

Os bastidores da Asma Grave

Severe asthma: Behind the scenes of severe asthma

Resumo



Thiago Prudente Bartholo¹

Rafaela Vieira Ferreira da Silva², Paulo Roberto Chauvet Coelho³, Barbara Beatriz Garcia Raskovisch Bartholo⁴

¹ Professor Adjunto da Disciplina de Pneumologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ Mestre e Doutor em Ciências Médicas pela FCM – UERJ ; Coordenador da Pneumologia – Clínica Cliged

² Médica do Serviço de Pneumologia – HUPE/UERJ

³ Médico do Serviço de Pneumologia – HUPE/UERJ

⁴ Médica do Serviço de Obstetrícia – HUPE/UERJ ; Mestre em Ciências Médica pela FCM – UERJ ; Doutoranda da Disciplina de Pneumologia e Tisiologia FCM – UERJ

E-mail: thi prubart@hotmail.com

Os bastidores da asma grave, ou seja, o que está por trás em termos genéticos, epigenéticos e inflamatórios que leva nosso paciente a apresentar sintomas relacionados a asma, progressão de doença, não resposta a ferramentas medicamentosas inalatórias e ao final definirmos se tratar de asma grave.

Neste capítulo iremos revisit conceitos de genética e epigenética e entender a importância deste conhecimento que muitas vezes é dito como específico, mas que deve ser compreendido. Além desta aventura nas bases genéticas e epigéticas faremos uma breve revisão sobre a inflamação na asma entendendo de forma prática como classificar nosso paciente identificando os principais atores envolvidos nesta fantástica interação imunológica.

Outros dois aspectos que terão destaque são o microbioma e o plug mucoso. O primeiro influencia diretamente na resposta inflamatória da asma e tem sido cada vez mais estudado. O segundo está em evidência e cada vez mais entendemos o papel deste provável futuro biomarcador de Asma Grave.

Agora que entendemos o objetivo do artigo estamos prontos para viajar nos bastidores dessa doença tão prevalente e que infelizmente ainda é responsável por óbitos em nosso país.

Palavras chave: Genética; Epigenética; Microbioma; Inflamação T2; Plug Mucoso.

Abstract

Behind the scenes aspects of severe asthma, that is, what lies behind the genetic, epigenetic, and inflammatory factors that lead our patient to present asthma-related symptoms, disease progression, non-response to inhaled medication tools, and ultimately determine that our patients have severe asthma. In this chapter, we will revisit concepts of genetics and epigenetics and understand the importance of this knowledge, which is often described as specific but must be understood. In addition to this exploration of genetic and epigenetic bases, we will briefly review inflammation in asthma, understanding in a practical way how to classify our patient by identifying the main actors involved in this fantastic immunological interaction. Two other aspects that will be highlighted are the microbiome and the mucus plug. The first directly influences the inflammatory response of asthma and has been increasingly studied. The second is in evidence, and we



increasingly understand the role of this likely future biomarker of severe asthma. Now that we understand the purpose of the article, we are ready to delve into the behind the scenes story of this highly prevalent disease, which unfortunately is still responsible for deaths in our country.

Keywords: Genetics; Epigenetics; Microbioma; T2 inflammation; Mucus Plug.





Introdução

Este artigo visa percorrer diversos pontos importantes que juntos culminam com o aparecimento de sintomas de asma nos nossos pacientes. Com isso, dividimos em quatro pontos principais: Genética /epigenética; cascata inflamatória; microbioma e por último plug mucoso.

1) Genética e Epigenética

Vamos iniciar então por um assunto árduo que é relação entre genética/epigenética e asma. Muitas vezes, quando nos deparamos com este tema, temos a impressão de que se trata de algo pouco palpável e que não tem relação com a nossa prática clínica. Tudo se inicia a partir da predisposição genética. E quando esta entra em contato com o meio pode gerar interação e levar ao aparecimento de doença. Esta interação chamamos de epigenética. Vamos revisitar os conceitos de genética e epigenética.

Genética estuda a sequência do DNA, sequências de nucleotídeos e seus polimorfismos, mutações e hereditariedade, ou seja, o código presente no DNA. Por outro lado, os mecanismos de epigenética ligam ou desligam os genes após determinada exposição. No caso da asma exposições ambientais principalmente. Não há mudança do DNA havendo apenas alteração da expressão gênica. Existem diferentes mecanismos epigenéticos que podem levar a metilações, acetilações e outros^{1,2}.

Com relação a genética diversos são os mecanismos genéticos que levam a predisposição a asma . O principal foco dos estudos em asma é a identificação de polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs)².

Aqui vamos parar para entender. Os SNPs demonstram diferenças dos nucleotídeos presentes em um loci específico. Ou seja, a troca de um nucleotídeo pelo outro que o torna diferente daquele que chamamos de selvagem, ou seja, o mais prevalente na população. O SNP deve estar presente em mais de 1% da população. Em sendo menor que 1% chamamos de mutação. Cada SNP tem um “endereço” expresso pelo cromossoma onde ele está presente e seu loci específico determinado sempre pelo rs + um número. Dependendo do SNP encontrado este pode sugerir ser fator de risco, porém outros podem ser descritos como protetores. Temos que ter em mente que a asma





muitas vezes é poligênica e relacionada a interação entre dois ou mais polimorfismos presentes no mesmo indivíduo. Estes geralmente são associados a hereditariedade e podem estar presentes em áreas codificadas ou em áreas não codificadas do genoma determinando a sua expressão ou não. Se não expressas podem ser apenas marcadores de risco. Muitos destes polimorfismos também podem demonstrar probabilidade de maior gravidade da doença podendo no futuro serem explorados dentro da prática clínica, assim como, os que são associados a fator de risco.^{3,4}

