

**SOCIEDADE PORTUGUESA
DE ALERGOLOGIA E
IMUNOLOGIA CLÍNICA**

DIRECÇÃO

Presidente

Dr. Celso Chieira

Vice-Presidentes

Prof. Dr. Segorbe Luís
Prof. Dr. A.G. Palma-Carlos
Prof. Dr. Mário Queirós

Secretário-Geral

Dr.ª Maria da Graça Castel-Branco

Secretário-Geral Adjunto

Dr. Mário Loureiro

Tesoureiro

Dr. Rosado Pinto

ASSEMBLEIA GERAL

Presidente

Dr. Pinto Mendes

Vice-Presidente

Dr. Libério Ribeiro

Secretário

Dr.ª Ana Maria Todo-Bom

**COMISSÃO VERIFICADORA DE
CONTAS**

Dr. Figueiredo Pinto
Dr.ª Natália Ferreira
Dr. Carlos Loureiro

Sucedemos à Dr.ª Mariana Vaz, com quem honrosamente colaboramos durante alguns anos.

Ao longo dos seus dois mandatos como Presidente da SPAIC, a Dr.ª Mariana Vaz, mercê de um prestígio científico incontestado, aliado a uma personalidade fortemente vincada soube, não só manter intacta a independência da Imuno-Alergologia como alargar ainda o seu campo de influência, aliás expresso, entre outros, pela significativa adesão de novos sócios.



Tarefa difícil a que nos espera, tanto mais ser indubitável que a Especialidade de Imuno-Alergologia, em Portugal, sofre ameaças de vários quadrantes e por diferentes razões, mas cujo pecado original deriva, em nossa opinião, da sua própria estruturação: demasiado abrangente - ou ambiciosa, segundo outros - e, por isso, com alguma imprecisão nos seus contornos o que, aliás, é denominador comum a outras especialidades. Mas, no nosso caso, os médicos hospitalares sentem-no bem e as relações contractuais com as estruturas de Saúde, como as ARS são incompreensivelmente confusas e claramente dessincronizadas com os direitos que, naturalmente, assistem a uma especialidade hospitalar e simultaneamente reconhecida pela nossa Ordem.

A eleição dos Corpos Gerentes da SPAIC para o triénio 1993-95 ocorreram, recorde-se, em Janeiro deste ano, em Coimbra.

Entenderam então os elementos da Direcção propostos a sufrágio apresentar um programa de intenções, denominado "Linhas Programáticas" que no essencial, reflectia algumas preocupações e também alguns objectivos a concretizar ao longo dos três anos da sua vigência.

Nesse programa, e logo no ponto 1, destacávamos a nossa disponibilidade para um eficaz relacionamento com a Ordem dos Médicos, nomeadamente com o seu Bastonário e também com o Colégio da Especialidade, com vista a contribuir para a definição das normas de formação e qualificação de especialistas a nível nacional e europeu, bem como na atribuição de idoneidade aos Serviços para a formação na Especialidade.

Por isso, o primeiro acto oficial desta Direcção simbolizou-se por uma entrevista com o Bastonário, a quem, de forma clara expusemos as nossas preocupações e a total disponibilidade para, no âmbito da Especialidade, com ele colaborarmos.

É sabido que os objectivos da nossa Sociedade são essencialmente de natureza científica. É certo também que há estruturas, como o Colégio da Especialidade, que estão vocacionadas para se ocuparem de questões relacionadas com o exercício da medicina na especialidade. Todavia, a Sociedade, na medida em que abrange um conjunto de Colegas, Especialistas e Internos da Especialidade na sua grande maioria, mas todos interessados não só nos aspectos científicos, mas também profissionais que a condicionam, a Sociedade, repete-se, não tem o direito de se alhear do que à sua volta se passa.

Então não são as reuniões científicas que a Sociedade promove que polarizam todos os que com a Especialidade têm alguma coisa a ver?

E não é nas Assembleias Gerais da Sociedade que são discutidos os problemas mais candentes da Especialidade?

Sendo assim, porque não deve a Sociedade, através dos seus Órgãos Directivos, assumir um posicionamento mais interventivo na vida alergológica nacional?

O papel consultivo, embora honroso, torna-a passiva, cinzenta e, de certo modo, adinâmica. Pelo contrário, um posicionamento mais crítico e mais interventivo em diferentes domínios estará mais de acordo, não só com a realidade actual, mas também com as necessidades do momento.

Não somos tantos assim e, por isso, a congregação de vontades - quer elas se circunscrevam à simples influência de grupo, quer se projectem num âmbito mais alargado, com expressão internacional reconhecida - e a conciliação de posições, pacificando atitudes, individuais ou de grupo, são factores que reputamos essenciais para que se possa levar qualquer carta a Garcia.

Esta foi a filosofia que presidiu à elaboração da actual lista de Corpos Sociais da SPAIC e que, em nosso entender, deveria ser lei para todas as outras estruturas que, no âmbito da Especialidade, nos enquadram.

Outros dos pontos que preocupava a actual Direcção era a circunstância de, no domínio da Especialidade de Imuno-Alergologia, somente se dispôr de um Prémio científico para, de dois em dois anos, distinguir um trabalho relevante. Por isso, nos pontos 5 e 10 das "Linhas Programáticas" foi assumido o compromisso de incentivar a criação de Bolsas e outras formas de apoio, distinguindo projectos com mérito comprovado.

Nessa perspectiva, e em colaboração com três prestigiadas firmas da Indústria Farmacêutica, acordámos a concessão de apoios financeiros, premiando trabalhos de vária índole e cujos Regulamentos vêm publicados nesta mesma Revista. Obviamente que o objectivo primordial é o de estimular o desenvolvimento científico no âmbito da Especialidade, sobretudo na camada dos "Jovens alergologistas", isto é, de todos aqueles que, inscritos na SPAIC, concorram com menos de 35 anos. Estamos convictos que os objectivos serão alcançados, pois que a dignidade dos Prémios assim o supõe. O contrário, ou seja, a menor valia dos trabalhos ou pior ainda, a desertificação dos concursos, seria um mau sinal para o prestígio e, até mesmo, para a própria vitalidade da Sociedade, em última análise, da Especialidade.

A Revista Portuguesa de Imunoalergologia, órgão oficial da SPAIC, e cuja existência depende fundamentalmente do interesse científico das suas publicações, constituirá o futuro e único veículo de divulgação de trabalhos que, automaticamente ficarão seleccionados para o Prémio anual SPAIC/ASTRA. Desta forma, pretende-se tornar a Revista mais digna e interessante no seu conteúdo, já que a sua estrutura e feitura técnica nos parecem irrepreensíveis.

No capítulo das Relações Internacionais com outros Organismos e Associações do âmbito da Imunoalergologia - nomeadamente Interasma, GAILL e AMAIC, assim como a sua representatividade efectiva na IAACI, EAACI e no "Board" Europeu de Alergologia e Imunologia Clínica, que engloba o Comité de Especialidade da Academia Europeia, a Comissão Monoespecializada de Alergologia e Imunologia Clínica da União Europeia dos Médicos Especialistas e o Comité Permanente Europeu de Formação Contínua em Alergologia - a Sociedade passou a estar efectiva e oficialmente representada através de alguns dos seus elementos da Direcção e, particularmente, por um dos seus Vice-Presidentes, previamente designado pela Direcção para a área das relações internacionais.

A vitalidade de qualquer Sociedade científica depende, fundamentalmente, da dinâmica dos elementos que a compõem.

À Direcção, por ser transitória, compete, no essencial, criar condições e fomentar o interesse dos seus associados pela sua dignificação.

CELSO CHIEIRA

Activação Eosinofílica e Proteína Catiónica do Eosinófilo nas Doenças Pulmonares Intersticiais

LUÍS DELGADO (* #), JOÃO CARLOS WINCK (**), J.A. FLEMING TORRINHA (*)

RESUMO

Os eosinófilos (Eos) participam como células efectoras em muitas doenças inflamatórias e imunológicas dos pulmão. Trabalhos recentes demonstram também o papel da produção local de citocinas na sobrevivência e activação dos Eos no pulmão. Com o objectivo de estudar a activação eosinofílica nestas doenças medimos, em amostras de lavagem broncoalveolar (LBA), os níveis de Proteína Catiónica do Eos (ECP), por RIA, e a expressão nos Eos da sua forma excretada (EG2) e do Receptor 3 do Complemento (CD11b), por imunocitoquímica (APAAP). Seleccionámos 16 casos de alveolites eosinofílicas (+ 4% das células do LBA), a partir de 235 amostras consecutivas, em doentes com patologia do interstício pulmonar. A Fibrose Pulmonar Idiopática foi o diagnóstico mais frequente (7/16) e as contagens mais elevadas de Eos encontraram-se em dois Síndromes Pulmonares Eosinofílicas (SPE). A ECP correlacionou-se significativamente, e de forma positiva com o número de Eos da LBA, bem como com a percentagem de Eos activados (EG2+ ou CD11b+) devido aos seus níveis elevados nos 2 SPE da nossa série. Além disso a percentagem de Eos EG2+ e CD11b+, mas não a ECP, correlacionou-se com os níveis de IgG da LBA. Apesar de neste

grupo de doenças do interstício pulmonar haver uma correlação negativa entre a percentagem de Eos da LBA e a PaO₂ em repouso, não encontramos qualquer correlação entre as provas funcionais respiratórias e a ECP, a expressão EG2 ou CD11b. Concluimos que a activação eosinofílica é um dado frequente nas doenças inflamatórias do interstício que se acompanham do seu recrutamento ao pulmão, onde a presença de eosinófilos que exprimem EG2 ou CD11b se correlaciona com o grau de inflamação intersticial.

PALAVRAS-CHAVE: eosinófilo, activação celular, ECP, imunocitoquímica, doença pulmonar intersticial.

ABSTRACT

Eosinophils (Eos) are prominent cells in many inflammatory and immunologic lung diseases. Recent work underlines the role of local cytokine production in Eos survival and activation within the lung. To study Eos activation in inflammatory lung diseases we measured Eos Cationic Protein (ECP) levels (RIA) and the expression of both its secreted form (EG2) and complement receptor 3 (CD11b) by immunocytochemistry (APAAP), in bronchoalveolar lavage (BAL) samples. We selected 16 cases of eosinophilic alveolitis (+ 4% of BAL cells) from 235 consecutive samples obtained for suspected interstitial lung disease. Idiopathic Pulmonary Fibrosis was the most frequent diagnosis (7/16) and the highest Eos counts were found in two Pulmonary Eosinophilic Syndromes (PES). ECP was significantly and positively correlated with both BAL Eos counts and with the relative numbers of activated eosinophils (EG2+/CD11b+), due to the two PES of our series. Moreover activated eosinophils, but not ECP, were positively correlated with

* Serviço de Imunologia, Faculdade de Medicina e Hospital S. João, Porto. (Director: Prof. Doutor J.A. Fleming Torrinha)

Unidade de Imunoalergologia, Hospital S. João, Porto. (Director: Dr.ª Mariana Vaz)

** Serviço de Pneumologia 1 (Director: Dr. Fernando Filipe Rodrigues), Departamento de Pneumologia do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia (Director: Dr. Ramalho de Almeida)

O trabalho de investigação apresentado neste artigo foi galardoado com o Prémio Bayer/Dhome Hollister Stier 1991, da Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clínica e com o prémio do melhor trabalho apresentado nas 2.ªs Jornadas Pneumológicas do Porto de 1992, encontrando-se publicado em resumo no Allergy, 47, 12 suppl: 5; 1992.

IgG levels. Although in this group of interstitial lung diseases there was a negative correlation between BAL Eos counts (%) and resting PaO₂, no correlation was seen between pulmonary function data and ECP, EG2, or CD11b expression. In conclusion, eosinophil activation is a prominent feature in the eosinophilic alveolitis of some interstitial lung diseases, where EG2 and CD11b expression in BAL eosinophils seems to be related to interstitial lung inflammation.

KEY-WORDS: eosinophils, cellular activation, ECP, immunocytochemistry, interstitial lung diseases.

INTRODUÇÃO

Desde a sua descrição por Paul Erlich, nos finais do séc. XIX, o eosinófilo é considerado uma das células mais características da resposta inflamatória que acompanha as doenças alérgicas e parasitárias, situações que têm servido de base para a caracterização da sua actividade citotóxica e pró-inflamatória.^{1,3} A actividade biológica do eosinófilo depende essencialmente do seu conteúdo em mediadores específicos⁴ - a proteína básica major (MBP), a proteína catiónica (ECP), a neurotoxina derivada do eosinófilo (EDN) e uma peroxidase (EPO) - todos eles potencialmente lesivos para o tecido pulmonar.^{5,6}

Os mecanismos de activação do eosinófilo têm sido essencialmente estudados nas doenças alérgicas^{4,6,7} e, frequentemente, a partir de células do sangue periférico.⁸⁻¹³ No entanto, o destino e funcionamento dos eosinófilos, após a sua migração tecidual, é menos conhecido.¹⁴⁻¹⁸

Este trabalho foi realizado com objectivo de estudar sinais de activação eosinofílica em células obtidas por lavagem broncoalveolar (LBA), em diversas situações inflamatórias que se acompanham do seu recrutamento preferencial ao pulmão.¹⁹⁻²³ A lavagem broncoalveolar tem sido largamente usada na avaliação da infiltração inflamatória do interstício pulmonar onde, habitualmente, estas células não constituem, mais de 1% do total.²³⁻²⁶

Assim, de 235 doentes estudados por suspeita de doença pulmonar intersticial, seleccionamos 16 casos com valores de eosinófilos superiores ou iguais a 4% na LBA, valor que ultrapassa os limites de confiança de 95% da população normal em séries de referência publicadas.^{24,26} Para além da contagem total e diferencial das células inflamatórias da LBA, medimos os níveis de IgG e Albumina, como marcadores da inflamação intersticial²⁴ e também de ECP, uma das proteínas da matriz dos grânulos dos eosinófilos²⁸ e cuja presença em líquidos biológicos tem

sido correlacionada com a activação local destas células.^{17,21}

Estudámos também, por imunocitoquímica, a expressão de dois antigénios de activação eosinofílica: a forma excretada de ECP, pela reactividade com o anticorpo (atc) monoclonal EG2²⁹ e o Receptor 3 do Complemento - CR3, pela reactividade com o atc monoclonal para a sua cadeia alfa - CD11b³⁰. O atc EG2 não reage com eosinófilos normais mas apenas com células activadas "in vitro" ou "in vivo", reconhecendo uma sequência comum nas formas excretadas de ECP e EDN.²⁹⁻³¹ O CD11b, uma molécula da família das proteínas de adesão leucocitária, tem uma baixa expressão em eosinófilos normais aumentando em células hipodensas e activadas³⁰ e está envolvida nos mecanismos de citotoxicidade e de adesão endotelial dos eosinófilos activados.^{30,32}

Os resultados permitiram-nos verificar que a activação eosinofílica é um dado frequente nas doenças inflamatórias do interstício que se acompanham do seu recrutamento ao pulmão, onde a presença de eosinófilos que exprimem EG2 ou CD11b se correlaciona com o grau de inflamação intersticial. Sugerimos, também, um papel do macrófago alveolar na captação de ECP excretada no interstício pulmonar.

