

Realizou-se entre 8 e 11 de Outubro de 2003 a XXIV Reunião Anual da S.P.A.I.C.. Esta reunião que coincidiu com a comemoração dos 35 anos de Alergologia no Hospital D. Estefânia fugiu à habitual tradição em termos organizativos tendo-se realizado os cursos pós-graduados teórico-práticos no Hospital de Dona Estefânia no primeiro dia e nos outros a programação científica no Hotel do Mar em Sesimbra. O que agradou mais nesta experiência separada em duas zonas geográficas distintas foi o facto da comparência muito significativa e da adesão permanente dos cerca de 400 inscitos o que permitiu uma valiosa participação em todas as actividades científicas e sociais. Por outro lado, a concessão de 12 créditos atribuídos à reunião pela EAACI - European Accreditation Council CME e ainda a creditação dada pela Ordem dos Médicos conferiram a esta reunião a garantia da sua qualidade científica. Pena foi que a resposta às avaliações dos cursos, conferências e mesas redondas não tivesse sido tão activa como seria de esperar. Isto deve-se ao facto dos médicos portugueses não estarem habituados a esta forma de participação nem sequer preparados para os desafios da Educação Médica Contínua que mais tarde ou mais cedo, por imposição comunitária, nomeadamente no que se refere à livre circulação dos médicos europeus, terá que acontecer. Por outro lado, na Cerimónia de Abertura o Senhor Director Geral da Saúde, Prof. Doutor Pereira Miguel, em representação do Senhor Ministro da Saúde teve oportunidade de apresentar a Rede de Referência Hospitalar em Imunoalergologia. Trata-se de um instrumento de trabalho que pese estar algo desajustado face à realidade actual é absolutamente necessário para a organização e implementação definitiva de Imunoalergologia em Portugal.

O Congresso teve a participação científica das Sociedades Espanholas de Alergologia e Imunologia Clínica, bem como das Sociedades Andaluza, Galega e da Estremadura e da Sociedade Luso-Brasileira de Alergologia e Imunologia Clínica e o seu êxito deveu-se ao esforço de muitos sócios, sendo de salientar o particular envolvimento e dedicação dos Colegas Mário Almeida e Carlos Nunes.

Entre 15 e 19 de Novembro passado realizou-se o XXX Congresso Brasileiro de Alergia e Imunopatologia em Florianópolis. Nele estiveram presentes, num total de 1200 congressistas, mais de 60 portugueses, tendo sido conferencistas 6 médicos e uma psicóloga nacionais que, juntamente com os Colegas brasileiros, participaram num congresso científico de alto nível e em que os fortes laços de Amizade estabelecidos nos últimos anos irão certamente dar os seus frutos a curto prazo. Isso mesmo foi por nós salientado na Cerimónia de Abertura como Presidente Cessante da Sociedade Luso-Brasileira, ao transmitir formalmente ao novo Presidente Professor Doutor Paulo Ferreira de Lima o legado passado e recente que se traduziu na alteração estatutária e nas propostas linhas orientadoras no futuro, baseadas no reconhecimento dos centros idóneos de formação em ambos os países, no reconhecimento a curto prazo da formação de jovens Imunoalergologistas em Portugal e Brasil e na definição das linhas de investigação científica que se poderão concretizar nos dois lados do Atlântico.

Com estas duas reuniões num curto espaço de tempo a S.P.A.I.C. consolidou dois projectos que ultrapassam as nossas fronteiras e a projectam, bem como aos seus membros, para longe dos seus limites físicos. Novos desafios europeus bem próximamente lhe estão ainda reservados. Oxalá saibamos todos corresponder!

J. E. Rosado Pinto

Impacto da cirurgia nasal na evolução da Asma Brônquica

Nasal surgery and its impact on asthma evolution

Graça Loureiro¹, Carlos Loureiro²

¹ *Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia*

² *Assistente Graduado de Imunoalergologia, Serviço de Imunoalergologia Hospitais da Universidade de Coimbra*

Resumo

A disfunção das vias aéreas superior e inferior coexiste, sendo a patologia nasal considerada como factor de risco e associada ao agravamento da asma. O tratamento da doença alérgica nasal condicionará melhoria da asma coexistente. Também a intervenção cirúrgica no tratamento de outras doenças inflamatórias nasais, nomeadamente a sinusite crónica e a polipose nasal, e de patologias condicionadoras de obstrução nasal predominantemente mecânica, como a hipertrofia dos cornetos e o desvio do septo, condicionará benefícios na evolução da asma. No entanto, o impacto da cirurgia nasal na evolução da asma não está estabelecido, uma vez que os estudos publicados não apresentam resultados esclarecedores e consensuais.

Palavras-chave: Cirurgia nasal, tríada de Samter, sinusite crónica, evolução de asma brônquica

Summary

Dysfunction of the upper and lower airways frequently coexists. The nasal disease is correlated to, and constitutes a risk factor for, the occurrence of asthma exacerbation. It has been proposed that the treatment of allergic rhinitis may help to prevent the severity of asthma. The surgical treatment of another inflammatory or anatomical nasal diseases as been proposed for better asthma evolution. However this is not very well known, because the published data do not presents consensual results.

Key-words: Nasal surgery, Samter's triad, chronic rhinosinusitis, bronchial asthma evolution

INTRODUÇÃO

As vias aéreas superior e inferior podem ser consideradas como uma entidade anatomo-fisiológica única sob o conceito de “united airways”. Neste contexto unificador, a doença alérgica exemplifica o conceito “one airway, one disease”, suportado por dados epidemiológicos, imunopatológicos e clínicos. Consequentemente a abordagem diagnóstica concomitante, bem como a estratégia terapêutica combinada da rinite alérgica e da asma brônquica, traduzem-se num maior efeito benéfico no prognóstico da doença alérgica¹.

Esta abordagem englobadora, não se limitará à inflamação alérgica. Também, outras doenças inflamatórias são exemplo deste conceito. A polipose nasal, associada ou não à intolerância ao ácido acetilsalicílico, e a sinusite crônica são doenças inflamatórias da mucosa nasal, com reconhecidas repercussões na asma brônquica. No entanto a correlação entre a etiopatogenia/tratamento da patologia inflamatória nasal na evolução da asma brônquica, permanece mal esclarecida.

A correlação entre a patologia nasal condicionadora de obstrução mecânica e a asma brônquica está ainda menos documentada. No entanto o tratamento cirúrgico do desvio do septo e/ou da hipertrofia dos cornetos, condicionará uma recuperação da adequada função respiratória nasal. Deste modo, e por analogia com os dados acumulados sobre o benefício do tratamento da inflamação nasal, também o adequado tratamento da causa mecânica será factor condicionador de prognóstico mais favorável na evolução da asma.

Os escassos estudos publicados não são esclarecedores sobre o impacto do tratamento cirúrgico da patologia nasal na evolução da asma.

SINUSITE CRÔNICA

A sinusite crônica² é um processo inflamatório crônico dos seios perinasais caracterizado por um infiltrado eosinofílico, cuja etiopatogenia é multifactorial. A coexistência da sinusite crônica e da asma brônquica tem sido documentada na literatura²⁻⁴ assumindo-se actualmente que estão patogenicamente relacionadas, ainda que permaneça mal esclarecida a sua correlação etiopatogénica. Apesar da severidade da sinusite crônica não se correlacionar com a severidade da asma, pode contribuir para a severidade dos sintomas brônquicos^{5,6}. Os mecanismos patogénicos sugeridos são: doença inflamatória única das vias aéreas superior e inferior, em que o eosinófilo é célula efectora central; libertação de mediadores inflamatórios pela mucosa sinusal que vão condicionar/desencadear lesão inflamatória brônquica; aumento do bloqueio β -adrenérgico; ou ainda reflexo vagal, sinonasal-faringobrônquico. Além de não se conhecer o mecanismo exacto que esclareça a correlação entre as duas patologias, também não é bem conhecido o efeito do tratamento da sinusite na evolução da asma brônquica.

Em 1994 Nishioka *et al*⁷ estudaram prospectivamente 20 asmáticos, com idade média de 48 anos (16-72 anos) e com sinusite crônica submetidos a cirurgia endoscópica sinusal. O *follow-up* teve uma duração média de 29,3 meses, sendo os resultados apresentados referentes à avaliação 12 meses após a cirurgia. Foi avaliado o nº e severidade das crises, recorrência ao serviço de urgência e o nº de hospitalizações e ainda a dose de corticoterapia. 95% apresentaram diminuição do nº de crises, 80% diminuição da severidade, 81% diminuição do recurso à urgência, 75% diminuição do nº de hospitalizações e 53% redução da medicação. Os restantes, para cada um dos parâmetros analisados, mantiveram a situação pré-cirúrgica. Num estudo retrospectivo, Park *et al*⁸ analisaram retrospectivamente, 79 asmáticos (47% com Tríada de

Samter), com idade média de 50 anos (6-81 anos) submetidos a cirurgia endoscópica nasal por sinusite, não controlada com terapêutica médica. A duração média do *follow-up* foi de 19 meses (12-108 meses). A avaliação pós-cirúrgica incluiu o nº hospitalizações por asma, o nº de recorrência à urgência, a medicação, sintomatologia sinusal e avaliação nasal endoscópica. 80% dos doentes referiram que a cirurgia melhorou a asma e nenhum dos factores (tríada de Samter, severidade da asma ou extensão da doença sinusal pré ou pós-cirúrgica) foi correlacionada com essa melhoria. O número de idas à urgência, o nº de hospitalizações e o recurso a corticoterapia sistémica diminuiu, com significado estatístico. O recurso a broncodilatadores também diminuiu, mas sem significado estatístico. No estudo de Ikeda *et al* ⁹, foram avaliados prospectivamente 15 asmáticos com sinusite crónica, com idade média de 47±14 anos, submetidos a cirurgia endoscópica nasal. Foram avaliados, também, 6 doentes com idade média de 42 anos (grupo de controlo) os quais não autorizaram a intervenção cirúrgica. Ambos os grupos apresentavam, pré-operatoriamente, *score* de sintomas e radiológico nasais semelhantes. Na reavaliação aos 3 e aos 6 meses, os doentes submetidos a cirurgia apresentaram melhoria do *score* de sintomas nasais e ainda, um aumento do *Peak flow* com significado estatístico comparativamente ao registo pré-operatório. Os doentes do grupo de controlo mantiveram a sintomatologia nasal e os valores do *Peak flow*. Este estudo documentou a melhoria da sintomatologia nasal e do registo objectivo da função pulmonar, ainda que não se tenha obtido correlação com significado estatístico.

Num estudo retrospectivo, Goldstein *et al* ¹⁰ avaliaram 13 asmáticos (idade > 18 anos), com sinusite crónica, submetidos a cirurgia endoscópica nasal. Foram avaliados pré e 6 meses após a cirurgia, quanto a *score* de sintomas de asma, *score* de uso de medicação e avaliação da função pulmonar por

espirometria. Seis dos 13 doentes diminuíram o *score* de sintomas, 3 diminuíram o *score* de medicação, 4 melhoraram CFV, 5 melhoraram VEMS, 7 melhoraram PEF_{25%-75%}. No entanto, em nenhum destes parâmetros a diferença teve significado estatístico. Senior *et al* ¹¹, noutro estudo retrospectivo, avaliaram 30 asmáticos de entre 120 doentes submetidos a cirurgia endoscópica nasal por sinusite crónica. A avaliação da evolução baseou-se na análise de questionários que os doentes responderam 1,1 e 6,5 anos após a cirurgia. Aos 1,1 anos de evolução, 78% dos doentes referiam melhoria da asma, enquanto que aos 6,5 anos 90% referia melhoria. Aos 6,5 anos foi também questionado o nº de crises, sendo que 74% referiu diminuição, 15% sem alterações e 11% piorou, sem significado estatístico.

Também o estudo de Dinis *et al* ¹², refere que a intervenção cirúrgica da sinusite crónica refractária a tratamento médico, condicionou diminuição da severidade da asma. Foi avaliada a função brônquica, sem no entanto ter sido demonstrada a concomitante melhoria funcional a acompanhar a melhoria clínica. Mings *et al* ¹³ referem melhoria da asma em 65% e em 85% dos asmáticos submetidos a esfenotmoidectomia por sinusite, 2 e 5 anos após cirurgia, respectivamente.

Em crianças, existem apenas dois estudos. Parsons *et al* ¹⁴ estudaram retrospectivamente 52 crianças (idade média de 7,4 anos) com o diagnóstico de sinusite crónica, das quais, 24 tinham asma. Foram submetidas a cirurgia endoscópica sinusal, por resposta refractária à terapêutica médica após um tempo médio de evolução de 21,8 meses, e reavaliados após 12 meses. Os autores referem que 58% dos asmáticos deixaram de manifestar asma, enquanto que os restantes apresentaram melhoria clínica, documentada pela redução do nº de crises de 6,7 para 2,5 crises/mês. Outro parâmetro analisado foi a satisfação dos pais, dos quais 88% referiram que a cirurgia condicionou uma evolução favorável da asma. Num estudo prospectivo, Man-

ning *et al*¹⁵, estudaram 14 crianças asmáticas, 6 das quais com imunodeficiência comum variável, com idade média de 8 anos (variando dos 3,5 aos 13 anos). Foram submetidas a etmoidectomia endoscópica bilateral para o tratamento cirúrgico de sinusite crônica, refractária a tratamento médico. Os resultados apresentados correspondem à comparação da avaliação pré-cirúrgica e 12 meses após a cirurgia. A monitorização consistiu em *score* de sintomas nasais e brônquicos, nº e severidade das agudizações, nº e duração de hospitalizações, recurso a corticoterapia, avaliação funcional respiratória. Os pais de 11 crianças referiram melhoria enquanto os restantes tiveram evolução estacionária. Os *scores* de asma diminuíram de 9,2 para 5,8. Os autores não encontraram diferença significativa entre o VEMS pré e pós cirurgia, sem no entanto apresentarem esses resultados.

POLIPOSE NASAL

A polipose nasal¹⁶ está classicamente associada a intolerância ao ácido acetilsalicílico e asma brônquica, bem como a fibrose quística. O tratamento médico e cirúrgico combinado está indicado na prevenção da recorrência que caracteriza esta situação patológica¹⁷⁻²⁰. No entanto, o impacto do tratamento médico-cirúrgico da polipose nasal na evolução da asma permanece controverso.

No estudo retrospectivo de Korchia *et al*²¹ foram estudados 156 doentes com polipose nasal, incluindo 70 asmáticos, dos quais 23 com Tríada de Samter, idade média de 44,2 anos (17-79 anos), avaliados durante 18,6 meses (4 meses a 7 anos). Foi avaliada a frequência das crises e estado intercrítico, e recurso a medicação de recurso. De acordo com estes parâmetros subjectivos, 66% dos doentes não teve alterações, 29% melhoraram e 5% pioraram. Foram também realizadas espirometria e provocação com carbacol, em 11 doentes asmáticos: os valores do VEMS não sofreram alterações após

a cirurgia nasal, enquanto que os resultados da provocação com carbacol não foram apresentados. Jankowski *et al*²² estudaram retrospectivamente 50 doentes com idade média de 49 anos, com polipose, dos quais 30 tinham asma (12 com tríada), submetidos a etmoidectomia.. 91% dos asmáticos melhorou, traduzindo um menor nº de crises, menor consumo de corticoterapia e melhor performance funcional respiratória (*Peak Flow*). No estudo retrospectivo de Dunlop *et al*²³ foram estudados 16 asmáticos com sinusite crônica e 34 com polipose nasal. Quanto à avaliação subjectiva global, 40% dos doentes melhorou; verificou-se a redução do *score* de medicação (em 28% e 20% dos doentes, no uso de broncodilatadores e corticóides, respectivamente). Dos 50 doentes estudados, 23 mantinham registo regular de Peak flow, com melhoria dos valores no período pós-operatório em 8 doentes. Lamblin *et al*²⁴ estudaram prospectivamente 46 doentes (idade média de 43,2 ± 2 anos) com polipose nasal, durante 4 anos. 16 desses doentes tinham asma. Foram analisados: *score* de sintomas nasais, *score* radiológico (extensão da polipose documentada por TAC), gravidade clínica da asma e avaliação funcional respiratória (espirometria e provocação com carbacol). Após um período de 6 semanas de tratamento médico (corticóide nasal), foram reavaliados: aqueles doentes (28/46) que não responderam ao tratamento médico (“não respondedores”), foram submetidos a cirurgia nasal (esfenoetmoidectomia). Ao longo dos 4 anos de *follow-up* todos os doentes mantiveram corticoterapia tópica nasal. Em T1 (1 ano) e T2 (4 anos) foram todos reavaliados. Em T1 e T2 houve melhoria do *score* nasal com significado estatístico. Quanto à avaliação funcional respiratória (VEMS, VEMS/CVF, FEF_{25%-75%}), no grupo dos “não respondedores” verificou-se uma descida dos parâmetros funcionais, em T1 e T2 em relação a T0, estatisticamente significativa, enquanto que no grupo dos “respondedores” a avaliação funcional respiratória em T1 e T2 se manteve estável em

relação a T0. Comparativamente, o VEMS foi estatisticamente significativo mais baixo em T2 em relação a T0 no grupo dos “não respondedores”. A D_{VEMS} (%) entre T2 e T0 não se correlacionou com a presença de asma ou HRB. No estudo retrospectivo de Uri *et al*²⁵ foram avaliados 34 asmáticos com idade média de 55,4±11,6 anos. A análise do *score* da sintomatologia da asma, antes e depois da cirurgia, não revelou diferenças. Subjectivamente, 41% dos doentes ficou satisfeito com cirurgia enquanto que os restantes não. Apenas 13 doentes tinham controlo espirométrico, mas estes dados não foram apresentados.

Friedman *et al*²⁶ estudaram 30 asmáticos, 20% com sinusite e 80% com polipose. 93% melhoraram o consumo de medicação. No estudo de Vleming *et al*²⁷, 64% dos 30 asmáticos com polipose tiveram melhoria do estudo funcional respiratório, 12 meses após cirurgia.

Quanto a estudos realizados em crianças, apenas se encontra o estudo de Triglia *et al*²⁸ no qual foram estudados retrospectivamente 46 crianças e adolescentes que foram submetidos a polipectomia, divididos em 3 grupos: um que incluía 14 crianças com polipose isolada (4-18 anos), outro que incluía 5 crianças com polipose nasal e asma (8-13 anos) dos quais 4 alérgicos, e um terceiro grupo de 27 crianças com polipose e fibrose quística (4-18 anos). A duração do *follow-up* dos doentes asmáticos foi de 2 a 7 anos (média de 5 anos). Em apenas uma dessas crianças recorreu doença polipóide. Referem ainda que duas dessas crianças não voltaram a manifestar sintomatologia de asma, após a cirurgia nasal, enquanto que as restantes 3 crianças evoluíram com uma melhoria clínica, demonstrada por redução do nº de crises/mês que passou de 3,1 para 0,2.

A polipose nasal¹⁶ é também causa importante de rinosinusite crónica por envolvimento e compromisso do complexo osteomeatal.

O estudo retrospectivo de English *et al*²⁹ incluiu 205 doentes com o diagnóstico de tríada de Samter

e sinusite, submetidos a cirurgia, totalizando um total de 559 procedimentos cirúrgicos (2,75/doente), designadamente polipectomia, polipectomia e etmoidectomia, entre outras cirurgias sinusais. Durante o período de reavaliação (6 meses a 13 anos) foi documentado que 84% dos doentes teve melhoria, traduzida por diminuição da severidade da asma (classificada de acordo com a dose de corticóide utilizada). Noutro estudo retrospectivo, MacFadden *et al*³⁰ avaliaram 25 doentes com a Tríada de Samter e sinusite, com idade média de 42 anos (16-61 anos), submetidos a polipectomia e etmoidectomia. O tempo de duração do *follow-up* foi de 3,4 anos (1-11 anos). Todos referem melhoria da qualidade de vida, menor nº de infecções sinusais, redução na severidade da asma e redução da medicação. Os autores acrescentam que se verificou melhoria da função respiratória, sem no entanto especificarem os parâmetros funcionais avaliados, bem como os resultados. Posteriormente, MacFadden *et al*³¹ apresentam um estudo retrospectivo correspondente a 65 asmáticos (com Tríada de Samter) e sinusite crónica, cuja avaliação subjectiva documenta alívio da asma em 83% dos doentes, traduzido por redução da dose de corticóide necessária. No estudo prospectivo de Nakamura *et al*³² foram incluídos 22 doentes com o diagnóstico de Tríada de Samter e sinusite crónica, com idade média de 42 anos (27 aos 60 anos). A intervenção cirúrgica incluiu a polipectomia e a abordagem do complexo osteomeatal. A reavaliação pós-cirúrgica foi aos 1, 2, 3 e 6 meses e depois anual, por um período total médio de 49 meses, variando dos 13 aos 108 meses. A avaliação incluiu *score* de sintomatologia nasal, TAC, rinomanometria, espirometria (VEMS), sintomatologia da asma (frequência e severidade das crises consoante a classificação do GINA, uso de medicação de recurso, número de idas à urgência e nº de hospitalizações). O VEMS médio pré-cirurgia foi 65,5±9,3%. Não havia correlação entre a extensão da doença nasal e gravidade da obstrução brônquica.

Os resultados apresentados correspondem à reavaliação após 12 meses de cirurgia: rinomanometria apresentou valores de resistência normal em todos os doentes; VEMS foi de $70,2 \pm 7,28\%$ correspondendo a melhoria estatisticamente significativa; verificou-se uma diminuição da gravidade da asma, também com significado estatístico; mantém-se a não correlação entre estadiamento sinusal e pulmonar. Verificou-se ainda redução no nº de crises de 45,5 para 22,7%, redução do nº de admissões no SU e recurso a medicação de alívio (54,5% melhoraram a severidade da asma). Os autores concluem que 90,9% dos doentes tiveram alívio da asma após cirurgia, discutindo que os doentes que melhor beneficiaram (subjectivamente) da cirurgia foram os que apresentaram maior resistência nasal (rinomanometria) o que poderá inferir que o alívio da asma será decorrente do alívio da insuficiência respiratória nasal. O estudo de Rosen *et al*³³, também refere melhoria da asma após tratamento cirúrgico da sinusite em doentes com tríada.

