongo, mas em

humanos penetram profundamente no pulmão. Isto é importante porque as glândulas podem fornecer nicho protegido para BCs (ROCK, 2010). Em humanos, o epitélio das vias aéreas é composto por 4 principais tipos de células, incluindo secretoras, ciliadas, colunares e células basais. As células basais se diferenciam em células ciliadas que ajudam a limpar a superfície das vias aéreas, e as células secretoras que produzem mucinas e outros produtos que contribuem para a barreira apical extracelular desempenham um papel significativo na biologia das células das vias respiratórias humanas basais (HACKETT et al, 2011).

Os compartimentos epiteliais da parede das vias aéreas são compostos de epitélio ciliado pseudo-estratificado colunar (com cerca de 300 cílios na superfície apical), células caliciformes (secretoras de muco - composto de glicoproteínas), células basais (CB) pequenas e arredondadas (são células tronco – *stem cell*) apoiadas na lamina basal. E célula granular, possui numerosos grânulos com a parte central mais densa aos elétrons (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

O compartimento intersticial inclui a zona da membrana basal, fibroblastos, incluindo a bainha do fibroblasto atenuado abaixo da membrana basal, o músculo liso, cartilagem e tecido vascular. O compartimento nervoso inclui os processos nervosos que interdigitalizam entre o músculo liso, a matriz subepitelial, e o epitélio. Isto inclui ambos os membros aferentes e eferentes do sistema nervoso e os neurônios centrais que regulam no tronco cerebral. O compartimento vascular inclui capilares, arteríolas e vênulas, principalmente a partir da circulação brônquica, e vasos linfáticos. O compartimento imunológico inclui tanto as células inflamatórias e células migratórias envolvidos na regulação de respostas imunes (PLOPPER, 2008).

Células basais (CB), assim chamada por sua proximidade com a lâmina basal subjacente, é uma característica comum do epitélio estratificado e pseudo-estratificado em todo o corpo. Estas incluem as vias aéreas do pulmão humano, que são revestidas com um epitélio pseudo-estratificado contendo entre 6-30% BCs, dependendo da localização. O citoesqueleto é abundante, as proteínas juncionais e adesivas das BCs ajudam a ancorar o epitélio a matriz e isolar o estroma subjacente do ambiente externo (ROCK et al. 2010).

11. Remodelamento traqueobrônquico na asma

Todos os compartimentos das vias aéreas, grandes e pequenas, podem encontrar-se estruturalmente alterados na asma. A alteração mais marcante, e onde

as repercussões funcionais são mais claramente observadas, é no músculo liso brônquico. Pacientes asmáticos apresentam aumento da massa muscular por hipertrofia/hiperplasia de células musculares lisas ao longo de todo o trajeto da arvore brônquica, acreditando-se que o músculo seja o principal determinante da hiperresponsividade característica da doença (MAUAD, 2008). Outras importantes alterações estruturais encontradas na asma são: metaplasia mucosa do epitélio respiratório, espessamento hialino da membrana basal epitelial, alterações da matriz extracelular (MEC) dos diferentes compartimentos das vias aéreas, edema e angiogênese de vasos brônquicos e hiperplasia de glândulas submucosas brônquicas. Alterações do parênquima peribronquiolar, com ruptura de acoplamentos alveolares e diminuição de fibras elásticas são as alterações estruturais descritas no parênquima alveolar em pacientes que morreram de asma. Ao conjunto destas alterações dá-se o nome de remodelamento brônquico, referindo-se às mudanças na composição, quantidade e organização dos componentes celulares e moleculares da parede das vias aéreas na asma (MAUAD, 2008).

Além do processo inflamatório, outra característica da asma é o remodelamento das vias aéreas, o que leva às mudanças estruturais do pulmão. Estas alterações incluem proliferação de fibroblastos, hiperplasia e hipertrofia de músculo liso das vias aéreas, e excesso de produção de muco. (NABE, 2011).

O epitélio é lesado extensamente na asma, havendo descamação intensa de células para dentro do lume da via aérea havendo prejuízo da ciliogênese, com redução do numero de cílios por célula epitelial. Observa-se metaplasia de células caliciformes e, em menor grau, metaplasia escamosa. O dano epitelial é devido à ação dos produtos derivados de eosinófilos, entre eles a MBP (proteína básica principal), que tem fator citotóxico epitelial. Outros fatores incluem radicais livres de oxigênio, efeito de proteases neutras e do edema subepitelial e ações de doenças virais em episódios de exacerbação das crises. (MAUAD et.al. 2000).

A membrana basal é composta por colágeno tipo IV, proteoglicanos e complexos laminina/entactina/nidogênio. Na asma, a verdadeira membrana basal mostra-se íntegra, havendo depósito de colágeno na camada reticular. Isso determina um aspecto espessado e hialinizado, sendo considerada uma característica da doença. As principais alterações da matriz extracelular descrita na asma têm-se restringindo à camada subepitelial, na região compreendendo a

membrana basal reticular. Aumento da deposição de colágeno submucoso tem grande implicação para um aumento da rigidez das vias aéreas, em maiores proporções até o espessamento da própria membrana basal reticular. As fibras eslásticas perdem sua integridade e facilita a bronco constrição e dificulta a volta do brônquio ao seu estado pré-constrito, contribuindo para a hiperresponsividade brônquica. Sugerem-se dois mecanismos possíveis para a lesão das fibras elásticas na asma: a ação de proteases e elastases liberadas por células inflamatórias e um fator mecânico (edema e distensão) contribuindo para uma ruptura e fragmento destas fibras. A principal conseqüência funcional da elastose nas vias áreas seria o aumento da espessura da via área, potencializando o efeito da contração do músculo liso brônquico (MAUAD et.al. 2000).

