

Anabela Mota Pinto¹
Ana Todo-Bom²

A intervenção da célula epitelial na asma

The role of the epithelial cell in asthma

Recebido para publicação/received for publication: 08.11.13

Aceite para publicação/accepted for publication: 08.12.30

Resumo

Faz-se uma revisão da intervenção da célula epitelial brônquica na fisiopatologia da asma. O epitélio que reveste as vias respiratórias actua como uma barreira física, separando o meio externo do meio interno pulmonar, controla a permeabilidade intercelular e transcelular, e, deste modo, a acessibilidade dos agressores inalantes às células apresentadoras de antígeno envolvidas na resposta imunoinflamatória. As células epiteliais unidas por *tight junctions* contribuem para a integridade das vias aéreas e expressam *poliovirus receptor-related protein* (PRR), *toll like receptors* (TLR) e *protease-activated receptors* (PAR), que reconhecem agentes bacterianos e alérgenos. A sua disfunção transforma-as em fonte de mediadores intervenientes na inflamação.

Abstract

It is done a review of the intervention of the epithelial bronchial cell in the pathophysiology of asthma. The respiratory epithelium acts as a physical barrier that separates the external environment from the pulmonary internal environment. It controls the intercellular and trans-cellular permeability and this way the accessibility of the inhaled pathogens to the antigen presenting cells involved in the immuno-inflammatory response. Epithelial cells connected by tight junctions contribute to the barrier function of the airways. They express a poliovirus receiver – related protein (PRR), toll like receptors (TLRs) and protease-activated receptors (PARs), which recognize bacterial agents and allergens. Its dysfunction turns them into important sources of inflammatory mediators.

¹ Professora Associada com Agregação de Fisiopatologia – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
Directora do Instituto de Patologia Geral

² Assistente Hospitalar Graduada em Imunoalergologia nos Hospitais da Universidade de Coimbra.
Doutoramento em Medicina Interna – Pneumologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

A interacção bidireccional entre, por um lado, o epitélio e os elementos constitutivos do brônquio e por outro, as partículas inaladas, tem subjacente a formação de uma unidade, com identidade própria designada EMTU – *epithelial mesenchymal trophic unit*.

Esta extensa intervenção coloca a célula epitelial no centro de acção da cronicidade e remodelação do processo asmático.

As doenças infecciosas e o *stress* ambiental são capazes de induzir alterações a nível da célula epitelial susceptíveis de modificar a sua resposta a estimulações futuras, nomeadamente a ampliar a resposta a outras agressões infecciosas por acção sinérgica das vias de sinalização.

O epitélio brônquico tem assim funções de barreira que lhe permite exercer uma permeabilidade selectiva, a nível intracelular e transcelular, é ainda metabolicamente activo pelas capacidade de produzir mediadores quimiotácticos e citocinas envolvidos no recrutamento e na activação celular, com repercussão na broncomotricidade e na remodelação da parede brônquica.

Rev Port Pneumol 2009; XV (3): 461-472

Palavras-chave: Asma, epitélio, inflamação.

The bidirectional interaction between the epithelium and other bronchial wall elements with inhaled particles originates a structure with its own identity, the designated EMTU – Epithelial Mesenchymal Trophic Unit.

These observations support a central role for the epithelial cell in chronic inflammation and in the remodelling of the asthmatic process.

Infectious diseases and environmental stress can activate different cell receptors and signalling pathways that induce changes in the cell surface modifying their response to future stimulations, namely to other infectious aggressions.

The bronchial epithelium has barrier functions with selective permeability; it has metabolic activity producing cytokines and chemokines stimulating the cell's recruitment and activation, increasing the bronchial reactivity and the remodelling of the airways.

Rev Port Pneumol 2009; XV (3): 461-472

Key-words: Asthma, epithelium, inflammation.

Inflamação na asma

A asma resulta, em grande parte, de um conjunto de alterações imunitárias e inflamatórias que, ao nível das vias aéreas, são desencadeadas por factores do meio ambiente em indivíduos com susceptibilidade genética para a doença.

Na asma alérgica essa inflamação é em larga medida dependente da sensibilização mediada pela IgE, que reconhece alérgenos ambientais. O contacto do alérgeno sensibili-

zante com a IgE ligada a receptores de alta afinidade, que se encontram na membrana celular de mastócitos e de basófilos, ricos em mediadores da inflamação, através de uma reacção antígeno-anticorpo, provoca a desgranulação destas células e a libertação de mediadores pré-formados (histamina, proteoglicanos, proteases séricas, carboxil peptidase A e sulfatases) e derivados lipídicos de membrana (leucotrienos e prostaglandinas) susceptíveis de causar contracção do múscu-

lo liso brônquico e inflamação da mucosa respiratória, ou seja, provocar broncoespasmo e edema. Os mastócitos são também fontes importantes de citocinas que podem estar armazenadas, ou surgir apenas depois de transcrição génica. Uma extensa lista de citocinas foi associada aos mastócitos: a interleucina (IL) 3, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL13, IL16, TNF- α , GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) e MIP-1 α (*macrophage inflammatory protein 1 alpha*).