A hereditariedade estimada da asma é de 36 a 79%. Estudo de associação genômica ampla (GWAS) identificou ao longo dos anos diversos locis e SNPs associados a asma. Outros estudos como meta análise realizada a partir dos dados do UK Biobank identificou 66 novos loci de asma juntando-se aos 212 já previamente identificados. Todos estes foram identificados em pacientes com asma na infância e asma na idade adulta.⁵

A identificação de locis específicos associados com asma e os mecanismos moleculares nos quais cada loci afeta o risco de desenvolvimento de asma ajudará a comunidade científica a entender a relação entre os genes e patogênese da asma desvendando novas interações imunológicas que podem ser utilizadas para desenvolvimento de tratamentos futuros.^{5,6}

Tentando trazer um pouco para a realidade os genes e principalmente seus polimorfismos nucleotípicos simples se associam a genes que transcrevem atores conhecidos de todos nós como as principais interleucinas T2, as alarminas como TSLP e IL-33 além de atores envolvidos na asma não T2. Não é de se admirar que cada um destes polimorfismos podem levar a alteração em pontos específicos da cascata inflamatória influenciando em toda interação que cada um destes atores desenvolvem aumentando o risco de asma. E dependendo de cada um destes atores pode-se identificar predisposição a perfis distintos de asma relacionada a alguns destes.⁶

A relação genética com a cascata inflamatória que esta hoje em voga é cada vez mais descrita. Vamos a alguns exemplos. O consórcio EVE associou susceptibilidade a asma em pacientes com SNP próximo ao gene IL33 (rs2381416) e próximo ao gene do receptor de IL-33 (IL1RL1) (rs10173081). Outras correlações como SNP (rs1837253) do TSLP demonstrou proteção contra asma T2. Esta auxiliou cientificamente para se iniciar o desenvolvimento de drogas anti-TSLP.⁷ Metanálise do GWAS identificou





suscetibilidade a presença de asma T2 em SNPs próximos a IL-13 e IL-4. Esta também foi importante para entender melhor a via inflamatória e desenvolver drogas anti-IL13. Diversos outros pontos da cascata inflamatória tem SNPs descritos como STAT6, PDEA4, IL18R1 e muitos outros.⁸

GWAS aponta que a superexpressão do oromucoid-like 3 pode estar na base da asma paucigranulocítica, inibindo a síntese de esfingolipídios e ceramidas, o que, por sua vez, leva à hiperreatividade e remodelamento das vias aéreas sem inflamação.⁹

Existe ainda uma correlação entre genética e uma das grandes perguntas da anamnese: Quando começou sua asma? Na infância ou na idade adulta? Em estudo de Pividori et al observou diferença entre locis genéticos destes dois perfis. Foram identificados 61 locis distintos associados a asma. Destes, 23 observou-se serem específicos de asma iniciada na infância, 37 presente nos dois perfis enquanto apenas 1 associado especificamente a asma de início na idade adulta. Este achado sugere uma forte influência genética na asma de início na infância.¹⁰ Estes achados foram corroborados por estudo realizado por Ferreira et al que também descreveu um menor número de locis associados a asma de início na idade adulta podendo indicar que nesta o componente genético apesar de importante divide espaço interagindo com exposições específicas e comorbidades.^{2,11}

Este sub item do artigo não se propõe a descrever todas as correlações genéticas de risco ou proteção associadas a asma, porém a partir dos exemplos acima podemos entender que a genética junto a epigenética descrita a seguir tem total relação com o que vemos em nosso dia a dia e que elas serão a próxima fronteira em relação aos tratamentos da asma.

Com relação a epigenética os três principais mecanismos são: metilação do DNA, alterações ao nível das histonas como metilação e acetilação e, por último, a alteração do micro RNA.^{1,12}

A metilação do DNA faz a adição de um grupo metil a um nucleotídeo de citosina no DNA. A presença de um grupo metil no DNA bloqueia partes do DNA serem acessadas impedindo a transcrição do DNA. Com isso, esta parte do DNA se torna silenciosa e não será lida e nem expressada.¹²

Alterações da histona: Vamos revisitar o conceito relacionado a histona. As histonas são proteínas nas quais o cromossoma se enovelha ou desenovelha. Histonas





junto ao DNA é conhecido como cromatina. Quando a região final das histonas sofre alguma modificação esta altera a cromatina. Com isso, o DNA é enovelado (torna-se invisível) ou desenovelado (torna-se visível e acessível). As principais alterações que ocorrem na região final das histonas são acetilação e metilação. A acetilação na maioria dos casos gera desenovelamento enquanto a metilação pode enovelar ou desenovelar.¹²

O terceiro mecanismo mais comum é a alteração do micro RNA. Estes são RNAs que não são codificados, mas que alteram a expressão do RNA mensageiro. Geralmente estes bloqueiam a transcrição de um RNAm específico.¹

Diferentes alterações epigenéticas são relacionadas a asma. Desligando ou ligando genes associados a asma teremos a presença ou não de asma, de maior gravidade da asma, alterações relacionadas aos principais atores da asma e outros.

A seguir algumas das diversas interações já descritas na literatura. Prunicki et al. descreveu exposição a monóxido de carbono e dióxido de nitrogênio na região do gene FoxP3 e IL-10 levam a metilação desta parte do DNA sendo fator de risco para asma na infância.¹³ Reinius et al. 2013 descreveu aumento da metilação do DNA na região do gene da NPSR1 após exposição ativa ou passiva a tabaco levando a asma grave em adultos e asma alérgica em crianças.¹⁴

O entendimento destas interações epigenéticas apresenta grande potencial para o futuro desenvolvimento de medicamentos específicos para cada perfil de interação que levará a uma terapia alvo cada vez mais assertiva.