DOENTES E MÉTODOS

DOENTES:

Neste estudo incluímos 16 doentes, seleccionados de um total de 235 casos estudados por suspeita de patologia pulmonar intersticial e dado apresentarem um número de eosinófilos superior a 4% das células recuperadas na LBA (Quadro 1). Seis doentes eram do sexo feminino e 10 do sexo masculino, com um média de idades de 42±16 anos e apenas 4 eram fumadores (doentes n.º 2, 8, 11 e 12). O tempo médio de evolução da doença foi de 3,4 anos, tendo 5 doentes risco ocupacional.

Todos os doentes foram enviados ao Sector de Broncologia do Departamento de Pneumologia do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia ou ao Laboratório de Endoscopia do Serviço de Pneumologia do Hospital de S. João, após avaliação clínica que inclui telerradiografia pulmonar, exame funcional respiratório e os exames complementares de diagnóstico relevantes. Na altura da LBA, realizada na perspectiva de complementar o diagnóstico, nenhum doente estava com terapêutica imunomoduladora. Os dados da avaliação clínica e complementar de diagnóstico destes doentes estão descritos em promenor em publicação anterior.³³ Resumidamente, todos apresentavam alterações no Rx do tórax e 11 (69%) alterações nas

provas funcionais respiratórias, todos com defeito restrictivo; 10 dos 14 doentes (71%) estudados com difusão de Co tinham-na diminuída e 60% (9 em 15) hipoxemia em repouso.

Em 7 doentes foi feito o diagnóstico de Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI) por apresentarem um quadro caracterizado por história clínica compatível, síndrome ventilatório restrictivo, infiltrados intersticiais difusos no Rx, na ausência de risco ocupacional e com uma biópsia pulmonar demonstrando fibrose e/ou LBA traduzindo alveolite inflamatória. Se o quadro anterior estivesse associado a algum risco ocupacional era considerado, para efeitos de diagnóstico, como Fibrose Pulmonar Difusa (em 4 doentes) dada a impossibilidade de uma caracterização etiopatogénica mais precisa pelos dados disponíveis. Os diagnósticos de Sarcoidose (1 doente), Pneumonite de Hipersensibilidade (2 doentes) e Síndrome Pulmonar Eosinofílica (2 doentes) foram baseados nos critérios habituais.²⁷

QUADRO 1

Dados clínicos e da Lavagem Broncoalveolar dos doentes estudados

Doente n.º	Idade / sexo	Diagnóstico (1)	Tipo de alveolite na LBA (2)	% Eosinófilos na LBA	Total de Eosinófilos $\times 10^4 \text{ ml}^{-1}$ LBA
1	44/M	FPI	N + E	15,6	10,6
2	40/M	FPI	L + E	44,8	14,6
3	10/F	FPI	L + N + E	7,4	6,1
4	44/F	FPI	L + N + E	12,6	3,6
5	72/F	FPI	N + E	10,6	4,8
6	68/M	FPI	L + N + E	12,2	9,5
7	46/F	FPI	L + N + E	6,4	3,2
8	49/M	FPD	E	4,2	2,4
9	54/M	FPD	N + E	5,3	0,4
10	36/F	FPD	N + E	6,4	3,2
11	55/M	FPD	L + E	22,5	9,0
12	28/M	Sarcoidose	L + E	4,7	2,2
13	33/M	PH	L + N + E	4,4	5,0
14	37/M	PH	L + E	5	6,8
15	60/F	SPE	E	86,9	138,2
16	15/M	SPE	E	76,2	238,5

(1) FPI - Fibrose Pulmonar Idiopática; FDP - Fibrose Pulmonar Difusa; PH - Pneumonite de Hipersensibilidade; SPE - Síndrome Pulmonar Eosinofílica
(2) N - Alveolite neutrofílica (> 5% de neutrófilos), L - alveolite linfocítica (> 15% de linfócitos), E - eosinofílica (> 4% de eosinófilos)

LAVAGEM BRONCOALVEOLAR:

A LBA, bem como o seu processamento, foi realizada segundo as recomendações do European Society of Pneumology Task Group on BAL¹¹, utilizando 4 x 50 ml de soro fisiológico tamponado a 37° C, num dos subsegmentos do lobo médio ou língula. O líquido recuperado foi mantido a 4° C e transportado de imediato ao laboratório.

CÉLULAS NA LBA:

Após chegada ao laboratório, as 3 últimas amostras recuperadas foram misturadas de imediato e avaliada a sua celularidade total, em câmara de Neubauer, e viabilidade pela exclusão do azul de tripano. A contagem diferencial foi realizada em preparações de citocentrífuga, centrifugando 50 µl da amostra, contando por microscopia óptica e com grande ampliação 500 leucócitos, em lâminas coradas pelo Wright-Giemsa.

PROTEÍNAS DA LBA:

Uma amostra da LBA foi centrifugada para recuperação do sobrenadante e este congelado em partes iguais a -20° C, até à realização dos doseamentos. A IgG e Albumina foram doseadas em amostras não concentradas por imunonefelometria cinética³³, usando o nefelómetro QM 300, imunossoros e amostras padrão da Kallestad Diagnostics com um limite de doseamento de 1,1 mg/100 ml para a IgG e de 4,2 mg/100 ml para a Albumina. Os limites de confiança de 95% em séries publicadas são inferiores a 2,2 mg/100 ml para a IgG e inferiores a 9,1 mg/100 ml para a Albumina.²⁴ Em 14 casos, foi possível medir a ECP em amostras não concentradas por um método radioimunológico³⁴ (ECP Ria Pharmacia) seguindo instruções do fabricante. Resumidamente, a ECP da amostra compete com ECP marcada radioactivamente para um atc monoclonal anti-ECP; os complexos atg-atc assim formados são precipitados por dois atc policlonais, um dos quais ligado a Sepharose. A radioactividade no precipitado é inversamente proporcional à quantidade de ECP na amostra, sendo o limite inferior de doseamento de 2 µg/l. Os valores normais de referência publicados para este método são < 16 µg/ml no soro³⁴ e < 5 µg/ml na LBA.²¹

IMUNOCITOQUÍMICA:

A expressão de antígenos de superfície nas células da LBA foi estudada em preparações de citocentrífuga previamente congeladas, pelo método da fosfatase alcalina anti-fosfatase alcalina APAAP³⁵, usando os anticorpos monoclonais EG2 (Pharmacia) e anti-CD11b (Dako) em diluições apropriadas. Como controlo utilizaram-se também esfregaços de sangue de um doente com Síndrome Hipereosinofílica Idiopática, onde 65% dos eosinófilos marcaram com o anticorpo EG2 e 95% com o anti-CD11b.

CÉLULAS DA LBA:

Os dados da LBA mostraram um aumento da celularidade total em 11 casos, apresentando 9 doentes uma recuperação do volume total instilado inferior a 50%. Os 2 casos de SPE (n.ºs 14 e 15) apresentaram

as eosinofílias mais significativas (86,9 e 76,2%). Na maioria dos doentes (14 em 16) verificou-se, para além da existência de uma alveolite eosinofílica, um aumento concomitante de linfócitos e/ou neutrófilos (Quadro 1). A eosinofilia periférica ($> 500/\text{mm}^3$) estava presente em apenas 3 doentes, simultaneamente os casos com maior eosinofilia da LBA (casos 2, 15, 16).

Excluindo os 2 SPE (de evolução clínica mais rápida e com marcada eosinofilia da LBA), verificámos que os doentes com FPI apresentaram valores relativos de eosinofilia significativamente mais elevados do que os restantes doentes (média geométrica FPI = $12,9 \pm 2,2$ versus $6,1 \pm 1,8\%$, $p = 0,04$, Mann Whitney test) e que havia uma correlação significativa entre a percentagem de eosinófilos e o grau de hipoxemia em repouso ($r = -0,68$, $p = 0,02$, Spearman rank correlation).

PROTEÍNAS DA LBA:

A maior parte dos doentes (10/14; 71%) apresentaram níveis aumentados de IgG na LBA concomitantemente com aumentos da albumina (Quadro 2) com uma correlação significativa entre as duas proteínas ($r = 0,89$, $p = 0,001$).

QUADRO 2

Proteínas no líquido de Lavagem Broncoalveolar e marcadores de activação eosinofílica

Caso n.º	Diagnóstico	IgG	ALB	ECP	EG2+	CD11b+	MacEG2+	Eos%
1	FPI	1.1	5.3	2.8	9.8	2.2	0.6	15.6
2	FPI	45.3	105.0	5.2	31.2	16.6	4.6	44.8
3	FPI	4.2	5.2	6.8	3.9	1.4	0.9	7.4
4	FPI	8.5	12.0	22.0	11.0	1.8	3.1	12.6
6	FPI	10.4	8.7	10.5	11.4	4.0	7.9	12.2
7	FPI	1.6	5.7	3.6	6.9	0.3	11.6	6.4
8	FPD	1.2	5.6	6.2	1.9	0.4	0.4	4.2
9	FPD	2.2	4.7	5.0	3.6	3.3	2.9	5.3
11	FPD	15.9	13.5	5.2	18.2	1.8	0.8	22.5
12	Sarc.	20.9	48.4	<2.0	2.8	1.0	0.6	4.7
13	PH	15.3	10.5	<2.0	2.8	4.4	0.2	4.4
14	PH	3.0	7.0	5.0	3.9	0.2	0.0	5.0
15	SPE	26.3	27.9	72.0	64.0	39.7	6.3	86.9
16	SPE	21.3	19.7	30.0	35.5	16.2	17.5	76.2
-		12.7	19.9	12.5	14.8	6.7	4.1	22.0
(EPM)		(3.4)	(7.3)	(5.0)	(4.7)	(2.9)	(1.4)	(7.4)

IgG, Alb (mg/100 ml); ECP ($\mu\text{g/l}$); EG2+, CD11b, MacEG2+ e Eos em % de células do LBA.

Um aumento da ECP ($> 5 \mu\text{g/ml}$) estava presente em 57% dos doentes. Os seus níveis correlacionaram-se directamente com o número relativo de eosinófilos na LBA (ECP/Eos % $r = 0,60$, $p = 0,03$), quando se incluiu os dois SPE, os casos que apresentaram valores mais elevados destes dois parâmetros (Quadro 2 e 3). Na restante patologia do interstício pulmonar os níveis de ECP foram mais elevados na FPI (média geométrica $6,6 \pm 2,1 \mu\text{g/L}$ versus $2,4 \pm 3,4 \mu\text{g/L}$).

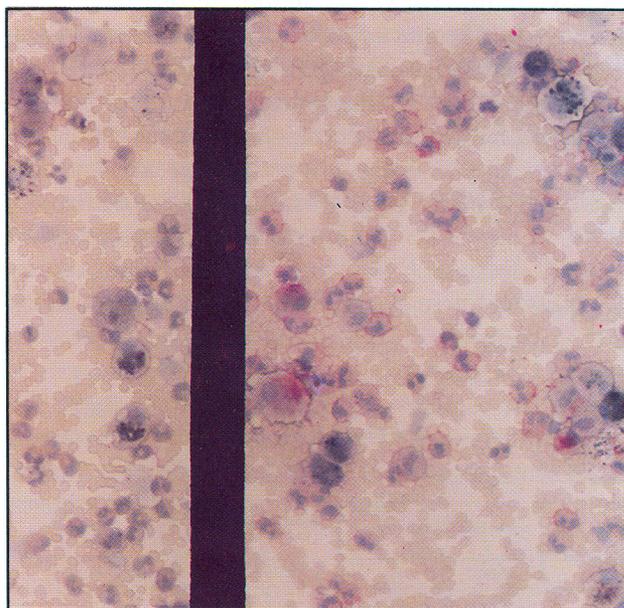


Figura 1 - Imunocitoquímica do caso n.º 15. A reactividade com o anticorpo monoclonal EG2 (à Direita) é demonstrada pela coloração vermelha dada pelo substrato, comparativamente com o de um esfregão controle (à Esquerda) sem adição desse anticorpo (APAAP, x50).

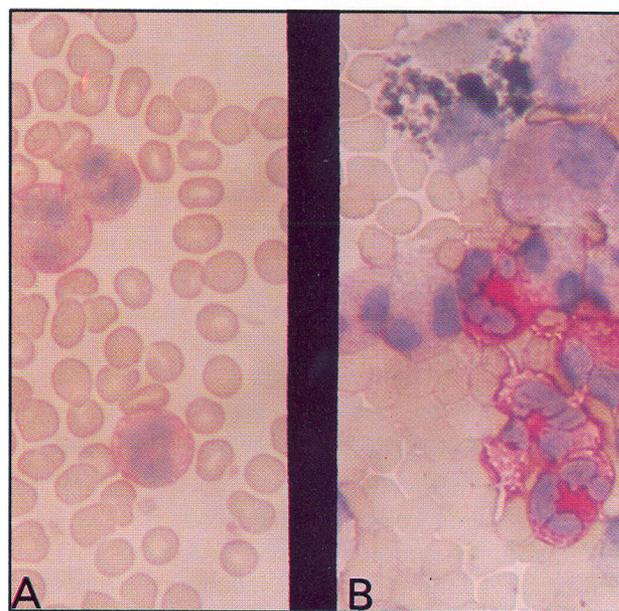


Figura 2 - Expressão do CD11b nos eosinófilos no caso n.º 15, no sangue (A) e na LBA (B) (APAAP, x200). É evidente a maior intensidade de marcação nos eosinófilos pulmonares.

IMUNOCITOQUÍMICA:

A utilização dos anticorpos monoclonais EG2 e anti-CD11b permitiu verificar sinais de activação celular numa percentagem importante dos eosinófilos recuperados na LBA: $71 \pm 18\%$ (52 a 100%) EG2+ e $28 \pm 27\%$ (4 a 37%) CD11b+ (Fig. 1 e 2). O número relativo de eosinófilos EG2+ na LBA - $8,4 \pm 1,3\%$ (média geométrica e erro padrão da média) foi significativamente maior que os CD11b+ - $2,3 \pm 1,5\%$ ($p=0,026$, Mann Whitney test) e estava particularmente elevado nos SPE (Quadro 3) e nas FPI ($10,0 \pm 2,0\%$ versus $4,0 \pm 2,2\%$ nas outras patologias do interstício, $p=0,05$). Apesar de percentualmente mais baixa que a EG2, a expressão de CD11b nos eosinófilos da LBA foi caracteristicamente mais intensa do que nos circulantes (Fig. 2). O seu número relativo na LBA correlacionou-se com o de eosinófilos EG2+ ($r=0,61$, $p=0,03$, Spearman rank correlation).