Nas formas alérgicas, para que ocorra sensibilização a nível das vias aéreas, é necessário que o alérgeno seja processado e apresentado por células dendríticas (DC) da mucosa aos linfócitos T (LT) *naive* em associação com moléculas do complexo *major* de histocompatibilidade do tipo classe II. As células T, após este contacto com o alérgeno, polarizam no sentido de se diferenciarem na subpopulação T *helper* 2 (Th2) e iniciam o recrutamento de linfócitos B produtores de IgE^{1,2,3}.

A etiologia da asma não alérgica é múltipla, estando muitas vezes subjacentes agressões de agentes infecciosos e de químicos, também susceptíveis de originar inflamação brônquica e hiperactividade das vias aéreas. Embora na asma a inflamação das vias aéreas envolva predominantemente células apresentadoras de antígeno (APC), Th2, linfócitos Th17, células T reguladoras, mastócitos, eosinófilos, basófilos e respectivos mediadores, há uma evidência cada vez maior de que a célula epitelial tem um papel determinante nesta resposta inflamatória^{4,5,6}.

Função barreira

O epitélio que reveste as vias respiratórias actua como uma barreira física, separando o

meio externo do meio interno pulmonar. Nesta função, as células epiteliais são auxiliadas pela camada mucosa, o que contribui para a depuração do agressor.

Estruturalmente, o epitélio brônquico é formado por células ciliadas, células claras e células caliciformes, que juntas formam uma camada pseudoestratificada. A camada epitelial repousa sobre uma membrana basal, tecido conjuntivo, elastina, glândulas, camada muscular e cartilagem⁷. A impermeabilidade da barreira epitelial é assegurada pela junção de duas células ciliadas adjacentes na zona apical, designada por *tight junctions* (TJ). As TJ controlam o transporte paracelular das partículas inaladas e o fluxo de moléculas que ocupa o espaço intercelular no epitélio. São estruturas complexas compostas por proteínas transmembranares e receptores e como as ocludinas, claudinas, *zonula occludens protein 1-3* (ZO 1-3), a E-caderina e as *junctional adhesion molecules* (JAM). A adesividade intercelular deve-se a uma estrutura conhecida por *adherence junction*, composta pelas JAM e pela E-caderina, cuja extremidade (a externa) se liga às E-caderinas das células vizinhas e a outra (interna) se fixa ao citoesqueleto através de moléculas proteicas chamadas cateninas. Uma das três formas de catenina, a β catenina, também participa no sistema de sinalização químico interno da célula. Estas moléculas, além da função de coesão, facilitam a comunicação entre células adjacentes^{8,9}.

A barreira epitelial contribui com esta estrutura para a integridade das vias aéreas e também para a defesa, em primeira linha, contra inalantes patogénicos.

Penetração de agentes agressores

O contacto do alérgeno com células dendríticas (células apresentadoras de antígeno)

nio), para que este possa ser processado, aumentando a sua capacidade para interagir com o LT, pode ser facilitada pela capacidade de alguns alergénios clivarem, por proteólise, ligações intercelulares nas células epiteliais¹⁰.

Os alergénios mais relevantes, como é o caso do alergénio *major* Derp1, do *Dermatophagoides pteronissynus*, têm capacidade para modificar a função barreira do epitélio e de activar quer as células epiteliais das vias aéreas, quer as células do sistema imunoinflamatório. Possuem proteases serínicas e cisteínicas que actuam enzimaticamente, rompendo as ligações de ocludinas, claudinas e ZO 1-3, promovendo desta forma o acesso às células dendríticas de localização intraepitelial. O mesmo acontece com fungos, como o *Aspergillus*, e com pólenes, como a ambrósia, a parietária e a bétula^{11,12,13}.

Aparentemente, este mecanismo, pelo qual os alergénios têm um acesso facilitado às DC intraepiteliais, está dependente de um polimorfismo genético, já que alguns genes da asma e da atopia regulam também a função barreira do epitélio¹¹.

Um mecanismo adicional da participação das células epiteliais no acesso aos agressores reside no facto de estas células expressarem *poliovirus receptor-related protein* (PRR) e *toll like receptors* (TLR), assim como *protease-activated receptors* (PAR), que reconhecem agentes bacterianos e alergénios, respectivamente. Os microrganismos apresentam pequenas sequências moleculares designadas (*pathogen-associated molecular patterns*, ou PAMP), reconhecidas pelos TLR e pelos PRR. O lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano é considerado o protótipo dos PAMP.

Os PAR pertencem à sétima superfamília transmembranar de receptores da proteína

G e têm um domínio ligante que pode ser activado por serinoproteases através da interacção com uma sequência peptídica contida na parte terminal do próprio receptor. No estado inactivo, a extensão do receptor proteico impede a interacção da sequência peptídica interna com o domínio ligando do receptor. Esta extensão N-terminal pode ser cortada (*clipped*) por acção de proteases extracelulares, permitindo desse modo a activação do ligando^{14,15,16}.