2) Inflamação na Asma

A asma é reconhecidamente uma doença inflamatória. Esse conceito apesar de bem sedimentado é relativamente recente. Apenas no início dos anos 2000 este conceito ganhou grande força desbancando a máxima histórica de que a asma seria uma doença estritamente broncoconstritora. Hoje sabemos que a inflamação gera broncoconstrição, remodelamento, espessamento de parede brônquica e diversas outras alterações que culminam com sintomas, redução da qualidade de vida e distúrbio ventilatório obstrutivo observado na espirometria.^{15, 16}

Não temos como iniciar falando de inflamação sem pausar e gerar dois conceitos básicos. Endótipo e fenótipo. O endótipo se refere aos mecanismos fisiopatológicos





moleculares relacionadas aquele tipo inflamatório. O fenótipo é justamente a expressão que podemos observar classificando o indivíduo de forma individualizada.¹⁷

Vamos ao primeiro conceito de asma. Para entender os mecanismos inflamatórios é importante definir se estamos diante de Asma T2 ou asma não T2. Esta divisão é definida principalmente após a análise de biomarcadores que serão melhor revisados no capítulo três.¹⁷

De forma sucinta utilizamos os biomarcadores para classificar o paciente como T2 alto caso apresente apenas um dos seguintes biomarcadores: eosinofilia (>150 células· μL^{-1}) OU FeNO elevado (>20 ppb) OU eosinófilos no escarro ($>2\%$) OU Asma classicamente desencadeada por componte atópico (observado a partir da análise da IgE total e IgE aeroalérgenos ou prick test). Caso nenhum esteja presente classificamos como asma não T2.¹⁷

A partir desta primeira diferenciação ainda podemos subclassificar tanto a asma T2 quanto a não T2. A asma T2 pode ser subdividida em T2 atópica e T2 eosinofílica não atópica. A asma não T2 pode ser subdividida em asma neutrofílica e asma paucigranulocítica. A partir deste ponto vamos revisar cada uma destas destacando os principais mecanismos e principais atores de cada um.^{17, 18}

Vamos iniciar pela asma menos prevalente que é a asma não T2. Minha experiência é que a grande maioria dos leitores se interessam apenas pela asma T2 e começando pela asma não T2 talvez possamos mudar um pouco esta tendência do leitor.

Asma não T2 neutrofílica

Como vimos, asma não T2 é aquela que não preenche nenhum critério para asma T2. E quando vamos definir que estamos diante de asma neutrofílica? Esta se caracteriza como Asma não T2 com presença de 60-76% de neutrófilos no escarro induzido dependendo da literatura. Percebemos com isso que é difícil na prática clínica definirmos com assertividade que estamos diante de asma neutrofílica dada a dificuldade de avaliação do escarro. Porém devemos estar atentos naqueles paciente que definimos inicialmente ser não T2 e que apresentam asma de início na idade adulta, maior resistência a corticoterapia, menor resposta broncodilatadora e uma função pulmonar reduzida. Comorbidades como obesidade, refluxo gastroesofágico e história



de exposição a tabagismo devem ser exploradas na anamnese e são comumente encontradas em pacientes com asma neutrofílica.^{19,20}

Do ponto de vista da intimidade da inflamação a asma neutrofílica é caracterizada por respostas adaptativas Th1 e Th17. As células epiteliais lesadas principalmente por exposição a patógenos e poluentes aumentam os níveis de IL-8 e fator de estimulação de colônias de granulócitos. Estes aumentam a inflamação neutrofílica. Os macrófagos M1 também são importantes neste processo. Neutrófilos ativados liberam proteases de neutrófilo como a elastase e outras perpetuando ainda mais o processo inflamatório. As células Th17 ativadas também contribuem para a inflamação das vias aéreas na asma neutrofílica, produzindo altos níveis de IL-17 que atuam nas células epiteliais das vias aéreas, induzindo a secreção de IL-8 e CXCL1, além de potencializar remodelamento de via aérea e hiperresponsividade brônquica. Microbioma, que abordaremos no próximo item, a partir da ativação do inflamossoma tem intensa relação com asma neutrofílica sendo cada vez mais descrita esta associação principalmente associado a colonização por *Haemophilus* na via aérea.^{21, 22, 23, 24}

Asma não T2 paucigranulocítica

Neste subtipo de asma não T2 teremos ainda mais dificuldade de identificar o paciente na prática. O paciente tem que ser não T2 e ter menos de 60% de neutrófilos no escarro. Com isso, nos deparamos com a mesma dificuldade que encontramos na asma neutrofílica. A asma paucigranulocítica ainda é pouco entendida e o nome descreve de forma intuitiva o observado em relação a inflamação. Paucigranulocítica = pouco granulócitos, ou seja, nem eosinófilo e nem neutrófilo predominando. Hipertrofia da musculatura lisa, remodelamento brônquico e espessamento da membrana basal junto a hiperresponsividade com obstrução fixa de via aérea são características desse subtipo de asma.^{21, 23}

Os principais atores aqui são células epiteliais, células da musculatura lisa, terminações neuronais e alterações em microvasos. Junto ao TNF- α , Interferon tipo 1 e 2, IL-6, IL-8, quimiocinas, prostaglandinas e eicosanoides que geram hiperplasia tecidual, hiperreatividade da via aérea e remodelamento e culminam com a presença de asma pouco responsiva a corticoterapia.^{21, 23}



Agora vamos para o endótipo asma mais prevalente que é a asma T2 e seus subtipos.