Vários constituintes da parede brônquica são modificados no processo de remodelamento, ocorrendo:

(a) Espessamento da membrana basal por deposição de colágenos tipos I, III e V, fibronectina, tenascina e laminina;

(b) Espessamento as submucosa por deposição de colágenos e de proteglicanos;

(c) Hipertrofia e hiperplasia da camada muscular;

(d) Hipertrofia glandular

(e) Espessamento da adventícia por infiltrados inflamatórios.

(f) As fibras elásticas também participam do processo de remodelamento brônquico, havendo fragmento das fibras oxitalânicas ancoradas na membrana basal e alastose na submucosa brônquica. As fibras elásticas são moduladoras da bronco constrição, por fornecerem a força de recolhimento elástico necessário à volta das vias aéreas a seu estado pré-constrito. Além disso, durante a bronco constrição as fibras elásticas agem como cargas opostas ao músculo liso. A perda da integridade da rede de fibras elásticas das vias aéreas de asmáticos favorece o processo de bronco constrição e dificulta o retorno da via aérea ao seu estado pré-contração. Observa-se também, em pacientes que morreram de asma, ruptura de septos alveolares peribronquiolares com diminuição da densidade das fibras elásticas, determinando desacoplamento entre as vias aéreas e o parênquima pulmonar, o que compromete as forças de

recolhimento elástico e a patência das pequenas vias aéreas. (BONGLIOLO, 2006).

Modelos estruturais demonstram que o espessamento da parede das vias aéreas (por infiltrados inflamatórios, edema, secreção na luz, hiperplasia muscular ou alterações dos elementos da matriz extracelular) determina o fechamento da luz brônquica para o mesmo grau de contração do músculo liso *(Figura - 5)*

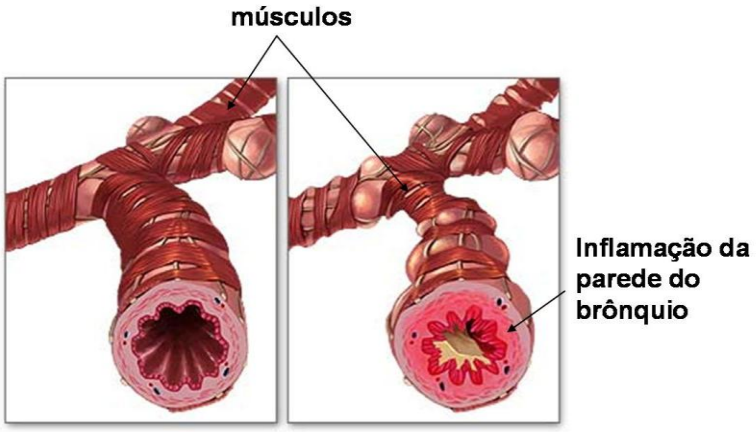

Figura - 5: Esquema ilustrativo mostrando o fechamento da luz brônquica provocada pela inflamação, edema, secreção de muco e bronco constrição. Fonte: http://www.drpereira.com.br/fotos/asma1.jpg

As ações contráteis no músculo liso das vias aéreas, que ocorrem na asma e determinam o desenvolvimento de hiperreatividade brônquica, são mediadas, na maioria das vezes, pela liberação de histamina, leucotrienos, prostaglandinas e, principalmente acetilcolina (Ach), que se ligam em seus repectivos receptores transmembranas, ativando a cascata de sinalização intracelular que: (1) promovem a liberação de Ca^{++} dos estoques intracelulares que permitirá o deslizamento dos filamentos de miosina com os de actina, contraindo o músculo liso das vias aéreas e provocando a abertura de canais de Ca^{++} operados por voltagem (Ca_v) causando influxo de Ca^{++} no citoplasma e, consequentemente, a contração do músculo liso (CASTRO, 2010).

As metaloproteinases (MMPs) as quais são enzimas proteolíticas derivadas das células do músculo liso ou de infiltrado de células inflamatórias podem modular a

sinalização entre células do músculo liso e matriz extracelular. As principais ações das MMPs estão relacionadas ao remodelamento dos componentes da matriz extracelular que forma uma estrutura de suporte para a parede das vias aéreas. As múltiplas funções das metaloproteinases envolvem influenciar na estrutura do músculo liso e no remodelamento das vias aéreas, ocasionando mudança da mecânica pulmonar (SOARES, 2010).

Uma molécula que surgiu no envolvido no remodelamento das vias aéreas é ADAM33. Este gene de susceptibilidade para a asma foi identificado pela primeira vez por clonagem posicional e foi replicado em uma série de estudos. Ela é preferencialmente expressa em células das vias aéreas mesenquimais (fibroblastos e músculo liso), foi mostrado para ser envolvido na patogênese da hiper-reatividade das vias aéreas e um declínio na função pulmonar ao longo do tempo. ADAM33 tem metaloproteinase, adesão fusagenica e intracelular atividades de sinalização e existem em pelo menos seis isoformas alternativamente emendados. Dos muitos potenciais ações biológicas que ADAM33 possui, a sua atividade proteolítica, que também está presente na forma solúvel, é provável que seja importante na geração de fatores de crescimento que influenciam o número de células mesenquimais e ou maturação (HOLGATE, 2008)

12. Alterações do Músculo Liso na Asma

De fato, muitas das substâncias secretadas pelos mastócitos estão implicadas na gênese de alterações estruturais na asma: as proteínas triptase e quinase, TGF-β, anfiregulina, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e o inibidor do ativador de plasmonogênio-1(PAR-1). Estas substâncias estão envolvidas na proliferação do músculo liso e células endoteliais, deposição de matriz extracelular, proliferação de fibroblastos e aumento da expressão das mucinas no epitélio respiratório. (MAUAD, 2008).