Recentemente, uma nova classe de receptores de reconhecimento das proteínas do citosol *nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD) foram identificadas e reconhecido o seu envolvimento na activação intracelular após a ligação aos TLR e PAR expressos nas células epiteliais. Desencadeada a cascata de activação intracelular, dá-se a síntese de quimiocinas que movimentam neutrófilos, monócitos e DC para as vias aéreas, e de citocinas que conduzem à sua maturação. Estas interacções irão também influenciar a intensidade das respostas e a polarização preferencial para fenótipos linfocitários do tipo Th1, Th2, Th17 ou T reguladoras (Treg)^{9,17}.

Muitas das agressões às vias aéreas são mediadas pela acção de espécies reactivas de oxigénio (ROS). As ROS desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostasia e da sinalização intracelular. No entanto, um aumento das ROS sem a intervenção do sistema antioxidante resulta em *stress* oxidativo. A acção destes radicais sobre a membrana celular pode ser testemunhada por aumento dos níveis plasmáticos de malondialdeído. Para limitar a acção negativa dos ROS, o epitélio das vias aéreas está equipado por um sistema antioxidante, que inclui a acção de vitaminas A, E e C, do gluta-tião, do superóxido dismutase (SOD), da

catalase e da xantina oxidase, que actuam reduzindo a agressão oxidativa. A ineficácia na resposta deste sistema antioxidante protector poderá resultar num aumento do *stress* oxidativo celular, conduzindo à lesão oxidativa de biomoléculas, nomeadamente do ADN, das proteínas e dos lípidos, comprometendo nomeadamente a capacidade antioxidante total do plasma, conforme tem sido observado em doentes asmáticos graves^{18,19}.

As ROS que se geram numa agressão das vias aéreas reduzem a função de barreira epitelial por rotura da actina perijuncional adstrita às *tight junctions*. Esta lesão celular poderá estar implicada em respostas tão distintas como a indução da morte celular, apoptose, ou a transformação neoplásica.

O fumo do tabaco e o ozono são dois factores ambientais de risco para a ocorrência de inflamação na asma, actuando de forma sinérgica com a sensibilização a alergénios inalantes na redução da função de barreira do epitélio num processo activo que envolve a activação da cascata da inflamação²⁰.

Outros alergénios sem actividade proteásica, como os da barata, podem aumentar a permeabilidade do epitélio, indirectamente, através da indução da citocina angiogénica *vascular endothelial growth factor* (VEGF). O aumento da expressão de VEGF em resposta à exposição alérgica resulta na promoção da sensibilização Th2.

Modificações induzidas por agentes agressores

Os alergénios proteolíticos e os produtos microbianos, como os lipopolissacarídeos, podem activar os **PAR-1 a 4** e os **TLR-3,4, TLR-7,8** respectivamente, expressos nas células epiteliais das vias aéreas conduzindo à

libertação de citocinas do tipo IL7. A IL7 libertada une-se ao ligando das células dendríticas e induz a expressão de moléculas co-estimulatórias, como a **CD40** (uma proteína presente nas APC e que permite a ligação ao CD40L dos linfócitos Th) e **OX40** (CD134), membro da família dos receptores de TNF não constitucionalmente expresso em células T *naïve* em repouso, expressando-se 24 a 72 horas a seguir à activação. De referir que o ligante de OX40, o OX40L também só se expressa em APC após a sua activação. Finalmente, ocorre a indução da expressão de CD80, uma molécula encontrada em linfócitos B activados e em monócitos que fornece o sinal co-estimulatório para a activação e sobrevivência de linfócitos T, aumenta a polarização Th2 e activa os mastócitos para uma secreção selectiva de citocinas²¹. É ainda estimulada a produção de IgE e a sua ligação ao mastócito, com subsequente activação e amplificação da produção de citocinas, como IL3, IL4, IL5, IL9, IL13 e IL25, bem como de quimiocinas que favorecem o processo inflamatório. O epitélio das vias aéreas dos asmáticos é também uma fonte importante de citocinas e de quimiocinas, como a IL5, RANTES (CCL5), eotaxina (CCL11), peptídeos quimiotácteis para o macrófago, *thymic stromal lymphopoietin* (TSPL) que constituem estímulos fortes para a polarização Th2 continuada. A ocorrência destes fenótipos epiteliais resulta possivelmente de alterações genéticas primárias ou até secundárias (somáticas), ou ainda de influências epigenéticas, como por exemplo de alterações a nível da acetilação de histonas ou metilação de dinucleótidos.