Nestes estudos, os autores preconizam que a abordagem cirúrgica dos doentes com sinusite crónica condicionada por polipose, não se limitará à polipectomia, devendo incluir a abordagem do complexo osteomeatal, com objectivo de prevenir a recorrência.

HIPERTROFIA DOS CORNETOS

O estudo retrospectivo de Ducroz *et al*³⁴ analisou a evolução das crianças asmáticas após turbinectomia. Foram incluídas 19 crianças asmáticas, com idade média de 11 anos e 5 meses, com idade mínima de 8 anos. O tempo de evolução foi de 21 meses (10 – 44 meses). 78% das crianças apresentou recuperação da função respiratória nasal. 9/19 apresentaram diminuição do nº de crises, 7/19 não sofreram alterações, 3/19 manteve a mesma situação clínica. Apenas 7 asmáticos deste estudo foram

avaliados com espirometria, relatando os autores que nenhum agravou, tendo 2 melhorado sob o ponto de vista funcional.

No estudo de Percodani *et al*³⁵, 28% de 38 crianças asmáticas dos 9 aos 16 anos, submetidos a turbinectomia melhoraram da asma. Também no estudo de Ophir *et al*³⁶, 50% dos 32 asmáticos submetidos a turbinectomia inferior, apresentam redução do nº de crises, 40% estabilizam e 10% pioram.

DISCUSSÃO

À medida que melhor se define a coexistência da doença sinonasal e da asma e se esclarece a sua etiopatogenia, são requeridos avanços no esclarecimento da abordagem terapêutica concomitante das duas entidades. Actualmente é reconhecido o benefício do tratamento médico da doença nasosinusal, mas permanece por esclarecer o impacto da cirurgia de patologia nasal na evolução da asma. Até ao início dos anos 90, os dados apresentados na literatura³⁷ apontavam que a polipectomia condicional o desencadeamento de asma, sendo actualmente assumido que a evolução observada correspondia à história natural da Tríada de Samter. Com o desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas, nomeadamente a cirurgia endoscópica nasal, surgem novas perspectivas do benefício da cirurgia nasal em doentes asmáticos.

Independentemente da técnica cirúrgica e dos parâmetros de monitorização da evolução da asma, todos os autores citados, assumem a eficácia da cirurgia nasal na patologia rinosinusal subjacente e o concomitante efeito benéfico na evolução da asma. No entanto o efeito da cirurgia nasal na evolução da asma é difícil de provar, uma vez que nenhum dos estudos revistos completam os requisitos dos ensaios randomizados duplamente cegos, controlados com placebo, que permitiriam definir conceitos.

Algumas questões são levantadas na análise destes estudos, nomeadamente o tipo de estudo (retrospectivo *versus* prospectivo), o tamanho das amostras, a definição de parâmetros objectivos de monitorização da evolução da patologia nasal e da asma, o tempo de evolução, os grupos de controlo. Os ensaios prospectivos (mesmo observacionais) têm a vantagem de permitir um acompanhamento objectivo da evolução dos doentes. Apenas 5 dos estudos são prospectivos^{7,9,15,24,32}. O tempo de evolução de todos os estudos revistos foi de apenas 12 meses, excepto 3 estudos^{24,13,11} nos quais os doentes foram reavaliados aos 4, 5 e 6,5 anos após a cirurgia, respectivamente. O tamanho das amostras foi reduzido em todos, excepto o estudo de English²⁹ que incluiu 205 doentes. Apenas dois estudos^{9,24} incluem grupos de controlo. Também os parâmetros de monitorização da evolução foram diversificados. Na maioria, os autores basearam as suas conclusões na avaliação exclusivamente subjectiva. Em alguns estudos, os critérios utilizados foram a objectivação de parâmetros clínicos, como o nº e severidade de crises, o nº de hospitalizações, o grau de severidade da asma traduzido pela dose de corticoterapia, o recurso a broncodilatadores e/ou corticoterapia sistémica. Apenas o estudo de Nakamura³² baseou a avaliação clínica da evolução da asma, nas recomendações classificativas do GINA. Ainda que a monitorização destes parâmetros clínicos seja o pilar na avaliação de doentes na prática clínica, não pode ter lugar exclusivo na monitorização em ensaios clínicos. Alguns autores^{9,10,12,15,21-25,27,29,32,34} recorreram aos parâmetros objectivos que constituem a monitorização funcional respiratória (registo seriado de *Peak Flow* ou espirometria). Os resultados da avaliação funcional respiratória por espirometria foram apresentados em apenas 3 estudos^{10,24,32}. No estudo de Goldstein¹⁰ (retrospectivo) não houve diferença estatisticamente significativa, no pré e pós-operatório. No estudo de Lamblin²⁴ (prospectivo com grupo de controlo) o grupo dos respondedores

ao corticóide (não submetidos a cirurgia) manteve a função pulmonar aos 1 e 4 anos de evolução, enquanto que os não respondedores (submetidos a cirurgia) apresentaram uma redução dos valores espirométricos com significado estatístico, sem se correlacionar com a presença de asma. Portanto a diminuição dos VEMS ocorreu naqueles cuja patologia nasal não responde ao corticoide independentemente de terem asma ou não. Teria interessado analisar comparativamente os asmáticos de cada um dos grupos. No estudo de Nakamura³² houve melhoria com significado estatístico, mas não tem grupo de controlo.

Outro factor envolvido na etiopatogénese destas patologias e, conseqüentemente com papel na evolução destes doentes, é a alergia. Este parâmetro foi quantificado em alguns doentes, em apenas alguns estudos^{9,14,24,28-30,32}, sem no entanto ter sido avaliada a sua influência.

Quanto aos estudos realizados em crianças, carecem de parâmetros de avaliação objectivos que fundamentem o benefício do tratamento cirúrgico da sinusite na evolução favorável da asma. Não se pode excluir que a evolução documentada poderá reflectir apenas o curso natural da asma nestes grupos etários.

CONCLUSÃO

Em todos os estudos publicados, a avaliação naso-sinusal após cirurgia documenta a eficácia do tratamento cirúrgico, enquanto que os resultados dessa cirurgia na evolução da asma, além de díspares baseiam-se, na sua maioria, em parâmetros subjectivos, não permitindo conclusões esclarecedoras.

O mecanismo pelo qual, a cirurgia nasal, nomeadamente da doença naso-sinusal inflamatória, condiciona melhor prognóstico na evolução da asma brônquica, permanece por definir, em paralelo talvez com o desconhecimento dos exactos

mecanismos etiopatogênicos envolvidos na correlação da doença naso-sinusal e brônquica. Sendo a asma brônquica uma doença multifactorial, não é fácil a uniformização de critérios, tanto na definição de parâmetros monitorizáveis, como na análise da contribuição dos vários factores concorrentes.

Nenhum consenso se atinge com os estudos disponíveis, sendo fundamental a realização de estudos prospectivos controlados.

BIBLIOGRAFIA

- Bousquet and the ARIA workshop group. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: S147-S333
- Kaliner MA, Osguthorpe JD, Fireman P *et al.* Sinusitis: bench to bedside, current findings, future directions. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99 (6 Pt3): S829-847
- Slavin RG. Complications of allergic rhinitis: implications for sinusitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: S357-360
- de Benedictis FM, Bush A. Rhinosinusitis and asthma: epiphenomenon or causal association? *Chest* 1999; 115: 550-556
- Rossi OV, Pirila T, Laitinen J, Huhti E. Sinus aspirates and radiographic abnormalities in severe attacks of asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 103: 209-213
- Zimmerman B, Stringer D, Feanny S *et al.* Prevalence of abnormalities found by sinus x-ray in childhood asthma: lack of relation to severity of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80 (3 Pt1): 268-273
- Nishioka GJ, Cook PR, Davis WE, McKinsey JP. Functional endoscopic sinus surgery in patients with chronic sinusitis and asthma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 110: 494-500
- Park A, Lau J, Stankiewicz J, Chow J. The role of functional endoscopic sinus surgery in asthmatic patients. *J Otolaryngol* 1998; 27 (5): 275-280
- Ikeda K, Tanno N, Tamura G *et al.* Endoscopic sinus surgery improves pulmonary function in patients with asthma associated with chronic sinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1999; 108: 355-359
- Goldstein MF, Grundfast SK, Dunsky EH, Dvorin DJ, Lesser R. Effect of functional endoscopic sinus surgery on bronchial asthma outcomes. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 314-319
- Senior BA, Kennedy DW, Tanabodee J, Kroger H, Hassad M, Lanza DC. Long-term impact of functional endoscopic sinus surgery on asthma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121: 66-68
- Dinis PB, Gomes A. Sinus and asthma: how do they interrelate in sinus surgery? *Am J Rhinol* 1997; 11: 421-428
- Mings R, Friedman W, Linford PA, Slavin RG. Five-year follow up of the effects of bilateral intranasal sphenoidectomy in patients with sinusitis and asthma. *Am J Rhinol* 1988; 2: 13-16
- Parsons DS, Phillips SE. Functional endoscopic surgery in children: a retrospective analysis of results. *Laryngoscope* 1993; 103: 899-903
- Manning SC, Wasserman RL, Silver R, Phillips DL. Result of endoscopic sinus surgery in pediatric patients with chronic sinusitis and asthma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 1142-1145
- Slavin RG. Nasal Polyps and sinusitis. In: *Allergy Principles & Practice*, Middleton E, Reed C *et al.* Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 1024-1035
- Szczeklik A, Steveson DD. Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 5-13
- Holmberg K, Karlsson G. Nasal polyps: medical or surgical management? *Clin Exp Allergy* 1996; 3: 23-30
- Stammberger H. Surgical treatment of nasal polyps: past, present and future. *Allergy* 1999; 53: 7-11
- Kanai N, Denburg J, Jordana M, Dolovich J. Nasal polyp inflammation. Effect of topical nasal steroid. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1094-1100
- Korchia D, Thomassin JM, Duchon Doris JM, Badier M. Asthme et polyposse efficacité et nocivité de l'éthmoïdectomie endonasale. Résultats à propos de 70 patients. *Ann Oto-Laryng (Paris)* 1992; 109: 359-363
- Jankowski R, Monneret-Vautrin DA, Goetz R, Wayoff M. Incidence of medico-surgical treatment for nasal polyps on the development of associated asthma. *Rhinology* 1992; 30: 249-258
- Dunlop G, Scadding Gk, Lund VJ. Effect of endoscopic sinus surgery on asthma management in patients with chronic rhinosinusitis, nasal polyposis and asthma. *Am J Rhinol* 1999; 13 (4): 261-265
- Lamblin C, Bricchet A, Perez T, Darras J, Bernard Tonnel A, Wallaert B. Long-term follow-up of pulmonary function in patients with nasal polyposis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 406-413
- Uri N, Cohen-Kerem R, Barzilai G, Greenberg E, Doweck I, Weiler-Ravell D. Functional endoscopic sinus surgery in the treatment of massive polyposis in asthmatic patients. *J Laryngol Otol* 2002; 116: 185-189
- Friedman WH, Katsantonis GP, Slavin RG, Kannel P, Linford P. Sphenoidectomy: its role in the asthmatic patient. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1982; 90: 171-177
- Vleming M, Stoop AE, Middelweerd RJ, de Vries N. Results of endoscopic sinus surgery for nasal polyps. *Am J Rhinol* 1991; 5: 173-176
- Triglia JM, Nicollas R. Nasal and sinus polyposis in children. *Laryngoscope* 1997; 107: 963-966
- English GM. Nasal polypectomy and sinus surgery in patients with asthma and aspirin idiosyncrasy. *Laryngoscope* 1986; 96 (4): 374-380
- MacFadden E, Kany RJ, Fink JN, Toohill RJ. Surgery for sinusitis and aspirin triad. *Laryngoscope* 1990; 100: 1043-1046
- McFadden EA, Woodson BT, Fink JN, Toohill RJ. Surgical treatment of aspirin triad sinusitis. *Am J Rhinol* 1997; 11: 263-270
- Nakamura H, Kawasaki M, Higuchi Y, Takahashi S. Effects of sinus surgery on asthma in aspirin triad patients. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1999; 592-598
- Rosen CA, Howell U, Smith JD. Efficacy of different surgical approaches in patients with the aspirin sensitivity, asthma and nasal polyposis triad. *Am J Rhinol* 1996; 10: 207-210
- Ducroz V, Girschig H, Roger G, Grimfeld A, Garabedian EN. Turbinectomie inférieure chez l'enfant asthmatique. *Ann Otolaryngol Cervicofac* 1997; 114: 36-40
- Percodani J, Nicollas R, Dessi P, Serrano E, Triglia JM. La turbinectomie inférieure partielle chez l'enfant indications, technique, résultats. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 1996; 117: 175-178
- Ophir D, Schindel D, Halperin D, Marshak G. Long-term follow-up of the effectiveness and safety of inferior turbinectomy. *Plast and reconstr surg* 1992; 90: 980-987
- Lund VJ. The effect of sinonasal surgery on asthma. *Allergy* 1999; 54 (Suppl 57): 141-145

Declínio anual dos débitos expiratórios em trabalhadores de uma fiação de algodão

Annual decline of the expiratory flow in cotton-mill workers

J. Torres Costa¹, Eunice Castro², J. Alberto Ferreira², Marianela Vaz³,
Henrique Barros⁴, J. Agostinho Marques⁵

¹ Assistente Graduado de Imunoalergologia, Unidade de Imunoalergologia, H. S. João, Porto.

² Assistente Eventual de Imunoalergologia, Unidade de Imunoalergologia, Hospital S. João, Porto.

³ Chefe de Serviço, Directora da Unidade de Imunoalergologia, Hospital S. João, Porto.

⁴ Director do Serviço de Higiene e Epidemiologia da F. Medicina Universidade do Porto.

⁵ Director do Serviço de Pneumologia, H. S. João e F. Medicina Universidade do Porto.

Resumo

A exposição a poeiras de algodão pode resultar numa redução dos débitos expiratórios.

Objectivo: Avaliar os factores que influenciam o declínio anual dos débitos expiratórios em trabalhadores de uma fiação de algodão.

População e Métodos: Estudo prospectivo, ao longo de 5 anos. Foram avaliados 392 trabalhadores (249M; 143H) têxteis: 213 da fiação e 179 da tecelagem; média de idades: 39,6±10,2 anos; exposição a poeiras de algodão: 18,9±8,9 anos. Efectuada anamnese, *testes prick* e prova de metacolina, no 1º ano do estudo. As provas de função respiratória foram realizadas no 1º trimestre de cada ano, no 1º dia de trabalho após afastamento ³ 36 horas. A variação do VEMS ao longo do turno (Δ -VEMS-turno) foi calculada com base na diferença entre o VEMS à saída e da entrada. O declínio anual do VEMS (Δ -VEMS-ano) foi calculado com base no VEMS à entrada do turno em cada ano. Determinou-se o empoeiramento (EMP) e endotoxinas (EDX) para cada posto de trabalho, ao longo de uma semana e em cada dia durante operações distintas, em 1994 e 1998.

Resultados: Δ -VEMS-ano: 41,4±28,8 ml/ano, sendo superior na fiação (49,3±34,3 vs 31,9±15,9 ml/ano, $p<0,001$), se Δ -VEMS-turno ≥ 200 ml (73±34 vs 32±18 ml/ano; $p<0,0001$) e naqueles com HRB (85,8±24,2 vs 27,8±17,0 ml/ano; $p<0,0001$), havendo correlação entre PC20_M e Δ -VEMS-ano ($r = -0,84$; $p<0,0001$). Verificou-se relação entre Δ -VEMS-ano e EDX ($r = 0,44$; $p<0,001$), mas não com o EMP. **Conclusão:** O Δ -VEMS-ano está relacionado com o Δ -VEMS-turno, a HRB e os níveis de EDX a que os trabalhadores estão expostos. Estes resultados reforçam a necessidade

de melhorar as condições de trabalho, em especial as EDX. Δ -VEMS-turno e HRB deverão ser avaliados como factor de risco para um maior declínio dos débitos expiratórios.

Palavras-chave: VEMS, indústria têxtil, endotoxinas, bissinose, asma ocupacional, hiperreactividade brônquica.

SUMMARY

Exposure to cotton dust may cause expiratory flow impairment.

Objective: To assess the factors that influence the annual FEV₁ decrease in cotton mill workers.

Population and methods: Prospective 5-year study involving 392 (143 M; 249 F) workers: 213 cotton spinning and 179 cotton weaving. Average age: 39.6±10.2 y; exposure to cotton dust: 18.9±8.9 years. In the first year, all workers were submitted to clinical examination, skin prick tests and BHR assessment. Lung function tests were performed annually before and after the work shift on the first day back after an absence of 36 hours. Across-shift FEV₁ change (Δ -FEV₁-Shift): FEV₁ after shift – FEV₁ before shift. The annual decrease of FEV₁ (Δ -FEV₁-Year) was assessed over five years. Endotoxins and cotton dust were measured on two occasions (1994 and 1998) for each workplace throughout one week and during different tasks.

Results: Δ -FEV₁-Year was 41.4 ± 28.8 ml/year and it was higher: in the spinning (49.4±34.4 ml/y vs 32.0±15.9 ml/y; p<0.0001); in those who presented Δ -FEV₁-Shift ³200 ml (73±34 ml/y vs 32±18 ml/y; p<0.0001) and in workers with BHR (85.8±24.2 ml/y vs 27.8±17.0 ml/y; p<0.0001). We found a significant correlation between Δ -FEV₁-Year and Pc20M (r= -0.84; p<0.0001) and between Δ -FEV₁-Year and endotoxin levels (r= 0.44; p<0.001), but not with the dust levels. **Conclusions:** Δ -FEV₁-Year is associated with Δ -FEV₁-Shift, BHR and exposure to endotoxins. These results reinforce the need to improve the work conditions, especially endotoxins. Δ -FEV₁-Shift and BHR should be evaluated as risk factors for the decrease in expiratory flow rates.

Key-words: FEV₁, textile industry, endotoxines, byssinosis, occupational asthma, bronchial hyperresponsiveness.

INTRODUÇÃO

A exposição a poeiras de fibras vegetais, nomeadamente ao algodão e seus contaminantes, é causa de doença ocupacional respiratória na indústria têxtil. A primeira descrição desta relação é atribuída a Ramazzini que, no século XVIII, relacionou, em artífices têxteis, a exposição a fibras vegetais de linho, cânhamo e algodão com a presença de sintomas respiratórios.¹⁻³

Mais tarde, no século XX, na década de cinquenta, Schilling e Goodman descreveram um síndrome particular nesta indústria, a *Bissinose*, definindo-a como uma doença respiratória crónica, secundária à exposição de fibras de algodão.^{4,5} Alguns anos mais tarde, Schilling e Roach estabele-

ceram uma relação de dose-efeito entre os níveis de poeiras de algodão e a prevalência da bissinose em trabalhadores têxteis.⁶

As poeiras de algodão, para além das fibras vegetais, contêm vários contaminantes,⁷ dos quais as endotoxinas de bactérias Gram negativas (EDX) parecem ser o principal responsável pelo desenvolvimento de doença respiratória ocupacional nesta indústria.^{8,9}

As condições ambientais a que os trabalhadores das fiações de algodão estão expostos são muito variáveis, havendo por isso diferenças nos níveis de EDX dependentes do tipo e condições particulares de cada unidade industrial.

A exposição a EDX leva a uma redução dos débitos expiratórios ao longo do turno¹⁰⁻¹³ de forma

mais acentuada em trabalhadores com sintomas respiratórios^{14,15} e em atópicos.¹⁶

A longo prazo, os trabalhadores expostos aos níveis mais elevados de EDX apresentam um aumento do declínio anual dos débitos expiratórios,¹⁷⁻²¹ mais acentuado nos trabalhadores com sintomas respiratórios e nos que apresentam hiper-actividade brônquica (HRB) ou atopia.^{22,23}

No presente estudo, foi nosso objectivo avaliar a declínio anual dos débitos expiratórios (D-VEMS-ano) em trabalhadores expostos a poeiras de algodão e identificar quais os factores que o influenciam.

MÉTODOS

População

Foram avaliados os trabalhadores de uma indústria têxtil com um total de 1080 funcionários. Destes, foram incluídos os trabalhadores das secções de fiação e tecelagem, dos turnos fixos diurnos, i.e. das 06 às 14 horas, das 14 às 22 horas ou das 09 às 18 horas, que no início do estudo (Janeiro/Março de 1994) se encontravam em actividade (nº=483). Os trabalhadores do 3º turno (22 às 06 horas) e os que pela natureza da sua actividade não apresentavam exposição regular às poeiras de algodão (trabalhadores da manutenção, laboratório, tinturaria e quadros superiores), foram excluídos.

Avaliação Clínica

Todos os trabalhadores foram avaliados pelo médico de trabalho da empresa. A entrevista clínica foi baseada num inquérito adaptado do proposto pelo *Grupo de Estudo Epidemiológico de Doenças Respiratórias Ocupacionais da Academia Americana de Doenças Respiratórias*,²⁴ após a reproduti-

bilidade da tradução ter sido testada por quatro observadores bilingues independentes.

Neste inquérito, os trabalhadores foram questionados quanto à presença persistente (em ausência de infecções respiratórias), de sintomas das vias aéreas inferiores (opressão torácica, dispneia, pieira, tosse e expectoração).

Os hábitos tabágicos foram inquiridos, tendo sido classificados como ex-fumadores todos os que tinham deixado o consumo de tabaco há pelo menos um ano. O consumo de tabaco foi calculado com base no número de maços consumidos por dia e pelo número de anos de consumo (UMA).