Comparando a expressão destes marcadores de activação eosinofílica com as proteínas da LBA verificamos que, quando se incluía os dois SPE, se correlacionaram significativamente com os níveis de ECP (EG2 $r=0,63$, $p=0,02$) e com os níveis de IgG (EG2/IgG $r=0,57$, $p=0,04$; CD11b/IgG $r=0,64$, $p=0,02$).

O anticorpo monoclonal EG2 marcou também alguns macrófagos alveolares (Fig. 3), praticamente em todos os casos estudados (Quadro 2). A sua presença correlacionou-se significativamente com a eosinofilia

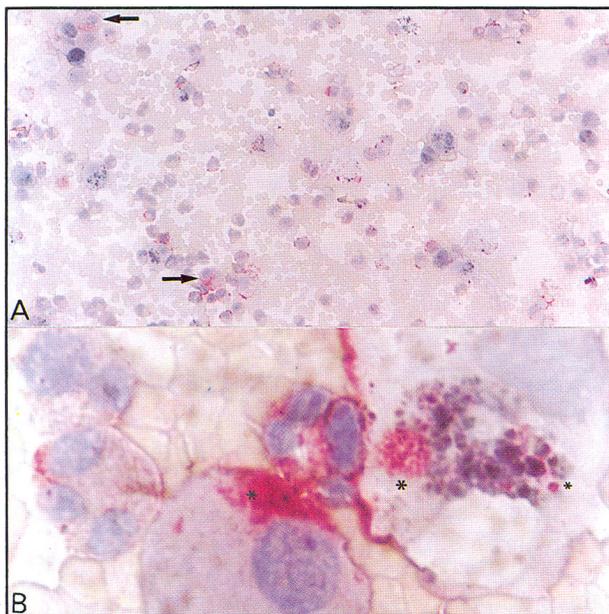


Figura 3 - Reactividade do anticorpo monoclonal EG2 com eosinófilos e macrófagos alveolares (\downarrow) na LBA do caso n.º 15. (A) Presença de intensa eosinofilia e extensa hemorragia alveolar, contendo alguns macrófagos pigmento hemossidérico (APAAP x50). (B) A marcação EG2 está presente nos eosinófilos e também no citoplasma de alguns macrófagos alveolares (*) (x200).

da LBA (eosinófilos % $r=0,65$, $p=0,02$) com a expressão percentual de EG2 nos eosinófilos pulmonares ($r=0,70$, $p=0,01$) e com os níveis de ECP na LBA ($r=0,58$, $p=0,04$).

Apesar da correlação negativa entre a percentagem de eosinófilos na LBA e a PaO_2 em repouso que referimos, não encontramos qualquer outra correlação significativa entre os marcadores de activação eosinofílica e os dados da avaliação funcional respiratória.

DISCUSSÃO

Neste estudo, em que investigamos a activação de eosinófilos pulmonares obtidos pela LBA em doenças do interstício, podemos concluir que:

1) a presença de eosinófilos activados, i.e. que exprimem as formas excretadas da ECP/EDN (EG2+) ou CR3 (CD11b+), é um dado frequente nas alveolites eosinofílicas (EG2+ 52 a 100% e CD11b+ 4 a 37%);

2) a ECP, um dos mediadores citotóxicos pré-formados nos grânulos dos eosinófilos, encontra-se muitas vezes em concentrações elevadas na LBA das patologias que se acompanham de alveolite eosinofílica, correlacionando-se os seus níveis com o número relativo de eosinófilos activados;

3) nas eosinofalias que acompanham as alveolites mistas de algumas doenças do interstício pulmonar, a presença de eosinófilos activados correlaciona-se significativamente com as concentrações de IgG no LBA, traduzindo possivelmente a sua relação com o grau de inflamação intersticial;

4) a forma excretada da ECP/EDN, estudada pela reactividade por imunocitoquímica com o anticorpo EG2, parece estar também presente nalguns macrófagos alveolares, sobretudo nos casos de maior eosinofilia e naqueles com maior expressão deste antigénio nos eosinófilos pulmonares. Assim, sugerimos que estas células poderão estar envolvidas na captação de ECP excretada no interstício e/ou espaço alveolar, possivelmente através da sua interacção com alfa2-macroglobulina³⁶ e dos receptores macrofágicos para os complexos alfa2-macroglobulina-proteinase.³⁷

No nosso estudo a Fibrose Pulmonar Idiopática foi a entidade mais representada e os Síndromes Pulmonares Eosinofílicas a patologia com eosinofilia mais significativa (Quadro 1), o que está de acordo com outras séries publicadas.^{5, 23, 38, 39}

No nosso grupo de doentes com eosinofalias mais moderadas (casos 1 a 14) o número relativo de eosinófilos correlacionou-se com a gravidade da hipoxemia o que, possivelmente, representa a sua

reconhecida patogenicidade nestas patologias.^{21, 22-40, 41} Neste estudo, à exclusão dos SPE, o subgrupo com FPI foi o que evidenciou maior activação eosinofílica na LBA (% Eos, % eos EG2+ e concentrações de ECP), o que está de acordo com dados clínicos obtidos pelo seguimento de doentes com FPI, que têm demonstrado que a eosinofilia se associa a pior evolução e à necessidade de terapêutica com ciclofosfamida.⁴¹⁻⁴⁴

Está hoje em dia bem estabelecido que os eosinófilos são células potencialmente agressoras do parênquima pulmonar,^{28, 45, 46} respondendo a um grupo de estímulos quimiotáticos que podem ser gerados no pulmão - PAF, leucotrieno B₄, C₅a e factores quimiotáticos dos mastócitos.^{4, 6, 47} Dados recentes apontam, também, para um contolo da sua diferenciação e activação por citoquinas, como a IL5 e GM-CSF produzidos por linfócitos T^{30, 32, 47-50} e outras células do parênquima pulmonar.⁵¹⁻⁵³

Algumas observações do nosso estudo reforçam também a hipótese de uma interacção entre linfócitos e eosinófilos activados na inflamação do interstício pulmonar. Assim, nas formas mais habituais de alveolite eosinofílica por nós observadas - eosinofilias moderadas acompanhando alveolites mistas - foi frequente a presença simultânea de linfocitose da LBA (9 dos primeiros 14 casos, Quadro 1), sobretudo nos doentes com menor tempo de evolução. Também, a correlação directa entre eosinófilos activados e níveis de IgG da LBA sugerem que essa activação «in vivo» se relaciona com o grau de inflamação intersticial.

Apoiando a existência de uma activação «in vivo» destas células nas doenças do interstício com alveolite eosinofílica, encontramos no líquido da LBA níveis elevados de ECP em 57% dos casos e uma correlação significativa dos seus níveis com o número relativo de eosinófilos EG2+ ou CD11b+. A ECP, um dos principais mediadores citotóxicos dos eosinófilos, é uma das proteínas catiónicas pré-formadas nos seus grânulos,^{6, 8, 29} com semelhanças bioquímicas, antigénicas e funcionais com a EDN, ambas possivelmente membros da «superfamília» génica das RNases.^{8, 28, 29, 54} A sua excreção parece ocorrer selectivamente após estímulos fagocíticos e via receptores para o complemento^{29, 55} e para a IgG na membrana celular do eosinófilo.⁵⁶ A sua presença em líquidos biológicos^{21, 13, 16, 17} e nos tecidos^{29, 31} tem sido relacionada com a activação «in vivo» destas células.

O facto de não encontrarmos qualquer correlação entre os níveis de ECP na LBA e os parâmetros de deterioração funcional respiratória, já descrita por outros autores na FPI,²¹ pensamos poder ser atribuída à heterogeneidade da população por nós estudada, com um número mais limitado desta patologia.

As correlações encontradas entre os marcadores de activação - EG2/CD11b - e destes com os níveis de IgG e de ECP na LBA, sugerem que as interacções descritas «in vitro» entre os receptores celulares para o complemento, a citotoxicidade mediada pela IgG e a excreção selectiva de ECP^{3, 55, 56} podem também estar envolvidas na patogenia de algumas doenças pulmonares intersticiais.

O estudo por imunocitoquímica de antigénios preferencialmente expressos em eosinófilos activados,^{3, 9, 29-31} permitiu-nos confirmar que a sua migração para o interstício pulmonar e espaço alveolar se acompanha de activação celular e excreção de mediadores citotóxicos dos seus grânulos (Fig. 1 e 2, Quadro 2). O anticorpo EG2 não reage com eosinófilos circulantes normais, reconhecendo uma estrutura antigénica comum à ECP e EDN nas suas formas excretadas após activação celular «in vivo» ou «in vitro».^{29, 31, 57}

Excepto num caso de suberose com intensa linfocitose (n.º 13, Quadro 1), a reactividade dos eosinófilos com o anticorpo EG2 foi sempre maior que a do anti-CD11b (Quadro 3), mas com uma correlação significativa entre a percentagem de células positivas com cada um dos marcadores, o que nos parece suportar a hipótese de que a relação selectiva entre a estimulação via CR3 e a excreção de ECP nos eosinófilos⁵⁵⁻⁵⁷ possa também existir «in vivo». O CD11b, a cadeia alfa do receptor 3 do complemento (CR3), é uma proteína de adesão celular,^{30, 32} cuja expressão nos eosinófilos é heterogénea³ (Fig. 2) e que aumenta significativamente após estimulação «in vivo» ou «in vitro»,^{3, 30, 32} estando particularmente envolvido na adesão leucocitária e endotelial de eosinófilos activados nomeadamente pelo PAF e interleucina 5 e na potenciação da sua citotoxicidade.^{32, 58, 59}

No nosso estudo, nos casos em que foi efectuada simultaneamente a marcação CD11b no sangue periférico com a da LBA, esta, apesar de heterogénea, foi sempre mais intensa nos eosinófilos do pulmão (Fig. 2).

A reactividade inesperada de alguns macrófagos alveolares com o anticorpo monoclonal anti-EG2, que nos parece ser uma observação original, poderá eventualmente representar uma reacção inespecífica ou de mera localização extracelular da proteína que identifica.^{29, 56} No entanto, apesar de frequentemente aparecer em células adjacentes a eosinófilos positivos e por vezes surgir alguma reactividade extracelular, a marcação surge também em macrófagos isolados e associada aos seus vacúolos e grânulos intracitoplas-

máticos (Fig. 3) Esta localização selectiva e a correlação significativa com a eosinofilia e a expressão de EG2 nos eosinófilos da LBA, sugerem-nos um papel destas células na eventual captação e metabolismo da ECP. Também, a descrição de uma reactividade marcada com este anticorpo nos granulomas de dois doentes com Síndrome de Churg-Strauss, ³¹ favorece a verdadeira especificidade desta marcação, já que é o caso da nossa série (Quadro 3, Fig. 3) em que encontramos uma maior positividade dos macrófagos alveolares.

O mecanismo de eliminação «in vivo» da ECP não estão estabelecido ³⁴ mas a sua ligação à alfa2-macroglobulina sugere a possibilidade da sua captação celular. O facto dos macrófagos alveolares produzirem alfa2-macroglobulina ⁶⁰ e de poderem captar complexos proteinase-alfa2-macroglobulina ^{37,61} torna esta hipótese particularmente atraente. Por outro lado, foi já anteriormente descrito um aumento dos níveis de alfa2-macroglobulina do LLBA nas doenças pulmonares intersticiais em actividade, ^{62, 63} o que reforça a ideia que a produção local de alfa2-macroglobulina pelo macrófago alveolar poderá contribuir para a actividade moduladora destas células em relação à agressão pulmonar por vários estímulos ^{64, 65} e, nomeadamente, pela ECP.

Em conclusão, este estudo parece-nos confirmar a hipótese colocada de que nalgumas doenças pulmonares intersticiais o recrutamento de eosinófilos ao pulmão acompanha-se da sua activação local, mesmo na ausência de um mecanismo mediado pela IgE, envolvendo possivelmente uma agressão tecidual pela excreção da sua Proteína Catiónica. A medição desta no líquido de Lavagem Broncoalveolar relaciona-se bem como a expressão de marcadores de actividade no eosinófilo, sugerindo que os seus níveis poderão dar alguma informação clínica sobre a intensidade da agressão pulmonar pelos eosinófilos. Por outro lado, o desenvolvimento recente de fármacos com uma importante acção inibitória sobre os eosinófilos ⁶⁶ permite perspectivar, no futuro, uma intervenção terapêutica mais selectiva nas doenças que, de uma forma aguda ou crónica, envolvem o seu recrutamento e activação no interstício pulmonar.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Drs. João Moura e Sá e Luís Goes Pinheiro a realização e obtenção do material da LBA, bem como a todos os Colegas que nos permitiram estudar os seus doentes. Agradecem, também, aos Drs. José Pedro Moreira da Silva e Francisco Carballada as sugestões críticas ao manuscrito. O Dr. Luís Delgado é bolseiro do INIC.