Persiste pois incontroverso o papel que os ligandos de CCR4 (receptor comum expresso

preferencialmente nas células Th2), como as quimiocinas *thymus and activation regulated chemokine* (TARC)/CCL17 e a *macrophage-derived chemokine* (MDC)/CCL22, desempenham na resposta dominante do tipo Th2 no pulmão. A CCL17 e a CCL22 produzidas por LT *helper* aparentemente funcionam como factores de proliferação e anti-apoptóticos desta célula na asma, podendo contribuir para a proliferação num circuito autócrino. Após provocação alérgica específica e outros tipos de agressão epitelial, a CCL17 e CCL22 funcionam como citocinas-chave que interagem com o CCR4 e desencadeiam a produção das citocinas Th2 que contribuem fortemente para manter a inflamação nos asmáticos^{22, 23}.

Nas vias aéreas, o receptor da eotaxina (CCR3) expresso em eosinófilos, basófilos e LTh2, tem um papel central na resposta inflamatória das vias aéreas, não só pela função de atracção celular, mas também por ser um potente activador do *stress* oxidativo.

Os processos de agressão das vias aéreas podem ainda motivar lesão estrutural das células epiteliais, com aumento da expressão de factores de *stress* celular. Em biópsias brônquicas realizadas em asmáticos foi demonstrada a presença da proteína de choque térmico – *hsp70* capaz de promover a activação de *cysteine-aspartic-acid-proteases* (caspases) essenciais na apoptose celular, inflamação e maturação de citocinas.

Estes marcadores de *stress* e de lesão aumentam com a gravidade e cronicidade da doença, mas podem estar presentes em crianças, mesmo com asma moderada, sugerindo a sua implicação na origem da doença.

A célula epitelial disfuncional na asma é também uma fonte de mediadores do ácido araquidónico, como a prostaglandina E2

(PgE2) e o *15-hydroxyeicosatetraenoic acid* (HETE), intervenientes na inflamação, nomeadamente pela sua reconhecida capacidade em activar o plasminogénio e a cascata do cininogénio.

A descamação do epitélio contribui para agravar a disfunção brônquica por mecanismos menos dependentes do processo inflamatório. A PgE2 que o epitélio secreta pode prevenir a broncoconstrição induzida pelo alérgeno, relaxar o músculo liso e inibir a transmissão colinérgica. A perda de PgE2 e de outros factores de relaxamento brônquico, como a prostaciclina, o óxido nítrico e o *epithelial derived relaxing factor* (EpDRF), concorrem para o aumento da hiperreactividade das vias aéreas.

Inflamação neurogénica

Quando as células colunares do epitélio são lesadas destacam-se, originando um desnudamento epitelial que possibilita a penetração do alérgeno e o seu contacto com células dendríticas, expondo simultaneamente fibras não mielinizadas do sistema nervoso autónomo (SNA), que contêm neuropeptídeos pró-inflamatórios, nomeadamente substância P (SP).

A SP, além de promover a inflamação, actua na broncomotricidade e contribui para as alterações nas vias aéreas dos asmáticos por ter a capacidade de induzir a desgranulação de mastócitos e de activar as proteínas G das membranas celulares. Também os linfócitos e os macrófagos expressam receptores para a SP que os pode estimular a produzir citocinas. A activação de células polimorfonucleares pela SP induz a produção de ROS, de interleucina-8 e a libertação de mieloperoxidases. Este facto, associado à capacidade que

as células inflamatórias têm para produzirem SP, pode conduzir a mecanismos de auto-entretenimento do processo inflamatório.

Se ocorrer falência de metabolização de agonistas específicos destes receptores do SNA e das enzimas responsáveis pela degradação de neuropeptídeos, como a endopeptidase neutra, a enzima conversora da angiotensina ou ainda a dipeptil-dipeptidase IV (DPP-IV), o seu tempo de acção é naturalmente prolongado^{24,25}.

Epithelial mesenchymal trophic unit

A cronicidade da inflamação pode ser em grande parte explicada pela interacção bidireccional entre, por um lado, o epitélio e os elementos constitutivos do brônquio, como o músculo liso, microvasculatura, fibroblastos, rede nervosa, e, por outro, as partículas inaladas, como alergénios, vírus, bactérias, fungos, tabaco e outros poluentes químicos. Esta capacidade de interacção e de libertação de mediadores inflamatórios deu nome à unidade EMTU – *epithelial mesenchymal trophic unit*. A EMTU liberta factores de crescimento selectivos e citocinas que criam um ambiente favorecedor da manutenção da inflamação mediada por células TH^{27,26}.

A maioria dos contactos estabelecidos na EMTU pode estar associada a atopia, e, embora cerca de 40% da população do mundo desenvolvido seja atópica, não chega a 10% o número que vem a desenvolver asma.

O conceito de cronicidade da asma como resultado da lesão de epitélio e reparação incompleta, com cicatrização crónica e secreção secundária de factores de crescimento capazes de provocar modificações estruturais nas vias aéreas (remodelação), coloca a célula epitelial no centro destas acções.

