

Eventos adversos com o uso de Beta-1,3-D-Glucana em crianças asmáticas

Adverse events due to Beta-1,3-D-Glucan in asthmatic children

José Ângelo Rizzo¹, Décio Medeiros¹, Maria Eugênia FA Motta¹,
Adriana Azoubel¹, Aldo Costa¹, Deborah Schorr¹, Almerinda Rego Silva¹,
Valéria Sales², Emanuel CS Sarinho¹

Resumo

Introdução: A Glucana é um polissacarídeo extraído de uma levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que por apresentar possível ação imunomoduladora pode ter papel favorável na asma, mas faz-se necessário demonstrar a sua segurança.

Objetivo: Verificar a segurança e a frequência de eventos adversos com glucana.

Pacientes e Métodos: Ensaio clínico aberto, exploratório, com acompanhamento de 18 pacientes pediátricos, com asma persistente leve ou moderada onde glucana foi utilizada pelo período de dois meses por via subcutânea e acompanhamento dos pacientes por 30 dias após o término da medicação. O cálculo amostral foi baseado na prevalência tolerável estimada no risco de ocorrência de abscessos com aplicações repetidas do produto. Para detectar qualquer evento adverso nos pacientes asmáticos foi medido o pico de fluxo expiratório (PFE) diário e para analisar esta variável foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman com nível de significância de 5%.

Resultados: Nenhum paciente apresentou qualquer evento adverso sério que obrigasse a suspensão do tratamento nem a formação de abscesso no local de aplicação. Dor no local da aplicação e formação de nódulos, febre, mialgias e cefaléia ocorreram em alguns pacientes, mas foram leves e transitórias. Em relação ao PFE houve tendência a incremento após o uso da medicação ($p = 0,051$).

Discussão: A glucana, quando corretamente aplicada tem se mostrado um medicamento seguro. O incremento observado na medida do PFE pode sugerir um efeito superior ao do placebo, mas isso precisa ser melhor e especificamente estudado.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2008; 31(6):230-236 glucana, evento adverso, abscesso, asma, criança

Introdução

O tratamento atual da asma tem como alvo principal o alívio dos sintomas e reduzir a inflamação brônquica, embora em alguns casos o dano epitelial secundário à persistência de neutrófilos mantenha o processo inflamatório, reduzindo a resposta à corticoterapia¹⁻³, portanto, há interesse crescente na pesquisa de novos tratamentos dirigidos à inflamação, em especial aqueles com propriedades imunomoduladoras⁴.

São necessárias estratégias terapêuticas que possam alterar a história natural e a progressão da asma, o que po-

Abstract

Introduction: Glucan is a polysaccharide extracted from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* that, by a putative immunomodulatory action, can have a favorable role in asthma treatment, but information concerning its safety is needed.

Objective: to evaluate safety and frequency of adverse events after glucan subcutaneous administration.

Subjects and Methods: In an open label exploratory clinical trial 0.5mg (0.25ml) of glucan subcutaneous weekly injections were given to 18 asthmatic children with mild or moderate persistent asthma for 4 weeks, than every 2 weeks for another month with a follow-up period of 4 weeks. Adverse events were clinically evaluated and by diary peak expiratory flow (PEF) which was analyzed by Friedman test with a 5% significance level. Sample size was calculated taking into account a possible 5% risk of arm abscess formation.

Results: There were no arm abscess or serious adverse events that determined drug administration interruption. Pain at injection site and nodule formation, headache, myalgias and fever were uncommon and transitory. There was a tendency to an increase in PEF after the last medication week compared to basal levels ($p = 0.051$).

Discussion: Glucan, when adequately given was shown to be a safe medication in this short term study. The increase in PEF suggests a possible effect that has to be better and specifically evaluated.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2008; 31(6):230-236 glucan, adverse event, abscess, asthma, children

de ser alcançado com o uso de drogas moduladoras do sistema imunológico. Nos estágios iniciais do desvio imune, o perfil de citocinas pode ser redirecionado, suprimindo a resposta Th2 por aumentar a resposta Th1⁵⁻⁷. Por isso, argumenta-se que drogas moduladoras do sistema imunológico seriam mais indicadas no estágio inicial da asma, antes da ocorrência de qualquer mudança estrutural ou funcional pulmonar⁸.

Estudo experimental realizado em modelo murino de doença alérgica respiratória detectou, com a utilização de lipoglicanas isoladas de diferentes cepas de *Mycobacteria*, redução da eosinofilia em via aérea e aumento da capaci-

1. Centro de Pesquisas em Alergia e Imunologia da Universidade Federal de Pernambuco,

2. Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte

dade de células T para secretar interleucina (IL) 10, sugerindo um potencial mecanismo de supressão da doença mediado por células T desde que haja uma efetiva segurança do medicamento⁹.