A história profissional e a quantificação dos anos de exposição a poeiras de algodão foram determinadas durante o inquérito.

Estudo funcional respiratório

O estudo funcional respiratório foi realizado no local de trabalho, no 1º trimestre de cada ano (1994 a 1999), em ausência de infecções respiratórias e com a suspensão de fármacos broncodilatadores pelos períodos usualmente recomendados.²⁵ Nesta avaliação, foi utilizado um pneumotacógrafo, *Wellch-Allyn*®.

O estudo funcional respiratório foi realizado no primeiro dia de trabalho após um afastamento de pelo menos 36 horas (fim de semana), sempre pelo mesmo profissional de saúde, após calibragem do pneumotacógrafo segundo as recomendações do fornecedor.

Para cada trabalhador, em cada ocasião, foi escolhido o melhor de três exames consecutivos. O volume máximo expirado no 1º segundo (VEMS) foi comparado com o previsto para a idade, raça e sexo de cada trabalhador.

A evolução longitudinal dos débitos expiratórios (Δ -VEMS-ano) foi calculada com base no valor absoluto do VEMS à entrada do turno do primeiro dia de trabalho, após um afastamento de 36 horas,

no 1º trimestre de cada ano (1994 a 1999).

A variação dos débitos expiratórios ao longo do turno (Δ -VEMS-turno) foi calculada com base na diferença entre o VEMS de saída e de entrada do turno (VEMS saída - VEMS entrada), no primeiro dia de trabalho, após um afastamento de pelo menos 36 horas. Para análise foram utilizadas as variações absolutas (ml), e foram consideradas positivas as reduções do VEMS iguais ou superiores a 200 ml.

Hiperreactividade brônquica

A hiperreactividade brônquica (HRB) foi avaliada, no início do estudo, nos trabalhadores da fiação pela prova de Metacolina (M), realizada de acordo com o método descrito por Cockcroft. (26) O Pc20 de Metacolina (Pc20M) foi definido como a concentração de metacolina, que causou redução do VEMS igual a 20%.

Nesta prova utilizou-se cloreto de metacolina liofilizada a 6,4% (192 mg/frasco) *Lofarma Allergeni®*. Esta foi reconstituída com 6 ml de água estéril apirogénia, de forma a obter-se uma concentração de 32 mg/ml.

Após diluições sucessivas com soro salino (0,9%), a prova iniciou-se com uma concentração de metacolina de 0,03 mg/ml, tendo progredido, na ausência de resposta positiva, até à concentração máxima de 16 mg/ml.

Caracterização do Meio Ambiente

Na área de fiação, os níveis de empoeiramento (EMP) e de endotoxinas bacterianas (EDX) foram determinados em duas ocasiões distintas (1994 e 1998) e, com base nestes, calculados os níveis médios de exposição. Em cada uma das avaliações, as condições ambientais foram avaliadas ao longo de uma semana de trabalho e, em cada dia, durante

operações distintas (ex: limpeza, manutenção, laboração). Com base no tempo despendido em cada uma destas operações, foram calculados os valores médios de EMP e de EDX a que cada trabalhador estava exposto. Na tecelagem, os níveis de EMP e EDX foram determinados em 1997.

Empoeiramento

Na avaliação do EMP, seguiram-se as orientações da British Occupational Hygiene Society - Hygiene Standards for Cotton Dust,²⁷ realizando-se colheitas junto às vias aéreas dos trabalhadores, com um colector da fracção respiratória. A análise foi feita por gravimetria, sendo utilizada uma balança para filtros (Sartorius MSP-000V001).

Endotoxinas

A concentração de endotoxinas nos diferentes postos de trabalho foram determinadas a partir de colheitas de amostras de ar em filtros Millipore de acetato de celulose (diâmetro - 25 mm e tamanho do poro de 0,8 μ m).

Os filtros foram lavados com água apirogénica e procedeu-se à análise, em duplicado do fluído sobrenadante. Na análise, foi utilizado o método enzimático - Limulus Amoebocyte Lysate - sensibilidade 0,03 EU/ml.^{28,29}

As leituras obtidas foram comparadas com uma curva de calibração (em nanogramas de endotoxinas), construída através do material de referência - US Reference Endotoxin (NP-3 Endotoxine Standard - LPS *S. abortus equi*).

Em função do volume de ar colhido em cada filtro, procedeu-se à conversão dos valores ponderais de EDX em valor da concentração no ar (ng/m^3).

Atopia

A atopia foi avaliada por testes cutâneos *prick* com diferentes concentrações na face anterior do antebraço. Utilizou-se uma bateria extractos (*Stallergenes*[®]) com os seguintes alergénios: *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Cynodon dactylon*, *Phleum pratense*, *Secale cereale*, *Poa pratensis*, *Festuca elatior*, *Artemisia vulgaris*, *Parietaria judaica*, *Plantago lanceolata*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* e faneras de animais domésticos (cão e gato). Os controlos positivo e negativo foram, respectivamente, histamina (10 mg/ml) e cloreto de sódio a 0,25% em glicerol a 50%.

Atopia foi considerada presente quando pelo menos um dos extractos testados, apresentava aos 15 minutos, uma pápula superior à obtida no controlo positivo, em ausência de resposta no controlo negativo.

Análise estatística

Na análise estatística foram utilizados os programas Statistica[®] e SPSS-9.0[®]. Depois da confirmação da homogeneidade e normalidade da distribuição da amostra, as variáveis contínuas foram comparadas com o teste t de Student, as proporções pela prova do qui-quadrado e as correlações pelo teste de Pearson. As variáveis com distribuição não normal foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney.

O modelo de factores de risco foi avaliado por análise coeficientes de regressão linear simples e de multivariada após transformação logarítmica da variável dependente. Consideraram-se significativas as diferenças com uma probabilidade igual ou inferior a 0,05.

RESULTADOS

Ao fim de cinco anos de avaliação, dos 483 trabalhadores incluídos inicialmente, 392 (81,1%) terminaram o estudo. Noventa e um trabalhadores não completaram a avaliação (66 de fiação e 23 de tecelagem):

- 46 (9,4 %) por se encontrarem ausentes (ex: doença) em pelo menos um dos períodos de avaliação (1º trimestre de cada ano). Destes, quatro trabalhadores apresentavam doença respiratória relacionada com a profissão e, em 13 casos, a ausência foi atribuída a infecções respiratórias.

- 23 (4,6 %) por terem mudado o seu local de trabalho durante a avaliação.

- 22 (4,5 %) por terem obtido a reforma (limite de idade ou doença - um caso por doença profissional - bissinose).

Dos 392 trabalhadores, 249 eram mulheres (63,5%) e 143 homens (36,5%), 213 trabalharam em fiação (54,3%) e 179 em tecelagem (45,7%) durante os cinco anos da avaliação (1994 a 1999).

Em 1994, no início do estudo, a idade média era de 39,6 anos e os trabalhadores apresentavam uma exposição a poeiras de algodão de $18,9 \pm 8,8$ anos (fiação: $20,9 \pm 9,0$ anos vs tecelagem: $16,7 \pm 8,1$ anos; $p < 0,0001$). Na fiação, os trabalhadores com sintomas respiratórios apresentavam mais tempo de exposição ($25,9 \pm 9,0$ anos vs $18,9 \pm 8,2$ anos; $p > 0,0001$).

Dos 392 trabalhadores que concluíram o período de avaliação, sessenta e nove trabalhadores (17,6%) apresentavam testes cutâneos *prick* positivos para os aeroalergénios estudados (fiação: 35, tecelagem: 34) e a IgE média foi de $89,4 \pm 166$ kU/L.

Dos 213 trabalhadores da fiação, 79 (37,1%) apresentaram prova de metacolina positiva, com Pc20 M de $5,2 \pm 4,7$ mg/ml.

Sessenta e quatro trabalhadores (16,3%) tinham hábitos tabágicos, com carga tabágica de $16,8 \pm 10,6$

Tabela 1 — Resultados das avaliações ambientais: empoeiramento (EMP) e endotoxinas (EDX)

	EMP (mg/m ³)	EDX (ng/m ³)
Fiação 1994	0,68 ± 0,68	14,2 ± 16,6
Fiação 1998	0,68 ± 0,61	15,3 ± 16,8
Fiação (média)	0,69 ± 0,64	14,7 ± 16,4
Tecelagem 1997	0,12 ± 0,02	< 1,0

UMA, sendo 6 do sexo feminino. Dezanove trabalhadores eram ex-fumadores.

Na Tabela 1 descrevem-se os níveis de empoeiramento e de EDX da fiação e tecelagem. Para a fiação calculou-se a média de exposição com base nas determinações de 1994 e 1998. Na tecelagem, não se observaram níveis de EDX acima do limiar de sensibilidade da técnica.

A percentagem de trabalhadores com sintomas respiratórios foi de 29,1% (62/213) na fiação e de 14,5% (26/179) na tecelagem, apresentando os

trabalhadores desta última um VEMS basal mais elevado (103,4 ± 8,6 % vs 94,4 ± 14,6 %; p<0,0001) (Tabela 2).

Variação dos débitos expiratórios ao longo do turno (Δ -VEMS-turno)

Nos 392 trabalhadores avaliados, observou-se um Δ -VEMS-turno de 64 ± 171 ml, apresentando 93 trabalhadores (23,7%) um Δ -VEMS-turno superior a 200 ml.

Os trabalhadores da fiação apresentaram maiores reduções do Δ -VEMS-turno (Tab. 2), tendo este sido positivo em 83 trabalhadores (38,9%), enquanto na tecelagem foi positivo apenas em 10 casos (5,5%).

Os trabalhadores com redução significativa do Δ -VEMS-turno apresentaram um Δ -VEMS-ano mais acelerado (73 ± 34 ml vs 32 ± 18 ml; p<0,00001) e maior HRB (Pc20M: 7,3 ± 6,6 mg/ml vs 15,9 ± 3,3 mg/ml; p<0,0001). O Δ -VEMS-turno apresentou ainda correlação com os níveis

Tabela 2 - Fiação vs tecelagem: características dos dois grupos

	Fiação	Tecelagem	p
Nº trabalhadores	213 (132 M/81 H)	179 (117 M/62 H)	-
Sintomáticos	29,1 % (62/213)	14,5 % (26/179)	<0,0001*
Idade (anos)	41,6 ± 10,4	37,3 ± 9,2	<0,0001
Tempo de exposição (anos)	20,9 ± 9,0	16,7 ± 8,1	<0,0001
Atópicos	16,4 % (35/213)	18,9 % (34/179)	ns
Empoeiramento (mg/m ³)	0,69 ± 0,64 (#)	0,12 ± 0,02	<0,0001
Endotoxinas (ng/m ³)	14,7 ± 16,4 (#)	< 1	-
Δ -VEMS-turno (ml)	-115 ± 183	-5 ± 133	<0,00001
Δ -VEMS-ano (ml)	-49,4 ± 34,4	-32,0 ± 15,9	<0,0001
Fumadores	33 (21,8 UMA)	12 (12,9 UMA)	<0,05**

média das determinações de 1994 e 1998 para cada trabalhador
 * $\chi^2 = 11,1$
 ** $\chi^2 = 6,5$

Tabela 3 — Trabalhadores sintomáticos e assintomáticos na fiação e tecelagem

Fiação	Sintomáticos	Assintomáticos	p
Idade (anos)	46,1 ± 9,6	39,7 ± 10,2	< 0,0001
Empoeiramento (médio) mg/m ³	0,65 ± 0,40	0,70 ± 0,71	ns
Endotoxinas (média) ng/m ³	17,1 ± 16,8	13,8 ± 16,2	ns
VEMS (%)	88,4 ± 14,9	96,9 ± 13,8	< 0,0001
Δ-VEMS-turno (ml)	-163 ± 200	-95 ± 172	< 0,01
Δ-VEMS-ano (ml)	-64,9 ± 36,8	-42,9 ± 31,4	< 0,0001
Pc20 M (mg/ml)	9,8 ± 7,6	13,8 ± 5,4	< 0,0001
Carga tabágica (UMA)	6,9 ± 12,4	2,9 ± 7,5	< 0,01
Tecelagem	Sintomáticos	Assintomáticos	p
Idade (anos)	43,1 ± 9,5	36,3 ± 8,9	< 0,005
Empoeiramento (mg/m ³)	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,01	< 0,05
VEMS (%)	97,6 ± 7,8	104,4 ± 8,4	< 0,0005
Δ-VEMS-turno (ml)	16 ± 136	7 ± 133	ns
Δ-VEMS-ano (ml)	-49,3 ± 34,3	-31,9 ± 15,9	< 0,005
Carga tabágica (UMA)	5,3 ± 8,3	0,4 ± 2,1	< 0,0001

de EDX ($r = -0,26$) (Fig.1), não se observando relação com os níveis de empoeiramento, IgE total, anos de exposição ou presença de atopia.

Na fiação, os trabalhadores sintomáticos apresentaram maiores Δ -VEMS-ano e Δ -VEMS-turno, não se tendo observado diferenças nas características ambientais a que estes estavam expostos (Tabela 3).

Variação anual dos débitos expiratórios (Δ -VEMS-ano)

A variação média anual do VEMS nos 392 trabalhadores foi de $41,4 \pm 28,8$ ml/ano, tendo sido maior nos trabalhadores da fiação ($49,3 \pm 34,3$ vs $32,0 \pm 15,9$ ml/ano; $p < 0,0001$), nos atópicos ($60,7 \pm 33,7$ vs $47,1 \pm 33,4$ ml/ano; $p < 0,05$) e nos

fumadores ($64,5 \pm 31,7$ vs $38,5 \pm 27,1$ ml/ano; $p < 0,0001$).

Nos trabalhadores da fiação observou-se uma relação entre o Δ -VEMS-ano e os níveis de EDX ($r = 0,44$; $p < 0,001$), não se tendo observado relação com os níveis de empoeiramento.

Os trabalhadores com metacolina positiva apresentaram um maior Δ -VEMS-ano ($85,8 \pm 24,2$ ml/ano vs $27,8 \pm 17,0$ ml/ano; $p < 0,0001$), havendo relação entre este e o Pc20M ($r = -0,84$; $p < 0,0001$) (Fig.2).

Em regressão linear simples, com a variação anual dos débitos expiratórios nos trabalhadores da fiação como variável dependente, a idade, os níveis de empoeiramento e o número de anos de exposição não apresentaram correlação significativa.

Num modelo multivariado em que se analisou a influência do sexo, atopia, carga tabágica, presença

Tabela 4 — Variação anual do VEMS nos trabalhadores da fiação Coeficientes parciais

(n = 213)	Sig.	p
Sexo (M/F)	0.128	ns
Atopia (Sim/Não)	0.41	ns
C Tabágica (UMA)	0.088	ns
Sintomas respiratórios (S/N)	0.009	ns
VEMS basal (%)	-0.108	ns
Δ -VEMS-turno (ml)	-0.60	ns
Endotoxinas ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	0.215	0.002
Pc20M (mg/ml)	-0.601	0.001

Tabela 5 — Variação anual do VEMS nos trabalhadores. Regressão linear multivariada

(n = 392)	F	p
Idade (anos)	0.151	ns
Empoeiramento (mg/m^3)	0.897	ns
Endotoxinas (ng/m^3)	50.2	0.001
C Tabágica (UMA)	0.485	ns
VEMS basal (%)	19.5	0.001
Δ -VEMS-turno (ml)	41.64	0.001
Sexo (M/F)	0.20	ns
$r = 0.45$		

de sintomas respiratórios, VEMS basal no início do estudo, variação do VEMS ao longo do turno, Pc20M e níveis de EDX, as duas últimas variáveis permaneceram significativamente associadas à variável dependente, enquanto que as restantes perdem no modelo conjunto o seu significado individual. Para o conjunto das variáveis, este modelo explica em 60% dos casos o declínio anual do VEMS em trabalhadores da fiação, para um r de 0.77 (Tabela 4)

O Δ -VEMS-ano, nos trabalhadores da fiação, foi significativamente superior ao observado nos da tecelagem ($49,3 \pm 34,3$ ml/ano vs $31,9 \pm 15,9$ ml/ano, $p < 0,001$). Após o ajuste das variáveis, as diferenças observadas nos dois sectores, permanecem estatisticamente associadas, no modelo final, ao VEMS basal, ao Δ -VEMS-turno e ao nível de endotoxinas, não se observando diferenças com os níveis de empoeiramento (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Neste estudo encontramos uma redução média do VEMS de 41 ml/ano, com um declínio mais acentuado nos trabalhadores da fiação (50 ml/ano),

que nos da tecelagem (32 ml/ano).

Na avaliação da diferença no Δ -VEMS-ano entre trabalhadores da fiação e da tecelagem, no modelo multivariado, utilizado os níveis de EDX, o VEMS basal e o Δ -VEMS-turno foram as variáveis que melhor as explicaram (Tabela 5).

Para o Δ -VEMS-ano, os níveis de EDX e de HRB foram os factores que significativamente se relacionaram, explicando em 60% dos casos o declínio encontrado.

A avaliação da evolução anual dos débitos expiratórios é influenciada quer pelo método utilizado (estudos longitudinais ou transversais) quer pela forma com os resultados são analisados.^{30,31}

Um estudo longitudinal como o presente tem a vantagem de observar a evolução sequencial dos eventos e permitir o registo de variações individuais.³² Alterações aos hábitos tabágicos (exposição activa e passiva) e alterações dos instrumentos de medição, técnicos e técnica utilizada são factores que podem interferir na interpretação dos resultados.³³

As alterações do regime de exposição, a exclusão de casos com provas funcionais respiratórias não reprodutíveis ou com broncospasmo secundário às

manobras de expiração forçada,³⁴ a presença de doença respiratória e o uso de broncodilatadores ou esteróides inalados,³⁵ bem como a exposição a alergénios não ocupacionais são factores que devem ser considerados no desenho do estudo.

No presente estudo, factores como presença de infecções respiratórias, utilização de broncodilatadores, alteração dos locais de trabalho e do consumo de tabaco, mudanças de técnico ou da técnica ou da fiabilidade do pneumotacógrafo utilizado, foram variáveis sistematicamente controladas. Outras, como a exposição a alergénios não ocupacionais ou a exposição passiva ao fumo de tabaco, não puderam ser controladas, não nos parecendo que tenham interferido nos resultados.

O Δ -VEMS-ano encontrado (41 ml/ano) é semelhante ao descrito por outros autores: Bouhuys (59 ml/ano),³⁶ Berry (54 ml/ano),¹⁵ Beck (42 ml/ano),¹² Christiani (40 ml/ano),³⁷ e por nós (42 ml/ano), em estudo anterior.²²

Merchant encontrou um declínio mais acentuado (192 ml/ano),³⁸ podendo a diferença ser atribuída a factores individuais como a carga tabágica e anos de exposição ou a factores ambientais como EMP e EDX, que não estão contabilizados.³⁹

Na população geral, o Δ -VEMS-ano é de 20 a 30 ml,⁴⁰⁻⁴³ podendo estar aumentado na presença de tabagismo,⁴⁴ atopia ou HRB.^{23,45}

Os trabalhadores têxteis, têm um Δ -VEMS-ano mais acelerado, aceitando-se que a exposição continuada a poeiras de algodão leve a uma redução dos débitos expiratórios de cerca de 10% para o geral dos trabalhadores,⁴⁶ podendo ser superior naqueles com sintomas respiratórios.⁴⁷ Este aumento tem sido atribuído a factores como a atopia,⁴⁵ HRB,²¹ tabagismo^{48,49} e factores ambientais como o EMP³⁹ ou as EDX⁵⁰ e ainda, à duração da exposição.^{51,52}

Gotlieb relacionou a atopia com um decréscimo adicional do VEMS de 10 ml/ano.⁴⁵ Contudo, outros autores defendem que esta redução, em atópicos, só ocorre em indivíduos com asma ou eosinofilia.⁵¹

Neste estudo, a atopia apesar de se relacionar com o Δ -VEMS-ano, quando analisada no modelo multivariado, perdeu o significado, provavelmente devido à relação do Δ -VEMS-ano com a HRB. A HRB, estando também relacionada com a atopia, pode levar a que a última, se analisada individualmente, apresente relação com os débitos expiratórios.

A HRB é outro factor cuja presença, mesmo na população geral, está relacionada com um Δ -VEMS-ano mais acentuado.^{23,34,40,53-55} Num estudo comparativo entre indivíduos com Pc20M superior e inferior a 2 mg/ml, os últimos apresentavam maior Δ -VEMS-ano (21 ml/ano vs de 94 ml/ano),⁵⁶ estimando-se que este factor acarrete um declínio anual de 30 ml/ano.⁴⁰ O mecanismo, no entanto, não é completamente conhecido.

Nas fiações, a HRB está associada à contaminação do algodão por EDX^{7,8,57-62} e exposições superiores a 20 ng/m³ podem desencadear broncospasma e aumento transitório da HRB.^{63,64}

A inalação de EDX provoca alterações inflamatórias das vias aéreas com acumulação e activação de neutrófilos e macrófagos^{65,66} e libertação de múltiplos mediadores,^{64,67-72} de cuja acção podem resultar alterações inflamatórias com fibrose e/ou destruição do parênquima pulmonar, levando a um maior declínio dos débitos expiratórios e broncospasma.^{73,74}

Os hábitos tabágicos também se associam a um maior Δ -VEMS-ano.^{48,49}

Neste estudo, 64 trabalhadores (16%) apresentavam hábitos tabágicos com uma carga média de 17 UMA, tendo Δ -VEMS-ano de 65 ml. No entanto, no modelo de análise utilizado, o consumo de tabaco perdeu o significado como factor de risco para outras varáveis.

Apesar de alguns autores não encontrarem relação Δ -VEMS-turno e HRB,¹³ no presente estudo, as maiores variações do Δ -VEMS-turno ocorreram nos trabalhadores com HRB, estando relacionadas com os níveis de EDX.