Realmente, parece existir uma complexa interação entre o mastócitos e células musculares lisas. As células musculares lisas podem produzir “stem cell fator” (SCF), citocinas e quimiocinas ativas no recrutamento e sobrevivência dos mastócitos, enquanto que mastócitos produzem mediadores que podem diretamente contrair o MLB, potenciar esta resposta, causar proliferação e migração do MLB e alterar o fenótipo da célula muscular (MAUAD, 2008). Alérgenos inalados agem

principalmente em células do sistema imunológico, levando-os a aderir nas células do músculo liso das vias respiratórias e, assim, altera sua função através de moléculas de adesão celular (CAM). Também apontado que as células do músculo liso das vias respiratórias liberam quimio-atraentes e, assim, contribui para o recrutamento adicional de células imunes no pulmão. (TLIBA, 2008)

13. Os mastócitos nas reações de hiperreatividade

Os mastócitos expressam FcεRI constitutivamente em suas superfícies e são ativados quando os antígenos fazem ligações cruzadas com a IgE ligada a esses receptores. A desgranulação ocorre em segundos, liberando uma série de mediadores inflamatórios pré formados, a histamina e as enzimas: quimase, triptase e esterases de serina. Essas enzimas podem ativar as metaloproteinas de matriz, que rompem as proteínas da matriz tecidual, causando destruição tecidual. Grandes quantidades de fator de necrose tecidual (TNF-α) também são liberadas pelos mastócitos após ativação. O TNF-α ativa as células endoteliais, aumentando a expressão das moléculas de adesão, o que promove o influxo de leucócitos e linfócitos inflamatórios para o tecido. (JANEWAY, 2002). No momento da ativação, os mastócitos sintetizam e liberam quimiocinas, mediadores lipídicos como os leucotrienos e fator ativador das plaquetas (PAF), além de outras citocinas como IL-4 e IL-3 que perpetuam a resposta Th2. Esses mediadores contribuem para as respostas inflamatórias crônicas e agudas. Os mediadores lipídicos, em particular, atuam rapidamente causando contração do músculo liso, aumento da permeabilidade vascular e secreção de muco, induzindo também a ativação e o fluxo de leucócitos que contribuem para a resposta tardia. Os mediadores lipídicos são derivados dos fosfolipídios de membrana, os quais são clivados para liberar as moléculas precursoras do ácido araquidônico. Essas moléculas podem ser modificadas por duas vias, dando origem as prostaglandinas, aos tromboxanos e aos leucotrienos. Os leucotrienos especialmente C4, D4 e E4, são importantes na manutenção da resposta inflamatória dos tecidos (JANEWAY, 2002).

14. Inflamação:

O padrão inflamatório é característico e composto por mastócitos ativados, macrófagos, eosinófilos e linfócitos T auxiliadores (do tipo Th2). Esses linfócitos T atuam por meio de citocinas envolvidas na coordenação, amplificação e perpetuação

da resposta inflamatória e pela atração de células inflamatórias adicionais. Estas células liberam múltiplos mediadores inflamatórios tais como: histamina, leucotrienos, prostaglandinas e bradicininas. Esses mediadores inflamatórios atuam sobre a via aérea e promovem bronco constrição, secreção de muco, exsudação de plasma e hiperresponsividade da via aérea (SOLÉ et. al. 1998).

Alergenos, como poeira doméstica ácaros, pólen e pêlos de animais são inalados do pulmão e induzem uma resposta inflamatória envolvendo eosínófilos, neutrófilos, linfócitos T, mastócitos e macrófagos. As citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, que são produtos de Th2 linfócitos, bem como eosinófilos e mastócitos, são resposaveis pela resposta inflamatória. *(Figura : 6).* Os receptores *Toll-like* regulam tanto a imunidade inata quanto a adaptativa. A ativação desses receptores induz a produção de citocinas inflamatórias (por exemplo, IL-6, IL-12, IL-1B, fator de necrose tumoral), MCP-1, proteína inflamatória do macrófago e citocinas antiinflamatórias (por exemplo, IL-1, IL-4, IL-10). (OLIVEIRA, 2011).

Mudanças estruturais patológicas das vias aéreas denominadas remodelação também ocorrem em asmáticos graves e incluem o aumento da massa da musculatura lisa brônquica das vias aéreas como fibrose e angiogênese. (CROFT & DOHERTY,2011).