-Asma T2 atópica:

Na asma T2 ainda podemos dizer que a asma atópica é a mais comum e se caracteriza geralmente por início da asma na infância, IgE total elevado com IgE aeroalérgenos positivos ou Prick test positivo e asma characteristicamente desencadeada por exposição a alergenos. Outras doenças atópicas que aparecem na marcha atópica da criança geralmente são encontradas de forma concomitante como rinite alérgica, dermatite atópica e alergia alimentar.¹⁷

O mecanismo inicial é a agressão do epitélio respiratório causada por alergenos. Quando agredidas as células epiteliais perdem suas juncções e levam aumento da permeabilidade que culminam com a entrada de patógenos e alérgenos na submucosa. É nesse momento que as famosas alarminas são liberadas pelas células epiteliais dando literalmente o alarme de que estas estão sendo agredidas. A linfopeitina estromal tímica (TSLP), IL-33 e IL-25 são liberadas e desencadeam um processo de exacerbação da resposta T2.²⁵

Neste ponto, as células dendríticas iniciam sua ação de fagocitose dos alergenos estimuladas principalmente pelo TSLP. O TSLP favorece expressão de OX40L nas células dendríticas. Devemos estar atentos ao OX40L, pois possivelmente será um mecanismo presente em futuras drogas para controle da asma. O OX40L se liga ao OX40 da célula T favorecendo a diferenciação de célula T naïve para célula T helper tipo 2 (Th2). A célula Th2, por sua vez, libera IL-4, IL-5 e IL-13. Chegamos então às três principais interleucinas. A IL-4 estimula a célula B a realizar um switch na produção de imunoglobulinas. As células B passam a produzir de forma mais intensa IgE, ao invés, de IgM e IgG. A IgE se liga aos mastócitos e basófilos e leva a degranulação destes liberando heparina, proteínas anafiláticas e outras. Todas estas geram mais inflamação, broncoconstricção, aumento da permeabilidade vascular e produção de muco. Tudo isso faz com que o nosso paciente atópico apresente sintomas após exposição aos alérgenos. A IL-5 também apresenta papel importante, já que tem intensa correlação com os eosinófilos aumentando sobrevida, maturação e proliferação desta célula. Porém cada vez mais descrevem-se ações da IL-5 além dos eosinófilos





tendo esta uma ação ampla em diversos pontos da cascata inflamatória incluindo remodelamento brônquico, já que ativa transformação de fibroblasto em miofibroblasto. A IL-13, por sua vez, quebra barreira epitelial, aumenta a produção de óxido nítrico ao ativar a óxido nítrico sintetase aumentando o valor do FeNO, hiperresponsividade brônquica, remodelamento brônquico, hipertrofia de musculatura lisa, carreia, junto a IL-4 e IL-5, os eosinófilos no sangue e aumenta a produção de muco. Geralmente não falamos muito dos macrófagos, mas este após polarização M2 na resposta T2 tem diversas ações como ativação de TGF- beta que induz fibrose.^{21, 26, 27}

Neste fenótipo iremos na prática identificar pacientes com início de asma na infância, IgE total elevado com IgE aerolérgenos elevados ou prick test positivo geralmente com comorbidades T2 atópicas associadas. Eosinófilo baixo ou pouco elevado.¹⁷

-Asma T2 eosinofílica não atópica:

O outro subtipo de inflamação T2 na asma é a T2 eosinofílica não atópica onde o nome é bem intuitivo. Aqui o eosinófilo predomina e não há resposta a sensibilização alérgica. A célula desencadeante principal é a célula inata tipo 2 (ILC2). Marca-se aqui uma asma de início na idade adulta e que temos que pesquisar sempre a presença de rinossinusite com polipose nasal. Aqui também temos a presença das alarminas TSLP, IL-33 e IL-25, mas a agressão não é mais por alergeno, mas sim por agentes bacterianos, virais e agentes de poluição ambiental. As alarminas ativam nossa atriz principal que é a célula inata tipo 2 (ILC2). Esta produz IL-4, mas principalmente IL-5 e IL-13. As ações destas interleucinas são as mesmas da asma T2 alérgica, porém aqui a IL-5 tem papel muito importante junto a IL-13.^{21, 26, 27}

Na prática iremos identificar estes pacientes quando houver eosinófilos elevados, ausência de componente atópico (com IgE total e IgE aeroalérgenos normais ou prick test negativo) associado a asma de início na idade adulta.¹⁷

Antes de terminarmos uma boa pergunta é... E quando temos IgE total elevada com componente alérgico presente e eosinófilos muito elevados ? Neste caso, classificaremos como asma T2 mista.¹⁷





3) Microbioma

Junto a estes mecanismos ainda existe outro fator importante que é o microbioma. De forma sucinta vamos observar como o microbioma pode influenciar na asma, porém o leitor deve estar ciente de que microbioma e asma é um mundo a parte e merece estudo específico com literatura dedicada.