Tal como é referido por outros autores, parece-nos que o Δ -VEMS-turno traduz a presença de broncospasmo desencadeado pelas condições ambientais, sendo aceite por alguns autores como um indicador de doença ocupacional em indivíduos expostos a poeiras de algodão.^{37,75,76}

No presente estudo, 24% dos trabalhadores apresentaram um Δ -VEMS-turno ³ 200 ml, tendo-se observado relação com o Δ -VEMS-ano, que está de acordo com o descrito por outros autores.^{37,40} Contudo, numa análise multifactorial, a importância do Δ -VEMS-turno para o Δ -VEMS-ano foi perdida para outras variáveis (Tabela 4), provavelmente pelo facto daquele traduzir a presença de broncospasmo e de HRB, enquanto o Δ -VEMS-ano se associa fundamentalmente à presença de HRB que é mais constante ao longo do tempo, que as variações do Δ -VEMS-turno.

Nas fiações de algodão, alguns autores têm observado um aumento do declínio anual dos débitos expiratórios em trabalhadores expostos a níveis de empoeiramento superiores a 0,2 mg/m³.³⁹ Para um empoeiramento de 1 mg/m³, Fox encontrou um Δ -VEMS-ano de 23 ml/ano,⁷⁷ enquanto Zuskin, encontrou um Δ -VEMS-ano de 60 ml/ano,¹⁹ e para níveis mais elevados (2 mg/m³), de 70 ml/ano (111 ml/ano em bissinóticos).⁷⁸

Os níveis de empoeiramento que encontramos (0,7 mg/m³ na fiação e 0,1 mg/m³ na tecelagem), não foram factores determinantes na diferença do declínio anual do VEMS entre os dois sectores. O Δ -VEMS-ano relacionou-se fundamentalmente com os níveis de EDX, o que está em acordo com o descrito por outros autores,¹⁷⁻²¹ podendo-se estabelecer uma curva de dose/resposta entre estes dois parâmetros.⁵⁰

As endotoxinas de bactérias Gram negativas são um importante contaminante das fibras de algodão. Atendendo à frequente relação entre EMP e EDX, é possível que alguns estudos apresentem relação entre Δ -VEMS-ano e níveis de empoeiramento, enquanto outros efectuados em áreas cujo

empoeiramento não traduza concentrações proporcionais de EDX, falhem no estabelecimento dessa relação.

A duração da exposição pode, segundo alguns autores, influenciar o Δ -VEMS-ano.^{17,51,52} Neste estudo, não encontramos esta relação, provavelmente pelo facto dos trabalhadores com mais sintomas tenderem a afastar-se mais precocemente da profissão,^{79,80} ou dos níveis de EDX, serem inferiores aos das indústrias onde esta relação se verificou.^{11,81,82}

CONCLUSÃO

Já em estudo anterior, efectuado na mesma indústria, em que foram avaliados 417 trabalhadores ao longo de três anos, encontramos um Δ -VEMS-ano de 42 ml/ano, relacionado com a presença de HRB e os níveis de EDX.²²

Encontramos nos trabalhadores da fiação, um declínio anual do VEMS mais acelerado, mantendo-se a dependência dos níveis de endotoxinas e presença de HRB. Dos factores ambientais avaliados, os níveis de EDX foram determinantes no declínio anual dos débitos expiratórios, não se tendo encontrado relação destes com os níveis de empoeiramento.

Assim, nas avaliações ambientais, parece-nos mais importante a determinação dos níveis de EDX que de empoeiramento e, na avaliação do trabalhador, a determinação da HRB, cuja presença é um factor de risco para um declínio dos débitos expiratórios mais acelerado e eventualmente, para o desenvolvimento de doença respiratória ocupacional.

BIBLIOGRAFIA

1. Ramazzini B. De Morbis Artificum Diatriba. Wright WC, New York: Hafner Publishing Company 1964: 257

2. Kay JP. Observations and experiments concerning molecular irritation of the lungs as one source of tubercular consumption and on spinner's phthisis. *North Eng Med Surg J* 1831; 1: 348
3. Mareska J, Heyman J. Enquête sur le travail et la condition physique et morale des ouvriers employés dans le manufactures de coton, à Gond. *Ann Soc Med Gand* 1845; 16 (part 2): 5
4. Schilling R, Goodman N. Cardiovascular disease in cotton workers: Part I. *Br J Ind Med* 1952; 9: 146-153
5. Schilling R. Byssinosis in cotton and other textile workers. *Lancet* 1953; 2: 261-265, 319-324
6. Roach SA, Schilling R. A clinical and environmental study of byssinosis in the Lancashire cotton workers. *Br J Ind Med* 1955; 17: 1-9
7. Torres da Costa J, Barros H, Macedo JA, Ribeiro H., Mayan O, Sousa Pinto A. Prevalência de doença respiratória na indústria têxtil. Relação com os níveis de empoeiramento. *Acta Med Port* 1998; 11: 301-9
8. Kennedy SM, Christiani DC, Eisen EA, et al. Cotton Dust and Endotoxine Exposure-Response Relationships in Cotton Textile Workers. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 194-200
9. Smith T, Heederick D, Houba R, Quanjer PH. Dust- and Endotoxin-related Respiratory Effects in the Animal Feed Industry. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 1474-9
10. Li D, Zhong Y, Rylander R, Ma Q, Zhou X. Longitudinal study of the health of cotton workers. *J Occup Envir Med* 1995; 52: 328-331
11. Tabona M, Chan-Yeung M, Enarson D, MacLean L, Dorken E, Schulzer M. Host factors affecting longitudinal decline in lung spirometry among grain elevator workers. *Chest* 1984; 85: 782-6
12. Beck G, Maunder L, Schachter E, Schilling R. A prospective study of chronic lung disease in cotton textile workers. *Ann Intern Med* 1982; 97: 645-651
13. Boehleck B. Report to NIOSH on cooperative agreement # 81-OH-158, 1982
14. McKerrow C, McDermott M, Gilson J, Schilling R. Respiratory function during the day in cotton workers: a study in byssinosis. *Br J Ind Med* 1958; 15: 75-83
15. Berry G, McKerrow CB, Molyneaux MB. A study of the acute and chronic changes in ventilatory capacity of workers in Lancashire cotton mills. *Br J Ind Med* 1973; 30: 25-36
16. Jacobs R, Boehlecke B, Van Hage-Hamsten M, Rylander R. Bronchial reactivity, atopy, and airway response to cotton dust. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 19-24
17. Schwartz A, Donham K, Olenchock S, et al. Determinants of longitudinal changes in spirometric functions among swine confinement operators and farmers. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 47-53
18. James A, Coockson W, Buters G, et al. Symptoms and longitudinal changes in lung function in young seasonal grain handlers *Br J Ind Med* 1986; 43: 587-591
19. Zuskin E, Ivankovic D, Schacheter E, Witek T. A ten-year follow-up study of cotton textile workers. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 301-305
20. Beck GJ, Mauder LR, Schacher EN. Cotton dust and smoking effects on lung function in cotton textile workers. *Am J Epidemiol* 1984; 119: 33-43
21. Beck GJ, Mauder LR, Schacher EN. The relationship of respiratory symptoms and lung function loss in cotton textile workers. *Am Rev Respir Disease* 1984; 130: 6-11
22. Torres da Costa J, Moreira da Silva J, Ferreira J, et al. Variação anual dos débitos expiratórios em trabalhadores da indústria têxtil. Relação com a exposição a endotoxinas bacterianas. *Rev Port Pneumologia*. 1998; IV n°3: 243-268
23. Orie N, Sluiter H, De Vries K, Tammeling G, Wikop J. The host factor in bronchitis. In N. G. M. Orie and H. J. Sluter, editors. *Bronchitis*. Royal Van Gorcum, Assen 1961: 43-59
24. Ferris BG. Epidemiology standardization project. *Am Rev Resp Dis* 1978; 118 (sup): 55-88
25. Eiser NM. Bronchial provocation tests 205-106, in *Bronchial Hyperresponsiveness*, Ed Nadel JA, Pauwels R, Snashall PD. Blackwell Scientific Pub. Oxford 1987
26. Cockcroft DW, Killiam DN, Mellon JA, et col. Bronchial reactivity to inhaled methacholine: a method and clinical survey. *Clin Exp Allergy* 1977; 7: 235-243
27. Sécurité et hygiène dans l' industrie textile. Commission des Industries Textiles, Rapport III - Bureau International du Travail - Genève 1973.
28. Guidelines on validation of the Limulus Amebocyte Lysate Test as an end-product endotoxin test for human parenteral drugs, biological products, and medical devises. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration. December 1987
29. Bacterial Endotoxines Test. In United States Pharmacopoeia, 22nd Ed. Revision. 1990 US Pharmacopoeia Convention. INC. Rockville, MD, 1493-1495
30. Van Pelt W, Borsboom G, Rijcken B, Scouten J, Zomeren B, Quanjer P. Discrepancies between longitudinal and cross-sectional change in ventilatory function in 12 years of follow-up. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1218-1226
31. Lin F, Kennedy S, Chan-Yeung M. Effect of grain exposure and smoking on the longitudinal changes in immediate skin reactivity. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 949-954
32. Schouten J, Tager I. Interpretation of longitudinal studies. An overview. *Am J Crit Care Med* 1996; 154: S278-S284
33. Dockery D, Brunekreef B. Longitudinal studies of air pollution effects on lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: S250-S256
34. Grol M, Gerritsen J, Vonk J, et al. Risk factors for growth and decline of lung function in asthmatic individuals up to age 42 years. A 30-year follow-up. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1830-1837
35. Enright P, Connett J, Kanner R, Johnson L, Lee W. Spirometry in the lung health study II. Determinants of short-term intraindividual variability. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 406-11
36. Bouhuys A, Zuskin E. Chronic respiratory disease in hemp workers: a follow-up study 1967-1974. *Ann Int Med* 1976; 84: 398-405
37. Christiani D, Ting-Ting Y, Wegman D, Eisen E, He-Lien D, Pei-Lian L. Cotton dust exposure, across-shift drop in FEV₁ and five-year change in lung function. *Am J Crit Care Med* 1994; 150: 1250-1255
38. Merchant J, Lumsden J, Kiburn K, et al. Intervention studies of cotton steaming to reduce biological effects of cotton dust. *Br J Ind Med* 1974; 31: 261-274
39. Jones R, Diem J, Glindmeyer H, et al. Mill effect and dose-response relationships in Byssinosis. *Br J Ind. Med* 1979; 36: 305-313
40. Rijcken B, Weiss S. Longitudinal analyses of airway responsiveness and pulmonary function decline. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: S246-S249
41. Cotes J. *Lung Function*. Philadelphia: FA Davis Co, 1974

42. Berglund E, Birath G, Bjure J, et al. Spirometric studies in normal subjects between 7 and 70 years of age. *Acta Med Scand* 1963; 173: 185-192
43. Ferris G, Anderson D, Zickmantel R. Prediction values for screening test of pulmonary function. *Am Rev Respir Dis* 1965; 91: 252-261
44. Samet J, Lange P. Longitudinal studies of active and passive smoking. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 154: S257-S265
45. Gotlieb J, Sparrow D, O'Connor G, Weiss S. Skin test reactivity to common aeroallergens and decline of lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 561-565
46. Elwood P, Sweetnam P, Bevan C, Saunders M. Respiratory disability in ex-cotton workers. *Br J Ind Med* 1986; 43: 580-586
47. Sherman C, Xu X, Speizer F, Ferris B, Weiss S, Dockery D. Longitudinal lung function decline in subjects with respiratory symptoms. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 855-859
48. O'Connor G, Sparrow D, Segal M, Weiss T. Risk factors for ventilatory impairment among middle-aged and elderly men. *Normative Aging Study Chest* 1993; 103: 376-382
49. Burrows B, Lebowitz M, Barbee R. Respiratory disorders and allergy skin-test reactions. *Ann Inter Med* 1976; 84: 134-139
50. Vogelzank P, Van Der Gulden J, Folgering H, et al. Endotoxin exposure as a major determinant of lung function decline in pig farmers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 15-18
51. Pahwa P, Senthilselvan A, McDuffie H, Dosman J. Longitudinal estimates of pulmonary function decline in grain workers. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 656-662
52. Chan-Yeung M, Enarson D. Prospective changes in lung function in grain elevators workers in large terminals in Vancouver. In Dosman JA, Cocroft DW, Eds. *Principles of health and safety in agriculture*. Boca R FL. CRC Press 1989; 131-134
53. Chung K. Role of inflammation in the hyperreactivity of the airways in asthma. *Thorax* 1986; 41: 657-662
54. Christiani D, Wegman D, Eisen E, Ting-Ting Ye, Pei-Liem Lu. Cotton dust exposure and longitudinal change in lung function. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: A 589
55. Rijcken B, Schouten J, Xu X, Rosner B, Weiss S. Airway hyperresponsiveness to histamine associated with accelerated decline in FEV₁. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1377-1382
56. Van Schayck C, Dompeling E, Van Herwaarden C, Wever A, Weel C. Interacting effects of atopy and bronchial hyperresponsiveness on the annual decline in lung function and the exacerbation rate in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1297-1301
57. Boehlecke B, Schrelber R, Fullton J. Non-specific airway reactivity increased by exposure to cotton dust. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: A 263.
58. Michel O, Ginanni R, Le Bom B, Content J, Duchateau J, Sergysels R. Inflammatory response to acute inhalation of endotoxin in asthmatic patients. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 352-7
59. Rylander R, Bake B, Fischer J, Helander I. Pulmonary function and symptoms after inhalation of endotoxin. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 981-986
60. Hagling P, Rylander R. Exposure to cotton dust in an experimental card room. *Br J Ind Med* 1984; 41: 340-345
61. Michel O, Duchateau J, Sergysels R. Effects of inhaled endotoxine on bronchial reactivity in asthmatic and normal subjects. *J Apply Physiol* 1989; 66: 1059-1064
62. Michel O, Kips J, Duchateau J. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1641-1646
63. Peden D, Tucker K, Murphy P, et al. Eosinophil influx to the nasal airway after local, low-level LPS challenge in humans. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 388-94
64. Sandstrom T, Bjermer L, Rylander R. Lipolyssacharide (LPS) inhalation in healthy subjects causes bronchoalveolar neutrophilia, lymphocytosis, and fibronectin increase. *Am J Ind Med* 1994; 25: 103-104
65. Dubin W, Martin T, Swoveland P, Leturcq D, Moriarty A, Tobias P. Asthma and endotoxin: lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in bronchoalveolar compartment. *Am J Physiol* 1996; 270: 736-744
66. Eldrige M, Peden D. Allergen provocation augments endotoxin-induced nasal inflammation in subjects with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 475-481
67. Shute J, Vrugt V, Lindley I, Holgate S, Bron A, Aalbers R. Free and complexed interleukin-8 in blood and bronchial mucosa in asthma. *Am J Crit Care Med* 1997; 155: 1877-1883
68. Michie H, Manogue K, Spriggs D, et al. Detection of circulating tumour necrosis factor after endotoxin administration. *N Eng J Med* 1988; 318: 1481-1486
69. Nakano J, Takizawa H, Ohtoshi T, et al. Endotoxin and pro-inflammatory cytokines stimulate endothelin-1 expression and release by airway epithelial cells. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 330-336
70. Nakamura H, Yoshimura K, Jaffe H, Crystal R. Interleukin-8 gene expression in human bronchial epithelial cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 19611-19617
71. D'Andrea A, Rengaraju M, Valiante N. Production of natural killer cell stimulatory factor (IL 12) by peripheral blood mononuclear cells. *J Exp Med* 1992; 176: 1387-1398
72. Lee J, Lin J, Henriksen-Destefano D, Vilcek J. Bacterial lipopolysaccharide-induced interferon-gamma production: roles of interleukin 1 and interleukin 2. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 136: 4525-4530
73. Gordon T, Harkema J. Cotton dust produces an increase in intraepithelial mucosubstances in rat airways. *Am J Crit Care Med* 1995; 151: 1981-1988
74. Ryan L, Karol M. Release of tumour necrosis factor in guinea pigs upon acute inhalation of cotton dust. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991; 5: 93-98
75. Sepulveda M, Hankinson J, Castellan R, Cocke J. Cotton induced bronchoconstriction detected by a forced random noise oscillator. *Br J Ind Med* 1984; 41: 480-486
76. Pickering C. Byssinosis. In *Occupational Lung Disorders*, Ed W R Parkes 3rd Ed. 1994; 729-754
77. Fox A, Tombleson J, Watt A. A survey of respiratory disease in cotton operatives. Symptoms and ventilation test results. *Br J Indus Med* 1973; 30: 42-47
78. Zuskin E, Valic F. Change in the respiratory response to coarse cotton dust over a ten-year period. *Am Rev Respir Dis* 1975; 112: 417-421
79. Broder I, Corey P, Davies G, et al. Longitudinal study of grain elevator and control workers with demonstration of healthy worker effect. *J Occup Med* 1985; 27: 873-880
80. Senthilselvan A, Pahwa P, Wang P, McDuffie H, Dosman J. Persistent wheeze in grain elevator workers should not be ignored. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 701-705
81. Chan-Yeung M, Schulzer M, MacClean L, Dorken E, Tan E, Enarson D. A follow-up study of the grain elevator workers in the port of Vancouver. *Arch Environ Health* 1981; 36: 75-81.
82. Enarson D, Vedal S, Chan-Yeung M. Rapid decline in FEV₁ in grain handlers. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 814-817

Estudo de citocinas de linfócitos T e de Imunoglobulinas E e G em doentes atópicos candidatos a imunoterapia

Study of T lymphocyte cytokines and immunoglobulins E and G in atopic patients candidate for immunotherapy

Manuela Rebordão¹, Manuel Silva¹, Augusto Remédios¹, Emília Alvares²,
Helena Pinto², Esmeraldo Alfarroba³

¹ Serviço de Análises-Clinicas do Hospital Militar de Belém

² Serviço de Pneumologia do Hospital Militar de Belém

³ Director do projecto de Investigação ao abrigo do qual decorreu este trabalho

Resumo

Estudos anteriores demonstraram que linfócitos T CD4+ activados elaboram um padrão de citocinas rico em IL-4, IL-5 e pobre em IFN- γ em doenças alérgicas. Mais recentemente tem-se demonstrado que um padrão similar é produzido pelos linfócitos T CD8+ (padrão Tc2) desconhecendo-se a importância do contributo destas subpopulações na patogénese da doença alérgica.

Objectivo: Avaliar o contributo relativo de subpopulações de linfócitos T CD4+ e CD8+ para o perfil de citocinas T1 e T2 em linfócitos de sangue periférico de indivíduos atópicos.

Métodos: Utilizando-se a citometria de fluxo e a tripla imunofluorescência, avaliou-se a expressão intracelular de IFN- γ , IL-4, IL-5 e IL-10 em linfócitos T.

Resultados: A citocina que foi expressa em maior quantidade foi o IFN- γ , não diferindo significativamente na subpopulação T CD4+ e T CD8+. As citocinas IL-4 e IL-5, foram expressas em menor quantidade nos linfócitos T CD4+ diferindo significativamente dos linfócitos T CD8+ (5,4+/-1,9% *versus* 10,1+/-6,5%; p=0,047 para a IL-4 e 0,91+/-0,45% *versus* 6,8+/-5,6%; p=0,028 para a IL-5).

Conclusão: A frequência de linfócitos T CD8+ produtores de IL-4 e IL-5 foi superior na patologia alérgica em relação à dos linfócitos T CD4, sendo no entanto predominante a produção de IFN- γ em ambas as populações linfocitárias. Estudos futuros serão necessários para caracterizar as propriedades citotóxicas e reguladoras destes linfócitos de sangue periférico na patologia alérgica.

Palavras-chave: Linfócitos T, Citocinas, IgE, IgG, IFN- γ , IL-4 e IL-5

Summary

Background: Previous studies have shown increased production of IL-4 and IL-5 and decreased production of IFN- γ by CD4+ activated lymphocytes (Th2) in allergic diseases. It has recently been demonstrated that a similar cytokine pattern can be produced by CD8+ T cells (Tc2) although their role in human allergic disease has not been defined.

Objective: To assess the relative contribution of CD4+ and CD8+ T lymphocyte subsets towards type 1 and type 2 cytokine production in peripheral blood T cells from atopic subjects.

Methods: Expression of intracellular IFN- γ , IL-4 and IL-5 was assessed in peripheral blood T lymphocytes by flow cytometry and triple staining fluorescence.

Results: IFN- γ was the cytokine most expressed, without significant differences between CD4+ and CD8+ T cells. IL-4 and IL-5 were less expressed in CD4+ T lymphocytes than in CD8+ T lymphocytes (5,4+/-1,9% vs 10,1+/-6,5%; $p=0,044$ for IL-4 and 0,91+/-0,45% vs 6,8+/-5,6%; $p=0,010$ for IL-5).

Conclusion: The frequency of IL-4 and IL-5-producing peripheral blood CD8+ T cells was greater than that of CD4+ T cells, in allergic subjects. There was an increased frequency of IFN- γ production in both subsets of T cells. Further studies are required to characterize the cytotoxic and regulatory properties of peripheral blood CD8+ T lymphocytes in allergic diseases.

Key-words: T lymphocytes, cytokines, IgE, IgG, IFN- γ , IL-4 and IL-5

INTRODUÇÃO

A prevalência das doenças alérgicas (rinite, asma, dermatite) tem vindo a aumentar nas últimas décadas⁽¹⁾. A principal característica que distingue os doentes atópicos é a sua capacidade para desenvolver e manter respostas IgE aumentadas frente a antígenos ambientais comuns (alergénios).