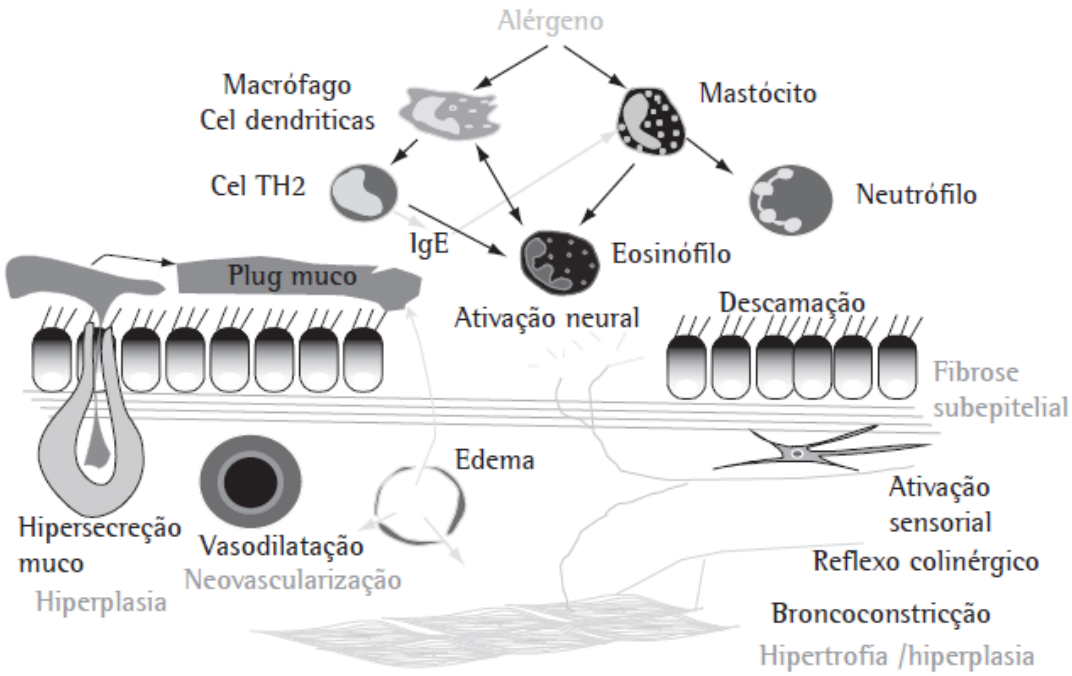

Figura – 6: Desenho esquemático da resposta inflamatória e a bronco contrição. Fonte: IV Diretrizes Brasileira para o manejo da asma (2006)

Mecanismos neurais (neuropeptídeos) podem amplificar a inflamação asmática (inflamação neurogênica). O processo inflamatório pode induzir o aparecimento de alterações estruturais caracterizadas por fibrose subepitelial (espessamento da membrana basal), hiperplasia da musculatura lisa da via aérea e neoformação vascular. Essas alterações podem estar subjacentes a uma obstrução irreversível (fixa) do fluxo aéreo. Além da estimulação alérgica, mediada por anticorpos IgE, um grande número de outros agentes físicos e virais pode influenciar a atividade dos componentes da reação inflamatória (SOLÉ et. al. 1998).

Posteriormente as IgEs produzidas irão ligar-se aos receptores de alta afinidade para a IgE, que se encontram na membrana celular de mastócitos e de basófilos, ricos em mediadores da inflamação. No segundo contato com o mesmo alérgeno com a submucosa, este se liga a IgEs presentes na superfície dos mastócitos e basófilos, através de uma reação antígeno-anticorpo, provocando a desgranulação destas células e a liberação de mediadores pré-formados (histamina) e derivados dos fosfolípidicos de membrana (serotonina, leucotrienos, prostaglandinas), capazes de causar contração do músculo liso brônquico e inflamação da mucosa respiratória, ou seja, provocar bronco espasmo e edema (TODO-BOM 2006).

Os neutrófilos, seu recrutamento é o primeiro sinal do inicio a resposta inflamatória. Essas células liberam leucotrienos do tipo LTB4 (agente quimiotático), induzem a ciclooxigenase do tipo 2 (COX-2) e a lipooxigenase do tipo 5 (LOX-5) - enzimas envolvidas na produção de eicosanoides e leucotrienos – aumentam a expressão da opsonina C3b e são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio envolvidas na lesão tecidual. Em seguida nas células endoteliais os mastócitos e plaquetas são ativados. A interação do alergeno com a IgE é capaz de promover a desgranulação dos mastócitos e, consequentemente, a liberação de histamina, PGD2 e dos cisteinil-leucotrienos LTC4 e LTD4, todos potentes espasmógenos. Ao mesmo tempo, a interação do alergeno com as plaquetas pode promover a produção de tromboxano A2 (TXA2) e fator de agregação plaquetária (PAF). Assim como a histamina, o TXA2 e o PAF também possuem ação espasmógena na musculatura brônquica. As células endoteliais aumentam a secreção de oxido nítrico (NO) que provoca o relaxamento do músculo liso

subjacente, aumentando ainda mais a permeabilidade vascular e causando efeitos citotóxicos (RANG et al., 2004; CORRÊA, 2008).

Existe simultaneamente a ativação rápida dos macrófagos presentes nas vias aéreas e produção de espécies Reativas de Oxigênio (ROS). Os linfócitos Th2, presentes na mucosa brônquica na asma, induzem a síntese de IgEs pelos plasmócitos, pela ação de citocinas como a interleucina IL-4 e a IL-13 e favorecem a diferenciação e ativação dos eosinófilos pela ação da IL-5. A intervenção do fator de crescimento GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor) tem capacidade amplificadora sobre este efeito. A resposta tardia ocorre como conseqüência da regulação positiva de citocinas, quimocinas e de moléculas de adesão que motivam a ativação e o recrutamento de células inflamatórias, em particular dos linfócitos, basófilos e eosinófilos e ainda neutrófilos e macrófagos para o local onde ocorreu o contato. Os eosinófilos que infiltram a mucosa brônquica fixam também IgEs na sua membrana e respondem ao contato com o alérgeno libertando mediadores. O acúmulo de eosinófilos gera quimocinas pró-inflamatórias e enzimas citolíticas incluindo a proteína catiônica eosinofílica e a proteína básica principal que provocam ruptura da integridade do epitélio das vias aéreas. De fato três tipos celulares principais estão envolvidos no processo alérgico: eosinófilos, basófilos e linfócitos Th2, aparecendo conseqüentemente como fundamentais a expressão dos receptores CCR3, CCR4 e CCR8 para quimotaxinas, eotaxinas e RANTES (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted) (TODO-BOM, 2006).