Em circunstâncias normais, a lesão do epitélio deve estimular as vias de reparação intrínseca com envolvimento do *epidermal growth factor* (EGF) e do seu receptor (EGFR), anfirregulina, e de *heparin-binding EGF-like growth factor* (HB-EGF), por secreção autócrina dos ligandos apropriados, de forma a promover a migração, proliferação e diferenciação celular de elementos de uma resposta de reparação primária^{27,28,29}.

A acção conjunta de antigénios proteolíticos e de citocinas Th2 efectoras conduz à perda de expressão da E-caderina pelas células epiteliais, à activação da via de activação transcripcional da S-catenina e à proliferação da célula epitelial e síntese de citocinas amplificadoras da inflamação, para além da desejada resposta reparadora^{30,31}.

Reparação epitelial

Na asma ocorre inibição da proliferação das células basais, confirmada pela expressão nuclear reduzida de marcadores de ciclo celular, como o Ki-67, e de antigénios de proliferação do núcleo. A proteína Ki-67 é um marcador celular de proliferação que durante a interfase é exclusivamente detectada dentro do núcleo celular, enquanto na mitose, tal como a maioria das proteínas, é relocada à superfície dos cromossomas. Observa-se, ainda, o aumento de inibidores do ciclo celular, como o P21waf. O gene p21WAF-1 é positivamente regulado pela proteína p53. Interage com complexos de cinases dependentes da ciclina e bloqueia a sua actividade em fase G1 do ciclo celular, impedindo a progressão do ciclo. A sua acção resulta na hipertrofia da célula muscular lisa.

Esta distorção no processo de reparação irá favorecer uma reparação incompleta em res-

posta à agressão, ou seja, uma cicatrização em segunda intenção^{32,33}

Remodelação

Uma característica importante na asma é a hialinização e o espessamento da membrana basal, que se acompanha do aumento do número e da actividade dos miofibroblastos subepiteliais, capazes de produzir novos elementos da matriz, como tenascina (proteína da matriz extracelular envolvida nas interações teciduais), fibronectina e colagénio dos tipos I, III e V.

O *stress* mecânico, a agressão física e química, as infecções e a interacção com células inflamatórias, especialmente com eosinófilos e neutrófilos, promovem a libertação de factores de crescimento. A produção de valores aumentados de GM-CSF por células epiteliais e fibroblastos de asmáticos justifica a sobrevida aumentada dos eosinófilos e, conseqüentemente, um aumento das proteínas citotóxicas libertadas dos seus grânulos, bem como o acréscimo de radicais de oxigénio implicados na inflamação e remodelação das vias aéreas.

Quando o epitélio é cronicamente lesado pela libertação de citocinas pró-fibrogénicas, como a IL11 e a IL13, adquire a capacidade de libertação de factores de crescimento, como o *transforming growth factor* β (TGF β) que promove a migração, proliferação e diferenciação celular com o intuito de fomentar a sua própria reparação, mas tem também capacidade para interagir com os fibroblastos, provocando a sua proliferação e diferenciação em miofibroblastos.

Neste processo estão envolvidos o VEGF, o EGF, o HB-EGF, a anfiregulina, o *insulin like growth factor* (IGF), os *fibroblast growth factors*

(FGF) 1 e 2 e os *platelet derived growth factors* (PDGF) (com actividade neurotrófica).

Como estes factores estão muito expressos no epitélio das vias aéreas dos asmáticos, provavelmente contribuem para a remodelação que ocorre na membrana basal na asma. Ocorre hipersecreção de muco e hiperreactividade brônquica (HRB) mesmo na ausência de inflamação^{34,35}.

Embora os fibroblastos residentes nas vias aéreas sejam os principais responsáveis pelo processo de remodelação, este processo pode igualmente resultar da diferenciação em fibroblastos das células epiteliais num processo denominado *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) conduzido pela acção de citocinas pró-fibróticas, como a TGF β , ou resultar ainda da acção de fibrócitos primitivos que migram da medula óssea a partir de progenitores, através da circulação sanguínea, para as vias aéreas dos asmáticos^{36,37}.

Produção de muco

Uma característica importante da asma é a produção excessiva de muco alterado, e de difícil expulsão, que bloqueia as vias aéreas. Em doentes asmáticos, as glândulas mucosas encontram-se em toda a árvore brônquica, mesmo nos bronquíolos periféricos, onde normalmente estão ausentes.

Ocorre metaplasia das células caliciformes das vias aéreas centrais e periféricas e as glândulas submucosas são maiores e contêm maiores proporções de mucina, as principais componentes glicoproteicas do muco (particularmente de mucina 5AC e 5B, as únicas cuja presença nas vias aéreas está convenientemente demonstrada). As proteínas básicas eosinófilas contribuem igualmente para a viscosidade do muco que caracteriza a asma³⁸.

A activação de EGFR nas células epiteliais durante a reparação por TGF α , processado a partir do seu precursor de membrana *metallopeptidase domain 17* (ADAM17), também designado *tumor necrosis factor- α converting enzyme* (TACE), contribui para a metaplasia celular^{39,40}.