Uma resposta alérgica aguda, resulta da libertação dos mediadores pré-formados e sintetizados de novo, quando o alergénio é reconhecido pela IgE que se encontra ligada aos receptores de alta afinidade dos mastócitos e dos basófilos⁽²⁾. A esta resposta segue-se outra, um pouco mais tardia, em que há recrutamento de eosinófilos, basófilos e linfócitos T a partir da circulação. A infiltração e activação dos eosinófilos é uma característica importante na alergia, podendo os mediadores inflamatórios por eles libertados (por exemplo, a proteína cationica - ECP), ser correlacionados com a severidade da doença⁽³⁾. Os linfócitos T após reconhecimento dos alergénios processados pelas células apresentadoras de antígeno (APC), são os

responsáveis pela síntese de mediadores proteicos (citocinas, quimiocinas) que orquestram a diferenciação, recrutamento, acumulação e activação de células efectoras^(4,5).

Os linfócitos T podem ser caracterizados pela sua expressão fenotípica em células CD4+ ("Helper"-Th) e CD8+ (citotóxicas-Tc) ou pelo perfil de citocinas que predominantemente sintetizam. As citocinas IFN- γ , TNF e IL-2 caracterizam o perfil T1 (quer Th1 quer Tc1) enquanto que a produção de IL-4, IL-5 e IL-10 o perfil T2 (Th2 ou Tc2). Na doença alérgica a produção elevada de anticorpos IgE tem sido correlacionada positivamente com a presença de linfócitos Th2 no sangue periférico^(5,6,7). De facto, a IL-4 promove a diferenciação das células T CD4 naive em células produtoras de citocinas com perfil Th2 e em conjugação com a activação do CD40 promove a proliferação dos linfócitos B induzindo mudança de isotipo para IgE⁽³⁾. Tem um efeito inibitório da produção de citocinas proinflamatórias antagonizando o efeito do IFN- γ . Esta citocina é sintetizada pelos linfócitos com perfil Th2, células mastocitárias e linfócitos NK⁽⁸⁾.

A IL-5 é a citocina que favorece a diferenciação do eosinófilo influenciando a quimiotaxia, activação e sobrevivência local destas células^(4,5). É sintetizada pelos linfócitos T CD4 activados com perfil Th2, pelas células mastocitárias e de forma autócrina pelos próprios eosinófilos⁽⁸⁾.

O IFN- γ é uma citocina que actua nas células T CD4 promovendo a diferenciação dos linfócitos com perfil Th1 e inibindo a diferenciação dos linfócitos Th2. Promove a diferenciação de células B induzindo mudança de isotipo para IgG (efeito contra-regulador na síntese de IgE). Tem efeitos na maturação dos linfócitos T CD8, em células efectoras com actividades citotóxicas. O IFN- γ é produzido por todos os linfócitos e células NK após activação ou em resposta á IL-2 e IL-12⁽⁹⁾.

A influência da produção de citocinas de perfil T1 e T2 pelos linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+ na patogénese da doença alérgica não é ainda devidamente conhecida⁽¹⁰⁾.

O presente trabalho teve como objectivo o estudo da produção de citocinas pelos linfócitos T CD4+ e T CD8+ no sangue periférico, de indivíduos atópicos, de forma a caracterizar o perfil T1 e T2 em ambas as subpopulações. Pretendeu-se correlacionar estes perfis com marcadores característicos da doença alérgica: IgE total e específica, a IgG específica, o número total de eosinófilos e a ECP.

MATERIAIS E MÉTODOS

População

Estudámos 10 indivíduos atópicos, sensíveis a ácaros do pó da casa (*Dermatophagoides pteronyssinus*), sendo 4 também sensíveis (em menor grau) a pólenes de gramíneas. Apresentavam uma média de idades de 22,3 \pm 8,5 anos, sendo 6 do sexo masculino e 4 feminino. Oito tinham asma brônquica e dois rinite alérgica.

Cinco destes doentes estavam a fazer corticoste-

roides de inalação oral, oito corticosteroides de inalação nasal, dois broncodilatadores e três anti-histamínicos.

Dos quatro doentes sensíveis a ácaros e pólenes simultaneamente, dois foram estudados na época polínica.

De forma a avaliar alguns dos parâmetros séricos como níveis de IgE e IgG específicas de *Dermatophagoides pteronyssinus*, níveis de ECP e nº de eosinófilos por mm³, foi também estudada uma amostra de 8 indivíduos não atópicos, emparelhada para sexo e idade com o grupo de doentes atópicos. Todos tinham testes cutâneos negativos e não apresentavam clínica de doença alérgica.

Colheita de sangue periférico

Foram colhidos 20 ml de sangue total por punção venosa, que foram distribuídos em fracções de 5 ml para tubos com dois tipos diferentes de anticoagulante: EDTA e Heparina, para tubo SST[®] Vacutainer[®] e para tubo seco.

Determinações séricas

IgE total – Determinou-se no soro por uma técnica imunoenzimática com leitura final de fluorescência (Enzyme linked Fluorescent Assay-ELFA), no equipamento VIDAS-BioMerieux. O limite de detecção deste método é de 0.50 kU/l e 95% da população não atópica adulta tem valores inferiores a 120 kU/l.

IgE e IgG específicas – Determinaram-se no soro por uma técnica imunoenzimática com leitura final de fluorescência (Fluoroenzymeimmunoassay - FEIA) no equipamento Cap-System da Pharmacia Diagnostics. Na determinação da IgE específica são utilizados calibradores (0,35 – 100 kU_A/l) para fazer uma curva de calibração à qual são referenciados os soros dos doentes a estudar. Os calibradores são

calibrados em relação ao “2nd International Reference Preparation 75/502 of Human Serum Immunoglobulin E” da Organização Mundial de Saúde. A standardização permite o cálculo dos níveis de IgE em unidades específicas dos alérgenos - U_A - em que U é a unidade internacional de IgE. São considerados positivos os resultados em que a concentração de IgE específica é superior a 0.35 kU_A/l . O limite de detecção é de 0.35 kU_A/l . Para a determinação da IgG são utilizados calibradores que se encontram de acordo com o “International Reference Preparation” – IRP 67/86 para as Imunoglobulinas séricas humanas A, G e M da Organização Mundial de Saúde para a determinação de IgG total. Estes calibradores são utilizados para a determinação de anticorpos IgG específicos, sendo os valores expressos em mg_A/l , onde A representa anticorpos antigénio específicos. Estes calibradores usados em duplicado e em várias concentrações (de 0,02 até 2,0) permitem construir uma curva de calibração na qual são referenciados os soros a estudar. O limite de detecção da IgG específica é de 0.02 mg_A/l .

Proteína catiónica eosinofílica (ECP) – Executou-se a colheita em tubos SST[®] Vacutainer[®] (Becton Dickinson) de acordo com normas estabelecidas: punção venosa até enchimento do tubo, coagulação do sangue de 60-120 minutos à temperatura ambiente e centrifugação 1000-1300 g durante 10 minutos. A determinação foi feita em soro por uma técnica imunoenzimática com leitura final de fluorescência (FEIA) no equipamento Cap-System da Pharmacia Diagnostics. O valor a partir do qual se considera o resultado positivo é de 15 mg/L.

Eosinófilos – Contagem no contador hematológico Coulter-GenS da Izasa, a partir de sangue total colhido em EDTA. É considerado valor de referência para adultos normais o valor compreendido entre 0-400/ mm^3 .

Estudo de Citocinas em linfócitos T

Activação

Partiu-se de sangue total colhido em heparina ao qual se juntou em partes iguais RPMI 1640 (GibcoBRL) enriquecido com L-glutamina 200MM (GibcoBRL). A activação fez-se em presença de brefeldina A (Sigma) na concentração de 10mg/ml com Phorbol-12-Myristate-13-Acetate- PMA, (Sigma) na concentração final de 25 ng/ml e ionomicina (Sigma) na concentração de 1mg/ml. Utilizou-se como controlo negativo da activação uma amostra de sangue contendo tudo o descrito anteriormente excepto PMA e ionomicina. A activação fez-se durante 4 horas a 37°C em atmosfera húmida e com 5% CO_2 .

Marcação de superfície

Os linfócitos foram estudados usando como marcadores de superfície o anticorpo monoclonal CD3 marcado com o fluorocromo PC5-phycoerythrin-cyanin 5.1 (excitação a 486-580nm e emissão a 660-680nm), e o anticorpo monoclonal CD8 marcado com FITC – fluorescein isothiocyanate, (excitação a 486-580nm e emissão a 504-541nm), ambos da Immunotech (Izasa). As células foram incubadas durante 15 minutos à temperatura ambiente com 10 μ l de anticorpo monoclonal CD3 e 20 μ l de CD8.

Fixação e permeabilização

Fez-se a fixação e permeabilização dos linfócitos T de acordo com as instruções do produtor (Fix e Perm, Caltag Laboratories). Após a marcação de superfície, lavaram-se as células com um tampão fosfato salino (PBS), durante 5 minutos a 2000 rpm. Após fixação durante 15 minutos à temperatura

ambiente, fez-se a permeabilização e a marcação das citocinas intracelulares.

Marcação de citocinas intracelulares

Utilizaram-se anticorpos monoclonais anti-citocinas humanas IFN- γ , IL-4, IL-5 e IL-10 (PharMingen) todas conjugadas com o fluorocromo PE - phycoerythrin (excitação a 486-575nm e emissão a 568-590). Para avaliação da activação *in vitro* estudou-se também a expressão intracitoplasmática de CD69 PE (Becton Dickinson). A quantidade de anticorpos usados foi de 3 μ l para as citocinas e 20 μ l para CD69. O tempo de incubação foi de 15 minutos à temperatura ambiente, seguindo-se lavagens para posterior análise.

Análise por Citometria de Fluxo

Para a análise por citometria de fluxo utilizou-se um Citometro de Fluxo Epics[®]Elite equipado com um laser de 15 mW e com filtros apropriados para leitura de FITC (525), PE (575) e PC-5 (675). O número de células adquirido foi de 20000 e a informação computadorizada foi guardada em “list-mode” para mais tarde ser avaliada de acordo com o “software” de análise do próprio equipamento. Os resultados foram expressos em % de células (linfócitos T totais ou CD4 ou CD8) que coraram de forma positiva para uma dada citocina. O “gate” de linfócitos foi feito a partir do CD3 PC-5. Os linfócitos T CD4⁺ foram identificados como CD3⁺CD8⁻ devido à diminuição da expressão do CD4 nos linfócitos T na presença de esteres do formol⁽¹¹⁾. Foram utilizados como controlos negativos os linfócitos não estimulados.

Estudo estatístico

Após análise estatística descritiva foi utilizado para comparação de resultados um teste não paramétrico *Wilcoxon-Signed Ranks Test*. Para o estudo das correlações usou-se o teste de correlação de *Spearman*. O valor de p foi considerado significativo quando inferior a 0,05. Para simplificação da apresentação, exprimem-se os resultados em média aritmética e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população atópica apresentou níveis elevados de IgE total (média de 541,0 \pm 469,8kU/l) e positividade da IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*, com valor médio de 56,5 \pm 34,5 kU_A/l. Os níveis de ECP encontraram-se acima dos valores de referência (18,5 \pm 12,7 μ g/l), bem como os eosinófilos (422,8 \pm 251,6 mm³). Os valores médios de IgG específica (29,6 \pm 14,2 mg_A/l) estavam também elevados comparativamente com uma população de controlo, não atópica, estudada simultaneamente (Tabela I).

Os linfócitos T (CD3⁺) de sangue periférico demonstraram uma elevada percentagem de expressão de IFN- γ a nível intracelular (média de 29,4 \pm 10,1%). Não se encontraram diferenças significativas na proporção de linfócitos T CD4 exprimindo IFN- γ (15,4 \pm 6,3%), em relação a subpopulação T CD8⁺ (14,0 \pm 5,6 % p=0,45) (Fig.1-A).

A frequência de linfócitos T CD3⁺ que expressaram IL-4 intracelular foi de 15,5 \pm 7,1%, sendo na subpopulação T CD4⁺ significativamente inferior à subpopulação T CD8⁺ (5,4 \pm 1,9% *versus* 10,1 \pm 6,5%; p=0,047) (Fig.1-B).

A percentagem de linfócitos T CD3⁺ que expressaram IL-5 intracelular foi de 7,6 \pm 5,7%. Esta expressão foi significativamente superior nos linfócitos T CD8⁺ do que nos linfócitos T

Tabela I – Resultados das determinações séricas da população atópica estudada. Estão expressos os valores de IgE e IgG específicas para *Dermatophagoides pteronyssinus*

	IgE total kU/l	IgE específica kUA/l	IgG específica mgA/l	ECP ug/l	Eosinófilos mm ³
Valores referência	(N<120)	(N<0,35)	(N<10,8*)	(N<15)	(N<400)
Média (Desvio padrão)	541 (495)	57 (36)	30 (15)	19 (13)	423 (267)
Amplitude de variação	100-1282	4-101	8-54	8-53	185-931

* valores médios calculados numa população de 8 indivíduos não atópicos

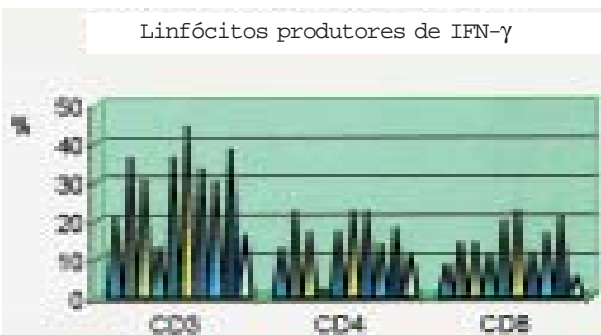
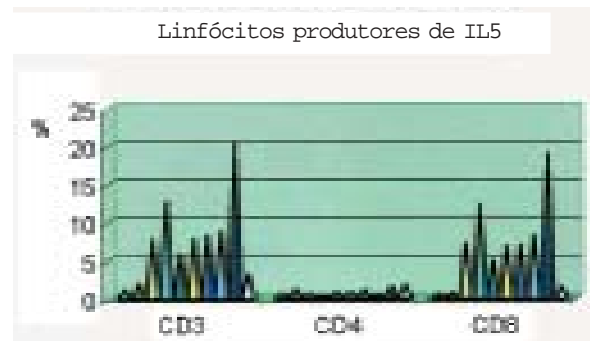
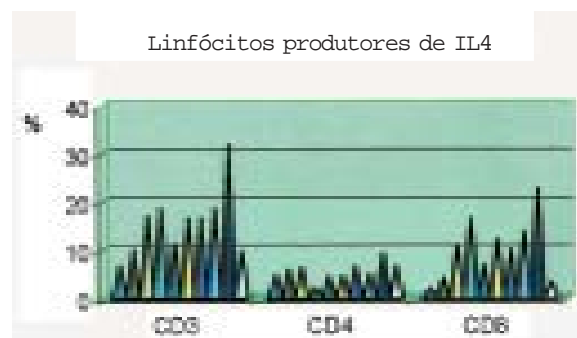
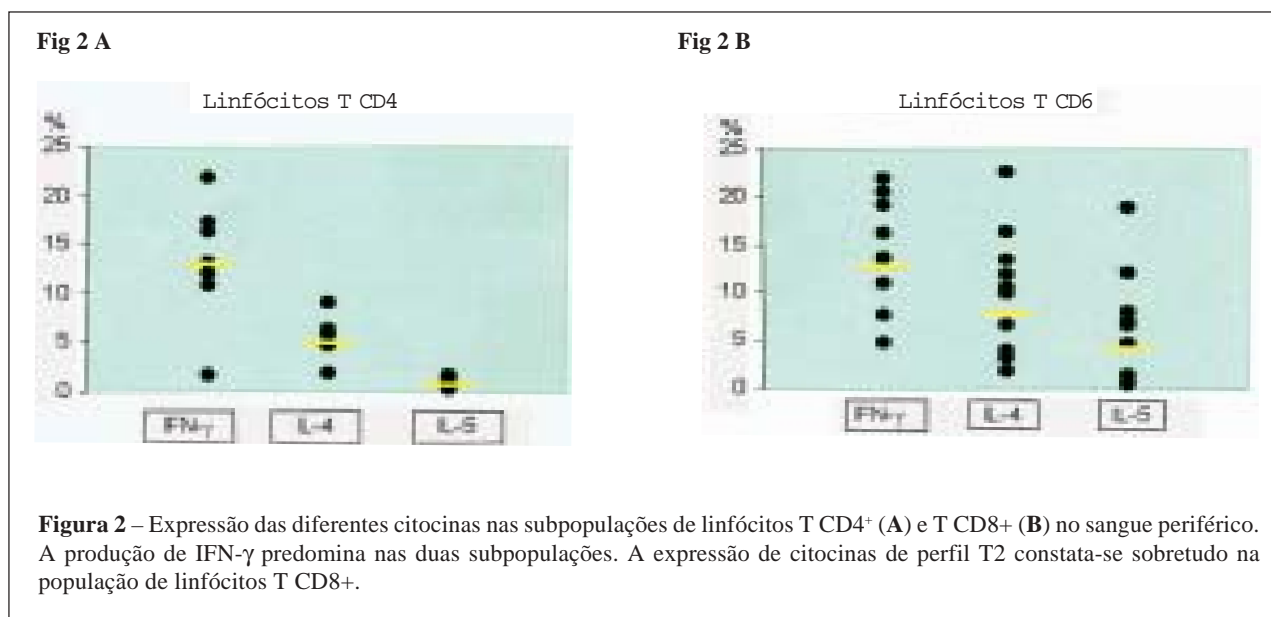
Fig 1 A**Fig 1 C****Fig 1 B**

Figura 1 – Percentagem de linfócitos T CD3 produtores de diferentes citocinas e contributo das subpopulações T CD4 e CD8 nessa produção, em sangue periférico. Cada pico corresponde a um doente e traduz a frequência de linfócitos capazes de produzir IFN- γ - (A), IL-4 - (B) e IL-5 - (C). Enquanto que a produção do IFN- γ não difere nas duas subpopulações T ($p=0,45$), a expressão de citocinas T2 foi significativamente maior nas CD8+ (IL4, $p= 0,047$ e IL5, $p= 0,028$).



CD4⁺(6,8+/-5,6% versus 0,91+/-0,45%; p=0,028) (Fig.1-C)

Constatou-se uma correlação positiva significativa entre a expressão de IL-4 pelos linfócitos T CD3 e CD8 (r=0,976, p=0,001) acontecendo o mesmo para a IL-5 (r=0,790, p=0,001).

No que respeita ao perfil de expressão de citocinas nas diferentes populações linfocitárias, observou-se que nos linfócitos T CD4⁺ foi o IFN- γ que foi expresso em maior quantidade, seguindo-se por ordem decrescente respectivamente a IL-4 e IL-5 (Fig.2-A). Nos linfócitos T CD8⁺, a citocina com maior expressão foi também o IFN- γ seguindo-se igualmente e por ordem decrescente respectivamente a IL-4 e IL-5. Nesta população de linfócitos T CD8⁺ constatou-se uma grande heterogeneidade na expressão do IFN- γ assim como da IL-4 e IL-5 (Fig.2-B).

Encontrou-se uma correlação positiva significativa entre a expressão de IL-4 e IL-5 em linfócitos T CD3⁺ e os níveis séricos de ECP (IL-4: r=0,689, p=0,028; IL-5: r=0,650, p=0,042). Uma correlação positiva significativa foi igualmente demonstrável

entre os níveis séricos de ECP e a percentagem de expressão de citocinas na população de células T CD8⁺ (IL-4: r=0,648, p=0,043; IL-5: r=0,733, p=0,016), mas não de células T CD4⁺ (IL-4: r=-0,297, p=0,405; IL-5: r=-0,561, p=0,092).

Não foi encontrada qualquer correlação significativa entre a expressão de citocinas em linfócitos T e o número de eosinófilos circulantes ou os níveis de IgE total e específica.

A expressão intracitoplasmática do CD69 nos linfócitos T CD3 foi de 97,3+/-4,3%. Nos linfócitos T CD4⁺ a expressão foi de 66,4+/-6,1% e significativamente maior do que nos linfócitos T CD8 de 30,8+/-5,31% (p<0,001).

DISCUSSÃO

Neste estudo constatou-se que os linfócitos T de sangue periférico de indivíduos atópicos, e após estímulo inespecífico, expressaram citocinas de perfil T1 e T2. A citocina que caracteriza o perfil T1 (IFN- γ , foi expressa tanto pelos linfócitos T

CD4+ (Th1) como pelos linfócitos T CD8+ (Tc1) não havendo diferenças significativas nesta expressão entre as duas subpopulações. Das citocinas estudadas, o IFN- γ foi a citocina que maior expressão teve, quer nos linfócitos T CD4+ quer nos linfócitos T CD8+. As citocinas que caracterizam o perfil T2 (IL-4 e IL-5) foram também expressas nos linfócitos T CD4+ e T CD8+, com aumento significativo na população de linfócitos T CD8+. A IL-4 expressou-se em maior quantidade em relação à IL-5 tanto nos linfócitos T CD4+ como nos linfócitos T CD8+. A expressão da IL-4 e IL-5 pelos linfócitos T CD3 e T CD8 correlacionou-se de forma significativa com os níveis séricos de ECP.

A determinação das citocinas em sangue periférico por citometria de fluxo tem como vantagem a possibilidade de associar o fenótipo dos linfócitos T periféricos (CD3, CD4 e CD8) à citocina por eles produzida intracelularmente. Obtemos, desta forma, a frequência de células T capazes de produzir diferentes citocinas directamente em amostras de sangue periférico, com reduzida manipulação e em condições próximas às observadas *in vivo* ⁽¹²⁾. A estimulação das células T fez-se com um activador policlonal (PMA/ionomicina), sendo estudada a acumulação da citocina na célula e não a sua secreção. Estes são aspectos a ter em consideração quando se fazem comparações de resultados obtidos com diferentes metodologias ⁽¹³⁾. A expressão intracitoplasmática do CD69 nos linfócitos T, assegurou-nos estarmos a trabalhar com uma população que respondeu ao estímulo mesmo estando em minoria como é o caso dos linfócitos T CD8+.