BIBLIOGRAFIA

1. Czarnetzki BM. Les polynucléaires éosinophiles. *Ann Dermatol Venereol* 1987; 114: 1147-1156.
2. Bruinjnzeel PLB. Contribution of eosinophil-derived mediation in asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 90: 57-63.
3. Capron M, Kazatchine MP, Fischer E, Joseph M, Butterworth AE et al. Functional role of the alpha chain of complement receptor type 3 in human eosinophil-dependent antibody-mediated cytotoxicity against Schistosomes. *J Immunol* 1987; 139: 2059-65.
4. Lefferman KM. A current perspective on the role of eosinophils in dermatologic diseases. *J Am Ac Dermatol* 1991; 24: 6 (pt 2), 1101-12.
5. Enright T, Chua S, Lim DT. Pulmonary Eosinophylic Syndromes. *Ann Allergy* 1989; 62: 227-83.
6. Gleich GJ. The eosinophil and bronchial asthma-current understanding. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85 (2): 422-35.
7. Carlsson M, Hakansson L, Peterson C, Stalenheim G, Venge P. Secretion of granule proteins from eosinophils and neutrophils is increased in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 27-33.
8. Venge P, Dahl K, Fredens K, Hallgren R, Peterson C. Eosinophil Cationic Proteins (ECP and EPX) in health and disease. Immunobiology of the Eosinophil. Yoshida T, Torisu M, eds. Elsevier Science Publishing Co, Inc. 1983; 163-79.
9. Hansell TT, Pound JD, Thompson RA. Isolation of eosinophils from human blood. *J Immunol Methods* 1990; 127: 153-64.
10. Dahl, Venge P, Olsson I. Variations of blood eosinophils and Eosinophil Cationic Protein in serum in patients with bronchial asthma. *Allergy* 1978; 33: 211-5.
11. Venge P, Dahl R, Peterson CGB. Eosinophil granule proteins in serum after allergen challenge of asthmatic patients and the effects of anti-asthmatic medication. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988; 87: 306-12.
12. Griffin E, Hakansson L, Formgren H, Jorgensen K, Peterson C, Venge P. Blood eosinophils number and activity in relation to lung function in patients with asthma and with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 548-57.
13. Winqvist I, Olsson I, Werner S, Stenstam M. Variations of cationic proteins from eosinophil leukocytes in food intolerance and allergic rhinitis. *Allergy* 1981; 36: 419-23.
14. Prin L, Capron M, Gosset P, Wallaert B, Kurnier JP et al. Eosinophilic lung diseases: immunological studies of blood and alveolar eosinophils. *Clin Exp Immunol* 1986; 63: 249-57.
15. Ogushi F, Ozaki T, Kawano T, Yasuoko S. PEG2 and PGF2 alpha content in bronchoalveolar lavage fluid obtained from patients with Eosinophilic Pneumonia. *Chest* 1987; 91 (2): 204-6.
16. Friga E, Loegering DA, Solley GO, Farrow GM, Gleich GJ. Elevated levels of the eosinophil granule Major Basic Protein in the sputum of patients with bronchial asthma. *Mayo Clinic Proceedings* 1981; 56: 345-53.
17. Linder A, Venge P, Deuschl H. Eosinophil cationic protein and myeloperoxidase in nasal secretion as markers of inflammation in allergic rhinitis. *Allergy* 1987; 42: 583-90.
18. Zweiman B, Atkins PC, von Allmen C, Gleich GJ. Release of eosinophil granule proteins during IgE-mediated allergic skin reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 984-92.
19. Foresi A, Pesci A, Olivieri D. Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma during remission. *Chest* 1990; 98 (3): 528-35.
20. Fink JN, deShazo R. Immunologic aspects of granulomatous and interstitial lung diseases. *JAMA* 1987; 258 (20): 2938-44.
21. Hallgren R, Bjermer L, Lundgren R, Venge P. The eosinophil component of alveolitis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 373-7.

22. **Rudd RM, Haslam PL, Turner-Warwick M.** Cryptogenic Fibrosing Alveolitis. Relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis*; 124: 1-8.
23. **Daniel C, Israel-Biet D, Costabel U, Rossi GA, Wallaert B.** The clinical role of BAL in eosinophilic lung diseases. Klech H, Hutter C eds. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1990; 3: 9-50.
24. **The BAL Cooperative Group Steering Committee.** Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, Idiopathic Pulmonary Fibrosis and selected comparison groups. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141 (5 pt 2): S169-201.
25. **Daniel RP.** Bronchoalveolar lavage. Daniel RP ed. Immunology and Immunologic Diseases of the Lung. *Blackwell Scientific Publications* 1988; 14 (pt 2): 303-18.
26. **Klech H, Pohl W** eds. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1989; 2: 561-85.
27. **Daniel RP** ed. Immunology and Immunologic Diseases of the Lung. *Blackwell Scientific Publications* 1988; III: 293-678.
28. **Hamman K, Barker RL, Ten RM, Gleich GJ.** The molecular biology of Eosinophil Granule Proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 202-9.
29. **Tai PC, Spry CJF, Peterson C, Venge P, Olsson I.** Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophil cationic protein. *Nature* 1984; 309: 182-4.
30. **Thorne KJ, Richardson BA, Mazza G, Butterworth AE.** A new method for measuring eosinophil activating factors, based on the increased expression of CR3alpha chain (CD11b) on the surface of the activated eosinophils. *J Immunol Methods* 1990; 133: 47-54.
31. **Spry CJJ, Tai RC, Barkans J.** Time localization of human eosinophil cationic proteins in allergic diseases. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985; 77: 252-4.
32. **Walsh GM, Wardlaw AJ, Hartnell A, Sanderson CJ, Kay AB.** Interleukin 5 enhances the in vitro adhesion of human eosinophils, but not neutrophils, in a leukocyte integrin (CD11/18)-dependent manner. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991; 94: 174-8.
33. **Delgado L, Winck JC, Torres da Costa J, Goes Pinheiro L, Moura e Sá J e Fleming Torrinha JA.** O Eosinófilo na suspeita de patologia Pulmonar Intersticial. Contributo da lavagem broncoalveolar na sua caracterização. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia* 1992; 1 (2): 34-9.
34. **Peterson CGB, Enander I, Nystrand J, Anderson AS, Nilsson L, Venge P.** Radioimmunoassay of human eosinophil cationic protein (ECP) by an improved method. Establishment of normal levels in serum and in vivo. *Clin Exp Allergy* 1991; 21: 561-7.
35. **Mason DY.** Techniques in Immunocytochemistry vol. 3. **Bullock CR, Petrusz P,** eds. *Academic Press* 1985; 25-42.
36. **Peterson CGB, Venge P.** Interaction and complex-formation between the eosinophil cationic protein and alpha2-macroglobulin. *Biochem J* 1987; 245: 781-7.
37. **Debanne MT, Bell R, Dolovich J.** Uptake of proteinase-alpha2-macroglobulin complexes by macrophages. *Bioch Biophys Acta* 1976; 411: 295-304.
38. **Allen JN, Davis BW, Pacht ER.** Diagnostic significance of increased bronchoalveolar lavage fluid eosinophils. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 642-7.
39. **Haslam PL, Turton CWG, Lukoszek A, Salsbury AJ, Dewar A, Collins JV, Turner-Warwick M.** Bronchoalveolar lavage fluid cell counts in cryptogenic fibrosing alveolitis and their relation to therapy. *Thorax* 1980; 35: 328-39.
40. **Haslam PL, Poulter LW, Rossi GA, Bauer W, De Rose V, Eckert H, Olivieri D, Teschler H.** The clinical role of BAL in idiopathic pulmonary fibrosis. **Klech H, Hutter C** eds. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1990; 3: 940-2.
41. **Haslam P.** Cryptogenic fibrosing alveolitis: pathogenetic mechanisms and therapeutic approaches. Bronchoalveolar lavage: New insights in research and clinical application. Workshop report. *Eur Respir J* 1990; 3: 355-7.
42. **Turner-Warwick M, Haslam PL.** The value of serial bronchoalveolar lavages in assessing the clinical progress of patients with Cryptogenic Fibrosing Alveolitis. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 26-34.
43. **DuBois RM.** Recent advances in immunology of interstitial lung disease. *Clinical and Exp Allergy* 1991; 21: 9-16.
44. **Turner-Warwick M, Haslam PL.** The immunology of Cryptogenic Fibrosing Alveolitis (Idiopathic Pulmonary Fibrosis). **Daniel RP** ed. Immunology and Immunologic Diseases of the Lung. *Blackwell Scientific Publications* 1988; 19: 377-395.
45. **Ayars GH, Altman LC, Gleich GJ, Loegering DA, Baker CB.** Eosinophil and eosinophil granule-mediated pneumocyte injury. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 595-604.
46. **Lundgren JD, Davey RT, Lundgren B, Mullol J, Marom Z,** et al. Eosinophil cationic protein stimulates and major basic protein inhibits airway mucus secretion. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 689-98.
47. **Kay AB.** Eosinophil chemotactic factors in asthma allergy. Eosinophils, allergy and asthma. **Kay AB** ed. *Blackwell Scientific Publications* 1990; 4: 31-44.
48. **Frew AJ, Kay AB.** Eosinophils and T-lymphocytes in late-phase allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85 (3): 533-90.
49. **Raghavachar A, Fleischer S, Frickhofen N, Heimpl H, Fleischer B.** T-lymphocyte control of human eosinophilic granulopoiesis. Clonal analysis in an Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome. *J Immunol* 1987; 139: 3753-8.
50. **Owen WF.** Cytokine regulation of eosinophil inflammatory disease. *ACI News* 1991; 3 (3): 85-9.
51. **Weller.** Eosinophils and fibroblasts: the medium in the mesenchyme. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1989; 1: 267-8.
52. **Vancheri C, Gaudie J, Bienenstock J, Cox G, Scicchitano R** et al. Human lung fibroblast-derived Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) mediates eosinophil survival in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1989; 1: 289-95.
53. **Howell CJ, Lee TA.** Interactions between monocytes, macrophages and eosinophils. Eosinophils, Allergy and Asthma. **Kay AB** ed. *Blackwell Scientific Publications* 1990; 5: 45-9.
54. **Gleich GJ, Loegering DA, Bell PM, Checkel JL, Ackerman SJ** et al. Biochemical and functional similarities between human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein: homology with ribonuclease. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 3146-50.
55. **Winqvist I, Olofsson T, Olsson I.** Mechanisms for eosinophil degranulation; release of the eosinophil cationic protein. *Immunol* 1984; 51: 1-8.
56. **Capron M, Tomassini M, Torpier G, Kusmierz JP, MacDonald S, Capron A.** Selectivity of mediators released by eosinophils. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 88: 54-8.
57. **Kay AB.** Modulation of eosinophil function in vitro. *Clin Exp Allergy* 1990; 20 (suppl 4): 31-4.
58. **Koenderman L, Kuijpers TW, Blom M, Tool ATJ, Roos D, Verhoeven AJ.** Characteristics of CR3-mediator aggregation in human eosinophils: effect of priming by platelet-activating factor. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 947-54.
59. **Walsh GM, Hortnell A, Moqbell R, Kurihara K, Kay AB.** Interaction between PAF, cytokines, the CD11/18 complex and

eosinophil adherence reactions in vitro. Eosinophils, Allergy and Asthma. Kay AB ed. *Blackwell Scientific Publications* 1990; 6: 50-9.

60. Bonner JC, Hoffman M, Brody AR. Alpha-Macroglobulin Secreted by Alveolar Macrophages Serves as a Binding Protein for a Macrophage-derived Homologue of Platelet-derived Growth Factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1989; 1: 171-9.
61. Hoffman M, Feldman SR, Pizzo SV. Alpha-2-Macroglobulin «Fast» Forms inhibit Superoxide production by activated Macrophages. *Biochim Bioph Acta* 1983; 760: 421-3.
62. Martinot JB, Wallaert B, Hatron PY, Francis C, Voisin C, Sibille Y. Clinical and subclinical alveolitis in collagen vascular diseases: contribution of alpha-2-macroglobulin levels in BAL fluid. *Eur Respir J* 1989; 2: 437-43.

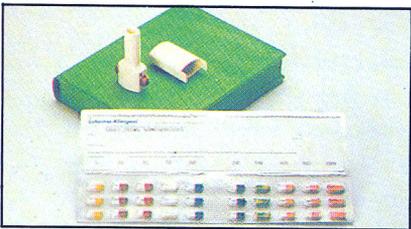
63. Delacroix DL, Marchandise FX, Francis C, Sibille Y. Alpha-2-Macroglobulin, Monomeric and Polymeric Immunoglobulin A, and Immunoglobulin M in Bronchoalveolar Lavage. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 829-35.
64. Huang JS. Alpha-2-Macroglobulin - a modulator for growth factors? *Am J Respir Cell Mol Biol* 1989; 1: 169-70.
65. James K. Interactions between cytokines and alpha 2-macroglobulin. *Immunol Today* 1990; 11 (5): 163-6.
66. Capron M, Prin L, Ameisen J-C, Capron A. Immunoglobulin receptors on eosinophil leukocytes. Eosinophils allergy and asthma. Kay AB ed. *Blackwell Scientific Publications* 1990; 2: 11-20.

Lofarma Lusitana Limitada

Av. Valbom 16, 2º esq.
2750 Cascais



Tel. 01/2846733
Telefax 01/2846788



ALLERKIN TEST
Test di provocazione nasale
per Graminacee, Parietarie
e Dermatophagoides

A Alergia na Patogénese da Rinite e Otopatia Serosa

INÊS LOPES*, HELENA FALCÃO*, PEDRO JUIZ**, RUI NUNES**, M. PAIS CLEMENTE***, MARIANELA AZEVEDO****

RESUMO

A otopatia serosa embora seja uma doença comum na criança, pode ocorrer em qualquer idade. A infecção, a obstrução da trompa de Eustáquio e a obstrução nasal são factores etiológicos bem conhecidos; actualmente é discutível o papel da alergia na sua patogénese.

Foram estudados dois grupos de doentes (Grupo A com otopatia serosa e Grupo B com rinite). Os autores verificaram que 14,8% dos doentes com otopatia serosa eram atópicos e 40,7% tinham rinite associada. A incidência de otopatia serosa no grupo de doentes com rinite foi de 11,4%, com predomínio de não atópicos. Não se encontram deficiências de imunoglobulinas, no entanto 6 doentes tinham deficiência de alta-1 antitripsina.

Neste estudo, a atopia e alergia respiratória não parecem ser factores de risco importantes no desenvolvimento da otopatia serosa.

PALAVRAS-CHAVE: Otopatia Serosa; Rinite; Alergia.

SUMMARY

Otitis media with effusion (OME) is a very common pediatric disease although it can occur at any age. The importance of infection, Eustachian tube obstruction and nasal obstruction are well known but the role of allergy in the development of OME has not been completely resolved.

We studied two groups of patients (Group A with OME and Group B with Rhinitis). On the basis of our investigation we found that 14,8% of patients with OME were atopic and 40,7% had rhinitis associated. On the other hand the incidence of OME in patients

with rhinitis was 11,4% with a preponderance of nonatopics. We didn't find deficits of immunoglobulins but 6 patients had deficit of alfa-1 antitrypsin.

In this study the atopy and respiratory allergy don't seem to be a major risk factor to the development of OME.

KEY-WORDS: *Otitis media with effusion; Rhinitis; Allergy.*

INTRODUÇÃO

A otopatia serosa é uma entidade comum na criança, embora possa ocorrer em qualquer idade. A infecção, a obstrução da trompa de Eustáquio e a obstrução nasal são factores importantes na sua patogénese.¹ A possibilidade da alergia contribuir para o seu desenvolvimento não é um conceito novo e o seu papel tem sido debatido durante anos.^{2,3} Existem estudos que referem uma elevada prevalência de otopatia serosa nos doentes com alergia respiratória,^{2,4} embora haja outros que não a apontam como factor etiológico importante.⁵

Os objectivos deste estudo foram os seguintes:

- Avaliar a incidência de atopia e rinite em doentes com otopatia serosa;
- Avaliar a incidência de atopia e otopatia serosa em doentes com rinite;
- Avaliar se existem deficiências de imunoglobulinas e/ou alfa 1 antitripsina nestes grupos de doentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados dois grupos de doentes (Grupo A com otopatia serosa e Grupo B com rinite), seleccionados aleatoriamente na Consulta Externa do Serviço de Otorrinolaringologia e da Unidade de Imunoalergologia, durante um período de 6 meses (de Outubro a Março), respectivamente.

No quadro I e II apresentam-se as suas características. Os doentes não efectuavam qualquer

* Interno Complementar de Imunoalergologia do H.S. João - Porto.