A glucana é um polissacarídeo extraído de uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), que por apresentar possível ação imunomoduladora, pode ter papel favorável nas doenças alérgicas como a asma e a rinite¹⁰ desde que seja demonstrado ser um medicamento seguro e esta é a justificativa desta pesquisa. Como o produto é aprovado para comercialização pela ANVISA realizou-se este estudo com o objetivo primário de verificar a sua segurança baseada na frequência de eventos adversos decorrentes da administração subcutânea de glucana em 18 pacientes pediátricos com asma.

Casuística e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Centro de Pesquisas em Alergia e Imunologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), onde se realizou ensaio clínico aberto, exploratório, com acompanhamento de 18 pacientes pediátricos com asma persistente leve ou moderada^{11,12} em quem a glucana foi administrada pelo período de 60 dias com seguimento por 30 dias após o término do uso da medicação, para avaliar eventos adversos tardios. Nesse tipo de estudo, todos os envolvidos – pacientes e pesquisadores – estavam cientes acerca da intervenção realizada. Houve uma busca ativa de pacientes do nosso ambulatório, com questionário e exame clínico no que se refere à vigilância e segurança clínica do medicamento.

Foram incluídos pacientes com idades entre seis e doze anos; com asma persistente leve ou moderada e controle inadequado da doença (caracterizado por exacerbações do quadro clínico de asma, necessidade de medicação de resgate), apesar do uso regular de tratamento correto (corticosteróide inalado) pelo período de 30 dias.

O cálculo da amostragem foi baseado na prevalência tolerável estimada da ocorrência de abscessos em pacientes com aplicações repetidas do produto. Ficou definido que se a ocorrência deste evento no número total de aplicações atingisse mais do que 5% das aplicações, ou seja, cinco ou mais abscessos, o estudo seria interrompido. Assim, de acordo com o esquema de tratamento proposto para o produto, a amostra necessária foi de 18 pacientes com seis aplicações em cada criança totalizando 108 aplicações subcutâneas de glucana. As aplicações foram realizadas no ambiente hospitalar por enfermeira previamente treinada.

O fluxo dos pacientes durante o estudo obedeceu o esquema demonstrado no fluxograma (figura 1). Os pacientes com asma persistente leve ou moderada iniciaram o tratamento adequado e regular e foram observados por 30 dias (período de *run-in*). Ao término desse período, foram reavaliados e os que não obtiveram controle dos sintomas foram esclarecidos quanto às propostas da pesquisa e convidados a participar do estudo, com inclusão dos indivíduos apenas após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Todas as crianças realizaram exames complementares (hemograma com plaquetas, transaminases, uréia, creatinina, aferição do pico de fluxo expiratório) com o objetivo de verificar se havia alguma anormalidade que impedisse a sua admissão no estudo.