Encontrámos nas células T circulantes e apesar da alergia ser uma patologia T2, uma maior expressão de IFN- γ (24,9%) seguindo-se IL-4 (15,5%) e IL-5 (7,7%) (Fig.2). *Majori e al* ⁽¹²⁾, usando o mesmo método numa população de 12 asmáticos sensíveis a ácaros, refere também uma maior produção de IFN- γ em relação à de IL-4 nas CD4+, com um ratio de 4,1

(no nosso estudo foi de 2,6). Nos nossos resultados a produção do IFN- γ parece resultar de uma distribuição equilibrada entre Th1 e Tc1, pois estes valores não diferem estatisticamente entre as subpopulações CD4 e CD8 (Fig.1-A). O predomínio da expressão de uma citocina T1, como o IFN- γ em linfócitos T de doentes atópicos com asma brônquica, poderá traduzir um mecanismo de regulação da própria doença alérgica («contrabalançando» a produção aumentada de IgE, eosinófilos e citocinas T2). Apesar das limitações do nosso estudo, que avalia linfócitos T circulantes estimulados policlonalmente, e não populações de linfócitos T estimulados de forma específica por alérgenos *in vitro*, diversos estudos têm evidenciado a alergia como uma doença sistémica ⁽¹⁴⁾ bem como um paralelismo na expressão de citocinas de linfócitos T CD3+ periféricos e do lavado broncoalveolar na asma ⁽¹⁵⁾. No estudo de *Magnan* ⁽¹⁶⁾, que avalia um número mais alargado de doentes, o número de linfócitos T CD8 circulantes produtores de IFN- γ , correlacionou-se com a hiperreactividade brônquica e com a severidade da asma. Estudos recentes têm revelado, na asma brônquica, um aumento de linfócitos T circulantes produtores de IFN- γ , quer na subpopulação CD4+ ⁽¹⁰⁾ quer na CD8+ ^(10,16).

Em relação ao IFN- γ verificou-se que é uma citocina expressa nos linfócitos T CD4 e CD8 apresentando na literatura valores muito diferentes. Será particularmente interessante acompanhar nestes doentes e ao longo do tempo as variações de expressão desta citocina, que à partida poderá espelhar a actividade reguladora da atopia.

No nosso estudo, a expressão de IL-4 e IL-5 foi bastante mais significativa nas células T CD8+ do que nas células T CD4+ (Fig.1-B e 1-C). O papel relativo dos linfócitos T CD4 e T CD8 produtores de citocinas na asma não é ainda devidamente conhecido ⁽¹⁰⁾. De facto, as doenças atópicas estão habitualmente correlacionadas com o perfil Th2, dado o papel regulador da IL-4 e IL-5 na síntese de IgE e na activação dos eosinófilos ⁽³⁾. O aumento

evidente na frequência destas células T CD8+ faz-nos pensar se terá a ver com a expansão de uma população de células T CD8+ com um possível papel etiopatogénico na doença alérgica, ou se é apenas porque a maior parte das células CD4+ que expressam IL-4 e IL-5 estão nos órgãos-alvo, uma vez que se trata de um estudo em sangue periférico. Esta segunda hipótese é ilustrada neste estudo por um só doente, cuja colheita de sangue periférico foi feita na época polínica. Neste verifica-se um elevado predomínio de linfócitos T CD8+ produtores de IL-4 e IL-5. No entanto a favor da primeira hipótese estão os outros nove doentes, que nos levam a perspectivar o estudo no sentido de melhor caracterizar a população de linfócitos T CD8+ que se evidencia.

Foi demonstrado que a grande maioria das células T específicas de alérgeno, isoladas de lesões da pele têm um fenótipo CD8+, estando estas correlacionadas com o grau de edema epidérmico⁽¹⁷⁾. Por outro lado, existem estudos que evidenciam a alergia como uma doença sistémica⁽¹⁴⁾, o que nos leva a pensar que este aumento de linfócitos T CD8+ em sangue periférico seja o reflexo do se passa no órgão-alvo. No artigo de *Magnan*⁽¹⁶⁾ é referido que o número de células T CD8 produtoras de IFN- γ está relacionado com a severidade da asma, com a hiperreactividade brônquica e ainda com a eosinofilia no sangue periférico. Estudos feitos com linfócitos T CD8+ específicos de ácaros e separados por tetrâmeros de MHC contendo peptídeos de ácaros, mostraram que o aumento da frequência destes linfócitos poderá estar igualmente associada à severidade da patologia e aos níveis elevados de IgE total e IgE específica⁽¹⁷⁾. Se separarmos do grupo de doentes por nós estudado os que expressam uma produção de citocinas maioritariamente à custa dos linfócitos T CD8 verificamos que os níveis de IgE total e específica são mais elevados assim como os valores de ECP e eosinófilos.

No nosso estudo, verificámos uma correlação positiva entre a expressão de citocinas T2 nos linfócitos T CD8+, particularmente da IL-5, com a ECP. Estudos recentes demonstraram que a ECP poderá ser um bom marcador na exacerbação da asma brônquica⁽¹⁸⁾. A produção de ECP por eosinófilos parece estar associada com a activação eosinofílica *in vivo*⁽⁸⁾, e a IL-5 é uma das principais citocinas envolvida na activação dos eosinófilos *in vitro*⁽⁵⁾. Os nossos dados parecem assim reforçar um possível papel das células T CD8+ produtoras de IL-4 e IL-5, na amplificação da resposta alérgica⁽¹⁷⁾.

Na população atópica estudada, houve uma expressão preferencial do IFN- γ nos linfócitos T CD4+ e T CD8+, enquanto que a expressão mais significativa de IL-4 e IL-5 foi nos linfócitos T CD8+. O acompanhamento ao longo do tempo das variações destes perfis de citocinas e da frequência dos linfócitos que as expressam poderá ser interessante no estudo da atopia, juntamente com outros parâmetros que têm sido avaliados na resposta às vacinas de dessensibilização –IgG específica⁽¹¹⁾, ECP⁽¹⁸⁾ e alteração do perfil Th2 para um perfil Th1⁽¹³⁾. Curiosamente e apesar de se tratar de um estudo “estático” e inicial foi também entre estes parâmetros que encontramos correlações significativas.

Estudos futuros estão a ser perspectivados no sentido de caracterizar uma população controlo, de alargar a população estudada e de a avaliar após a imunoterapia. É de todo o interesse caracterizar as capacidades citotóxicas e reguladoras dos linfócitos T CD8+ no sangue periférico, de forma a melhor compreender qual o seu papel na etiopatogenia da doença alérgica.

BIBLIOGRAFIA

1. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhino conjunctivitis and atopic eczema: ISAAC. *Lancet*. 1998; 351:1225-1232.
2. Holloway JA, Gudín AM. Microenvironmental influences in atopic disease. *Clin Exp Allergy*. 2000; 30:1197-1200.

3. Krishna MT, Salvi SS, Holgate ST. Pathogenesis of Asthma. In: Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW eds. *Clinical Immunology*, Mosby; 2001: 49.1 - 49.11.
4. Kimber I, Dearman RJ. Allergic contact dermatitis: the cellular effectors. *Contact Dermatitis*.2002; 46:1-5.
5. Holgate ST. Today's science – tomorrow's practice: basic mechanisms of allergy and their clinical implications. *Clin Exp All Rev*.2002; 2:48-54.
6. Negano Y, Rondo M, Tamaoki J, Isono K, Nagai A. Peripheral blood Th1 and Th2 profile in patients with moderate asthma: effect of inhaled corticosteroid. *J. Asthma*.2002; 39:247-53.
7. Shirai T, Suzuki K, Inui N, Suda T, Chida K, Nakamura H. Th1 / Th2 profile in peripheral blood in atopic cough and atopic asthma. *Clin. Exp. Allergy*.2003; 33:84-9.
8. Goldsby R, Kindt T, Osborne B, eds. *Kuby Immunology*. New York: Freeman and Company; 2001: 308-311.
9. Parslow T, Stites D, Terr A, Imboden J, eds. *Medical Immunology*. Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2001: 156-61.
10. Cho SH, Stancin LA, Begishivili T, Bates PJ, Holgate ST, Johnston SL. Peripheral blood CD4+ and CD8+ T cell Type 1 and Type 2 cytokine production in atopic asthmatic and normal subjects. *Clin Exp Allergy*.2002; 32:427-33.
11. Pieker LJ, Singh MK, Zdraveski Z et al. Direct demonstration of cytokine synthesis heterogeneity among human memory effector T cells by flow cytometry. *Blood*.1995; 86:1408-1419.
12. Majori M, Caminati A, Corradi M, Briante E, Scarpa S, Pesci A. T-cell cytokine pattern at three time points during specific immunotherapy for mite – sensitive asthma. *Clin Exp Allergy*.2000; 30:341-47.
13. Larche M. Changes in interferon - g producing following specific allergen immunotherapy: biology vs methodology. *Clin Exp Allergy*.2000; 30:297-300.
14. Denburg JA. The bone marrow and airway inflammation evidence for allergy as a systemic disease. *Clin Exp All. Rev*.2003; 3:23-27.
15. Brightling C, Symon F, Birring S, et al. Th2 cytokine expression in bronchoalveolar lavage fluid T lymphocytes and bronchial submucosa is a feature of asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:899-905.
16. Magnan AO, Mely LG, Camilla CA et al. Assessment of the Th1/Th2 paradigm in whole blood in atopy and asthma. Increased IEN-gamma-producing CD8+ T cells in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care*. 2000; 161:1790-6.
17. Seneviratne SL, Jones L, King A, et al. Allergen – specific CD8+ T cells and atopic disease. *J.Clin.Invest*. 2002; 110:1283-91.
18. Sorkness C, Megill K, Busse WW. Evaluation of serum eosinophil cationic protein as a predictive marker for asthma exacerbation in patients with persistent disease. *Clin Exp Allergy*.2002; 32:1355-9.
19. Durham SR, Till SJ, . Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J.Allergy Clin.Immunol* 1998; 102:157-64.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Professor Doutor Luís Delgado e Professor Doutor Taborda Barata a revisão crítica do manuscrito.

Avaliação da resposta imunológica à prova de provocação nasal específica: estudo de quimiocinas em secreções nasais

Avaliation of the immunological response to the specific nasal challenge test: chemokine study in nasal secretions

Graça Loureiro*¹, Carlos Loureiro**¹, Fátima Garção***², Vera Alves****², Manuel Santos Rosa*****², Celso Chieira*****¹

* *Interna do Internato Complementar de Imunoalergologia*

** *Assistente Hospitalar Graduado de Imunoalergologia*

*** *Investigador Auxiliar*

**** *Assistente Convidada de Imunologia*

***** *Professor Associado com Agregação de Imunologia*

***** *Director de Serviço de Imunoalergologia*

¹ *Serviço de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra*

² *Centro de Imunologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra*

Resumo

A prova de provocação nasal específica (PPNE) constitui o método de eleição para a reprodutibilidade da reacção alérgica. A análise dos parâmetros imunológicos constitui a abordagem mais objectiva para monitorizar a resposta à prova de provocação específica, com a avaliação quantitativa de mediadores inflamatórios. Neste estudo pretendeu-se avaliar as concentrações das quimiocinas eotaxina e RANTES em lavados nasais e analisar a aplicabilidade do doseamento das quimiocinas em secreções nasais como parâmetro de resposta imunológica à prova de provocação nasal específica. Incluíram-se 17 doentes com rinite alérgica a parietaria. Todos os doentes foram submetidos a PPNE, fora do período polínico. Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais para doseamento de mediadores inflamatórios. Procedeu-se à monitorização da PPNE através de *score* de sintomas. A PPNE foi positiva em todos os doentes, documentando-se um pico do *score* de sintomas ao 1º minuto seguido de posterior decréscimo até à 6ª hora. A eotaxina não foi mensurável em nenhuma das amostras obtidas, enquanto que o RANTES apresentou um decréscimo da avaliação basal para a avaliação aos 30 minutos, mantendo-se às 6 horas. As alterações dinâmicas das quimiocinas, após a PPNE, não reflectiram a reacção alérgica documentada clinicamente. Tal poderá ser interpretado como uma discrepância do tempo de colheita de amostras e a dinâmica dos mediadores inflamatórios de resposta à PPNE.

Palavras-chave: provocação nasal específica, quimiocinas, eotaxina, RANTES

Summary

The specific nasal challenge test (SNCT) has been described as a method to reproduce the allergic reaction. The analysis of immunological parameters is the most objective method to monitoring the response to SNCT. The aim of this study was to assess the utility of measurement of eosinophil specific chemokines (eotaxin and RANTES) as a parameter of response to SNCT. We included 17 patients with allergic rhinitis to parietaria. A SNCT was performed out of the pollen season. The SNCT was monitored by symptom scores. At 0, 30th minute and the 6th hours after the SNCT, nasal lavages were performed to assess the inflammatory mediators. In this study the SNCT reproduced the clinical reactivity to the allergen. The symptom score showed a peak at the 1st minute followed by a decrease to the 6th hour. Eotaxin was not found in any nasal lavage. RANTES showed a decrease from the basal nasal lavage to the 30th minute nasal lavage and then it maintained stable to the 6th hour. The chemokines changes observed after SNCT did not reflected the clinical response to the SCNT. This finding could be related to an early sampling before dynamic inflammatory changes occurred.

Key-words: specific nasal challenge test, chemokines, eotaxin, RANTES

INTRODUÇÃO

A prova de provocação nasal específica¹⁻³ constitui o método de eleição para a reprodutibilidade da reacção alérgica, possibilitando tanto a implementação de metodologias para o diagnóstico do doente alérgico como de metodologias para a investigação da fisiopatologia da doença alérgica. A monitorização da reacção alérgica subsequente² é clinicamente avaliável, quer através da utilização de *scores* de sintomas, quer através da avaliação funcional da obstrução nasal, por rinomanometria e/ou *peak flow* nasal. No entanto, devido à grande diversidade inter e intra-individual, o *score* de sintomas é um método de avaliação de resposta à prova de provocação nasal insatisfatório, pois não está definida a sua reprodutibilidade, nem as eventuais correlações entre as alterações imunológicas e a sintomatologia. Também, quanto à avaliação funcional da obstrução nasal, esta metodologia traduz apenas a quantificação da resposta tardia⁴.

Assim, a análise dos parâmetros imunológicos¹⁻³ constitui a abordagem mais adequada para monitorizar a resposta à prova de provocação específica, com a avaliação quantitativa de mediadores e células inflamatórias.

A reacção alérgica⁵ engloba uma fase imediata e uma fase tardia, caracterizadas por eventos imunopatológicos bem definidos, compreendendo um complexo intercâmbio entre células e mediadores inflamatórios. Várias citocinas multifuncionais regulam a duração e a intensidade da resposta imune, destacando-se as quimiocinas que são responsáveis pela quimiotaxia de células que vão constituir o infiltrado inflamatório alérgico.

As quimiocinas⁶⁻⁸ constituem uma superfamília de peptídeos com 8-14 KDa e são classificadas em 4 famílias (I) de acordo com a sequência aminoacídica em torno das cisteínas da região amino-terminal, nomeadamente família C-X-C (também designada α), família C-C (ou β), família C (ou γ) e família C-X₃-C. São produzidas por várias células (mastócitos, basófilos, linfócitos T e B, células epiteliais, células endoteliais) e exercem funções na regulação da motilidade dos leucócitos, designadamente quimiotaxia de células circulantes, desempenhando deste modo um papel fundamental no infiltrado eosinofílico que caracteriza a inflamação alérgica. As quimiocinas distinguem-se dos clássicos agentes de quimiotaxia porque têm especificidade para células. As quimiocinas da família C-C⁷⁻¹⁰ têm sido implicadas na reacção alérgica, mas não está totalmente esclarecida a dimensão da sua influência

nos eventos imunopatológicos da inflamação alérgica, pois a sua função biológica está incompletamente caracterizada. Tem sido demonstrado que a eotaxina exerce uma potente e selectiva acção de quimiotaxia sobre os eosinófilos, nomeadamente durante a inflamação alérgica¹¹. A quimiocina denominada RANTES (Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and presumably Secreted) também é reconhecida pela sua acção de quimiotaxia dos monócitos, células T e eosinófilos^{10,12-15}.

Ambos, eotaxina e RANTES, têm actividade quimiotática para eosinófilos. Actuam através do receptor CCR-3, mas a 1ª tem maior afinidade pelo que será mediador da inflamação eosinofílica mais específico^{9,16}. À medida que se vai esclarecendo o envolvimento das citocinas na reacção alérgica, admite-se a importância das quimiocinas como mediador final da cascata inflamatória, com particular interesse na caracterização da resposta imediata e tardia da reacção alérgica, bem como na avaliação da resposta ao tratamento específico da doença alérgica.

Neste estudo pretendeu-se avaliar as concentrações de quimiocinas específicas de eosinófilos - Eotaxina e RANTES - em lavados nasais e analisar a aplicabilidade do doseamento das quimiocinas em secreções nasais como parâmetro de resposta imunológica à prova de provocação nasal específica.

METODOLOGIA

1. Doentes

Após consentimento informado, foram englobados 17 doentes com o diagnóstico de Rinite alérgica a parietaria, documentado por teste cutâneo por método de picada (considerado positivo para pápula ≥ 3 mm) e IgE específica (classe ≥ 2), de ambos os sexos, com idade compreendida entre os 15 e os 52 anos.

Foram factores de não inclusão neste estudo a existência de agudização de rinite alérgica e/ou asma brônquica, outra patologia nasal, nomeadamente infecciosa, gravidez, ou terapêutica com anti-histamínicos/corticóides, tópicos ou sistémicos ou bloqueadores β , nas 3 semanas prévias ao estudo.

2. Métodos

O estudo foi realizado fora do período polínico. Todos os doentes foram submetidos a prova de provocação nasal específica (PPNE). Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais. A resposta à PPNE foi monitorizada através de *score* de sintomas nasais (prurido nasal, esternutos, rinorreia aquosa, obstrução nasal) e extranasais (prurido ocular, lacrimejo, prurido orofaríngeo, dispneia, sibilância, outros). O *score* de sintomas foi obtido por auto-registo de acordo com a sua gravidade (0 – nenhum; 1 – ligeiro; 2 – moderado; 3 – grave), antes e nos 1º, 5º, 10º, 15º, 30º, 45º e 60º minutos e depois a cada hora até às 6 horas após a PPNE. A figura 1 esquematiza a abordagem utilizada.

2.1 Prova de provocação nasal específica

A PPNE com extractos comerciais de parietaria para prova de provocação nasal (Leti), realizou-se de acordo com os consensos da Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica¹.

2.2 Técnica dos lavados nasais

Antes, 30 minutos e 6 horas após a PPNE foram efectuados lavados nasais. Foi utilizada uma modificação do método desenvolvido por Naclerio¹⁷. Com o doente sentado e flexão do pescoço a 60º¹⁸, foram introduzidos 10 ml de solução salina

Valores basais			LN	PD	Valores controlo			PA	Valores de resposta					LN	Valores de resposta					
0'	5'	10'			0'	5'	10'		1'	5'	10'	20'	30'		45'	60'	2h	3h	4h	5h

Legenda: LN = Lavado nasal; PD = Provocação com diluente; PA = Provocação com alérgénio

(NaCl a 0,9%) pré aquecida a 30° C. Recolheu-se o líquido de lavado nasal em recipiente de plástico. De seguida, esta amostra foi centrifugada a 400g durante 10 minutos, sendo o sobrenadante obtido armazenado a -80° C, para posterior doseamento de mediadores inflamatórios.

2.3 Doseamento de quimiocinas

No sobrenadante do lavado nasal foram quantificadas as quimiocinas eotaxina e RANTES, determinadas por ELISA segundo os procedimentos dos Kits Quantikine®, human Eotaxin Immunoassay e human RANTES Immunoassay, respectivamente (R&D Systems, USA).

RESULTADOS

Dados demográficos

Os dados demográficos e respeitantes às características da doença são apresentados no Quadro I.

Score de sintomas

A PPNE com parietaria foi positiva em todos os doentes, como documentado pelo *score* de

Quadro I – Dados demográficos e características da doença

M:F		11:6
Idade	(média ± ds)	36.3 ± 11.2 anos
Tempo de evolução da doença	(média ± ds)	8.5 ± 4.1 anos
IgE total	(média ± ds)	241.3 ± 154.4 UI/L
IgE específica a parietaria	(média ± ds)	52 ± 31.8 KU/L
TC - Ø pápula	(média ± ds)	7,8 ± 1,9 mm

sintomas. No gráfico 1 apresentam-se o *score* de sintomas total, nasal e extranasal, verificando-se uma resposta imediata, com um elevado *score* total de sintomas no 1º minuto e decréscimo da sintomatologia aos 30 minutos progressivamente até às 6 horas. A sintomatologia nasal acompanhou este padrão, enquanto que a sintomatologia extranasal evidenciou um padrão diferente, com um *score* mais baixo, semelhante nos 1º e 30º minutos com declínio posterior até às 6 horas. Analisando o *score* de cada sintoma nasal (gráfico 2), à excepção da obstrução nasal, todos acompanharam o padrão de resposta da sintomatologia total, com o pico da sintomatologia ao 1º minuto.

Os esternutos foram o sintoma predominante no 1º minuto, enquanto que a obstrução nasal foi o sintoma predominante no 30º minuto e à 6ª hora.

Gráfico 1 – Score de sintomas

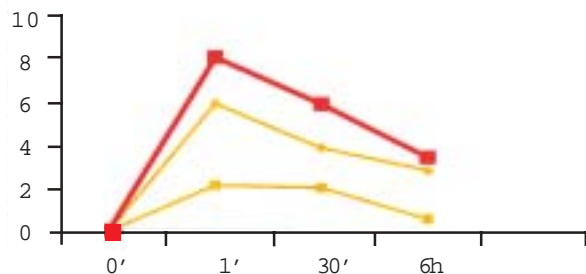


Gráfico 1: Score de sintomas total, nasal e extra-nasal. (■ score de sintomas total; ● score de sintomas nasal; ■ score de sintomas extra-nasal).