** Interno Complementar de Otorrinolaringologia do H.S. João - Porto.

*** Chefe de Serviço e Director do Serviço de Otorrinolaringologia do H.S. João - Porto.

**** Chefe de Serviço e Directora da Unidade de Imunoalergologia do H.S. João - Porto.

tipo de medicação. Após a realização da história clínica, na qual foram valorizados, de forma especial, sintomas do foro otorrinolaringológico (características, factores desencadeantes ou de agravamento), procedeu-se ao exame físico, que incluiu otoscopia e rinoscopia.

**QUADRO I - DOENTES COM OTOPATIA SEROSA
(Grupo A)**

POPULAÇÃO

N.º	27
Idade	6 - 51 anos
(média ± dp)	(19,8 ± 13,8)
Sexo: F	17 (63%)
M	10 (37%)

**QUADRO II - DOENTES COM RINITE
(Grupo B)**

POPULAÇÃO

N.º	44
Idade	11 - 52 anos
(média ± dp)	(25,2 ± 11,7)
Sexo: F	27 (61,4%)
M	17 (38,6%)

Foram realizados testes cutâneos pelo método "prick", para inalantes ambientais comuns; audiograma, impedancimetria com análise do timpanograma; hemograma, doseamento de alfa-1 antitripsina e imunoglobulina séricas; citologia do muco nasal e exame parasitológico das fezes.

RESULTADOS

No Grupo A, de doentes com otopatia serosa, 11 (40,7%) tinham associadamente rinite (1 - alérgica, 10 - não alérgica), apenas 4 (14,8%) eram atópicos (Fig. 1). Todos tinham alterações no audiograma (hipoacusia de condução) e timpanograma (Fig. 2).

Três (11%) doentes apresentavam deficiência de alfa-1 antitripsina (Fig. 1) e nenhum tinha deficiência de imunoglobulinas.

No Grupo B, de doentes com rinite (26 - alérgica, 18 - não alérgica), em 5 (11,4%) existia associadamente otopatia serosa, e destes apenas 1 era atópico (Fig. 3). Onze (25%) tinham alterações no audiograma (hipoacusia de condução), 5 (11,4%) no timpanograma (Fig. 4) e 3 (6,8%) apresentavam deficiência de alfa-1 antitripsina (Fig. 3). Não se encontrou deficiência de imunoglobulinas.

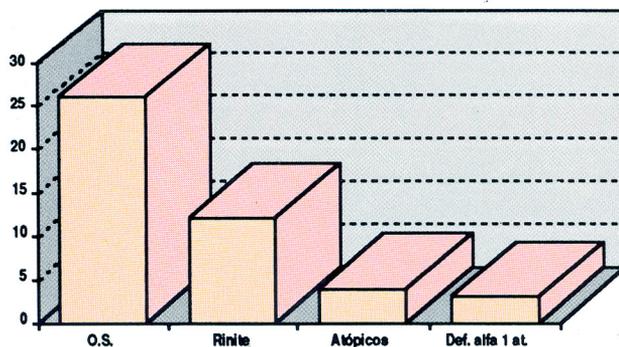


Figura 1 - Resultados do grupo de doentes com otopatia serosa.

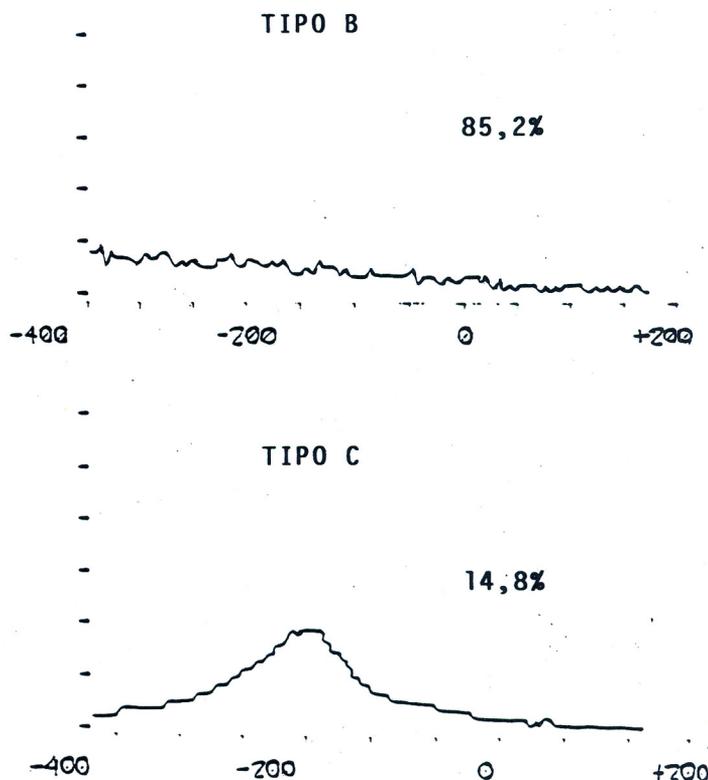


Figura 2 - Timpanogramas dos doentes com otopatia serosa (Grupo A).

DISCUSSÃO

No Grupo A de doentes com otopatia serosa, verificou-se a ocorrência simultânea de rinite em 40,7%, sugerindo que a obstrução nasal seja um factor importante na sua patogénese. ¹ Não se verificou maior incidência de atopia do que na população em geral, ⁶ ao contrário do que foi referido por um estudo efectuado por Bernstein, ⁷ no qual 35% das crianças tinham concomitantemente rinite alérgica. A diferença de resultados entre os dois estudos poderá ser explicada pelas diferentes características da população, nomeadamente o número e a idade dos doentes.

No Grupo B de doentes com rinite, a incidência de otopatia serosa foi de 11,4%, semelhante à encontrada

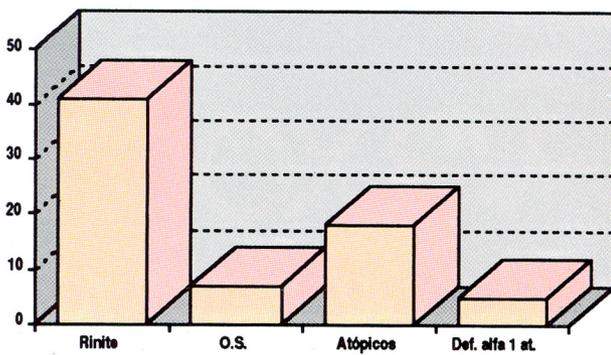
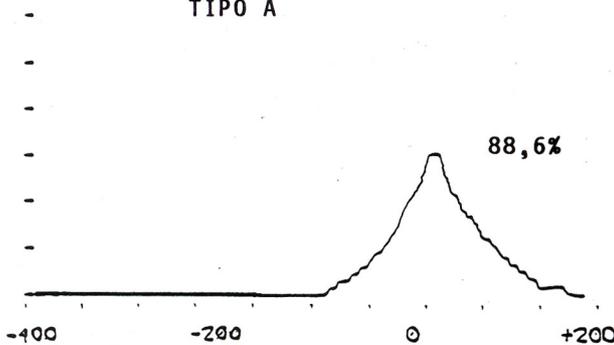
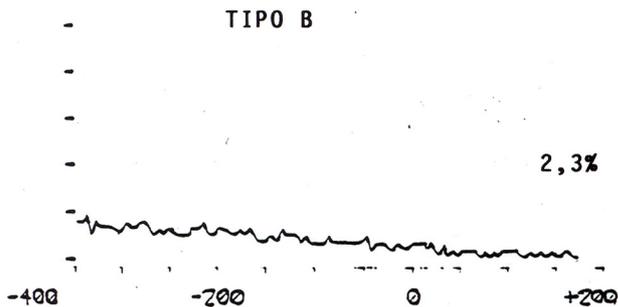


Figura 3 - Resultados do grupo de doentes com rinite.

TIPO A



TIPO B



TIPO C

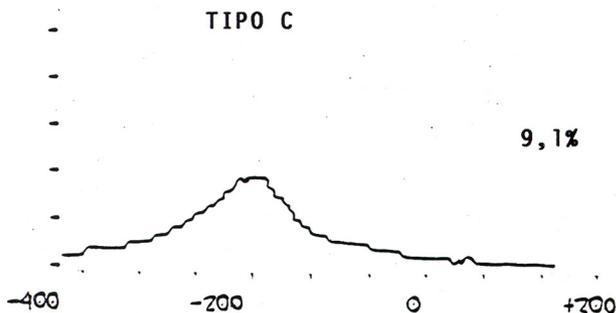


Figura 4 - Timpanogramas dos doentes com rinite (Grupo B).

patia serosa em crianças com alergia respiratória, ^{2,4} no entanto esta não é conhecida em adultos.

Os resultados deste estudo, no qual a população é heterogénia no que se refere à idade, poderão reflectir o funcionamento do músculo tensor do véu do palatino, ou até alterações na estrutura crâneo-facial relacionada com a idade. ¹⁰⁻¹² A atopia e a alergia respiratória não parecem ser factores de risco importantes no desenvolvimento da otopatia serosa.

Particularmente nas crianças, as situações de infecção, rinite recorrente e otopatia serosa, podem traduzir um síndrome de imunodeficiência ou deficiências enzimáticas, pelo que o doseamento de imunoglobulinas e da alfa-1 antitripsina deve ser efectuado por rotina.

Neste estudo não se encontrou deficiências de imunoglobulinas, no entanto 6 doentes tinham deficiência de alfa-1 antitripsina, o que apoia a necessidade do seu doseamento.

Dada a controvérsia dos resultados obtidos pelos vários autores, são necessários estudos epidemiológicos que indiquem a incidência da otopatia serosa em crianças e adultos com alergia respiratória.

BIBLIOGRAFIA

1. Philip Fireman: Otitis media and its relationship to allergy. *Pediatric Clinics of North America* 35 (5): 1075-1090, 1988.
2. Welliver RC. Allergy and middle ear effusions: fact or fiction. In *Immunology of the ear*. Bernstein JM, Ogra PL. New York, Raven Press, 1987.
3. Kraemer MJ, Richardson MA, Weiss NS et al: Risk factors for persistent middle ear effusions: Otitis Media, catarrh, cigarette smoke exposure and atopy. *JAMA* 249: 1022, 1983.
4. Philip Fireman: Otitis Media and Nasal Disease: A role for allergy. *J Allergy Clin Immunol* 82: 917-924, 1988.
5. Cantekin EI, Mandel EM, Bluestone CD et al: Lack of efficacy of a decongestant-antihistamine mixture combination for otitis media with effusion. *N Engl J Med* 308: 297-301, 1983.
6. Niels Mygind: *Essential Allergy*, Blackwell Scientific Publications, 1986.
7. Bernstein JM, Lee J, Conboy K: The role of IgG mediated hypersensitivity in recurrent otitis media with effusion. *Am J Otolaryngol* 5: 66-69, 1983.
8. Fiellan Nkiolajsen M: Tympanometry and secretory otitis media: Observations on diagnosis, epidemiology, treatment and prevention in prospective cohort studies of three year old children. *Acta Otolaryngol* 96 (Suppl 394): 7, 1983.
9. Cardoso S: Otitis sero-mucosas numa população escola. *Medice Maio* 90: 43-50, 1990.
10. Bluestone CD: Eustachian tube obstruction in the infant with cleft palate. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 80 (Suppl): 1, 1971.
11. Bluestone CD, Cantekin EI, Beery QC et al: Eustachian tube ventilatory function in relation to cleft palate. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 84: 333, 1975.
12. Doyle WJ, Cantekin EI, Bluestone CD. Eustachian tube function in cleft palate children. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 89 (68): 34, 1980.

Correspondência:

Dr.ª Inês Lopes
Unidade de Imunoalergologia
Serviço de Medicina IV - H.S. João
Alameda Prof. Hernani Monteiro
4200 PORTO

por Fiellan-Nkiolajsen ⁸ e inferior à referida por Salvador Cardoso ⁹ em crianças assintomáticas. Alguns autores têm referido uma elevada incidência de oto-

ASMA E GRAVIDEZ - PROPOSTA DE UM PROTOCOLO PROSPECTIVO

M. GRAÇA CASTEL-BRANCO*, AURORA CARVALHO**, JOÃO ALMEIDA*** - *Porto, Portugal*

Conforme foi noticiado no n.º 4 do vol. 1 da Revista Portuguesa de Imunoalergologia encontrava-se em preparação um protocolo prospectivo sobre Asma e Gravidez, apresentado na reunião da Comissão de Alergologia Respiratória da S.P.P.R. realizada em Junho de 1993 e que os autores se propuseram publicar. Este protocolo, não sendo um documento acabado, pretende ser uma proposta aberta às sugestões, críticas e comentários que os especialistas interessados nesta matéria entenderem formular. Reunidas e analisadas as alterações propostas e obtida a sua aprovação pela Comissão de Ética é objectivo dos autores solicitar a colaboração dos centros interessados na sua aplicação, no sentido de obter uma visão prospectiva sobre este tema ainda polémico.

A asma ocorre entre 0,4 e 1,3% de mulheres grávidas, incidência que permite colocá-la entre as complicações médicas mais frequentemente encontradas (doença cardíaca 1%).

O presente protocolo pretende responder à questão: A gravidez altera o curso da asma?

A maioria dos trabalhos existentes são passíveis de algumas críticas: são retrospectivos, avaliam parâmetros subjectivos, ignoram outros factores de influência, não utilizam doseamentos séricos nem estudos funcionais respiratórios, nomeadamente de hiperreactividade brônquica.

Por outro lado, coloca-se outra questão: O desfecho da gravidez pode ser influenciado pela evolução da asma e pela medicação necessária para o seu controle? Consensualmente considera-se que uma asma mal controlada pode trazer riscos para o feto e que a medicação mais recente é segura e eficaz.

Numa 2.ª fase propõem-se os autores, em conjunto com os colegas que fizeram chegar à Comissão elementos abordando este último aspecto, publicar normas de orientação terapêutica para a asmática grávida.