15. Fator de Ativação Plaquetária no Músculo Liso

O fator de ativação plaquetária (PAF*, plaquelet-activating fator*) que também é conhecido como PAF-acether e AGEPC (acetil-gliceril-éter-fosforilcolina), é um lipídio biologicamente ativo, que pode produzir efeito em concentrações extremamente baixas (menos de 10^{-10} mol/L). O PAF é um importante mediador alérgico e inflamatório. O PAF é produzido e liberado pela maioria das células inflamatórias quando estas estimuladas. É liberado por neutrófilos polimorfonucleares na fagocitose de partículas opsonizadas, por macrófagos e eosinófilos ativados, por mastócitos e basófilos em decorrência da interação com antígeno e por plaquetas após estimulação com trombina. Este fator produz muitos fenômenos da inflamação (vasodilatação, eritema e aumento da permeabilidade

vascular e formação de pápulas). Trata-se de potente quimiotaxina para neutrófilos e monócitos, sendo importante no recrutamento de eosinófilos para a mucosa brônquica na fase avançada da asma. O PAF também é espasmógeno na musculatura lisa brônquica e na íleal. Sua atividade espasmógena sobre o músculo liso brônquico humano pode ser devido à ativação do PLA_2 (fosfolipase A_2), com consequente produção de cisteínil- leucotrieno e /ou pode depender da presença de plaquetas. (RANG, 2004)

16. Histamina - Receptores Agonistas

O receptor H1 (HR1) é codificado no cromossomo humano 3, sendo o responsável por muitos sintomas das doenças alérgicas, tais como o prurido, a rinorreia, o bronco espasmo e a contração da musculatura lisa intestinal. A ativação do HR1 estimula as vias sinalizadoras do fosfolípide inositol, culminando na formação do inositol-1,4,5-trifosfato (InsP3) e do diacilglicerol (DAG), levando ao aumento do cálcio intracelular. Além disso, o HR1, quando estimulado, pode ativar outras vias de sinalização intracelular, tais como a via da fosfolipase D e a da fosfolipase A. Recentemente demonstrou-se também que o estimulo do HR1 pode levar a ativação do fator de transcrição nuclear NFκB, estando ambos envolvidos nas doenças alérgicas. O NFκB é um fator de transcrição onipresente que se liga as regiões promotoras de muitos genes reguladores da produção de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão. O NFκB pode ser ativado pela histamina e pelo TNFα (CRIADO, 2010).

17. Corticosteróides utilizados na asma

São os fármacos de escolha no tratamento de manutenção dos pacientes com asma persistente. Após penetrar na célula, o corticosteróide une-se a um receptor, sendo então transportado ao núcleo, onde se ligam a sequência do DNA, resultando em indução ou supressão de diversos genes envolvidos na produção de citocinas, moléculas de adesão e receptores relevantes no processo da inflamação (SILVA, 2002).

Controle da asma é o principal objetivo do tratamento farmacológico de pacientes com asma. As drogas mais eficazes para controle da asma são os corticosteróides inalados (ICS), que são eficazes antiinflamatórios. A necessidade de

tratamento contínuo com antiinflamatórios, principalmente ICS ou antagonistas dos receptores dos leucotrienos (LTRA), em pacientes com asma persistentemente leve é baseada no fato de que a inflamação das vias aérea persistente e descontrolada pode levar a remodelação das vias aéreas com consequente diminuição da função pulmonar, piora de sintomas de asma, e aumento de exacerbações de asma e exigência de bronco dilatadores como medicamentos de resgate. Corticóides inalatórios atualmente disponíveis para tratamento da asma incluem dipropionato de beclometasona, budesonida, ciclesonida, flunisolida, propionato de fluticasona, furoato de mometasona, e triancinolona (NAEPP Educação Asma Programa Nacional de Prevenção: Especialistas Relatório do Painel III, 2007; GINA Global Initiative for Asthma, 2010).

18. Receptores leucotrienos e a asma

Os receptores de leucotrienos cisteínicos (CysLT) surgem como alvo promissor para o desenvolvimento de novos antiasmáticos. Estes receptores subdividem-se em dois tipos: $CysLT_1$ e $CysLT_2$, e controlam as atividades biológicas do LTC_4, LTD_4 e LTE_4, conhecidos como substância lenta da anafilaxia. O reconhecimento do LTC_4 e LTD_4 – liberados a partir de mastócitos e eosinófilos ativados – pelos receptores $CysLT_1$ induzem aumento da permeabilidade vascular, produção de muco, redução do transporte mucociliar e bronco constrição – com potência 1000 vezes superior a histamina – e evidenciam a potencialidade terapêutica do bloqueio seletivo destes receptores para o desenvolvimento de novos antiasmáticos. Vários antagonistas de receptores de leucotrienos cisteínicos (CysLTant) foram descobertos nos últimos anos, entretanto, a consagração dos receptores CysLT1 como alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos antiasmáticos decorre da aprovação, no final dos anos 1990's, pela agência americana FDA, dos fármacos antileucotrienos zafirlucast e montelucast.(LIMA, 2009)

Os leucotrienos (LTs) são icosanóides oriundos da cascata do ácido araquidônico (CAA), e classificados como leucotrienos cisteínicos (CysLT), LTC4, LTD4 e LTE4, outrora conhecidos como componentes da substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A), e o leucotrieno pró-inflamatório LTB4. As principais propriedades farmacológicas destes icosanóides, oriundas de sua interação com receptores específicos de membrana incluem: bronco constrição, aumento da

permeabilidade vascular, produção de muco, liberação de enzimas lisossômicas, quimiotaxia, ativação de leucócitos e vaso constrição da musculatura lisa, e refletem seu envolvimento em fisiopatologias inflamatórias como asma, rinite alérgica, artrite reumatóide e psoríase (LIMA et. al. 2002).