Gráfico 2 – Sintomatologia nasal

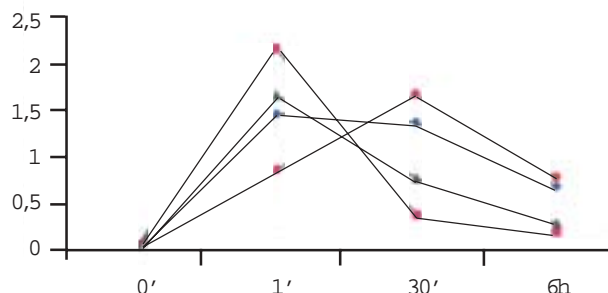


Gráfico 2: Score da sintomatologia nasal (● obstrução nasal; ■ esternutos; ▲ prurido nasal; ◆ rinorreia).

Doseamento de quimiocinas

Os resultados do doseamento da quimiocina RANTES são apresentados no gráfico 3. Em nenhum dos lavados nasais foram encontrados níveis mensuráveis de eotaxina.

DISCUSSÃO

Ainda que a PPNE tenha sido descrita como o método ideal para reprodutibilidade da reacção alérgica, tanto clínica como investigacional¹⁻³, os parâmetros de monitorização da resposta à PPNE não estão padronizados. A avaliação clínica com a utilização de *score* de sintomas, devido à grande diversidade inter e intra-individual, é uma metodologia insatisfatória, pois não está definida a sua reprodutibilidade, nem as eventuais correlações entre as alterações imunológicas e a sintomatologia. Apesar destas limitações, o *score* de sintomas constitui o parâmetro de avaliação de resposta à PPNE mais utilizado.

No presente estudo, a PPNE reproduziu a reacção alérgica, tendo sido documentado pelo *score* de sintomas, quer analisando o *score* de sintomas totais, quer avaliando separadamente o *score* de sintomas nasais e extra-nasais (gráfico 1).

A sintomatologia nasal acompanhou este padrão do *score* total de sintomas, enquanto que o *score* de sintomas extra-nasais manteve-se constante no 1º e 30º minutos e à 6ª hora. A sintomatologia nasal predominante no 1º e 30º minutos traduzem a fase imediata da reacção alérgica, clinicamente reconhecida.

No âmbito da prática clínica, a monitorização da resposta imediata à PPNE é bem fundamentada no *score* de sintomas, como documentado neste grupo de doentes. A monitorização da fase tardia é mais difícil de caracterizar e menos prática, pois não está esclarecida a correlação da magnitude do infiltrado eosinofílico com a resposta clínica, quer sintomatológica quer funcional. A análise do *score* de sintomas revelou neste estudo, o predomínio da obstrução nasal, como esperado, no entanto baseia-se numa avaliação exclusivamente subjectiva. A objectivação deste parâmetro através da avaliação funcional respiratória nasal é dificultada pela ausência de padronização dos valores de resposta.

Assim, a análise dos parâmetros imunológicos¹⁻³ constituirá a abordagem mais objectiva para monitorizar a resposta à prova de provocação específica, com a avaliação quantitativa de mediadores e células inflamatórias, implicadas na cascata imunopatológica da reacção alérgica. No entanto, diversos factores dificultam a sua implementação

na prática clínica. O tempo de avaliação (6, 12 ou 24 horas) não está definido, tal como não está esclarecido se as sucessivas colheitas de amostras, independentemente da metodologia utilizada (lavado, escovado ou biópsia) condicionam uma descamação excessiva com conseqüente não correlação dos achados com a magnitude dos eventos imunopatológicos subjacentes.

As quimiocinas da família C-C⁷⁻¹⁰ têm sido implicadas na reacção alérgica. Sim *et al*¹⁹ demonstraram pela 1ª vez a recolha de várias citocinas proinflamatórias nas secreções nasais. Desde então, o doseamento destes mediadores inflamatórios tem sido alvo de interesse investigacional, no intuito de se esclarecer o envolvimento de cada um na globalidade dos eventos imunopatológicos da reacção alérgica. Realmente, o doseamento destas quimiocinas na fase imediata envolvidas no recrutamento eosinofílico mais característico da fase tardia, seria de importância crucial no esclarecimento de eventual correlação entre esses dois parâmetros. Desta forma, seriam ultrapassadas dificuldades relacionadas com a determinação do período de monitorização e valorização da eventual lesão excessiva da mucosa nasal, evitando a necessidade de doseamentos seriados no tempo.

A **Eotaxina** é uma quimiocina da família CC, com 8,3KDa, produzida por vários tipos celulares, designadamente células endoteliais, fibroblastos, macrófagos, células epiteliais brônquicas, células do músculo liso e eosinófilos. Tem sido demonstrado a sua potente e selectiva acção de quimiotaxia sobre os eosinófilos, nomeadamente durante a inflamação alérgica^{8,16,19,20}. No presente estudo, não foram detectados níveis mensuráveis de eotaxina, em nenhuma das amostras nasais obtidas.

Terada *et al*²⁰ demonstraram que o doseamento de Eotaxina em lavados nasais após PPNE apresenta uma resposta bifásica, com um pico na 1ª hora (23±5 pg/ml) e níveis crescentes após a 6ª hora (11±1 pg/ml) até a 10ª hora (17±2 pg/ml) de monitorização

do estudo. Os níveis de eotaxina correlacionaram-se com a contagem de eosinófilos e EPX (correlação estatística). Hanazawa *et al*¹⁶ demonstraram um aumento, estatisticamente significativo, de eosinófilos e do *score* de sintomas às 8h após provocação nasal com eotaxina, retornando aos valores basais às 24 horas. Também Górski¹⁹ demonstrou que a provocação nasal com eotaxina provocou um aumento de eosinófilos, no entanto já observada às 4 horas e mantendo-se às 24 horas, correlacionado com o *score* de sintomas. Em ambos os estudos, a provocação com eotaxina não condicionou aumento dos níveis de ECP.

A quimiocina denominada **RANTES** também pertence à família CC. É produzida pelas células T, células epiteliais da vias aéreas, fibroblastos, células endoteliais e eosinófilos, sendo reconhecida pela sua acção de quimiotaxia dos monócitos, células T e eosinófilos^{10,12-15}.

O doseamento de RANTES nos lavados nasais (gráfico 3) revelou valores basais de 4,2±2,1 pg/ml, 3,96±0,98 pg/ml e 3,90±0,99 pg/ml nas colheitas obtidas 30 minutos e 6 horas, respectivamente, após a PPNE. Outros autores descrevem a cinética do RANTES após PPNE, ainda que com resultados discordantes. Sim *et al*¹³ descreveram a cinética do RANTES, que apresenta um pico 3h

Gráfico 3 – RANTES no lavado

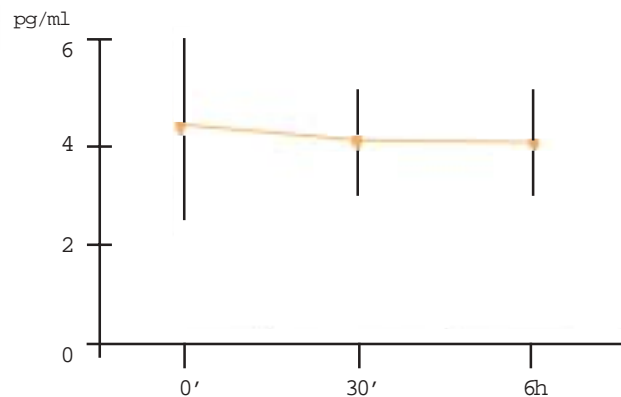


Gráfico 3: Doseamento de RANTES nos lavados nasais

após PPNE. Os níveis ($50,6 \pm 18,8$ pg/ml) correlacionaram-se com o *score* da fase tardia. Outros autores²¹ descrevem que o pico de RANTES varia entre as 1 e 5 h após PPNE. O estudo de KleinJan¹⁵ demonstrou que a pesquisa de RANTES em biópsia nasais 1 hora, 24 horas e 1 semana após PPNE se correlacionou com o *score* de sintomas. Kuna *et al*¹² demonstraram um aumento, estatisticamente significativo, de eosinófilos em lavados nasais, com um pico às 2-4h após provocação nasal com RANTES. Tal como no presente estudo, também outros autores^{7,20}, encontraram baixos níveis de RANTES. Terada *et al*²⁰ demonstraram que o doseamento de RANTES e eosinófilos não se correlacionavam. O papel relativo do RANTES permanece por esclarecer, ainda que alguns estudos referidos^{13,21}, indiquem que o pico precoce de RANTES, precedendo a fase tardia, poderá implicar um efeito causal.

No presente estudo, os níveis de quimiocinas encontrados não reflectiram a reacção alérgica documentada clinicamente, admitindo-se que a técnica de colheita não tenha sido a mais adequada. Os resultados discordantes dos diversos estudos quanto aos níveis de resposta de RANTES à PPNE, bem como os níveis de eotaxina, poderão ser justificados por diferentes técnicas de colheita. Alam²² descreve um método específico para a colheita de citocinas, utilizado no estudo de Sim *et al*¹³. No entanto esta técnica é exclusiva para o doseamento de citocinas, não permitindo a obtenção de amostras para contagem celular. Neste estudo pretendeu-se a avaliação de quimiocinas, outros mediadores inflamatórios e a dinâmica celular após a PPNE (dados não publicados). Assim, a metodologia utilizada para a obtenção de mediadores inflamatórios e células, poderá implicar excessivas diluições, esclarecendo os baixos níveis de quimiocinas encontrados neste estudo. Realmente, de entre os estudos em que foram utilizados lavados nasais como método para obter amostras nasais, apenas Terada *et al*²⁰ encontraram níveis mensu-

ráveis de quimiocinas ainda que mais baixos, comparativamente ao método descrito por Alam.

Mais estudos são necessários para definir o exacto envolvimento das quimiocinas no infiltrado celular, bem como os tempos de dinâmica. A análise comparativa de quimiocinas obtidas por colheita de rinorreia e por lavado nasal após prova de provocação nasal poderá esclarecer não só o envolvimento das quimiocinas na reacção alérgica, mas contribuir também para a padronização de métodos de obtenção de amostras nasais para estudo de mediadores inflamatórios da reacção alérgica.

Esclarecida a eventual correlação entre as quimiocinas e o infiltrado eosinofílico, bem como a correlação destes parâmetros imunológicos com os parâmetros clínicos (*score* de sintomas), parece promissor, a aplicabilidade do doseamento de quimiocinas no diagnóstico da doença alérgica e na monitorização de tratamentos, no âmbito da prática clínica.

BIBLIOGRAFIA

1. Mellilo G. *Provocation tests with allergens*. Allergy, 1997; 52 (Suppl 35): 5-35
2. Naclerio RM, Norman PS. *In vivo methods for the study of allergic rhinitis*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al*. Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 440-453
3. Litvyakova LI. *Nasal provocation testing: a review*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2001; 86(4): 355-365
4. Pirilä T and Nuutinen J. *Acoustic rhinometry, rhinomanometry and the amount of nasal secretion in the clinical monitoring of the nasal provocation test*. Clinical and Experimental Allergy, 1998; 28: 468-477
5. Barnes P. *Pathophysiology of Allergic Inflammation*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al*. Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 356-365
6. Alam R. *Chemokines in the biology of cell movement and inflammation*. In: Allergy Principles & Practice, Middleton E, Reed C *et al*. Eds. St Louis, CV Mosby, 5th edition, 1998: 124-136
7. Kuna P, Lazarovich M, Kaplan AP. *Chemokines in seasonal allergic rhinitis*. J Allergy Clin Immunol, 1996; 97: 104-112
8. Alam R *Chemokines in allergic inflammation*. J Allergy Clin Immunol 1997; 99: 273-277
9. Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP. *Chemokines and allergic diseases*. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 723-742
10. Lukacs NM. *Migration of helper T-lymphocyte subsets into inflamed tissues*. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: S264-269

11. Gleich GJ. *Mechanisms of eosinophil-associated inflammation*. J Allergy Clin Immunol 2000; 105: 651-663
13. Kuna P, Alam R, Ruta U, Gorski P. *RANTES induces nasal mucosal inflammation rich in eosinophils, basophils and lymphocytes in vivo*. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 873-879
14. Sim TC, Reece LM, Hilsmeier KA, Grant A, Alam R. *Secretion of chemokines and others cytokines in allergen-induced nasal responses: inhibition by topical steroid treatment*. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152: 927-933
15. Lee CH *et al*. *Distribution of RANTES and IL-5 in allergic nasal mucosa and nasal polyps*. Ann Otol Rhinol Laryngol 1999; 108 (6): 594-598
16. KleinJan A, Dijkstra MD, Boks S, Severijnen LWFM, Mulder PGH, Fokkens WJ. *Increase in IL-8, IL-10, IL-13 and RANTES mRNA levels (in situ hybridization) in the nasal mucosa after nasal allergen provocation*. J Allergy Clin Immunol 1999; 103: 441-450
17. Hanazawa T, Antuni JD, Kraritonov SA, Barnes PJ. *Intranasal administration of eotaxin increases nasal eosinophils and nitric oxide in patients with allergic rhinitis*. J Allergy Clin Immunol 2000; 105 (1 Pt 1): 58-64
18. Naclerio RM, Meier HL, Kagey-Sobotka A *et al*. *Mediator release after nasal airway challenge with allergen*. Am Rev Respir Dis 1983; 128: 597-602
19. Nikasinovic-Fournier L, Just J, Seta N, Callais F, Sahraoui F, Grimfeld A, Momas I. *Nasal lavage as a tool for the assessment of upper airway inflammation in adults and children*. J lab Clin Med 2002; 139: 173-180
20. Sim TC, Grant JA, Hilsmeier KA, Alam R. *Detection of proinflammatory cytokines in the nasal secretions of allergic subjects following allergen challenge*. Am J Respir Crit Care Med 1994; 149: 339-344
21. Gorski P, Wittczak T, Walusiak J *et al*. *Eotaxin but not MCP-3 induces eosinophil influx into nasal fluid in allergic patients*. Allergy 2002; 57 (6): 519-528
22. Terada N, Hamano N, Kim WJ *et al*. *The kinetics of allergen-induced eotaxin level in nasal lavage fluid. Its key role in eosinophil recruitment in nasal mucosa*. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164(4): 575-579
23. RajaKulasingam K, Hamid Q, O'Brien F *et al*. *RANTES in human allergen-induced rhinitis. Cellular source and relation to tissue eosinophilia*. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155: 696-703
24. Alam R, Sim TC, Hilsmeier K, Grant AJ. *Development of a new technique for recovery of cytokines from inflammatory sites in situ*. J Immunol Methods 1992; 155: 25-29.

Caracterização dos doentes com síndrome de alergia múltipla a fármacos

Characterization of patients with multiple drug allergy syndrome

Emília Faria*, Isabel Carrapatoso*, Carlos Loureiro**, Ana Todo Bom**, Celso Chieira***

* *Assistente Hospitalar*

** *Assistente Hospitalar Graduado*

*** *Director de Serviço*

Serviço de Imunoalergologia. Hospitais da Universidade de Coimbra

Resumo

A síndrome de alergia múltipla a fármacos (SAMF) é uma entidade clínica caracterizada pela propensão do indivíduo para reagir a antibióticos farmacológica e estruturalmente distintos ou a outros fármacos de grupo diferente. Os mecanismos fisiopatológicos desta síndrome não estão ainda definidos.

O objectivo deste estudo foi caracterizar o perfil clínico, imunológico e eventual patologia subjacente nos doentes com SAMF.

Foram estudados 13 doentes adultos, 10 do sexo feminino, todos referindo urticária ou anafilaxia a antibióticos: 12 aos β lactâmicos, 5 aos macrólidos e 5 ao cotrimoxazol. Dez destes doentes apresentavam urticária e/ou asma após a ingestão de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs).

O diagnóstico de alergia a antibióticos foi confirmado através de testes cutâneos ou prova de provocação oral. A prova de provocação oral foi efectuada, nos casos duvidosos, para confirmação do diagnóstico e para investigação de fármacos alternativos.

Foi efectuada em todos os doentes teste de soro autólogo, determinação sérica de hormonas tiroideias, auto-anticorpos antinucleares e complemento.

O teste de soro autólogo foi positivo em 4 doentes. Foi diagnosticada nos 4 casos doença auto-imune: dois casos de tiroidite auto-imune, um síndrome de Sjögren e um Lupus Eritematoso Sistémico.

Este trabalho reafirma como factores de risco o sexo feminino, antecedentes de hipersensibilidade a antibióticos ou a AINEs. Destaca-se a importância da investigação de patologia auto-imune subjacente nos casos de SAMF.

Palavras-chave: Síndrome de alergia múltipla a fármacos, alergia a antibióticos, hipersensibilidade a anti-inflamatórios não esteroides, teste de soro autólogo, doenças auto-imunes.

Summary

Multiple drug allergy syndrome (MDAS) is a clinical condition characterized by a propensity to react against different chemically unrelated antibiotic or non-antibiotic drugs. The origin of this syndrome is still unclear.

The aim of this study was to characterize the clinical and immunological profile of MDAS patients and the possible relationship with other diseases.

We included 13 adult patients, 10 females, with urticaria or anaphylaxis to antibiotics: 12 to β lactamics, 5 to macrolids and 5 to cotrimoxazol. Ten patients presented urticaria and/or asthma after the ingestion of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs).

The diagnosis of antibiotic allergy was confirmed by skin tests or oral provocation tests.

Oral provocation tests were performed to confirm the diagnosis or to choose alternative anti-inflammatory drugs.

The patients were submitted to autologous serum skin test and serum levels of thyroid hormones, auto antibodies and complement components were determined.

Only 4 females presented positive autologous serum skin test. The diagnosis of autoimmune disease was performed in these patients: two autoimmune thyroiditis, one Sjögren's syndrome and one Systemic Lupus Erythematosus disease.

This study emphasis that the most relevant risk factors for MDAS are being the female gender and having antibiotic or NSAID hypersensitivity. The importance of autoimmune disorders evaluation in MDAS patients is stressed.

Ked-words: Multiple drug allergy syndrome, antibiotics allergy, non-steroidal anti-inflammatory drugs hypersensitivity, autologous serum skin test, autoimmune disorders.

INTRODUÇÃO

A síndrome de alergia múltipla a fármacos (SAMF) é uma entidade clínica caracterizada pela propensão do indivíduo para reagir a antibióticos estruturalmente diferentes ou a antibióticos e outros fármacos de grupos distintos^{1,2}. A maioria dos estudos sobre SAMF inclui apenas casos de reacção de hipersensibilidade a antibióticos de classes distintas^{3,4,5}.

Nos estudos epidemiológicos existentes a prevalência de SAMF em doentes com hipersensibilidade a fármacos varia, consoante as séries, entre 5%^{1,6,7,8} e 11%³.

Apesar de ser uma situação clínica de relativa raridade, é cada vez mais frequente nas consultas de Imunoalergologia e coloca problemas complexos na pesquisa de fármacos alternativos.

Com maior frequência encontra-se a associação de alergia a penicilinas e sulfonamidas ou peni-

cilinas e macrólidos. Estão descritos casos raros de reacções a outros antibióticos como quinolonas e tetraciclina⁹. Na presença de alergia a um antibiótico deve ser contra-indicada a administração de antibióticos do mesmo grupo pela existência de reactividade cruzada^{2,10}.

Nos casos de hipersensibilidade ao ácido acetil-salicílico (AAS) e outros anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) a associação mais frequente é com antibióticos do grupo das penicilinas^{2,7,8}.

Vários estudos demonstram que o risco de SAMF é mais elevado nos doentes com antecedentes de reacção a fármacos, particularmente se ocorreu reacção a um antibiótico nos primeiros anos de vida (1,2). Sullivan verificou que o doente com alergia à penicilina apresenta um risco 10 vezes superior de alergia a antibióticos não lactâmicos⁶. Nestes doentes o risco de reacção à primeira administração de um novo antibiótico é superior a 3%^{1,6,11,12}. Pelo contrário, Khoury não encontrou

aumento de prevalência de alergia a antibióticos não β lactâmicos em doentes alérgicos à penicilina ¹³.

Nos diferentes estudos parece existir uma frequência dupla de SAMF no sexo feminino em relação ao masculino. Os doentes com hipersensibilidade a AINEs apresentam um risco triplo de SAMF, particularmente elevado nas mulheres ^{2,5}. Asero encontrou um risco relativo de reacção a novo antibiótico de 2,8 no caso de antecedentes de reacção a mais de 2 classes de antibióticos, que aumentava para 3,2 se havia intolerância simultânea a AINEs ³.

A presença de atopia não constitui factor de risco ^{1,2,7,8}.

Em geral a SAMF manifesta-se com clínica de urticária e/ou angioedema, anafilaxia, rash e, menos frequentemente, asma, rinite, síndrome de Stevens-Johnson, doença do *soro-like* ou citopenias auto-imunes.

O risco de hipersensibilidade simultânea a fármacos de grupos distintos é particularmente elevado nos doentes com terapêutica frequente com antibióticos e em altas doses, como acontece na fibrose quística ^{14,15}, síndrome de imunodeficiência adquirida ^{16,17}, neutropenia crónica e infecção crónica por vírus *Epstein-Barr*. Consideram-se ainda com risco acrescido os doentes com lúpus eritematoso sistémico (LES) ^{18,19}, urticária crónica, medicação múltipla e os indivíduos com exposição ocupacional a fármacos.

Não está definido se o aumento da incidência destas doenças se deve apenas ao aumento do uso e dose de fármacos ou se é secundária a distúrbios imunológicos subjacentes à própria doença, consequência de alterações do metabolismo ou do stress oxidativo.