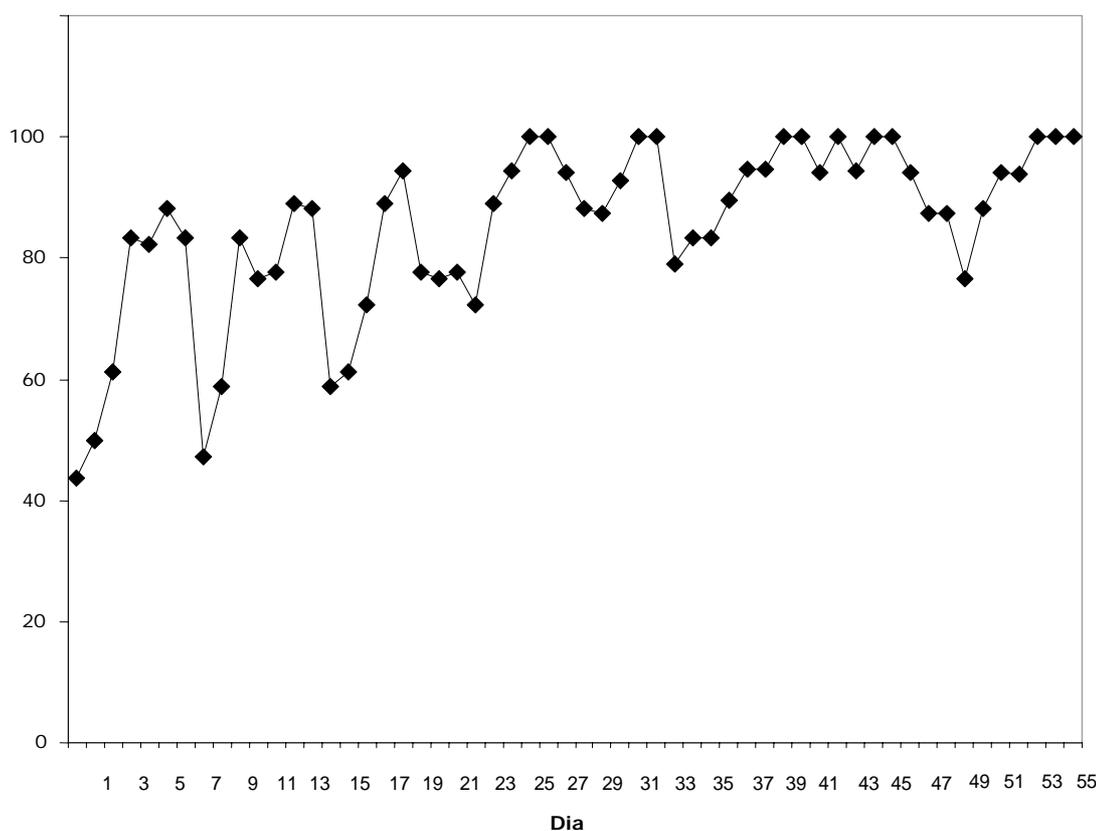
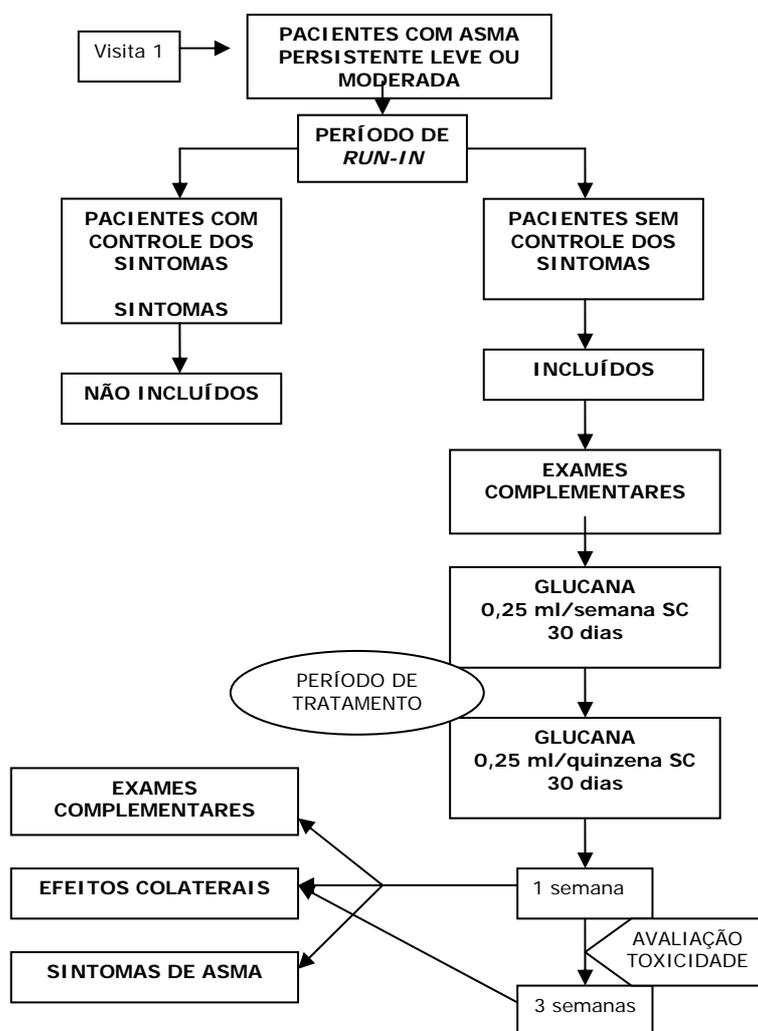


Figura 1 - Percentual de pacientes livres da queixa de dor local durante as oito semanas em que houve aplicação de glucana.

Após essa etapa foi iniciado o período de tratamento, durante o qual o paciente continuou a receber a medicação habitual para a asma, além de glucana, por 60 dias. Nos primeiros 30 dias, o paciente recebeu 0,25 ml (0,5 mg) de glucana por via subcutânea uma vez por semana, com cada aplicação realizada em um membro diferente para que fosse avaliada a ocorrência de efeitos colaterais locais com vigilância maior para a ocorrência de abscesso, complica-

ção que pode surgir quando se utiliza a via parenteral. Nos 30 dias finais houve ampliação do intervalo entre as aplicações do medicamento e cada paciente passou a receber 0,25 ml (0,5 mg) de glucana por via subcutânea, a cada 15 dias (quadro 1). A cada nova visita, antes da aplicação da dose de glucana, o paciente foi examinado a fim de se averiguar a presença de hiperemia, dor, nodulação ou abscesso no local da aplicação.