Primeiro vamos revisitar dois conceitos: Microbioma e Microbiota. Microbioma é o resumo de micróbios e seus elementos genômicos no ambiente. Microbiota, por sua vez, é a comunidade de micróbios em microambiente específico.²⁸

O corpo humano possui diversos hóspedes distribuídos em diversos ecossistemas microbianos compostos por mais de dez mil espécies que influenciam na regulação do metabolismo dos nutrientes e também na homeostase imune. O desequilíbrio entre espécies benéficas e espécies patogênicas destas comunidades microbiotas é conhecido como processo de disbiose e contribuiu para o início e progressão de diversas doenças imunomediadas incluindo asma.²⁹

A asma está intimamente associada a alterações tanto no microbioma intestinal quanto no microbioma de via aérea. A disbiose nas comunidades do microbioma do eixo intestino- via aérea influenciam no desenvolvimento, gravidade e também no fenótipo da asma. Mudanças principalmente relacionadas a diversidade da microbiota junto a modificação relativa em predominância desta são gatilhos da desregulação do eixo intestino via aérea e são associadas ao aparecimento de asma. Este mecanismo ocorre dado que a presença de uma dada bactéria pode levar a ativação e/ou desregulação de uma via inflamatória que contribui para broncoconstricção e hiperresponsividade brônquica por exemplo.^{30,31}

Alterações no microbioma estão também associadas ao momento de início da asma. As relações imuno-microbianas no início da vida são importantes para o desenvolvimento do microbioma. A primeira exposição microbiana ocorre durante o parto, quando os recém-nascidos são expostos ao canal vaginal ou pele materna no caso de cesarianas, resultando na formação do microbioma inicial das vias aéreas neonatais. Além da cesariana, a alimentação com fórmula infantil e o uso de antibióticos também estão associados ao desenvolvimento diferenciado do microbioma das vias aéreas. O microbioma das vias aéreas é altamente dinâmico durante os primeiros anos de vida. Alterações no microbioma estão associadas ao início e à gravidade da asma.^{28,31,32}





Uma característica dos micróbios é a sua capacidade de ser reconhecido e apresentado pelo sistema imunológico. Fungos, bactérias e vírus respiratórios são reconhecidos por receptores inatos, incluindo receptores Toll-like (TLRs) que, quando estimulados, ativam os fatores de transcrição NFκB, com a possível indução resultante de mais de 100 genes pró-inflamatórios e de resposta do hospedeiro. Os microrganismos podem afetar a permeabilidade do epitélio, aumentando o risco de infecção, afetando a integridade epitelial por invasão das células epiteliais, levando à morte celular e descamação. Ao comprometer o epitélio, a subsequente absorção de alérgenos e o efeito da exposição ambiental a poluentes podem causar uma maior possibilidade de desenvolvimento de novas exacerbações e uma resposta imune exacerbada, aumentando o risco de uma resposta patogênica e desenvolvimento de asma. Pacientes com asma apresentam um risco aumentado de infecção bacteriana e, por meio de técnicas dependentes e independentes de cultura, observou-se um aumento na colonização por bactérias respiratórias patogênicas. Estudos de coorte mostraram que o aumento da colonização por bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Moraxella catarrhalis* no início da vida pode estar associado ao risco de asma e ao desenvolvimento de sibilos recorrentes em crianças nascidas de mães asmáticas.^{28,33}

Veillonella abundante na via aérea está associada a sibilância em crianças , assim como, a *Prevotella* aumentada também está associada a sibilância e asma em crianças. Asma T2 com IgE elevado e eosionófilo elevado observa-se em alguns pacientes aumento de *Moraxella* dominante em microbiota de nasofaringe .^{28,34,35}

Asma não T2 neutrofílica apresentou níveis mais elevados de *Haemophilus*, além de níveis reduzidos de comensais respiratórios característicos incluindo *Gemella*, *Streptococcus* e *Rothia*. Este endótipo é classicamente associado a colonização por *Haemophilus* sendo este um ator importante. Crianças hospitalizadas com bronquiolite por Rinovírus e com perfil não T2 apresentaram microbiota predominante e rica em *Haemophilus*. A presença abundante desta bactéria está associada a aumento da regulação gênica das células Th17e também associada a aumento de CXCL8 que é uma citocina importante no recrutamento de neutrófilos. Por outro lado, bactérias comensais como a *Aggregatibacter* tem ação protetora dado que são inversamente associados a IL1β que é um dos componentes do inflamossoma .^{28,34,35,36}





A microbiota intestinal pode ser fator protetor para asma. Taxas reduzidas de *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium* parecem estar relacionados a maior chance de aparecimento de asma.³⁷

Focar no microbioma é uma necessidade no manejo na asma. Não apenas no bacterioma, mas sim também no viroma e no micoma que também influenciam no controle da asma e que vem sendo cada vez mais reconhecidos.³⁸

A avaliação do impacto das terapias vigentes no microbioma deve ser cada vez mais entendida para que no futuro possamos utilizar este dado como mais um para aplicarmos na prática e traçarmos uma conduta cada vez mais individualizada levando em consideração diversos aspectos incluindo o microbioma de cada indivíduo. O microbioma como biomarcador de um traço tratável, uso de antibióticos específicos e o uso dos próprios micróbios para reverter a disbiose são possíveis implicações futuras a serem cada vez mais estudadas.³⁵

4) Plug mucoso

O plug mucoso na asma é o acúmulo anormal de muco que obstrui o lúmen brônquico limitando ainda mais o fluxo aéreo.³⁹

O muco é composto por água e pouca quantidade de proteínas, íons, detritos celulares e lipídios. O quanto que cada um destes componentes está presente determinará a viscosidade deste. As mucinas são as principais proteínas desta composição. Quem nunca ouviu falar em MUC5A e MUC5B? Estas são as duas principais mucinas e são produzidas pelas células caliciformes. Existe uma diferença importante entre estes dois. Quando o MUC5B predomina o muco é mais fluido facilitando a função mucociliar. Diferente do que ocorre quando predomina o MUC5AC que é torna o muco menos fluido e mais espesso predispondo a formação de plug mucoso.^{39, 40, 41}

A hidratação e a eliminação do muco por meio do batimento ciliar são tão importantes quanto a produção de mucina e, juntas, são fatores-chave para manter a função mucociliar normal e a saúde geral das vias aéreas. Após a secreção, as mucinas absorvem água, um processo rigorosamente regulado por canais iônicos, como o regulador da condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR) e os canais de Na⁺ epiteliais (ENaC). A interrupção desses mecanismos de transporte ou eliminação de





ions, como observado em condições como fibrose cística ou discinesia ciliar primária, resulta em muco desidratado e viscoso, propenso à estase.^{40, 42, 43, 44}