* Chefe de Serviço de Imunoalergologia
Unidade de Imunoalergologia - H.S. João
Directora: Dr.ª Marianela Vaz

** Assistente Hospitalar Graduada de Pneumologia
Serviço de Pneumologia - C.H. Gaia
Director de Departamento: Dr. Ramalho de Almeida

*** Assistente Hospitalar de Pneumologia
Serviço de Pneumologia - H.S. João
Director: Prof. Dr. J.A. Marques

IDENTIFICAÇÃO

Méd. Esp. Ass.:
Méd. Obst. Ass.:
Local Consulta:

HISTÓRIA OBSTÉTRICA

- 1. Menarca: anos
- 2. 1.ª gestação: anos
- 3. N.º gestações:
- 4. N.º de filhos:
- 5. N.º de abortamentos:
- 6. Complicações na(s) gestação(s):

Respiratórias _____

Outras _____

- 7. Complicações no(s) parto(s):

Respiratórias _____

Outras _____

- 8. Gestação actual

Data de início:

Data prevista do parto:

Medicações em curso: _____

HISTÓRIA DA DOENÇA ASMÁTICA

- 1. Data de início

Alérgica Alergéneos: Ácaros Pólenes Outros _____

Não alérgica _____

- 3. Doenças alérgicas associadas:

Rinite

Urticária / Angioedema

Alergia a fármacos _____

Outras _____

4. Gravidade fora da(s) gestação(s)
 Ligeira Moderada Grave
 Crises com risco de vida
 Corticodependente (Sist.)
 Corticoresistente
 Imunoterapia

5. Gravidade em gestação(s) anterior(es)
- | | 1. ^a | 2. ^a | 3. ^a |
|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Mesmo estado | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Agravamento | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Melhoria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

ANTECEDENTES PESSOAIS

1. Outras doenças: _____

Medicações em curso: _____

2. Hábitos alcoólicos g/l/dia

3. Hábitos tabágicos

$$U.M.A. = \frac{n.^{\circ} \text{ cig./dia} \times n.^{\circ} \text{ anos}}{20} = \dots\dots\dots$$

4. Toxicodependência

Droga:

Inal. Inj. Oral

AVALIAÇÃO DA ASMA NOS 12 MESES ANTERIORES À GESTAÇÃO ACTUAL

1. Gravidade

Ligeira Moderada Grave

2. Medicação em curso: _____

3. Imunoterapia em curso Fase:

4. Recurso ao S.U. N.º de vezes:

5. Internamentos N.º Duração: _____ U.C.I.

6. Dados objectivos (a registar em quadro II)

— Eosinofilia periférica N.º/mm³

— Imunoglobulinas séricas: IgE IgA IgG IgM

— IgE específica: _____

— Cortisol sérico basal

— Gasometria arterial ou saturação transcutânea _____

— DEMI: Melhor valor

Pior Valor

— Espirometria simples: _____

— Prova da Metacolina: Positiva PC₂₀
Negativa

— Progesterona / estrogénios: _____

AVALIAÇÃO DA ASMA NA GESTAÇÃO ACTUAL (a registar em quadro I)

(No 1.º, 2.º e 3. trimestres e no pós-parto)

- Sintomas respiratórios (score)
- Refluxo gastroesofágico
- DEMI (média dos melhores valores)
- Medicação

EVOLUÇÃO DA ASMA DURANTE O PARTO

Sintomas: _____

A.P.: _____

Necessidade de medicação: _____

QUADRO I

ANÁLISE DE REGISTO DIÁRIO DE SINTOMAS, DEMI E MEDICAÇÃO		
Nos 15 dias anteriores à consulta		
SINTOMAS (score)	DEMI (média dos melhores valores)	MEDICAÇÃO
No 1.º trimestre:		
No 2.º trimestre:		
No 3.º trimestre:		
Pós-parto: (3 meses)		
Consultas Urgentes (Data, gravidade, medicação, DEMI):		

QUADRO II

	12 meses ant.	1.º trimestre	2.º trimestre	3.º trimestre	Pós-parto 3.º mês
DEMI					
EOSINOFILIA	*	*		*	*
IgE Total	*	*		*	*
ESPIROMETRIA CV Valor real VEMS e DEM 50 % V. teórico DEM 75	*	*		*	*
SATURAÇÃO pH PaO ₂ PaCO ₂	*	*		*	*
CORTISOL	*	*		*	*
PROGESTERONA ESTROGÉNIOS					
METACOLINA	*	*		*	*

* *Períodos em que devem ser realizados.*

O mesmo protocolo será aplicado durante 1 ano a mulheres asmáticas, em período fértil, que não concebendo, formarão um grupo de controle.

Entendemos como razoável o prazo de 2 meses a partir da data de publicação da Revista, para recolha de sugestões, comprometendo-se os autores a noticiar a conclusão do protocolo

definitivo no próximo número da Revista previsto para Março de 1994, e a colocá-lo à disposição dos colegas interessados:

Correspondência:
Dr.ª M. Graça Castel-Branco
Unidade de Imunoalergologia
Serviço de Medicina IV - H.S. João
Alameda Prof. Hemani Monteiro
4200 PORTO

Patologia Respiratória num Profissional de Ourivesaria *

MF BAGANHA ⁽¹⁾, MAT MARQUES ⁽¹⁾, MJ JULIÃO ⁽²⁾, ML TEIXEIRA ⁽³⁾, C MATOS ⁽⁴⁾, MM GODINHO ⁽⁵⁾, LJ NEVES ⁽⁵⁾, FG SILVA ⁽⁵⁾, I LEITE ⁽¹⁾, L CHEIRA ⁽¹⁾, F ABREU ⁽¹⁾, M MACEDO ⁽¹⁾, C ALCOBIA ⁽⁶⁾, F FRADINHO ⁽¹⁾, MJ SILVESTRE ⁽¹⁾, AJA ROBALO CORDEIRO ⁽¹⁾

RESUMO

Os autores descrevem um Caso Clínico relativo a um indivíduo que exercia a sua actividade profissional numa ourivesaria e apresentava queixas respiratórias inespecíficas e, ainda, uma telerradiografia torácica na qual se podia apreciar a existência de uma opacidade de contornos indefinidos, situada na região médio-hilar direita, a qual foi igualmente reconhecida pela TAC torácica.

A ausência de resposta a terapêuticas antibióticas e anti-tuberculosa justificou a realização de biópsias pulmonares e ganglionares que revelaram a presença de uma pneumonite intersticial em actividade, de uma fibrose intersticial e de um material estranho presente nessas áreas e no interior de um considerável número de macrófagos.

O exame citológico do líquido de lavagem broncoalveolar permitiu reconhecer a existência de uma alveolite linfocitária, com elevação das células T-CD4 e da relação CD4/CD8, e a TAC, com cortes de alta resolução, apontava igualmente para a presença de alterações nas áreas alvéolo-intersticiais.

O posterior conhecimento de que este doente, no exercício da sua actividade, polia peças de ouro e prata com uma substância que libertava um pó

acastanhado levou-nos ao estudo desse material através da difração pelo R.X. e da microscopia electrónica de "varrimento". Os resultado dessa análise revelaram que esta poeira era predominantemente constituída por hematite (cerca de 90%), sílica (5 a 10%) e vestígios de magnetite.

Nestas circunstâncias, procedeu-se ao exame histoquímico das peças de biópsia, com colorações específicas para o ferro, ouro, prata e cobre e à observação em luz polarizada.

A identificação do pigmento presente no pulmão profundo com o ferro e a existência de cristais birrefringentes permitiu diagnosticar este quadro clínico como uma pneumoconiose.

O circunstancialismo que envolveu esta situação suscitou uma discussão sobre as condições do seu reconhecimento, sobre os mecanismos patogénicos presentes, sobre o seu enquadramento nosológico e, ainda, sobre a argumentação que justifica a individualização da entidade clínica designada por "pulmão do polidor de metais nobres" ou da manutenção deste quadro no âmbito do "pulmão da hematite".

PALAVRAS-CHAVE: Pneumoconiose. Siderose pulmonar. Patologia respiratória profissional. Biometrologia.

SUMMARY

A case report concerning a patient working in a jewellery with nonspecific respiratory complains and a chest X-Ray showing ill defined opacities localized on the right medium hilar area, also recognized on the CT scan is described.

The absence of therapeutic response to the antibiotics and antituberculous drugs, justified the need of pulmonary and ganglionic biopsies which allowed to find an active interstitial pneumonitis and an interstitial fibrosis as well as deposits of unknown

* Do "Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra" Coimbra - Portugal

- (1) Serviço de Pneumologia. Hospitais da Universidade de Coimbra
- (2) Serviço de Anatomia Patológica. Hospitais da Universidade de Coimbra
- (3) Serviço de Imagiologia. Hospitais da Universidade de Coimbra
- (4) Serviço de Cirurgia Cardio-Torácica. Hospitais da Universidade de Coimbra
- (5) Departamento de Ciências da Terra. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra
- (6) Serviço de Tuberculose e Doenças Respiratórias (STDR). Coimbra

material on these areas and within large number of macrophages.

The citologic exam of the BALF allowed to recognized a lymphocytary alveolitis with increased CD4 cells and high CD4/CD8 ratio. The high resolution CT scan showed abnormalities of the alveolo-interstitial area. A further investigation about the tasks on the working place, allowed the recognition of the polishment of gold and silver pieces with a material which released a brown dust. The study of this material through X-Ray diffraction and electronic microscopy recognised that the dust was mainly composed by hematite (90%), silica (5 to 10%) and traces of magnetite.

In this context, an histochemical analysis of the biopsed specimens was done with specific stainings for iron, gold, silver and copper through polarized light. The identification of the pigment in the "deep lung" with iron and the presence of birefringent crystals allowed the diagnosis of a "pneumoconiosis". The particular aspects of this case are discussed, as well as the possible pathogenic mechanisms, nosological fitting and the individualization of this clinical entity, classified as "silver polisher's lung" or its integration on the "hematite pneumoconiosis".

KEY-WORDS: *Pneumoconiosis. Siderosis. Occupational lung diseases. X-Ray spectroscopy.*

INTRODUÇÃO

O diagnóstico das perturbações respiratórias desencadeadas pela inalação de produtos utilizados e/ou resultantes da actividade laboral assenta, entre outros elementos, na demonstração da existência de uma relação causa-efeito entre o agente agressor e as lesões detectadas. (1, 7, 8)

No entanto, a objectivação dessa relação reveste-se, nalgumas circunstâncias, de importantes e reconhecidas dificuldades, requerendo um exaustivo reconhecimento de todos os pormenores que rodeiam o exercício de determinadas profissões e exigindo um minucioso estudo da situação clínica e do respectivo ambiente de trabalho, com recurso a tecnologia por vezes excessivamente sofisticada. (1, 2, 3, 4)

É neste contexto que se apresenta e comenta a seguinte situação clínica.

CASO CLÍNICO

Trata-se do Sr. J.A.P.F., de 31 anos de idade, casado, natural e residente em Lamego, onde exerce a sua actividade profissional.

Este indivíduo referiu que em Fevereiro de 1992 foi atingido por uma infecção respiratória que exigiu a aplicação de antibioticoterapia. No entanto, a persistência de tosse seca e de sudorese nocturna ao cabo de trinta dias, acompanhada de uma intradermo-reacção à tuberculina (3 unidades de PPD) de 30mm e, ainda, a observação, numa telerradiografia torácica, de uma opacidade de contornos irregulares, não homogénea, localizada na região para-hilar do campo pulmonar direito, teriam sugerido o diagnóstico de tuberculose e justificado a aplicação de terapêutica específica nesta situação patológica.

Entretanto, a manutenção das queixas clínicas e das alterações radiológicas (Fig. 1) após noventa dias de tratamento anti-tuberculoso com rifampicina, isoniazida e estreptomicina conduziram ao seu internamento no Serviço de Pneumologia dos HUC.

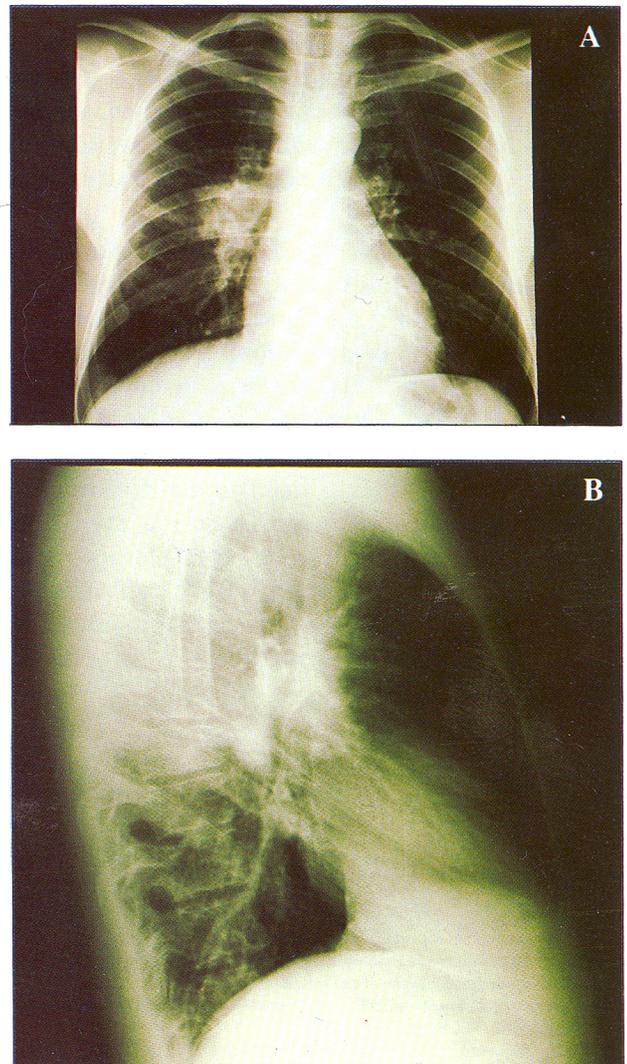


Figura 1 - Telerradiografia torácica de J.A.P.F., em incidências postero-anterior (A) e lateral direita (B), revelando uma opacidade de contornos irregulares, não homogénea, localizada na região hilar direita e estendendo-se um pouco para fora e para baixo.

Nessa altura, o Sr. J.A.P.F., que não referia hábitos tabágicos nem antecedentes pessoais ou familiares dignos de registo, apresentava um exame físico inalterado.

Dos exames laboratoriais de rotina então efectuados salienta-se apenas uma velocidade de sedimentação eritrocitária de 18 mm na 1.^a hora, sendo normais o traçado electrocardiográfico e a avaliação da função respiratória. O exame broncoendoscópio revelou uma diminuição de calibre do brônquio intermediário, por provável compressão extrínseca, e um alargamento do brônquio lobar superior direito o qual se apresentava edemaciado e hiperemiado a esse nível. O estudo da peça de biópsia e do escovado brônquico, assim como a pesquisa de bacilos ácido-álcool resistentes e de fungos no líquido de aspirado, não forneceu qualquer elemento que permitisse o diagnóstico desta situação.

A TAC torácica, seguidamente realizada, confirmava a presença, a nível da região hilar direita (Fig. 2), de uma formação sólida de contornos irregulares, com cerca de 4,4 cm de diâmetro, a qual "fazia corpo com o ramo direito da artéria pulmonar e deformava a parede anterior do brônquio principal direito". Neste exame podiam-se observar, ainda, uma outra formação nodular, com aproximadamente 2,7 cm de diâmetro e características idênticas à anterior, situada na base pulmonar direita e, a existência de adenopatias intercavotraqueais, subcarinais e do recesso ázigo-esofágico. O exame radiológico do esqueleto assim como o estudo por TAC das glândulas suprarrenais, para detectar a eventual existência de metastização dependente de uma neoplasia pulmonar, eram normais e a ecotomografia abdominal apenas revelou, a nível do lobo direito hepático, uma imagem arredondada e hiperecogénea, com limites bem definidos traduzindo, com muita probabilidade, uma formação hemangiomasosa.