Quadro 1 – Fluxograma dos pacientes

Como é descrito que a aplicação contínua do beta-1,3-D-glucana pode ocasionar febre, cefaléia, astenia, mialgia, hiperemia, dor, nodulação ou abscesso no local da aplicação, a investigação de eventuais efeitos adversos passíveis de relação com o uso do medicamento foram constantemente avaliados bem como qualquer outro sintoma eventual. Para afastar a ocorrência de broncoespasmo induzido pelo medicamento e monitorar a asma foram realizadas medidas de pico de fluxo expiratório diariamente (PFE).

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelo responsável pela criança.

Resultados

Conforme já mencionado, a amostra foi constituída de 18 pacientes com asma persistente leve (nove pacientes) ou moderada (nove pacientes) acompanhados durante doze semanas. As crianças do sexo masculino foram treze enquanto cinco eram do sexo feminino, a mediana de idade foi de oito anos (seis a doze anos). Apenas estes pacientes entraram na pesquisa porque foram aqueles que apesar do uso de budesonida inalatória em doses de 400 mcg/diária há pelo menos 30 dias não apresentaram controle dos sintomas.

Os resultados foram focados na busca dos eventos adversos em decorrência do uso da glucana e especificamen-

te foram pesquisados de forma ativa: dor no local da aplicação do medicamento, aparecimento de nodulação, dor no corpo, febre, cefaléia e abscesso.

A figura 1 demonstra o percentual de pacientes que se queixaram de dor no local da injeção durante as oito semanas de aplicação da glucana. Observa-se ter havido sazonalidade: sempre no primeiro dia da semana o percentual

de pacientes livres de dor local reduz-se em relação aos outros dias da semana, pois neste dia é que foi aplicado o medicamento.

A figura 2 demonstra a porcentagem de pacientes livres de qualquer nodulação percebida à palpação durante as oito semanas de acompanhamento.

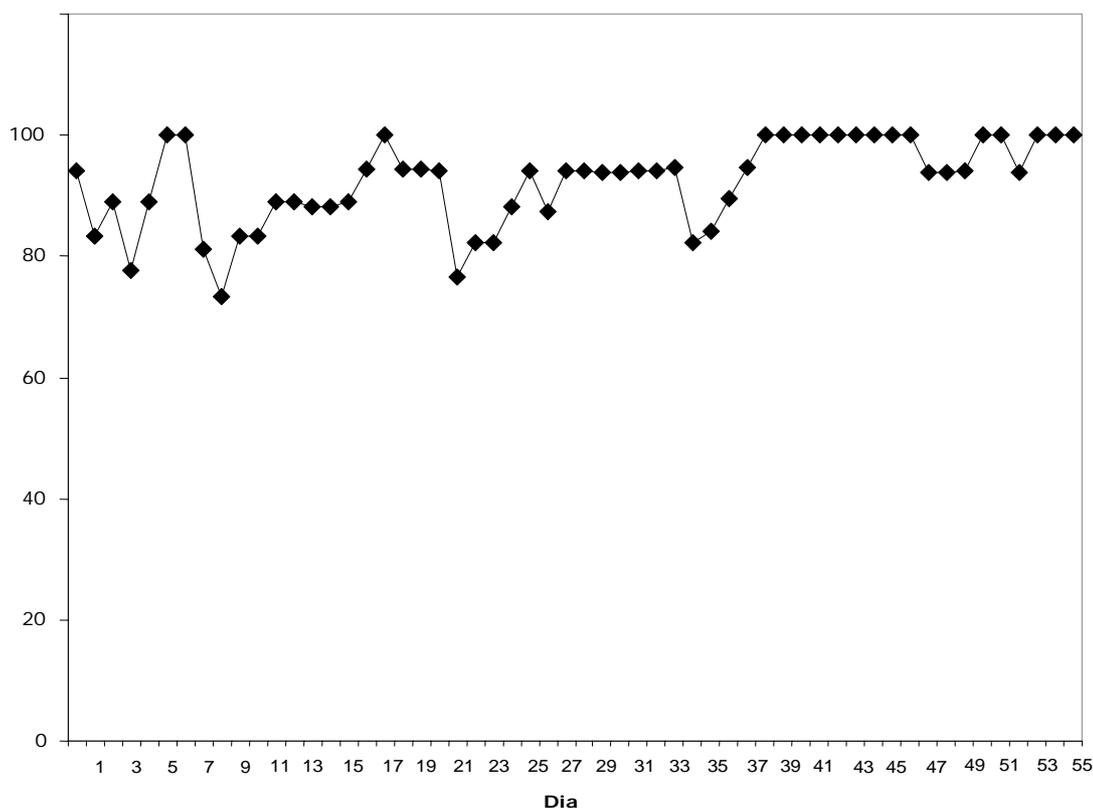


Figura 2 - Percentual de pacientes em que a palpação do local da injeção estava livre de qualquer nodulação nas oito semanas do estudo em que houve aplicação da glucana