O plug mucoso é uma expressão da inflamação T2 particularmente relacionada a interleucina 1. Esta aumenta gera hiperplasia de células globosas, reduz a função e o número de células ciliares da via aérea. Além disso, aumenta a relação MUC5A/MUC5B dado que inibe a produção de MUC5B. Todas estas ações da IL-13 aumentam a produção de muco, reduzem o clearance mucociliar e aumentam a viscosidade do muco propicioando a formação do plug mucoso. IL-4 também participa do processo aumentando a produção de MUC5A^{39,45}

O eosinófilo também participa da formação do plug mucoso. Produtos da degranulação do eosinófilo, galectina 10 e os cristais de Charcot Leiden se juntam ao muco espesso e levam a um tampão ainda mais espesso. O eosinófilo ainda contribui com a formação de muco através do processo de Eetose, ou seja, liberação de material do núcleo celular com redes de DNA, histonas e granulinas para o meio extracelular. Proteínas liberadas dos grânulos de eosinófilos também contribuem para o aumento da viscosidade dos tampões mucosos.^{39,42,43}

Esses tampões organizados, enriquecidos com mucinas, detritos celulares, fibrina e mediadores inflamatórios, exacerbam a inflamação e a obstrução das vias aéreas, perpetuando um ciclo de disfunção. Além disso, os tampões de muco persistentes criam microambientes hipóxicos que exacerbam os danos à parede das vias aéreas por meio de múltiplos mecanismos.^{40, 43}

Devemos destacar também que os neutrófilos podem estar junto aos eosinófilos de plugs mucosos associados a T2. Quando da presença de neutrófilos os principais atores são as NETs (teias extracelulares de neutrófilos) junto a proteases de neutrófilos. Plugs mucosos podem aparecer em padrão inflamatório não T2 com a presença apenas de neutrófilos, porém esse é bem menos comum.⁴⁶

O plug mucoso descrito acima com eosinófilos e também neutrófilos é conhecido como granulocítico e parece estar associado a asma não fatal com inflamação persistente e crônica. Este pode permanecer presente por anos em pacientes com perfil de asma crônica.^{46,47}

Com o avanço no entendimento da fisiopatologia do plug mucoso recentemente observou-se um segundo subtipo de plug mucoso conhecido como paucigranulocítico.





Este tem poucas células inflamatórias sendo composto essencialmente por MUC5A e está associada a asma fatal. A presença de poucas células sugere um surgimento rápido destes plugs em resposta a ativação inflamatória e rápida hipersecreção de células globosas.⁴⁶

O plug mucoso deve ser cada vez mais valorizado na prática clínica. A solicitação de exame de tomografia computadorizada de tórax em pacientes com asma grave deve sempre conter no pedido a quantificação do score de muco. Este quantifica o número de segmentos onde se encontra a presença de plug mucoso na tomografia computadorizada de tórax. A presença de mais de quatro segmentos acometidos indica um score de muco elevado (maior ou igual a 4) está associado a VEF1 reduzido. Recentemente a ressonância magnética com Xe¹²⁹ foi descrita como uma ferramenta possível no futuro para visualizarmos de forma não invasiva os defeitos de ventilação causada pela presença de plug mucoso. Com isso, é bem possível que em pouco tempo reconheçamos o plug mucoso como um biomarcador de asma a ser utilizado na prática diária.^{46, 48, 49}

Clinicamente a presença de plug mucoso está associado a asma grave com obstrução persistente do fluxo aéreo e aumento de resistência de via aérea. Além disso, está associado a maior presença de sintomas de tosse e dispneia com necessidade de uma quantidade maior de medicações para controle da asma. Aumento de 20% no risco de exacerbão principalmente em pacientes com score de muco elevado comparado aqueles que não apresentam plug mucoso. Plug mucoso aumenta o risco de infecção persistente de via aérea principalmente relacionada a *Pseudomonas aeruginosa*.^{46, 47, 48, 50}

Um outro dado interessante é relação de plug mucoso e remodelamento brônquico dado que o epitélio associado ao plug mucoso apresenta espessamento significativamente maior quando comparada a via aérea sem plug mucoso.⁵¹

Hoje abre-se ainda a perspectiva de acompanhamento do score de muco como parâmetro de avaliação de resposta aos imunobiológicos utilizados para asma.⁵²

Referências

1. Fakhar, M.; Gul, M.; Li, W. Structural and Functional Studies on Key Epigenetic Regulators in Asthma. *Biomolecules* **2025**, 15, 1255. <https://doi.org/10.3390/biom15091255>