As espécies reactivas de oxigénio com origem na lesão epitelial também estimulam a libertação do TGF α do seu precursor de membrana.

Também a IL4 e a IL13 induzem a produção de TGF α pelas células epiteliais, que através de uma sinalização autócrina resulta na metaplasia de células mucosas, característica da inflamação mediada por linfócitos Th2⁴¹.

O aumento de MUC5AC pode associar-se a baixa de aquaporina 5 (AQP5), admitindo-se que a AQP5 esteja implicada na regulação dos genes de mucina e da secreção de muco. A AQP5 tem um importante papel no controlo de fluidos a nível pulmonar, podendo estar reduzida (níveis de expressão de mRNA e da proteína) na asma brônquica, pela acção da IL13 e de TNF α , do que resulta uma redução da hidratação (redução da permeabilidade) de muco e o aumento da HRB. Em situações de inflamação crónica, as células epiteliais podem diferenciar-se em secretoras, mas a maioria das células secretoras (positivas para MUC5AC) não expressa AQP5. Embora as AQP3, AQP4, AQP5 estejam expressas nas células epiteliais das vias aéreas, apenas a AQP5 aparece no domínio apical das células ciliadas^{42,43}.

Infeção

Existem diversos mecanismos de defesa antimicrobiana nas vias aéreas que inibem a proliferação dos microrganismos e induzem

a sua destruição, de forma a impedir a ocorrência de infecção activa nos pulmões.

As células epiteliais são capazes de criar uma resposta imunitária destinada à destruição de microrganismos pela sua internalização e por secreção de peptídeos antibacterianos com capacidade citotóxica.

Estas células expressam um número de factores antimicrobianos únicos para o pulmão, incluindo as proteínas do surfactante (membros da família das coletinas) e defensas.

Outro grupo de proteínas envolvidas na defesa de microrganismos é o da elafin e da *secretory leucocyte protease inhibitor* (SLPI), secretadas predominantemente nas superfícies mucosas e com actividade antiproteásica e de modulação à resposta desencadeada pela estimulação de lipopolissacarídeos. São sintetizadas e secretadas localmente em resposta às citocinas que promovem a resposta inflamatória aguda. Ao contrário das proteases sistémicas, como a α 1- antiprotease, que tem produção hepática e chegam ao pulmão por via sistémica, a SLPI é expressa constitucionalmente pelas células epiteliais pulmonares, sendo também produzida por células inflamatórias, como neutrófilos, macrófagos e mastócitos.

As células epiteliais podem também ser estimuladas por componentes bacterianos, como lipopolissacarídeos, citocinas, como TNF α e IL-1 β , para expressar vários produtos de genes envolvidos na resposta inflamatória, como citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, ROS e de nitrogénio, receptores de citocinas e de factores de crescimento, receptores para factores da coagulação, PAR, receptor do activador do plasminogénio e TLR^{44,45}.

Se os patogéneos ultrapassam as defesas solúveis, podem interagir com receptores pre-

sentes na membrana plasmática, como os TLR, que reconhecem moléculas específicas de microrganismos, os PAMP, conforme foi referido⁴⁶.

As doenças infecciosas e o *stress* ambiental são ainda capazes de induzir alterações a nível da célula epitelial susceptíveis de modificar a sua resposta a estimulações futuras, nomeadamente a ampliar a resposta a outras agressões infecciosas.

Biópsias brônquicas e lavado broncoalveolar demonstram que os rinovírus infectam preferencialmente células epiteliais das vias aéreas usando como receptores a molécula de adesão intracelular *intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1) e a *very-low-density lipoprotein* (VLDL). Na asma, a produção deficiente de IFN β , citocina responsável por iniciar a apoptose e a *clearance* dos vírus, assim como pela activação de um grande número de vias de protecção antiviral, pode ser uma causa facilitadora da infecção com rinovírus.

A infecção por *influenza* aumenta a susceptibilidade a infecções bacterianas secundárias por expor adesina para as criptas bacterianas ou receptores à superfície da célula epitelial, enquanto o adenovírus facilita a adesão bacteriana subsequente. Estas alterações tendem a prolongar-se na asma, aumentando a fragilidade epitelial, a descamação e a hiperplasia das células caliciformes^{47,48}.

As células epiteliais aumentam a expressão de TLR durante a infecção pelo *respiratory syncytial virus* (RSV) e pelo vírus da *influenza*, que pode ser mediado pela libertação de IFN pelos macrófagos infectados. Como muitas vias de sinalização activadas através de receptores são partilhadas, podem ocorrer modificações ao nível de expressão ou do estado de fosforilação das moléculas, subse-

quente ao reconhecimento primário de microrganismos. Este facto pode exacerbar por sinergismo a resposta inflamatória durante períodos de sobreinfecção ou pode, mais raramente, conduzir a uma atenuação do sinal. Foi observada resposta reduzida no recrutamento de células inflamatórias em resposta aos PAMP após infecção viral aguda^{49,50}.