A figura 3 demonstra o percentual de pacientes livres da queixa de dores no corpo e astenia durante as oito semanas em que foi aplicada a medicação. Observa-se que apenas na primeira semana de aplicação é que esta queixa foi relatada com maior frequência. Por outro lado verifica-se que a presença de febre é mais comum na segunda semana de aplicação (figura 4).

A figura 5 demonstra que durante o estudo pequena porcentagem de pacientes apresentou queixa de cefaléia. Importante ressaltar que apesar de exaustivamente pesquisado em nenhuma paciente foi observado a presença de abscesso no local da injeção apesar de terem sido realizadas no total 108 aplicações do medicamento.

Para detectar qualquer evento adverso em pacientes asmáticos foi analisado o PFE diário obtido pela manhã. Os resultados estão ilustrados na tabela 1. Pode-se observar que houve uma tendência ($p = 0,051$; Teste de Friedman) para a melhora deste parâmetro após o uso da medicação, o que não foi o objetivo primário deste estudo.

Discussão

Esta pesquisa é um ensaio clínico aberto com o objetivo primário de avaliar a ocorrência de eventos adversos relacionados ao uso da glucana por via subcutânea.

A ocorrência de eventos adversos foi baixa, especialmente considerando que foram eventos que ocorreram em alguns pacientes apenas no início do tratamento local e o mais comum foi dor local. Em nenhum paciente foi detectado qualquer evento adverso sério que obrigasse a suspensão do tratamento. O fato de não ter sido detectado nenhum caso de abscesso nos pacientes do estudo, mostra que este efeito não é comum quando o medicamento é corretamente aplicado. Mais uma vez, resalta-se a necessidade de orientação clara de como realizar a correta aplicação do medicamento. Deve-se agitar bem o produto antes da aplicação para que haja adequada homogeneização bem como realizar a troca de agulhas entre o ato de aspirar da ampola e a injeção no paciente bem como de ser realizada por via intramuscular profunda e de haver um rodízio de local de aplicação. Em todos os pacientes, houve 30 dias de seguimento após a interrupção do uso da glucana para buscar ativamente o relato de qualquer evento adverso local sério como nodulação dolorosa ou abscesso e qualquer achado neste sentido foi completamente inexistente.

Durante o período da pesquisa foi observado também que os pacientes apresentaram melhora dos sintomas de asma tais como sibilância, tosse, e sintomas noturnos de asma. A melhora de todos estes parâmetros de forma consistente pode ser resultante de efeito placebo inerente ao tipo de estudo, mas por outro lado existe um racional

biológico que pode explicar o efeito terapêutico da glucana e que deve ser melhor explorado. Importante ressaltar que

apesar de não ser desfecho primário, houve tendência estatística de melhora na medida objetiva do PFE.