Face a esta situação o doente foi submetido à realização de uma lavagem broncoalveolar para estudo da celularidade do pulmão profundo a qual foi efectuada a nível do lobo médio e da língula numa tentativa de detectar eventuais perturbações que atingissem globalmente os campos pulmonares. Complementarmente estudaram-se as populações e subpopulações linfocitárias a nível do sangue periférico.

A análise dos seus resultados (Quadro I), permitiu-nos constatar a presença de uma moderada alveolite linfocitária com generalizada elevação da relação CD4/CD8, a qual apresentava no sangue periférico valores muito próximos dos que foram determinados no líquido de lavagem broncoalveolar.

Curiosamente, um expressivo número de macrófagos alveolares presentes no líquido de lavagem

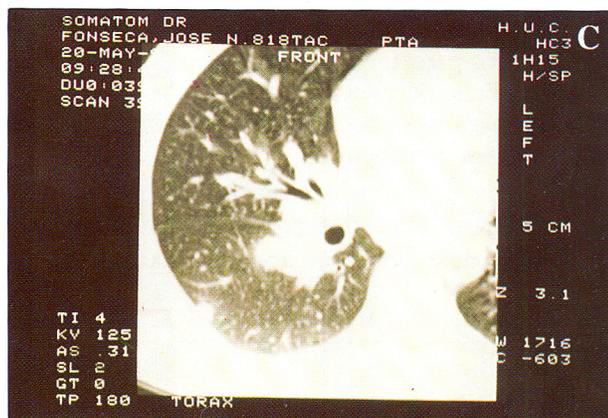
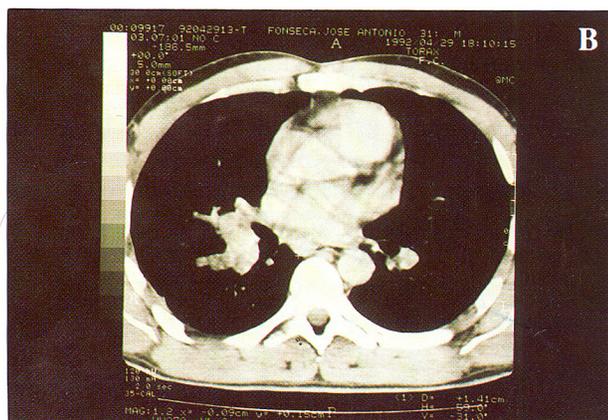
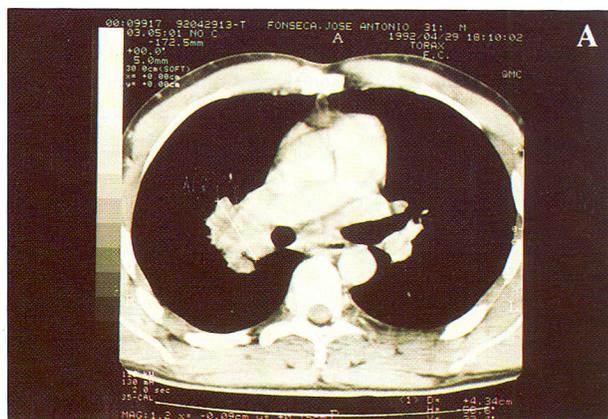


Figura 2 - TAC torácica de J.A.P.F., a qual mostrava a nível dos vários cortes: uma volumosa formação sólida sobre região hilar direita, de contornos irregulares fazendo corpo com o ramo direito da artéria pulmonar (A); deformação da parede anterior do brônquio principal direito e adenopatias intercavotraqueais, subcarinais e do recesso ázigo-esofágico (B); formação nodular, com características idênticas à da região hilar, situada na base pulmonar direita (C).

continha abundante quantidade de um "pigmento" com características muito semelhantes à hemossiderina.

Nestas circunstâncias, foi proposto ao Sr. J.A.P.F. a realização de um estudo biópsico do parênquima pulmonar e das adenopatias mediastínicas na tentativa de esclarecer esta situação clínica. A biópsia pulmonar

Resultados do estudo da celularidade do LLBA e das populações e subpopulações linfocitárias

Região	Células	Macróf.	PMN	Linfoc.	Populações Linfocitárias (%)				
					CD19	CD2	CD4	CD8	CD4/CD8
Examin.	Totais	Alveolar	Neutr.						
	(/mm ³)	(%)	(%)	(%)					
Lobo Méd.	200	78	1	21	7	89	64	24	2.7
Língua	200	72	1	27	2	97	65	23	2.8
Sangue									
Periférico					11	84	53	20	2.65

aspirativa transtorácica dirigida à formação situada na região hilar direita, embora guiada por TAC, revelou-se de difícil execução face à localização da lesão. No entanto, os dois pequenos fragmentos que lhe permitiu recolher mostravam aspectos compatíveis com uma pneumonite intersticial em actividade, traduzida por uma alveolite fibrinoide e descamativa acompanhada de um espessamento fibroso dos septos inter-alveolares, com proliferação fibroblástica.

A biópsia ganglionar, efectuada através de mediastinoscopia, permitiu observar a presença de múltiplos granulomas epitelióides e de células gigantes de Langhans, para além de extensas áreas de necrose rodeadas por uma coroa de células epitelióides. Num dos gânglios parecia existir áreas de necrose caseosa ou incompleta, por vezes confluentes, sendo raras as células gigantes de Langhans e os folículos tuberculóides verdadeiros.

Na peça de biópsia cirúrgica do parênquima pulmonar viria a reconhecer-se a existência de uma alveolite descamativa acompanhada de um

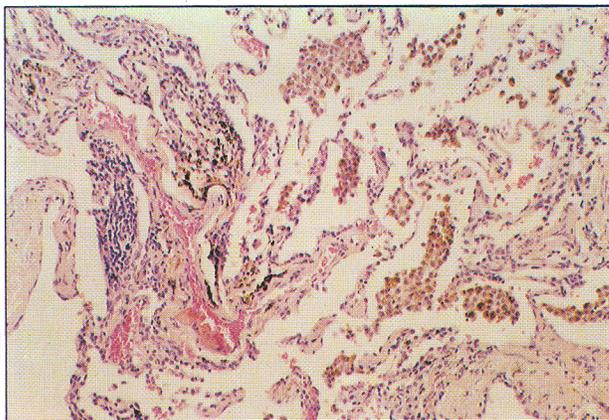


Figura 3 - Imagem histopatológica da peça de biópsia pulmonar cirúrgica de J.A.P.F., na qual se pode observar uma alveolite descamativa, espessamento e fibrose intersticiais e a presença de um pigmento castanho-amarelado no interior dos macrófagos e nas áreas intersticiais fibrosadas (Hematoxilina - Eosina, X 160).

espessamento com fibrose, por vezes muito marcada, do interstício alveolar e a presença de inúmeros macrófagos carregados de fino pigmento de cor castanha-amarelada, o qual abundava igualmente nas áreas intersticiais fibrosadas. (Fig. 3)

Não foram detectados bacilos ácido-álcool-resistentes em qualquer das amostras analisadas, quer em exame directo quer na cultura do macerado.

Estes resultados pareciam apontar para a existência de uma patologia respiratória eventualmente relacionada com o material observado no estudo biópsico, cuja inalação poderia ter desencadeado fenómenos de alveolite e uma evolução fibrogénea de acordo, aliás, com as alterações, igualmente sugestivas destas perturbações, presentes nas imagens correspondentes aos cortes de TAC com alta resolução. (Fig. 4)

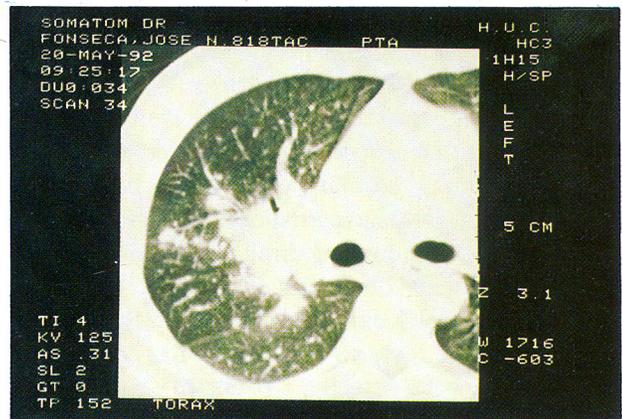


Figura 4 - Corte de alta resolução de uma TAC torácica de J.A.P.F., no qual se podem reconhecer alterações sugestivas de alveolite e de fibrose intersticial.

ESTUDO BIOMETROLÓGICO

Face a este quadro anátomo-clínico impunha-se a identificação do material estranho presente nas estruturas alvéolo-intersticiais do Sr. J.A.P.F., assim como o exaustivo esclarecimento das condições em que se processava a sua actividade profissional já que na elaboração da história clínica não se recolheu qualquer referência à inalação de substâncias eventualmente agressoras do aparelho respiratório, tanto sob o ponto de vista laboral como de outra natureza.

E, na verdade, foi possível apurar que entre as tarefas que o Sr. J.A.P.F. tinha a seu cargo na ourivesaria, este indivíduo procedia desde há cerca de dez anos, e a um ritmo de dois dias por semana, ao polimento de peças de ouro e de prata. Nessa tarefa utilizava uma

escova circular em permanente rotação, sobre cuja superfície era colocada uma substância designada por "sabão vermelho", a qual, na dependência do movimento da escova e do contacto com as peças a polir, acabava por ser lançada para a atmosfera sob a forma de um pó acastanhado (Fig. 5) que o doente referia permanecer largas horas nas secreções nasais e lhe desencadear tosse irritativa.

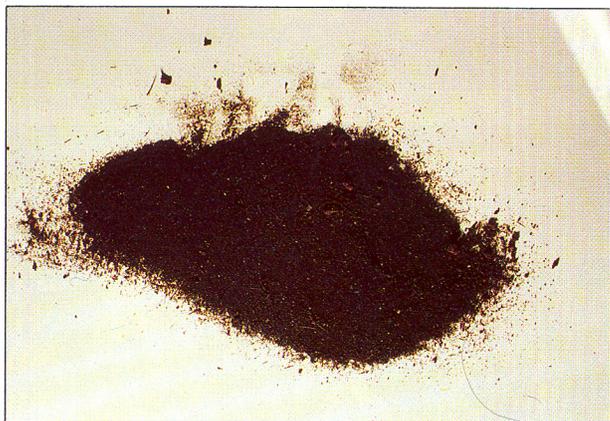


Figura 5 - Aspecto do pó inalado por J.A.P.F. no exercício da sua actividade profissional, de cor acastanhada, semelhante ao material estranho observado no interior dos macrófagos e nas áreas intersticiais pulmonares.

A recolha de uma amostra do pó sedimentado durante um dia de trabalho permitiu-nos identificar a sua constituição após estudo conduzido pelo Departamento de Ciências da Terra da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, através da aplicação das seguintes técnicas: difração pelo R.X., para determinação da sua composição inorgânica; laser, para obter informações sobre a respectiva granulometria; e microscopia electrónica de "varrimento", para observação de estruturas cristalinas.

Desse estudo destacam-se os seguintes resultados:

- A difração pelo R.X. (Fig. 6) revelou tratar-se de um produto constituído por 90% de hematite, 5 a 10% de sílica e vestígios de magnetite.

- A curva granulométrica, de tipo gaussiano (Fig. 7), apresentava duas "bossas", uma por volta de 1 mm e outra pelos 80 mm. Nestas condições existia um importante número de partículas dotadas de características volumétricas que lhes permitiam atingir o pulmão profundo.

- A observação em microscopia electrónica de "varrimento" mostrou a presença de numerosas estruturas cristalinas, tanto sob a forma de

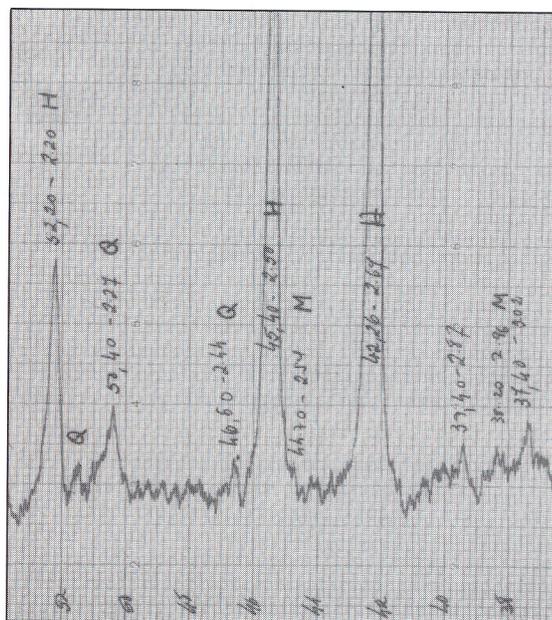
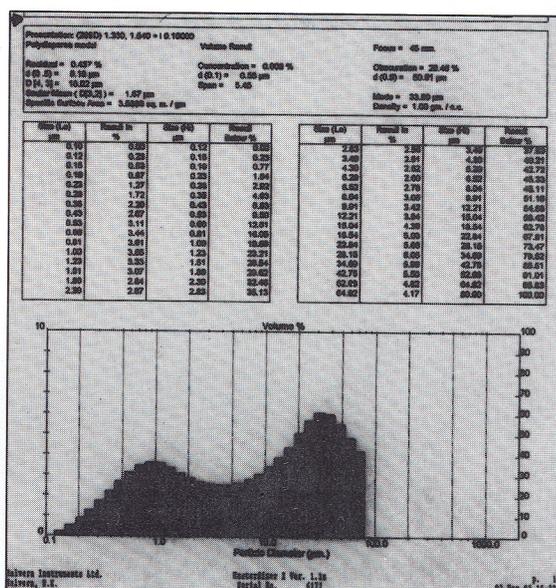


Figura 6 - Estudo, através de difração pelo RX, do pó inalado por J.A.P.F., onde se pode reconhecer uma composição na qual a hematite corresponde a cerca de 90% e a sílica se situa entre 5 a 10%.



profissionais - siderose, pulmão dos mineiros da hematite, pulmão dos polidores de metais nobres, etc. (7, 9, 10, 11, 12)

Entretanto, o circunstancionalismo que envolveu este Caso Clínico e a sua inserção num âmbito mais genérico desta patologia sugere-nos algumas considerações.

Em primeiro lugar, a renovada insistência de que alguns destes diagnósticos apenas se tornam viáveis na presença de uma cuidadosa e exaustiva história profissional que nos permita abarcar todos os agentes e mecanismos susceptíveis de lesarem o aparelho respiratório pela via inalatória.