Na primeira infecção, a integridade epitelial é restaurada a partir de progenitores da medula óssea e por *stem cells* locais, num processo controlado pela interacção com células sentinelas vizinhas com origem no mesênquima, como por exemplo fibroblastos. Estas células do mesênquima podem manter memória em resposta à infecção primitiva e promover a formação subsequente de epitélio regenerado⁵¹.

O epitélio brônquico tem assim funções de barreira que lhe permite exercer uma permeabilidade selectiva, a nível intracelular e transcelular, é ainda metabolicamente activo pelas capacidade de produzir mediadores quimiotácticos e citocinas envolvidos no recrutamento e na activação celular, com repercussão na broncomotricidade e na remodelação da parede brônquica.

Bibliografia

1. Bousquet Jean, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(5):1720-1745.
2. Todo-Bom A, Mota Pinto A. Fisiopatologia da asma grave. *Rev Port Imunoalergol* 2006;14(Supl 2):43-48.
3. Hammad Hamida, Lambrecht BN, Hammad H, Lambrecht BN. Recent progress in the biology of airway dendritic cells and implications for understanding the regulation of asthmatic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:331-336.

4. Kim Chang H. Regulation of FoxP3+ Regulatory T Cells and Th17 cells by retinoids. *Clin Dev Immunol* 2008;(416910):1-12.
5. Larché Mark. Regulatory T cells in allergy and asthma. *Chest* 2007;132:1007-1014.
6. Kearley Jennifer, Robinson DS, Lloyd CM. CD4+CD25+ regulatory T cells reverse established allergic airway inflammation and prevent airway remodeling. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(3):617-624.
7. Barbato Angelo, Turato G, Baraldo S, Bazzan E, Calabrese F, Panizzolo C, *et al.* Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:975-981.
8. Knight Darryl. Increased permeability of asthmatic epithelial cells to pollutants: does this mean that they are intrinsically abnormal? *Clin Exp Allergy* 2002; 32:1263-1265.
9. Vroiling AB, Fokkens WJ, van Drunen CM. How epithelial cells detect danger: aiding the immune response. *Allergy* 2008;63(9):1110-1123
10. Colognato Renato, Slupsky JR, Jendrach M, Burysek L, Syrovets T, Simmet T. Differential expression and regulation of protease-activated receptors in human peripheral monocytes and monocyte-derived antigen-presenting cells. *Blood* 2003;102:2645-2652.
11. Hammad Hamida, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nature Rev* 2008;8:193-204.
12. Tai HY, Tam MF, Chou H, Peng HJ, Su SN, Perng DW, Shen HD. Pen ch 13 allergen induces secretion of mediators and degradation of occludin protein of human lung epithelial cells. *Allergy* 2006;61:382-388.
13. Cortes L, Carvalho AL, Todo-Bom A, Faro C, Pires E, Veríssimo P. Purification of a novel aminopeptidase from the pollen of *parietária-judaica* that alters epithelial integrity and degrades neuropeptides. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(4):878-884.
14. Kawai Taro, Akira S. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol* 2005;17:338-344.
15. Laurent Geoffrey J. No Bit PARt for PAR-1. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;33:213-215.
16. Suzuki Tomoko, Moraes TJ, Vachon E, Ginzberg HH, Huang TT, Matthay MA, *et al.* Proteinase-activated receptor-1 mediates elastase-induced apoptosis of human lung epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33:231-247.
17. Ebeling Cory, Lam T, Gordon JR, Hollenberg MD, Vliagoftis H. Proteinase-activated receptor-2 promotes allergic sensitization to an inhaled antigen through a TNF-mediated pathway. *J Immunol* 2007;179:2910-2917.
18. Rahman Irfan, Biswas SK, Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur J Pharmacol* 2006;533:222-239.
19. Comhair Susy A, Bhatena PR, Farver C, Thunnissen FB, Erzurum SC. Extracellular glutathione peroxidase induction in asthmatic lungs: evidence for redox regulation of expression in human airway epithelial cells. *FASEB J* 2001;15:70-78.
20. Hammad Hamida, Charbonnier AS, Duez C, Jacques Astewart GA, Tonnel A-B, *et al.* TH2 polarization by Der p 1– pulsed monocyte-derived dendritic cells is due to the allergic status of the donors. *Blood* 2001;98:1135-1141.
21. Holgate Stephen T. The epithelium takes centre stage in asthma and atopic dermatitis. *Trends Immunol* 2007;28:248-251.
22. Arima Masafumi, Fukuda T. Novel functions of two chemokines in allergic disease thymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17 and macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22. *Allergy Clin Immunol Int – J World Allergy Org* 2006; 18(2):58-64.
23. Ying Sun, O'Connor B, Ratoff J, Meng Q, Mallett K, Cousins D, *et al.* Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity. *J Immunol* 2005;174:8183-8190.
24. Todo-Bom Ana, Mota Pinto A, Vale Pereira S, Alves V, Dourado M, Santos Rosa M. Substance P in long-lasting asthma: Immunoinflammatory pathways. *Allergy Clin Immunol Int – J World Allergy Org* 2006; 18(6):242-248.
25. Springer Jochen, Groneberg DA, Pregla R, Fischer A. Inflammatory cells as source of tachykinin-induced mucus secretion in chronic bronchitis. *Regul Pept* 2005;124(1-3):195-201.
26. Holgate Stephen T, Davies DE, Lackie PM, Wilson SJ, Puddicombe SM, Lordan JL. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:193-204.
27. Hackett Tillie-Louise, Knight DA. The role of epithelial injury and repair in the origins of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007;7:63-68.
28. Tesfaigzi Y. Processes involved in the repair of injured airway epithelia. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2003;51:283-288.
29. Allakhverdi Zoufia, Comeau MR, Jessup HK, Yoon BR, Brewer A, Chartier S, *et al.* Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* 2007;204:253-258.