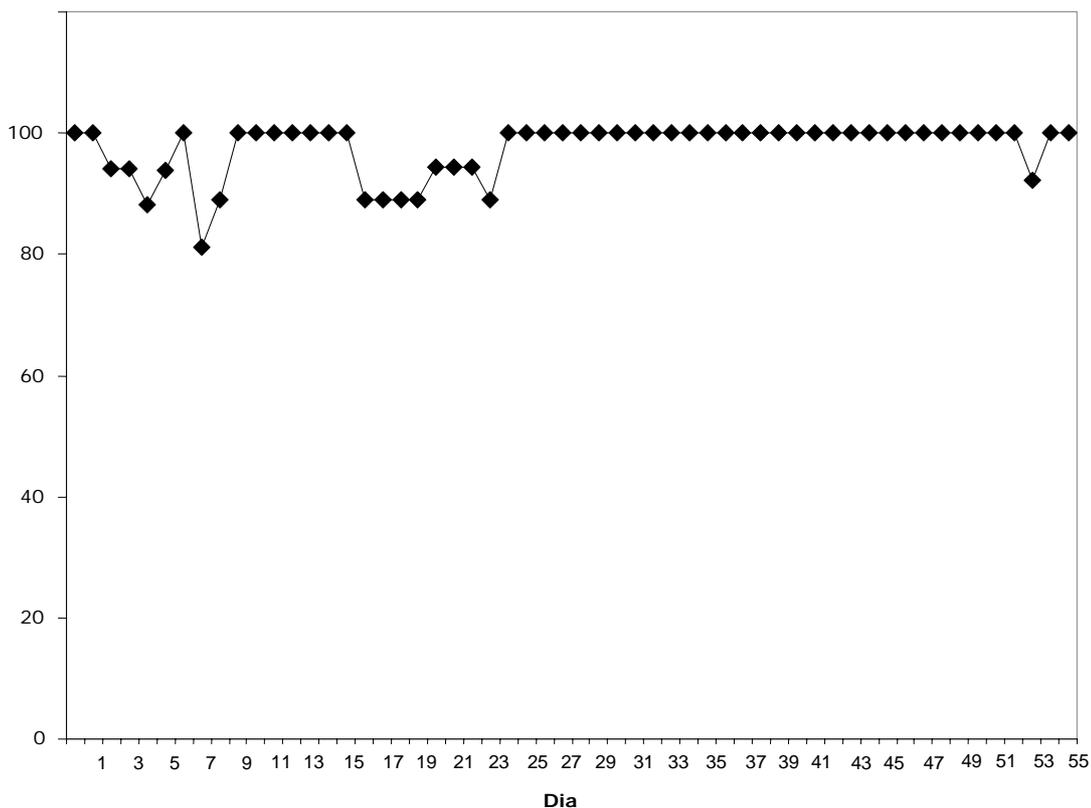


Figura 3 - Percentual de pacientes livres da queixa de dor no corpo durante as oito semanas em que houve aplicação de glucana

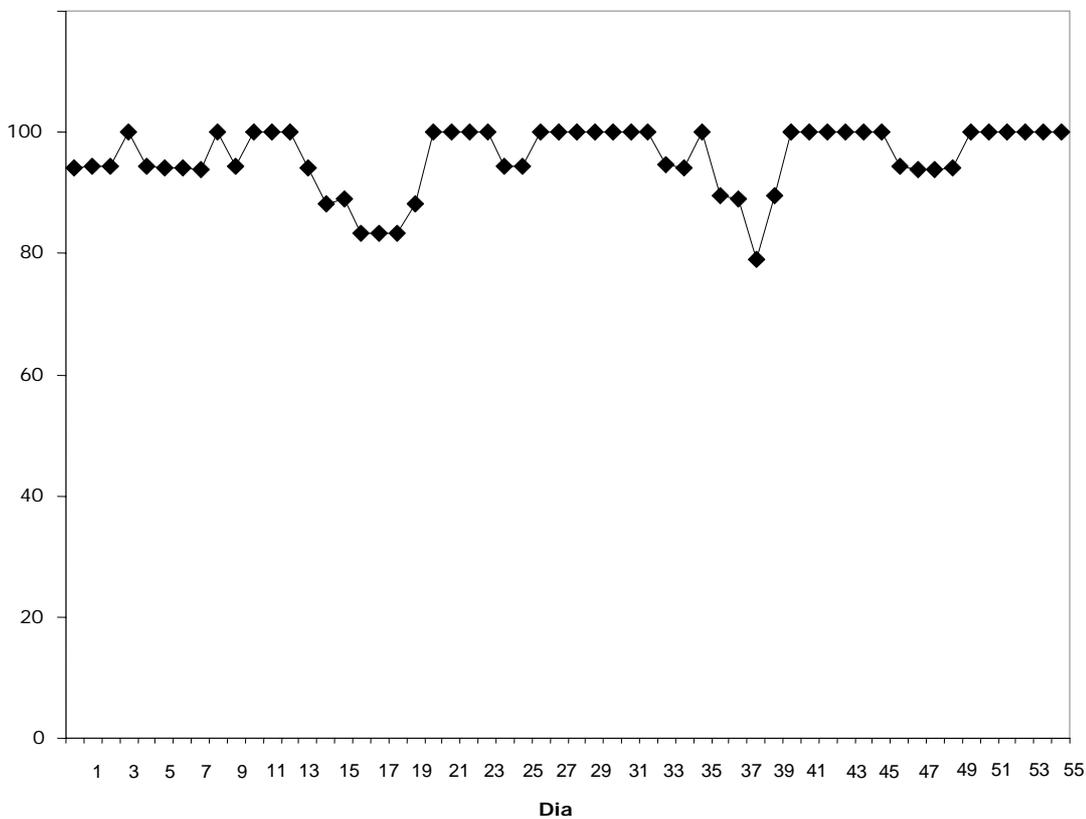


Figura 4 - Percentual de pacientes livres de febre durante as oito semanas em que foi aplicada a glucana.