19. Receptores - Beta 2 Adrenérgicos

A musculatura lisa brônquica é fortemente dilatada pela ativação dos receptores β_2 – adrenérgicos, e os agonistas β_2 – seletivos são importantes no tratamento da asma. A estimulação dos receptores β produz relaxamento da maioria dos tipos de músculo liso através de um mecanismo que envolve aumento na concentração intracelular de cAMP. O cAMP parece causar relaxamento ao ativar uma proteína quinase que, por sua vez, fosforila e inativa a quinase de cadeia leve de miosina, inibindo conseqüentemente a contração. A ativação dos receptores β também intensifica a extrutusão do Ca^{++}, reduzindo, assim a concentração de intracelular de cálcio. Além disso, afeta a ligação do cálcio intracelular (RANG, 2004).

Os receptores β2 são receptores adrenérgicos polimórficos predominantes nos músculos lisos e causam o relaxamento visceral. Entre as suas funções conhecidas, estão: relaxamento da musculatura lisa, por exemplo, nos brônquios; inibição da liberação de histamina dos mastócitos. (BORTOLOTTO, 2009).

A atuação dos β2-agonistas se dá através do acoplamento com receptores específicos de membrana, predominantes nas células da musculatura brônquica, resultando na ativação das proteínas G a eles associadas e subsequente ligação à enzima adenilato-ciclase, resultando em produção de 3'-5'-adenosina monofosfato cíclica (C-AMP). Esta enzima leva ao relaxamento na contração da musculatura lisa por ativação da proteína-quinase A e suas ações sobre as concentrações de Ca^{++} e K^{+} intracelulares e inativação da miosina cinase de cadeia leve. (RIZZO, 1997)

20. Óxido nítrico no sistema respiratório

O óxido nítrico (NO) é o ativador endógeno da guanilato cliclase solúvel resultando na formação de GMP cíclico (cGMP), que atua como segundo mensageiro em muitas células, incluindo nervos, músculo liso, monócitos e plaquetas (RANG, 2004).

Está bem definido que o NO é um constituinte normal do ar exalado na respiração humana e de animais. Assim, o NO funciona como bronco dilatador ao agir como neurotransmissor da parcela bronco dilatadora do sistema NANC (iNANC-Inibidor do sistema não-adrenérgico não-colinérgico), em oposição aos estímulos colinérgicos bronco constritores. Além disso, uma substância, que se acredita ser o NO, produzida pelo epitélio brônquico, possui também ação relaxadora da musculatura brônquica. Concentrações altas de NO na árvore traqueobrônquica induzem a hiperemia, exsudação plasmática, secreção de muco e proliferação de linfócitos Th2, os responsáveis pela proliferação eosinofílica, em uma seqüência de acontecimentos que caracteriza os fenômenos inflamatórios. (CHATKIN, 2000).

21. Termoplastia brônquica

A "termoplastia brônquica" se refere a um procedimento que envolve a aplicação de calor, gerado e controlado por uma fonte de frequência de rádio, através de um cateter inserido na árvore brônquica através do canal do broncoscópio flexível, com o objetivo reduzir o número e a capacidade de contração da musculatura lisa brônquica. Isso pode levar a um efeito benéfico, consistindo reduzir hiperreatividade brônquica, melhorar a função pulmonar, qualidade de vida, exacerbações da asma e necessidades terapêuticas dos pacientes com asma. (FERNANDEZ, 2010). No estudo de Soares (2010) os resultados mostram que o tratamento de termoplastia brônquica aumenta os sintomas respiratórios no pós-imediato do procedimento. Os eventos adversos mais frequentes apresentados por ambos os grupos [(T) Termoplastia, (C) Controle] foram exacerbação da asma (62,5% T e 46,7% C), infecções das vias aéreas superiores (37,5% T e 46,7% C), dor torácica (17,5% T e 20% C), dor de cabeça (17,5% T e 6,7% C), tosse (12,5% T e 13,3% C) e faringite (10% T e 6,7% C). Os eventos adversos observados nos estudos foram eventos já esperados, os mesmos tiveram curta duração e boa resposta a terapias usuais. Segundo a pesquisadora, seria necessário o aumento de pacientes tratados para analisar os resultados com acurácia estatística.

22. CONCLUSÃO

O aumento da hiperresposividade traqueobrônquica é uma característica marcante na asma. A liberação de mediadores como histamina, leucotrienos, prostaglandinas, acetilcolina entre outros como PAF, que se ligam nos seus respectivos receptores trans membrana são os responsáveis pela liberação de cálcio intracelular que permite o deslizamento de miosina com os de actina proporcionando a contração do músculo liso. A ação dos agentes físicos (ar frio, ar seco, exercícios físicos), como alergenos (pólen, ácaros) também são causadores da constrição brônquica em asmáticos. Em conclusão, as alterações patológicas do músculo liso na asma ainda necessitam de pesquisas detalhadas para o esclarecimento que complexa o mecanismo de contração deste músculo.

23. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOGLIOLO L; BRASILEIRO FILHO G.; ROCHA A.; **Bogliolo patologia**. 7 ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1472p., il color ISBN 8527712229

BORTOLOTTO L.A., CONSOLIM-COLOMBO F.M.; Betabloqueadores adrenérgicos. **Revista Brasileira Hipertensão** vol.16(4):215-220, 2009.

CASTRO J.M.A., **Asma experimental em linhagens de camundongos selecionados para mínima (AIRmín) ou máxima (AIRmax) resposta inflamatória aguda**.[Tese (Doutorado Imunologia)]. São Paulo: Brasil. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

CHATKIN J.M., DJUPESLAND P., QIAN W., HAIGHT J., ZAMEL N.; Óxido nítrico exalado no diagnóstico e acompanhamento das doenças respiratórias**. Jornal Pneumologia** 26(1) – jan-fev de 2000.

CORRÊA M.F.P., MELO G.O., COSTA S.S., Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da Asma. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy** 18 (Supl.): 785-797, Dez. 2008.

CRIADO P.R., CRIADO R.F.J., MARUTA C.W., MACHADO FILHO C.A.; Histamina, receptores de histamina e anti-histamínicos: novos conceitos. **Anais Brasileiro Dermatologia.** 2010;85(2):195-210.

CROFT M, DOHERTY T.A. Therapeutic potential of targeting TNF/TNFR family members in asthma**. Future Medicine Ltd. Immunotherapy** (2011) ISSN 1750-743X

DAI J.M., KUO K.H., LEO J.M., PARE P.D., VAN BREEMEN C., LEE C.H.; Acetylcholine-induced asynchronous calcium waves in intact human bronchial muscle bundle. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:600–608.

DALCIN P.T.R., GRUTCKI D. M., LAPORTE P.P., LIMA P.B., VIANA V. P., KONZEN G.L., et al . Impacto de uma intervenção educacional de curta duração sobre a adesão ao tratamento e controle da asma. **Jornal Brasileiro Pneumologia.** [serial on the Internet]. 2011 Feb [cited 2011 Oct 25]

DEKKERS B.G.J., BOS S.T.I., HALAYKO A.J., ZAAGSMA J., MEURS H.; The laminin β1-competing peptide YIGSR induces a hypercontractile, hypoproliferative airway smooth muscle phenotype in an animal model of allergic asthma. **Respir Res.** 2010; 11(1): 170.

DOTTORINI T, SOLE G, NUNZIANGELI L, BALDRACCHINI F, SENIN N, et al. Serum IgE Reactivity Profiling in an Asthma Affected Cohort. **PLoS ONE** 6(8): e22319. doi:10.1371/journal.pone.0022319 – 2011

FAUSTINO L.S., **Células T reguladoras na asma experimental.** [Tese (Doutorado Imunologia)]. São Paulo: Brasil. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

FERNANDEZ A.T., Termoplastia bronquial en el tratamiento del asma. **Arch Bronconeumol.** 2010;46:85-91

GINA: Global Strategy for Asthma Management and Prevention. National heart, Lung and Blood Insitute-USA/ World Health Organization Workshop Report ed.2010.ed 2008.

HACKETT N.R., SHAYHIEV R., WALTERS M.S., WANG R., ZWICK R.K., et al.The Human Airway Epithelial Basal Cell Transcriptome. **PLoS ONE.** 2011 6(5): e18378. doi:10.1371/journal.pone.0018378

HOLGATE S.T; Patogenesis Of Asthma. **Jornal compilation 2008 Blackwell Publishing Ltd, Clinical and Experimental Allergy**, 38: 872-897

HOLLOWAY, J.W., YANG, I.A. and HOLGATE, S.T. Genetics of allergic disease. **(**2010) **J. Allergy Clin Immunol.** 125 (2 Suppl),S81-S94.

JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M, SHLOMCHIK M; **Imunobiologia: O sistema imune na saúde e na doença.** 5ªed. Porto Alegre:Artmed. 2002.

JI, G., FELDMAN, M., DORAN, R., ZIPFEL, W., & KOTLIKOFF, M. I. Ca^{2+}-Induced Ca^{2+} Release through Localized Ca^{2+} Uncaging in Smooth Muscle.*The* **Journal of General Physiology**, 2006. *127*(3), 225–235. doi:10.1085/jgp.200509422

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KAME K. S.; BECKERT, L. E., & STRINGER M. D.; Novel insights into the elastic and muscular components of the human trachea. **Clin. Anat**., 22(6):689-97, 2009.
KAY, A.B.; The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. **Trends Mol Med** 11, 148–52. (2005).

KIM, M. H., KWON, J.-W., KIM, H. B., SONG, Y., Yu, J., KIM, W.-K., KIM, B.-J., LEE, S. Y., KIM, K.-W., JI, H.-M., KIM, K.-E., SHIN, Y.-J., KIM, H. and HONG, S.-J., Parent-reported ISAAC written questionnaire may underestimate the prevalence of

asthma in children aged 10–12 years. **Pediatric Pulmonology**. doi: 10.1002/ppul.21512.-2011

LI M., SHANG Y.X., WEI B., YANG Y.G.; The effect of substance P on asthmatic rat airway smooth muscle cell proliferation, migration, and cytoplasmic calcium concentration in vitro. **J. Inflamm** (Lond). 2011 Jul 21;8(1):18

LIMA LM, LIMA NM; A Contribuição do LASSBio® no desenvolvimento de novos candidatos a protótipos de fármacos antiasmáticos. **Revista Virtual Química,** 2009, 1 (1), 35-48. Data de publicação na Web: 2 de Fevereiro o de 2009.