De facto, em relação a este doente não se mostrou suficiente a simples referência à actividade exercida numa ourivesaria, pois só a pormenorização das tarefas que aí desenvolvia nos permitiu reconhecer uma agressão broncopulmonar através do pó resultante do polimento de metais.

Em segundo lugar, a reafirmada necessidade de aplicação, ao esclarecimento destas situações, de uma sofisticada tecnologia, o que implica, frequentemente, o recurso a uma colaboração interdepartamental em relação à qual o presente caso pretende constituir um elucidativo exemplo.

Este quadro clínico parece enquadrar-se mais nas situações designada por "pulmão da hematite" do que nas de "pulmão dos polidores de metais nobres". Com efeito, a inalação, em ambos os casos, de óxidos de ferro e a sua identificação nas estruturas pulmonares lesadas, associada ao desencadeamento de uma fibrose intersticial, difusa mas pouco intensa, e ao envolvimento ganglionar hilar, parecem apontar nesse sentido.

Neste contexto, face à ausência de partículas de ouro e de prata a nível das estruturas pulmonares do Sr. J.A.P.F. interrogamo-nos sobre as justificações que suportam a individualização da afecção designada por "pulmão dos polidores de metais nobres". Na verdade, a constituição do material inalado no exercício desta actividade parece ser largamente dominada pela presença de hematite e, mais diminutamente, por alguma percentagem de sílica, encontrando-se ausente nalguns casos, e noutros apenas sob a forma de vestígios, o ouro e a prata.

Para além disso, os quadros clínicos e histopatológicos destas duas entidades são muito semelhantes pelo que as pequenas diferenças detectadas, particularmente em relação às alterações estruturais do pulmão profundo, poderão resultar mais de uma acrescida quantidade de sílica que integra a mistura inalada nos mineiros de hematite⁽¹¹⁾ e das substâncias adicionadas aos óxidos de ferro utilizados no polimento

dos metais, do que da eventual, e patogenicamente discutível, importância assumida pela inalação de partículas de ouro ou de prata e sua deposição nas regiões distais das vias aéreas.

Assim, no caso dos mineiros da hematite, a maior ou menor percentagem de sílica que acompanha os óxidos de ferro poderia explicar o espectro histopatológico deste quadro, o qual se espraia entre as formas nodulares, onde abunda a presença de nódulos silicóticos, e as formas de fibrose maciça, mais ou menos generalizada. (7, 9, 10, 11)

No caso dos polidores de metais, a diminuta percentagem de sílica, ou a sua ausência na mistura inalada, condicionaria uma evolução essencialmente fibrosa e repercussões lesionais mais moderadas.

Em relação ao material utilizado pelos polidores de metais, chama-se entretanto a atenção para a possibilidade de as substâncias, habitualmente gordurosas, utilizadas na saponificação dos óxidos de ferro puderem integrar a mistura inalada, desencadeando no pulmão profundo eventuais fenómenos de pneumonite lipídica. Com efeito, aquando da preparação do pó que este doente inalava, com vista ao seu estudo metrológico, foi necessário utilizar a acetona e o álcool como solvente da gordura que se encontrava presente em apreciável quantidade e cuja pesquisa na peça de biópsia já não foi possível efectuar.

A inalação desta mistura poderia explicar o tipo de alveolite linfocitária detectada neste Caso Clínico, caracterizada por uma elevação percentual das células T-CD4 e da relação CD4/CD8,^(5, 6) ao contrário do que se encontra descrito na siderose exógena onde se assiste, habitualmente, a uma inversão desta relação.⁽¹¹⁾

A presença destas substâncias gordurosas poderá interferir, ainda, nos fenómenos de aglutinação das partículas minerais, aparentemente dependente das respectivas cargas eléctricas, modificando as dimensões dos conglomerados eventualmente inalados e influenciando, assim, a sua deposição ao longo das vias aéreas.

Em conclusão, é bem possível que não existam argumentos suficientemente justificativos para individualizar a afecção designada por "pulmão dos polidores de metais nobres" do "pulmão dos mineiros de hematite", ou que, ao considerá-la, essa argumentação assente mais nas consequências da inalação das substâncias orgânicas que acompanham os óxidos de ferro do que na discutível presença de partículas de ouro e de prata.

Aguardamos que a investigação entretanto empreendida nestes domínios possa vir a esclarecer as dúvidas aqui suscitadas.

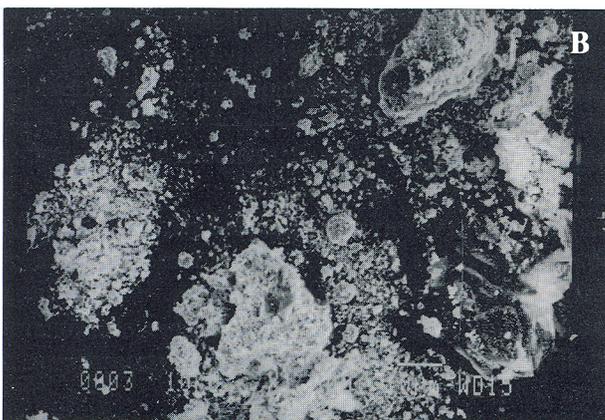
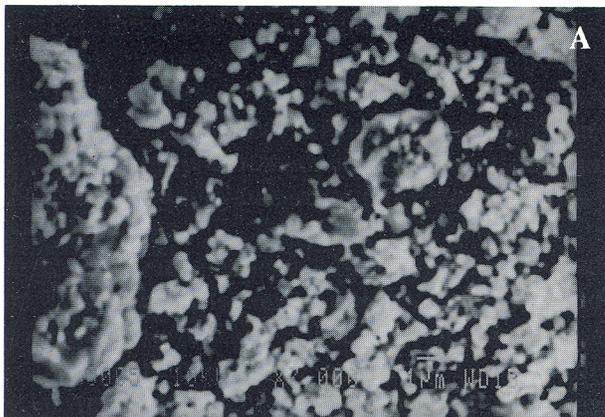


Figura 8 - Imagem de microscopia electrónica de "varrimento" do pó inalado por J.A.P.F., revelando a presença de numerosas estruturas cristalinas tanto sob a forma de conglomerados (A), como de cristais isolados (B).

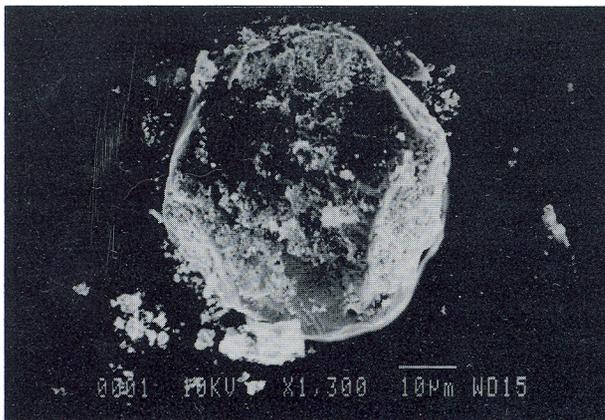


Figura 9 - Imagem de pormenor da Fig. 8 correspondente a um cristal isolado em cuja superfície se pode reconhecer a existência de numerosas formações, igualmente cristalinas, mas de dimensões consideravelmente inferiores.

Dos seus resultados salienta-se uma pesquisa de ferro positiva (Fig. 10) e a observação de cristais birrefringentes, demonstrado que o pigmento intra e extra-macrofágico se identificava com o material

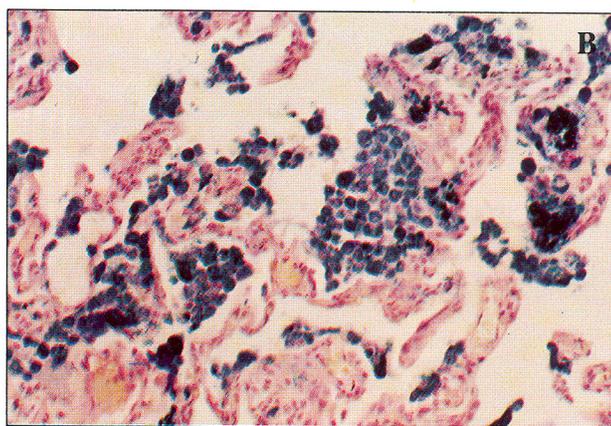
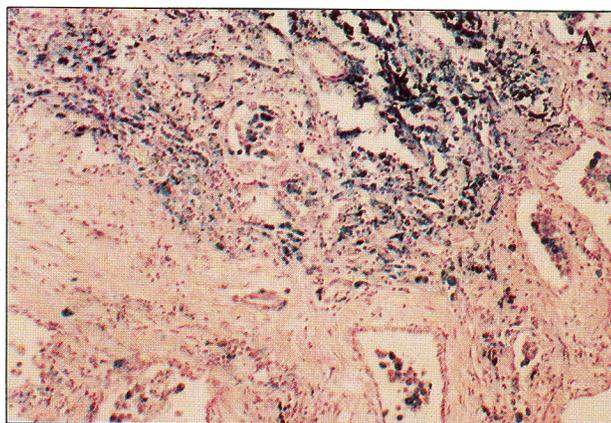


Figura 10 - Corte histopatológico da peça de biópsia pulmonar de J.A.P.F., corada pelo método de Perls, onde, numa vista genérica (A) e de pormenor (B), se demonstra que o material estranho presente nas estruturas pulmonares lesadas se identificava com ferro, o qual, com toda a probabilidade, teria resultado do empoeiramento profissional (Perls, X 160 e X 250, respectivamente).

inalado. Nestas circunstâncias, o Sr. J.A.P.F. foi aconselhado a abandonar o polimento de metais e a não permanecer no ambiente empoeirado que esta tarefa desencadeia.

Entretanto, dado o facto de o doente já vir a efectuar tratamento anti-tuberculoso há cerca de quatro meses e perante as dúvidas suscitadas pela observação histológica da formação ganglionar mediastínica afigurou-se prudente continuar essa terapêutica, pelo que o doente foi entregue aos cuidados do S.T.D.R. de Coimbra.

COMENTÁRIOS

A aplicação desta metodologia ao estudo clínico-laboratorial do Sr. J.A.P.F. permitiu-nos efectuar o diagnóstico de uma pneumoconiose dependente da inalação laboral de óxidos de ferro, puros ou associados a outros materiais, particularmente à sílica, o que ocorre, aliás, no exercício de variadas actividades

BIBLIOGRAFIA

1. Baganha, MF - Diagnóstico e avaliação clínica das pneumopatias profissionais. *Arq. Soc. Pat. Resp.* 1986; 2: 11-16.
2. Baganha, MF, Abreu, F, Pêgo, MA, Nunes MJ, Macedo M, Pinheiro, R, Mesquita, I, Pereira, MC, Fernandes, A, Sousa, JPA, Marques, MAT, Matos, MJ, Esteves, MT, Teixeira, LM, Telo de Moraes, JC, Oliveira, LC, Leite, I, Robalo Cordeiro, AJA - Estudos clínico, radiológico e funcional respiratório em indivíduos submetidos à inalação de fibras de asbesto e de vidro na região centro de Portugal - *Coimbra Médica*, 1987; 6: 423.
3. Baganha, MF, Abreu, F, Almeida, JRG, Teixeira, ML, Lima, MA, Gaspar, R, Marques, MAT, Macedo, M, Pêgo, MA, Chieira, L, Leite, I, Ferreira, M, Rosá, MAS, Teixeira, AM, Moraes, JCT, Robalo Cordeiro, AJA - Aplicação de novas técnicas ao diagnóstico da asbestose pulmonar, análise quantitativa por microfiltração; tomodensitometria; estudo do pulmão profundo. - *Via Pneumológica*, 1990; 1: 53-65.
4. Baganha, MF, Almeida, JGR, Lima, MAM, Rosa, MAS, Gaspar, E, Marques, MAT, Pêgo, MA, Bastos, P, Telo de Moraes, JC, Azevedo-Bernarda, R, Robalo Cordeiro, AJA - Pneumoconiose pela sílica amorfa. Estudo clínico e biometrológico. - *Via Pneumológica*, 1989; 2: 93-115.
5. Corwin, WR, Irwin, RS - The lipid - laden alveolarmacrophage as a marker aspirative in parenchymal lung disease - *Am Rev Resp Dis*, 1985; 132: 576.
6. Dongay, G, Levade, T, Caratero, A, Salvayre, R, Lauque, D, Carles, P - Paraffinose alvéolaire: étude cytologique et biochimique du liquide de lavage bronchio-alvéolaire - *Rev Mal Resp*, 1985; 2: 231.
7. Parkes, WR - Occupational lung disorders. Butterworth and Co., 1974; 135-140.
8. Robalo Cordeiro, AJA, Baganha, MF, Gaspar, E, Lima, MAM, Rosa, MAS, Luís, AJS, Almeida, JRG, Oliveira, LC - Pulmão profundo e medicina do trabalho - *Coimbra Médica*, 1981; 2 (Supl.): 13-28.
9. Room, WN - Environmental and occupational medicine. *Little Brown and Company, Boston*, 1983; 258.
10. Spencer, H - Pathology of the lung, 4th. Ed. *Pergamon Pren*, 1985; 461-468.
11. Teles de Araújo, A - Abordagem clínica das doenças pulmonares profissionais. 1 vol., 1988; 63-69.
12. Villar, TG, Freitas e Costa, M, Durão, A, Araújo, AT - Inquérito epidemiológico da doença respiratória nos trabalhadores da indústria siderúrgica em Portugal - *Pneumologia*, 1975; 6: 125-159.



PRÉMIO S.P.A.I.C. - ASTRA



A S.P.A.I.C., a fim de fomentar a publicação na Revista Portuguesa de Imunoalergologia de trabalhos de investigação clínica, epidemiológica e laboratorial efectuados por centros nacionais, institui anualmente um prémio no valor que vier a ser acordado com a firma doadora, a ASTRA.

1. Consideram-se como elegíveis os trabalhos originais de índole epidemiológica, clínica ou laboratorial publicados no ano precedente a que se refere o prémio.
2. A escolha do trabalho premiado será da competência da Direcção da S.P.A.I.C., conforme o enunciado nas disposições gerais*, devendo a decisão ser fundamentada na originalidade, rigor metodológico e valor científico do trabalho seleccionado.
3. A comunicação da atribuição do prémio aos autores deverá ocorrer até 31 de Março do ano em referência.
4. O prémio poderá ser atribuído «ex-aequo» e, sempre que o júri considerar justificado, poderão ser conferidas Menções Honrosas.
5. A atribuição do prémio não incidirá em trabalhos já premiados pela S.P.A.I.C. e que, por esse facto, tenham sido motivo de publicação na Revista Portuguesa de Imunoalergologia.

* Ver Noticiário