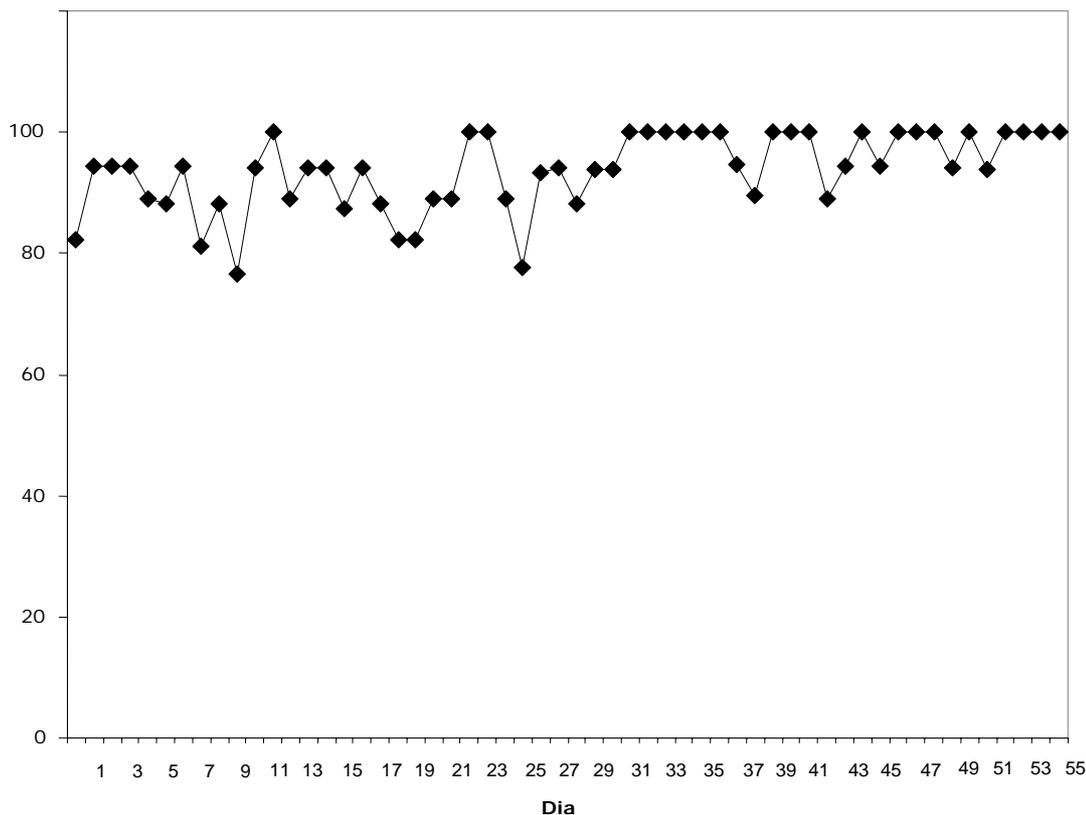


Figura 5 - Percentual de pacientes sem apresentar queixa de cefaléia durante as oito semanas de uso de glucana.

Tabela 1 - Resultado da comparação da variável pico de fluxo expiratório (PFE) obtido pela manhã entre a 1º e a 8º semana.

PFE dia	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Percentis		
					25	50 (Mediana)	75
1º Semana	199,80	47,86	121,43	268,57	155,83	196,67	242,62
2º Semana	207,03	54,99	130,00	305,71	152,14	201,43	252,14
3º Semana	212,69	50,88	111,43	308,57	176,43	210,00	251,43
4º Semana	217,97	52,33	147,14	298,57	171,43	225,71	258,57
5º Semana	220,60	41,21	150,00	295,71	186,43	215,00	249,29
6º Semana	222,33	45,80	154,29	303,33	175,71	238,57	248,57
7º Semana	217,85	59,82	98,57	308,57	180,00	230,00	261,43
8º Semana	217,51	55,53	110,00	312,86	180,71	221,43	255,71

p-valor = 0,051 (teste de Friedman)

O beta-1,3-D-glucana é um polissacarídeo da parede celular do *Saccharomyces cerevisiae* responsável por inúmeras atividades imunobiológicas, entre as quais a ativação de leucócitos, e estímulo da produção de citocinas a partir da ligação com receptores (detectina-1) localizados em subpopulações de células T¹³⁻¹⁵. O beta-glucana tem potencial para induzir resposta imune do tipo Th1 com liberação de interferon-gama e fator de necrose tumoral-alfa, secundária à produção ativa de IL-12^{16,17}, no entanto, não existem estudos utilizando o beta-1,3-D-glucana nos pacientes asmáticos.