2. Schoettler N, Rodríguez E, Weidinger S , Ober C. Advances in Asthma and Allergic Disease Genetics – Is Bigger Always Better? *Allergy Clin Immunol.* 2019 December ; 144(6): 1495–1506. doi:10.1016/j.jaci.2019.10.023
3. Karki R; Pandya D; Elston RC; Ferlini C. Defining “mutation” and “polymorphism” in the era of personal genomics *BMC Medical Genomics* 2015 8:37 DOI 10.1186/s12920-015-0115-z
4. Sitinjak BP, Murdaya N, Rachman TA, Zakiyah N, Barliana MI. The Potential of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) as Biomarkers and Their Association with the Increased Risk of Coronary Heart Disease: A Systematic Review. *Vascular Health and Risk Management* 2023;19 289–301
5. Liu T, Woodruff PG, Zhou X. Advances in non-type 2 severe asthma: from molecular insights to novel treatment strategies. *Eur Respir J* 2024; 64: 2300826 [DOI: 10.1183/13993003.00826-2023].
6. Espuela-Ortiz, A.; Martin-Gonzalez, E.; Poza-Guedes, P.; González-Pérez, R.; Herrera-Luis, E. Genomics of Treatable Traits in Asthma. *Genes* 2023, 14, 1824. [https://doi.org/10.3390/ genes14091824](https://doi.org/10.3390/genes14091824)
7. Torgerson, D.G.; Ampleford, E.J.; Chiu, G.Y.; Gauderman,W.J.; Gignoux, C.R.; Graves, P.E et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of asthma in ethnically diverse North American populations. *Nat. Genet.* 2011, 43, 887–892
8. Demenais, F.; Margaritte-Jeannin, P.; Barnes, K.C.; Cookson,W.O.C.; Altmuller, J.; Ang,W et al. Multiancestry association study identifies new asthma risk loci that colocalize with immune-cell enhancer marks. *Nat. Genet.* 2018, 50, 42–53
9. Chen J, Miller M, Unno H, et al. Orosomucoid-like 3 (ORMDL3) upregulates airway smooth muscle proliferation, contraction, and Ca²⁺ oscillations in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 142: 207–218
10. Pividori M, Schoettler N, Nicolae DL, Ober C, Im HK. Shared and distinct genetic risk factors for childhood-onset and adult-onset asthma: genome-wide and transcriptome-wide studies. *Lancet Respir Med* 2019; 7:509–22
11. Ferreira MAR, Mathur R, Vonk JM, Szwajda A, Brumpton B, Granell R, et al. Genetic Architectures of Childhood- and Adult-Onset Asthma Are Partly Distinct. *Am J Hum Genet* 2019; 104:665–84
12. Sheikhpour M , Maleki1 M , Vargooran ME , Amiri1 V. A review of epigenetic changes in asthma: methylation and acetylation. *Clin Epigenet* (2021) 13 – 65
13. Prunicki M, Stell L, Dinakarpandian D, de Planell-Saguer M, Lucas RW, Hammond SK, et al. Exposure to NO₂, CO, and PM 2.5 is linked to regional DNA methylation differences in asthma. *Clin Epigenet*. 2018;10:2
14. Reinius LE, Gref A, Saaf A, Acevedo N, Joerink M, Kupczyk M, et al. DNA methylation in the Neuropeptide S Receptor 1 (NPSR1) promoter in relation to asthma and environmental factors. *PLoS ONE*. 2013;8(1):e53877
15. Couillard S , Pavord I , Hoyte F , Siddiqui, Martin N , Menzies-Gow A, Lommatsch M. "Treat-to-Target": A Call for Earlier Targeted Intervention in Asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2025;13:1553-8

16. Reza, M.I.; Ambhore, N.S. Inflammation in Asthma: Mechanistic Insights and the Role of Biologics in Therapeutic Frontiers. *Biomedicines* 2025, 13, 1342
17. GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. *Global strategy for asthma management and prevention*. 2025. Disponível em: <https://ginasthma.org/>. Acesso em: 08 dezembro 2025.
18. Reza MI , Ambhore NS. Inflammation in Asthma: Mechanistic Insights and the Role of Biologics in Therapeutic Frontiers. *Biomedicines* 2025, 13(6), 1342
19. Iwaszko, I.; Specjalski, K.; Chełmińska, M.; Niedoszytko, M. Neutrophilic Asthma—From Mechanisms to New Perspectives of Therapy. *J. Clin. Med.* **2025**, 14, 7137.
20. Yamasaki, A.; Okazaki, R.; Harada, T. Neutrophils and Asthma. *Diagnostics* 2022, 12, 1175
21. Palomares O, Benito-Villalvilla C, Maldonado A. Innate and adaptive immune responses in asthma. In: Jackson DJ, McDonald VM, Pavord ID, eds. *Asthma (ERS Monograph)*. Sheffield, European Respiratory Society, 2025; pp. 1–16 [https://doi.org/10.1183/2312508X.10013224]
22. Essilfie A, Simpson JL, Dunkley ML et al .Combined *Haemophilus influenzae* respiratory infection and allergic airways disease drives chronic infection and features of neutrophilic asthma *Thorax* 2012;67:588-599
23. Papaioannou, A.I.; Fouka, E.; Ntontsi, P.; Stratakos, G.; Papiris, S. Paucigranulocytic Asthma: Potential Pathogenetic Mechanisms, Clinical Features and Therapeutic Management. *J. Pers. Med.* 2022, 12, 850
24. Iwaszko I, Specjalski K, Chełmińska M, Niedoszytko M. Neutrophilic asthma from mechanisms to new perspectives o f therapy. *J. Clin. Med.* 2025, 14(20), 7137
25. Plewa, P.; Pokwicka, J.;Bakinowska, E.; Kiełbowski, K.; Pawlik, A. The Role of Alarms in the Pathogenesis of Asthma. *Biomolecules* 2025, 15, 996
- 26 Pelaia, C. Special Issue on Asthma and Allergic Inflammation. *Vaccines* 2023, 11, 531
27. Maspero J, Adir Y, Al-Ahmad M, et al. Type 2 inflammation in asthma and other airway diseases. *ERJ Open Res* 2022; 8: 00576-2021
28. Kim YJ , Bunyavanich S. Microbial influencers: the airway microbiome's role in asthma. *J Clin Invest.* 2025;135(4):e184316
29. Yang Z, Mao W, Wang J, Yin L. The gut-lung axis in asthma: microbiota-driven mechanisms and therapeutic perspectives. *Front Microbiol.* 2025 ;16:1680521
30. Lv J, Zhang Y, Liu S, Wang R, Zhao J. Gut-lung axis in allergic asthma: microbiota-driven immune dysregulation and therapeutic strategies. *Front Pharmacol.* 2025 Jul 31;16:1617546
31. Liu C, Makrinioti H, Saglani S, Bowman M, Lin LL, Camargo CA Jr, Hasegawa K, Zhu Z. Microbial dysbiosis and childhood asthma development: Integrated role of the airway and gut microbiome, environmental exposures, and host metabolic and immune response. *Front Immunol.* 2022 ;13:1028209