MACPHEE S.J.; GANONG W.F. ; **Físiopatologia da Doença**. Lange Medical Book/ Mc GrawHill – 5ª ed. – 2007.

MAUAD T., SOUZA A.S.L., SALDIVA P.H.N., DOLHNIKOFF M.;Remodelamento bronquico na asma. **Jornal Brasileiro Pneumologia.** 2000; 26(2):91 -98.

MAUAD T.; Conseqüência da inflamação na asma: remodelamento brônquico. **Pulmão RJ** 2008; 1: SB-s15.

MINNICH, D. J. & MATHISEN, D. J.; Anatomy of the trachea, carina and bronchi. Thor. **Surg. Clin.,** 17(4):571-85, 2007.

MUKHERJEE, A.B., and ZHANG Z.; Allergic Asthma: Influence of Genetic and Environmental Factors. **The American Society for Biochemistry and Molecular Biology.** 2011.

NABE T., MORISHITA T., MATSUYA K., IKEDO A., FUJII M., MIZUTANI N. and YOSHINO S. Complete Dependence on $CD4^+$ Cells in Late Asthmatic Response, but Limited Contribution of the Cells to Airway Remodeling in Sensitized Mice. **Journal of Pharmacological Sciences**. Vol. 116 (2011), No. 4 pp.373-383

NAEPP National Asthma Education and Prevention Program: Expert Panel Report III. (2007). ***Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma***. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute.

OLIVEIRA D.C., RIZZO J.A. SARINHO E.S.C.; Asma e Doenças Cardiovasculares. **Revista Brasileira de Clinica Médica.** São Paulo, 2011. Jan- Fev; 9 (1): 62-6

PAVANELLI M.C., TIBERIO I.C., RODRIGUES M. A. V.; Asma Brônquica. **Revista Eletrônica da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**– Regional São Paulo - Volume 1- Número 1– Agosto 2011

OZIER A.; ALLARD B.; BARA I.; GIRODET P.O.;TRIAN T.;MARTHAN R.; BERGER P.; The Pivotal Role of Airway Smooth Muscle in Asthma Pathophysiology. **Journal of Allergy**. Volume 2011, Article ID 742710, 20 pages. DOI:10.1153/2011/742710.

PLOPPER C.G., HYDE D.M.; The non-human primate as a model for studying COPD and asthma**. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics** 21 (2008) 755–766

POZZAN T., RIZZUTO R., Volpe P., MELDOLESI J.; Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. **Physiol Rev.** 1994;74:595–636.

RANG M.P., DALE M.M., RITTER J.M., MOORE P.K; **Farmacologia.** 5ªed. USA: Elsevier, 2004.

RHOADES R.A., TANNER G.A.; **Fisiologia Médica**. 2ª ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2005.

ROCK J.R., SCOTT H.R., BRIGID L.M.H.; Airway basal stem cells: a perspective on their roles in epithelial homeostasis and remodeling. **Dis. Model Mech.** 2010 Sep-Oct; 3(9-10): 545–556. Published online 2010 August 10. doi: 10.1242/dmm.006031

ROSS M.H.,PAWLINA W. **Histologia. Texto e Atlas. Em correlação com a biologia cellular e molecular.** 5ªed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2008.

ROTH M., TAMM M.; Airway smooth muscle cells respond directly to inhaled environmental factors. **Swiss Med Wkly**. 2010 Aug 27;140:w13066. doi: 10.4414/smw.2010.13066. Review.

SATHISH V., LEBLEBICI F., KIP S.N., THOMPSON M.A., PABELICK C.M., PRAKASH Y.S., SIECK G.C.; Regulation of sarcoplasmic reticulum Ca2+ reuptake in porcine airway smooth muscle. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.** 2008;294:787–796. doi: 10.1152/ajplung.00461.2007

SILVA, Luiz Carlos Corrêa da et al . Carta de Salvador. **J. Pneumologia**, São Paulo , v. 28, supl. 1, June 2002 .

SOARES C.R., **Influência dos hormônios sexuais femininos sobre a inflamação alérgica pulmonar em modelo murino de asma crônica.** [Tese (Doutorado Imunologia)]. São Paulo: Brasil. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

SOARES, P. R. D.; **Avaliação de segurança do Sistema Alair® de termoplastia brônquica no tratamento de pacientes asmáticos.** (Tese de mestrado) 2010. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas.

SOLÉ D., NUNES I.C., RIZZO M.C.V.; A asma na criança: classificação e tratamento. **Jornal de Pediatria**, 1998. 0021-7557/98/74 - Supl.1/S48

TELLES, Pierre d'Almeida Filho. Asma Brônquica/História da Asma *1997 – 2008.*

TLIBA O., AMRANI Y., PANETTIERI R.A. Jr.; Is airway smooth muscle the “missing link” modulating airway inflammation in asthma? **Chest.** 2008; 133:236–42.

TODO-BOM Ana, PINTO Anabela M. Fisiopatologia da asma grave. **Revista Brasileira Alergia Imunopatologia.** Vol. 29, Nº 3, 2006

WANG I., Y. et. al, Mathematical Analysis of Agonist- and KCl-Induced Ca^{2+} Oscillations in Mouse Airway Smooth Muscle Cells. **Biophysical Journal**, Volume 98, Issue 7, 1170-1181, 7 April 2010.

WEBB R.C.; Smooth muscle contraction and relaxation. **Adv Physiol Educ**. 2003; 27: 201-6.