Assim, a possibilidade de controlar a asma interferindo diretamente na causa, ou seja, na resposta das células

Th2, será um avanço no arsenal terapêutico disponível no momento. O beta-1,3-D-glucana apresenta potencial para modular a resposta imune e pode se tornar uma alternativa no tratamento de pacientes asmáticos. O controle ativo da doença terá impacto na qualidade de vida do indivíduo, inclusive com redução do absenteísmo escolar, assim como na redução dos custos ao sistema de saúde por exacerbações que necessitam atendimentos de emergência e internações frequentes.

Recentemente, verificou-se que uma forma de dispersão fina da Glucana, que permite a sua absorção pelo trato digestório, foi altamente efetiva em prevenir sintomas de rinite e de conjuntivite alérgica induzidas por pólen¹⁸.

Enfim, nossos resultados mostram que, nessa população limitada, não houve eventos adversos graves associados ao uso da glucana e, mesmo aqueles observados foram limitados na intensidade e duração. Após este achado de segurança, estudos de efetividade deste medicamento na asma fazem-se necessários.

Referências

- World Health Organization. Bronchial asthma. Fact sheet no 206. Geneva: WHO; 2000. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs206/en/>. Acessado em: 09/12/2003.
- Spector SL. Omalizumab: efficacy in allergy disease. *Panminerva Med* 2004;46:141-8.
- Tillie-Leblond I, Gosset P, Tonnel AB. Inflammatory events in severe acute asthma. *Allergy* 2005;60:23-9.
- Stokes J, Casale TB. Rationale for new treatments aimed at IgE immunomodulation. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004; 93:212-7.
- Salvi SS, Babu KS, Holgate ST. Is asthma really due to a polarized T cell response toward a helper T cell type 2 phenotype? *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1343-6.
- Adamko DJ, Odemuyiwa SO, Vethanayagan D, Moqbel R. The rise of the phoenix: the expanding role of the eosinophils in health and disease. *Allergy* 2005;60:13-22.
- Gavett SH, O'Hearn DJ, Li X, Huang SK, Finkelman SD, Wills-Karp M. Interleukin 12 inhibits antigen-induced airway hyper-responsiveness, inflammation, and Th2 cytokine expression in mice. *J Exp Med* 1995;182:1527-36.
- Anderson GP. Therapeutic prospects for early asthma. *Med J Aust* 2002; 177 (6 suppl):S66-9.
- Sayers I, Severn W, Scanga CB, Hudson J, Le Gros G, Harper JL. Suppression of allergic airway disease using mycobacterial lipoglycans. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:302-9.
- Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S. Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan: A randomized study. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1119-26.
- Bateman E, Barnes P, Drazen J, Fitzgerald M, Gibson P, Lemanske R et al. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention (updated 2007) – acessado em: www.ginasthma.org em 20/06/2008.
- IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma *J Bras Pneumol.* 2006;32: S 447-S 474.
- Tada H, Nemoto E, Shimauchi H, Watanabe T, Mikami T, Matsumoto T et al. - *Saccharomyces cerevisiae*- and *Candida albicans*-derived mannan induced production of tumor necrosis factor alpha by human monocytes in a CD14- and Toll-like receptor 4-dependent manner. *Microbiol Immunol* 2002;46: 503-12.
- Taylor PR, Brown GD, Reid JA, Willment JA, Martinez-Pomares L, Gordon S et al. - The beta-glucan receptor, Dectin-1, is predominantly expressed on the surface of cells of the monocytes/macrophage and neutrophils lineages. *J Immunol* 2002; 169:3876-82.
- Brown GD, Herre J, Williams DL, Willment JA, Marshall ASJ, Gordon S. Dectin-1 mediates the biological effects of beta-glucans. *J Exp Med* 2003;197:1119-24.
- Suzuki Y, Adachi Y, Ohno N, Yadomae T. Th1/Th2-balancing immunomodulating activity of gel-forming (1→3)-beta-glucans from fungi. *Biol Pharm Bull* 2001;24:811-9.
- Young SH, Ye J, Frazer DG, Shi X, Castranova V. Molecular mechanism of tumor necrosis factor-alpha production in 1→3-beta-glucan (zymosan)-activated macrophages. *J Biol Chem* 200; 276: 20781-7.
- Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S. Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan: a randomized study. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 119:1119-26.

Correspondência:

Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho
 Centro de Pesquisas em Alergia e Imunologia da Universidade Federal de Pernambuco
 Hospital das Clínicas – Ambulatório 2º Piso
 Av. Moraes Rêgo S/N - Cidade Universitária
 50670-420 - Recife - PE
 Email: emanuel.sarinho@ufpe.br ou emanuel.sarinho@gmail.com