32. Richardson H, Alferes de Lima Headley D, Hull RC, et al. The airway microbiome in asthma. In: Jackson DJ, McDonald VM, Pavord ID, eds. *Asthma* (ERS Monograph). Sheffield, European Respiratory Society, 2025; pp. 85–101
33. Invernizzi R, Lloyd CM , Molyneaux PH. Respiratory microbiome and epithelial interactions shape immunity in the lungs. *Immunology* 2020; 160, 171–182
34. Taylor SL, Leong LEX, Choo JM, et al. Inflammatory phenotypes in patients with severe asthma are associated with distinct airway microbiology. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141: 94–103.e15
35. van Beveren GJ, Said H, van Houten MA, Bogaert D. The respiratory microbiome in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2023 ; 152(6):1352-1367
36. Valverde-Molina J, García-Marcos L. Microbiome and Asthma: Microbial Dysbiosis and the Origins, Phenotypes, Persistence, and Severity of Asthma. *Nutrients*. 2023 Jan 17;15(3):486.
37. Pattaroni C, Marsland BJ, Harris NL. Early-Life Host-Microbial Interactions and Asthma Development: A Lifelong Impact? *Immunol Rev*. 2025 ;330(1):e70019.
38. Liu L, Zhao W, Zhang H, Shang Y, Huang W, Cheng Q. Relationship between pediatric asthma and respiratory microbiota, intestinal microbiota: a narrative review. *Front Microbiol*. 2025 9;16:1550783
39. Aegerter H, Lambrecht BN. The Pathology of Asthma: What Is Obstructing Our View? *Annu Rev Pathol*. 2023 ; 24:18:387-409.
40. Venegas Garrido C, Svenningsen S, Nair P. Mucus plugging in severe asthma. In: Jackson DJ, McDonald VM, Pavord ID, eds. *Asthma* (ERS Monograph). Sheffield, European Respiratory Society, 2025; pp. 48–66
41. Tanabe N, Matsumoto H, Hayashi Y, Sakamoto R, Sunadome H, Sato S, Sato A, Hirai T. Mucus Plug Density and Type 2 Inflammation in Asthma and/or Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Ultrahigh-Resolution Computed Tomography Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2025 Nov;211(11):2208-2211
42. Portacci, A.; Iorillo, I.; Maselli, L.; Amendolara, M.; Quaranta, V.N.; Dragonieri, S.; Carpagnano, G.E. The Role of Galectins in Asthma Pathophysiology: A Comprehensive Review. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2024, 46, 4271–4285.
43. Shen, K., Zhang, M., Zhao, R. et al. Eosinophil extracellular traps in asthma: implications for pathogenesis and therapy. *Respir Res* 2023 24, 231
44. Tanabe N , Matsumoto H. From mucus plugging to airway dilatation in chronic airway diseases: A perspective on the contribution of the airway microbiome and inflammation. *Allergology International* 75 (2026) 32—41
45. Bonser LR, Zlock L, Finkbeiner W, Erle DJ. Epithelial tethering of MUC5AC-rich mucus impairs mucociliary transport in asthma. *J Clin Invest*. 2016 ; 1126(6):2367-71.
46. Poto R, Chan R, Pelaia C , Canonica GW , Virchow JC, Varricchi G. The Role of Biologics in Reducing Mucous Plug Burden in Asthma . *Allergy*. 2025 23. doi: 10.1111/all.70197.

47. Tang M, Elicker BM, Henry T, Gierada DS, Schiebler ML, Huang BK, Peters MC, Castro M, Hoffman EA, Fain SB et al. Mucus Plugs Persist in Asthma, and Changes in Mucus Plugs Associate with Changes in Airflow over Time. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022 May 1;205(9):1036-1045.
48. Dunican EM, Elicker BM, Gierada DS, Nagle SK, Schiebler ML, Newell JD, Raymond WW, Lachowicz-Scroggins ME, Di Maio S, Hoffman EA et al. National Heart Lung and Blood Institute (NHLBI) Severe Asthma Research Program (SARP). Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction. *J Clin Invest.* 2018 Mar 1;128(3):997-1009.
49. E. M. Dunican, B. M. Elicker, D. S. Gierada, et al., "Mucus Plugs in Patients With Asthma Linked to Eosinophilia and Airflow Obstruction," *Journal of Clinical Investigation* 128, no. 3 (2018): 997–1009
50. R. Nickerson, C. S. Thornton, B. Johnston, et al., "Pseudomonas aeruginosa in Chronic Lung Disease: Untangling the Dysregulated Host Immune Response," *Frontiers in Immunology* 15 (2024): 1405376
51. A. Hsieh, "Mucus Plugged Airways in Asthma Are Marked by Prominent Airway Remodeling" (2023), American Thoracic Society International Conference. Washington, D.C.
52. Yoshida Y, Takaku Y, Nakamoto Y, Takayanagi N, Yanagisawa T, Takizawa H, Kurashima K. Changes in airway diameter and mucus plugs in patients with asthma exacerbation. *PLoS One.* 2020 ; 27;15(2):e0229238