30. Liu Yong-Jun, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt RW, *et al.* TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol* 2007;25:193-219.
31. Leonard Warren J. TSLP: finally in the limelight. *Nature Immunol* 2002;3:605-607.
32. Fedorov IA, Wilson SJ, Davies DE, Holgate ST. Epithelial stress and structural remodelling in childhood asthma. *Thorax* 2005;60:389-394.
33. Zanini Andrea, Chetta A, Saetta M, Baraldo S, D'Ippolito R, Castagnaro A, *et al.* Chymase-positive mast cells play a role in the vascular component of airway remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:329-333.
34. Zhang Shaoli, Smartt H, Holgate ST, Roche WR. Growth factors secreted by bronchial epithelial cells control myofibroblast proliferation: an *in vitro* co-culture model of airway remodeling in asthma. *Lab Invest* 1999;79: 395-405.
35. Phipps Simon, Benyahia F, Ou TT, Barkans J, Robinson DS, Kay AB. Acute allergen-induced airway remodeling in atopic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:626-632.
36. Willis Brigham C, Borok Z. TGF-beta-induced EMT: mechanisms and implications for fibrotic lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;293:L525-L534.
37. Nihlberg Kristian, Larsen K, Hultgardh-Nilsson A, Malmstrom A, Bjermer L, Westergren-Thorsson G. Tissue fibrocytes in patients with mild asthma: a possible link to thickness of reticular basement membrane? *Respir Res* 2006;7:50.
38. Chen Yin, Zhao YH, Di YP, Wu R. Characterization of human mucin 5B gene expression in airway epithelium and the genomic clone of the amino-terminal and 5-flanking region. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:542-553.
39. Burgel Pierre-Régis, Montani D, Danel C, Dusser DJ, Nadel JA. A morphometric study of mucins and small airway plugging in cystic fibrosis. *Thorax* 2007;62:153-161.
40. Deshmukh Hitesh S, Case LM, Wesselkamper SC, Borchers MT, Martin LD, Shertzer HG, *et al.* Metalloproteinases mediate mucin 5AC expression by epidermal growth factor receptor activation. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:305-314.
41. Lordan James L, Bucchieri F, Richter A, Konstantinidis A, Holloway JW, Thormber M, *et al.* Cooperative effects of Th2 cytokines and allergen on normal and asthmatic bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2002;169:407-414.
42. Zhou Beiyun, Ann DK, Li X, Kim KJ, Lin H, Minoo P, *et al.* Hypertonic induction of aquaporin-5: novel role of hypoxia-inducible factor-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007;292:C1280-C1290.
43. Sidhaye Venkataramana K, Schweitzer KS, Caterina MJ, Shimoda L, King LS. Shear stress regulates aquaporin-5 and airway epithelial barrier function. *PNAS* 2008; 105(9):3345-3350.
44. O'Neill Luke A, Bowie AG. The family of five: TIR domain-containing adaptors in Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol* 2007;7(5):353-364.
45. Wright Jo Rae. The "wisdom" of lung surfactant: balancing host defense and surface tension-reducing functions. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 291(5):L847-L850.
46. Fleer André, Krediet TG. Innate immunity: toll-like receptors and some more. a brief history, basic organization and relevance for the human newborn. *Neonatology* 2007;92(3):145-157.
47. McCullers Jonathan A, Bartmess KC. Role of neuraminidase in lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 2003; 187: 1000-1009.
48. Bai Tony R, Knight DA. Structural changes in the airways in asthma observations and consequences. *Clin Sci (Lond)* 2005;108:463-477.
49. Ratner Adam J, Lysenko ES, Paul MN, Weiser JN. Synergistic proinflammatory responses induced by polymicrobial colonization of epithelial surfaces. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2005;102:3429-3434.
50. Goulding J, Snelgrove R, Saldana J, Didierlaurent A, Cavanagh M, Gwyer E, *et al.* Respiratory infections. Do we ever recover? *Proc Am Thorac Soc* 2007; 4:618-625.
51. Torday JS, Rehan VK. The evolutionary continuum from lung development to homeostasis and repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L608-L611.