Esta entidade não é exclusiva da idade adulta e está descrita em crianças. São referidos na literatura casos em que a primeira reacção ao antibiótico ocorre no primeiro ano de vida ^{4,12}. Kamada observa que em 120 crianças com reacções a antibióticos, 26% apresentavam SAMF e 86% destas tinham

alergia simultânea a pelo menos 3 classes de antibióticos ¹². Também Park e col. encontraram 11% de crianças com SAMF a antibióticos, nas quais a primeira reacção ocorreu em média aos 26,1 meses de idade. Na maioria dos casos (60,8%) foi encontrada sensibilidade simultânea a pelo menos 3 grupos distintos de antibióticos ⁴.

Os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na SAMF não estão definidos e são difíceis de estabelecer, por serem, provavelmente, multifactoriais.

À excepção da alergia aos antibióticos β lactâmicos pensa-se que, na maioria dos casos, os mecanismos envolvidos são de hipersensibilidade inespecífica. A libertação directa e não específica de histamina ou outros mediadores inflamatórios parece ser a uma explicação provável na sensibilização múltipla a fármacos ^{1,5}. Sullivan propõe que a resposta imunológica possa ser desenvolvida contra os haptenos e não contra determinantes específicas de fármaco ⁶.

Alguns autores sugerem que na base da SAMF estejam que factores não definidos, presentes nos doentes e eventualmente relacionados com fenótipos HLA, alterações no metabolismo dos fármacos, nomeadamente da capacidade de acetilação e oxidação, estejam na base da SAMF ^{20,21}.

As semelhanças entre algumas das características de SAMF e de urticária crónica idiopática sugeriu a Asero a existência de um mecanismo fisiopatológico comum ². Também na urticária crónica idiopática se observa alta prevalência no sexo feminino, cerca de 30% dos doentes agravam os sintomas com os AINEs e existe positividade no teste de soro autólogo ^{2,22,23}.

Foram identificados em alguns casos de urticária crónica um factor de libertação de histamina específicos dos mastócitos, designado por 30kDaHRF, sem capacidade de desgranulação dos basófilos de indivíduos normais ^{24,25}. Asero sugere que à semelhança do detectado nestes casos de urticária crónica possam existir, no SAMF, factores

inespecíficos de libertação directa de histamina, como por exemplo sulfoleucotrienos, sem capacidade de desgranulação dos basófilos^{2,20}.

O envolvimento dos Acs anti IgE ou de mecanismo auto-imune contra os receptores de alta afinidade de IgE (FcεRI) parece pouco provável, pois não se observa aumento significativo da libertação de histamina pelos basófilos de dadores saudáveis, quando incubados com soro de doentes com SAMF^{2,20}.

Em doentes com hipersensibilidade múltipla a AINEs também foi encontrada positividade no teste de soro autólogo num número significativo de casos²⁵.

Os resultados obtidos em estudos imunológicos de ligação directa do anticorpo ao fármaco e testes quantitativos de inibição do hapteno sugerem que, em alguns casos de SAMF, o quadro clínico possa ser explicado pela extensa variedade de reactividade cruzada imunológica entre os grupos amino terciário e amónio quaternários presentes em diferentes grupos farmacológicos. São também detectados no soro destes doentes diferentes anticorpos sem reactividade cruzada, por exemplo contra os antibióticos β lactâmicos^{26,27}.

Foi encontrado nestes doentes um perfil psicológico e traços de personalidade particulares. Patriarca aplicou o teste psicodiagnóstico de Rorschach, teste projectivo de personalidade, a 30 mulheres com SAMF e comparou os resultados com os obtidos em 20 indivíduos saudáveis. Verificou que a maioria dos doentes com SAMF apresentava inibição da expressão das emoções, relacionada com expressão emocional negativa e frustrações repetidas na fase precoce do desenvolvimento emocional²⁸.

O desconhecimento dos antigénios e dos mecanismos patogénicos envolvidos nas reacções múltiplas a fármacos dificulta a elaboração de uma metodologia diagnóstica sensível e específica^{2,29}.

Há uma grande variabilidade interindividual em relação aos grupos de fármacos tolerados, pelo que

uma terapêutica alternativa obriga, na maioria dos casos, a teste de provocação^{1,5}.

O tratamento destas situações passa pelas medidas médicas e cirúrgicas que minimizem o risco de infecção, pela selecção de fármacos alternativos ou, na sua ausência, por terapêutica de dessensibilização. A inibição do hapteno foi usada com sucesso em alguns casos de doentes alérgicos à penicilina³⁰.

Com o objectivo de caracterizar o perfil clínico e imunológico dos doentes com SAMF e investigar eventual patologia auto-imune subjacente, estudámos os casos com o diagnóstico de SAMF observados na Consulta de Alergia a Fármacos, do Serviço de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi possível comprovar a hipersensibilidade aos fármacos suspeitos em 205 dos 383 doentes observados na Consulta de Alergia a Fármacos, nos últimos 8 anos (Figura 1).

Seleccionámos os 13 doentes que apresentavam critérios clínicos de SAMF.

Foram excluídos os casos de prova de provocação positiva com placebo, com urticária crónica, com infecção HIV ou com doença psiquiátrica activa.

Todos os doentes tinham efectuado a avaliação clínica através do preenchimento do Questionário de Alergia a Fármacos do European Network of Drug Allergy (ENDA)³¹ e investigação alergológica através de testes cutâneos a aeroalergénios e, ainda, hemograma, bioquímica do sangue, doseamento sérico de imunoglobulinas e estudo imagiológico do tórax. Os doentes tinham sido submetidos a testes cutâneos (TC), por picada e intradérmicos (ID) a antibióticos: aos determinantes antigénicos *major* (PPL) e *minor* (MDM) da penicilina (Allergopharma®), à amoxicilina e aos antibióticos suspeitos: eritromicina, claritomicina, cotrimoxa-

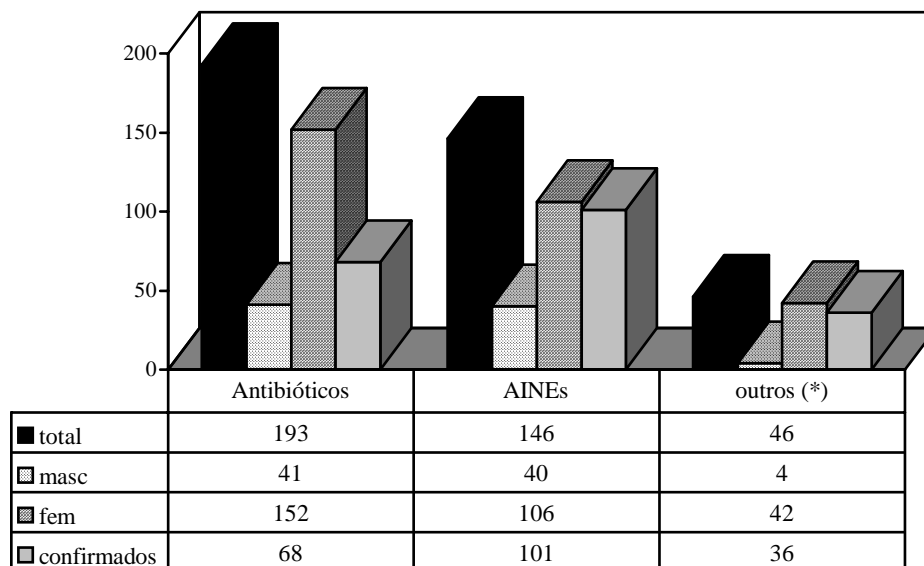


Figura 1 - Casuística da consulta de alergia a fármacos dos H.U.C.
Número total de casos estudados e casos em que o diagnóstico foi confirmado.

(*) Relaxantes musculares, anestésicos locais, corticosteroides sistémicos, IECA sulfato de protamina; atropina; lipase e amilase; anti-depressivos.

zol, numa concentração de 10 mg/ml e em diluições crescentes (1/1000; 1/100; 1/10). Considerou-se TC positivo se reactividade cutânea > à histamina ou > 5mm, em diluições < 1/100.

Nos casos de teste cutâneo ID positivo ao PPL não se efectuaram testes ID ao MDM e à amoxicilina. Os doentes com TC negativos e suspeita clínica de alergia a antibióticos foram submetidos a prova de provocação oral com amoxicilina.

Efectuou-se, em todos os doentes com suspeita de alergia aos β lactâmicos, determinação de IgE específica a penicilina G e V, amoxicilina e ampicilina, pelo método CAP System-Pharmacia®.

Os protocolos de diagnóstico usados na consulta são adaptados dos preconizados pelo grupo de interesse de hipersensibilidade a fármacos do EAACI

32,33.

Os 10 doentes com suspeita de hipersensibilidade aos AINEs foram submetidos, nos casos duvidosos e na ausência de contra-indicações, a estudo funcional respiratório e prova de provocação oral (PPO) ao ácido acetilsalicílico (AAS).

Foi também investigada a tolerância a outros anti-inflamatórios alternativos como os inibidores preferenciais (nimesulide) e selectivos (rofecoxibe ou celecoxibe) do isoenzima da ciclo-oxigenase, COX2³⁵. Nos casos duvidosos os doentes foram submetidos a prova de provocação oral com estes fármacos.

Os protocolos usados na consulta são adaptados dos propostos por Szczeklik e colaboradores³⁴.

Para a investigação de patologia subjacente foi efectuado uma avaliação clínica detalhada, a determinação de anticorpos antinucleares, hormo-

nas tiroideias e anticorpos anti-tiroglobulina e anti-microssomais, complemento (C3, C4, CH50, C1q, inibidor esterase de C1) e teste de soro autólogo por picada e intradérmico ³⁶.

RESULTADOS

Os 13 doentes incluídos no estudo constituem 6,3% do número total de casos de hipersensibilidade a fármacos diagnosticados na consulta.

Três destes doentes são do sexo masculino e 10 do sexo feminino (77%), apresentam uma média de idades de 48,3 + 7,6 anos e o início de sintomatologia de alergia a fármacos ocorreu aos 40,3 + 10,1 anos de idade.

Quatro doentes apresentavam alergia a pelo menos 2 classes de antibióticos distintas e a diferentes AINEs (casos 1, 2, 3 e 4); 3 tinham alergia a pelo menos 2 classes de antibióticos distintos e toleravam os AINEs (casos 5, 6 e 7) e 6 tinham alergia a uma classe de antibióticos e a diferentes AINEs (casos 8 a 13). Sete doentes (54%) eram alérgicos: 5 aos ácaros e 2 às gramíneas. Três

doentes referiam sintomas com a ingestão de alimentos ricos em salicilatos (queijos, frutos secos, mariscos e condimentos).

As características clínicas, patologia associada, fármacos envolvidos e respectivas manifestações clínicas estão referidas no Quadro I.

Os grupos de fármacos envolvidos e manifestações clínicas estão representados nas Figura 2 e 3, respectivamente.

Não se observa grande consumo de antibio-terapia à excepção do caso 8 em que a sintoma-tologia surge durante o quarto tratamento com antibiótico endovenoso por abscesso cerebral.

Verifica-se que os testes cutâneos intradérmicos (ID) ao antibiótico suspeito, permitiram confirmar a alergia em 10 doentes e a PPO em 3 doentes (2 à amoxicilina e 1 à tetraciclina). Os testes cutâneos ID foram positivos em 7 casos ao PPL, 1 caso ao MDM, 2 casos à amoxicilina, em 5 casos aos macrólidos e em 5 casos ao cotrimoxazol, Quadro II.

A determinação de IgE específica à penicilina e derivados foi negativa em 11 dos 12 doentes com alergia a β lactâmicos (Quadro II).

Nos casos dos doentes com hipersensibilidade

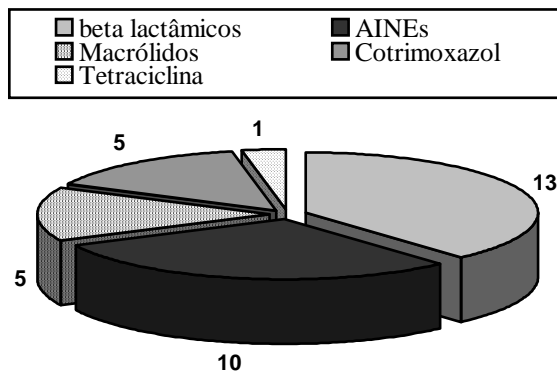


Figura 2 – Fármacos envolvidos nos casos de SAMF.

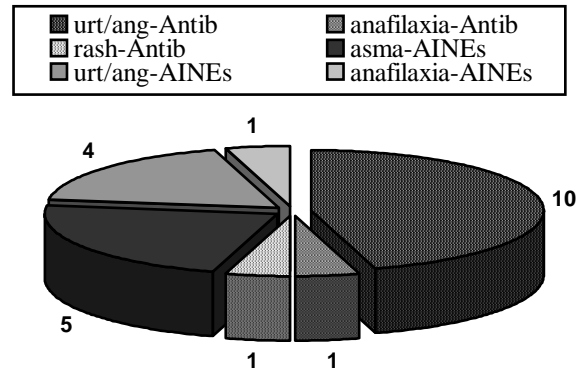


Figura 3 – Manifestações clínicas apresentadas após a ingestão de fármacos no SAMF

Quadro 1 - Características clínicas dos doentes com Síndrome de Alergia Múltipla a Fármacos (SAMF)							
Casos	Sexo	Idade	Atópico	Patologia associada	β Lactâmicos	Antibiótico não β Lactâmico	AINEs
1- CIR	Fem	33	não	Rinite Tiroidite autoimune	Urt. / Angioed. Amox-Ac.Clav	Anafilaxia ESE Urt. / Angioed. Cotrimoxazol	Urt. / Angioed. AAS
2-MCC	Fem	48	não	Psoríase Artrite recorrente	Urt. / Angioed. Amoxicilina	Urt. / Angioed. ESE	Urt. / Angioed. AAS, Diclof. e Salazopirina
3-MFP	Fem	40	não	Artrite recorrente	Anafilaxia Pen G	Urt. Cotrimoxazol	Anafilaxia AAS e Diclof. Urt. ao Ibuprofeno
4-MFV	Fem	50	sim (pólen)	Asma III Polipose nasal	Urt. Amoxicilina	Urt. / Angioed. ESE e Clarit.	Asma AAS e Nimesulide
5- AMF	Mas	40	sim (pólen)	Rinite	Rash Penc G	Urt. Cotrimox. e.Clarit.	não
6 - IML	Fem	42	não	Asma I Bócio nodular	Urt. Ampicilina	Urt. / Angioed. ESE e Cotrimoxazol	não
7 - TMF	Fem	49	não	HTA	Urt. / Angioed. Amoxicilina	Angioed. Tetraciclina.	não
8 - AGL	Mas	62	sim (ácaros)	Asma I Rinossinusite Ang. a queijo	Urt. / Angioed. Penic. G e	não	Urt. / Angioed. AAS e Clonixina
9- MAV	Fem	63	sim (ácaros)	Úlcera péptica	Urt. / Angioed. Pen G e Amoxicilina	não	Urt. / Angioed. AAS e butilescopolamina
10-VCN	Mas	49	sim (ácaros)	Asma	Urt. Pen G	não	Urt. / Angioed. AAS
11-MLB	Fem	45	sim (ácaros)	Asma II Angioed. a frutos secos	Anafilaxia Amoxicilina	não	Asma AAS e Nimesulide
12-ZMP	Fem	68	não	Asma III Polipose nasal HTA / ICC.	não	Urt. Cotrimoxazol	Asma AAS e Diclofenac
13-ECA	Fem	41	sim (ácaros)	Asma I Tiroidite Dispneia a alimentos	Urt. Amoxicilina	não	Asma AAS, Clonixina e Nimesulide

Quadro II - Resultados dos testes cutâneos, IgE específica e testes de provocação aos antibióticos					
Casos	TC Intra-dérmicos PPL / MDM / Amox	Erit. /Clarit.	Cotrimoxazol	IgE (KU/l) Pen G / Pen V/ Amox / Amp	Prova de Provocação Oral
1	neg / neg / neg	1/100=14mm 1/100=12mm	1/1000=10mm	< 0,35	+ à Amox (Urticária)
2	neg / neg / 5mm	1/1000=9mm 1/100=8mm		< 0,35	
3	7 mm		1/1000=6mm	< 0,35	
4	neg / 7mm / neg	1/1000=8mm 1/100=5mm		< 0,35	
5	9 mm	1/100=9mm 1/100=9mm	1/1000=8mm	0,9 / 1,0 / 1,5 / 1,1 (classe 2)	
6	neg / neg / neg	1/100=6mm	1/1000=5mm	< 0,35	+ à Amox (Urticária)
7	neg / neg / 6mm			< 0,35	+ à Doxiciclina (Urticária)
8	12mm			< 0,35	
9	8 mm			< 0,35	
10	15 mm			< 0,35	
11	9 mm			< 0,35 e Amox.=0,4	
12	neg / neg / neg		1/100=5mm		
13	10mm			< 0,35	

a AINEs a PPO com AAS foi positiva nos 5 doentes em que foi efectuada (Quadro III).

Para avaliar a tolerância aos AINEs inibidores da COX2, em 5 doentes foi necessário efectuar PPO com nimesulide e em 8 casos PPO ao coxibes. Três dos 10 doentes apresentaram broncospasma com

nimesulide e apenas 1 com asma ao celecoxibe e ao rofecoxibe (Quadro III).

Os resultados do estudo de indicadores imunológicos de auto-imunidade demonstraram positividade no teste de soro autólogo nos 4 doentes com aumento significativo do título de auto-anticorpos

Quadro III - Resultados da avaliação de tolerância a diferentes AINEs.
Nos casos duvidosos efectuou-se prova de provocação oral (PPO).

Casos	PPO ao AAS	Tolerância ao nimesulide	Tolerância ao Celecoxibe/Rofecoxibe
1	n.e.	sim	sim
2	n.e.	PPO - sim	PPO - sim
3	n.e.	sim	PPO - sim
4	Positiva (Asma /Rinite)	PPO (Asma / Rinite)	PPO (Asma / Rinite)
8	Positiva (Urt. / Angioed.)	sim	PPO - sim
9	Positiva (Urt. / Angioed.)	sim	PPO - sim
10	Positiva (Asma / Angioed.)	sim	PPO - sim
11	n.e.	PPO (Asma)	PPO - sim
12	Positiva (Asma / Rinite)	sim	PPO - sim
13	n.e.	PPO (Asma / Rinite)	PPO - sim

Quadro IV - Resultados dos parâmetros de avaliação da auto-imunidade
(Anti-TG e MC: anticorpos anti-tiroideus e anti-microssomais, respectivamente)

Casos	Teste de soro autólogo (ID)	CH50, C3, C4, C1q, C1INH	Auto-Anticorpos
1	+ (20 mm)	normal	Anti-MC + e Anti-TG +
2	+ (5 mm)	normal	Anti SSA + e SSB +
3	+ (5 mm)	C3 e C4 baixos	Anti ds DNA + Anti SSA + e SSB +
4	neg	normal	neg
5	neg	normal	neg
6	neg	normal	neg
7	neg	normal	neg
8	neg	normal	neg
9	neg	normal	neg
10	neg)	normal	neg
11	neg	normal	neg
12	neg	normal	neg
13	+ (12 mm)	normal	Anti-MC +

(Quadro IV). Apenas a doente com anticorpos anti-DNA e anti-SSA e anti-SSB elevados, caso 3, apresentava hipocomplementémia C3 e C4. As doentes dos casos 2 e 3 foram posteriormente enviadas à Consulta de Reumatologia, tendo sido confirmados os diagnósticos de síndrome de Sjögren e LES respectivamente.

DISCUSSÃO

A prevalência de SAMF encontrada, 6.3%, situa-se próximo das referidas na literatura^{1,2,6,7,8}.

O predomínio do sexo feminino, a elevada percentagem de hipersensibilidade aos antibióticos β lactâmicos (92%) e a AINEs (77%), parecem constituir factores de risco de SAMF, à semelhança do que tem sido encontrado por vários autores^{1,2,3,6,20}.

A associação mais frequente foi a de antibióticos β lactâmicos e macrólidos, seguida da associação β lactâmicos e cotrimoxazol, ao contrário de outros estudos onde predominava a associação β lactâmicos e sulfonamidas.^{1,2,6,7,8} O aumento generalizado do uso de macrólidos nos últimos anos poderá justificar esta associação, uma vez que a incidência de reacção a antibióticos depende fundamentalmente do tipo e frequência de administração.

Ao contrário do que se pensava inicialmente, vários trabalhos têm demonstrado a presença de intolerância a distintas classes de AINEs em doentes sem urticária crónica^{2,23,37}. Também, na nossa série, 80% dos doentes apresentam sensibilização simultânea a pelo menos dois AINEs distintos.

À semelhança do descrito na literatura, as reacções cutâneas são as manifestações clínicas mais frequentes nos casos de alergia a antibióticos mas, pelo contrário, as queixas respiratórias foram encontradas na maioria dos nossos doentes com a administração de AINEs. O nimesulide mostrou ser um fármaco AINE alternativo em 60% dos casos e os coxibes foram tolerados em 9 dos 10 doentes. Apenas uma doente apresentou broncospasmo com

o celecoxibe e com o rofecoxibe. Estes resultados são sobreponíveis aos encontrados em outros estudos^{35,38,39}.

Os testes cutâneos intradérmicos mostraram alta sensibilidade e especificidade no diagnóstico de alergia a antibióticos. Ao contrário dos estudos de Blanca e col a determinação da IgE específica aos antibióticos β lactâmicos mostrou eficácia muito baixa⁴⁰. A discrepância dos resultados poderá ser consequência do intervalo de tempo que mediou entre a data da última reacção ao antibiótico e o doseamento da IgE específica que, na maioria dos casos, foi superior a 4 anos.

A hipótese de um mecanismo auto-imune na SAMF é sugerida pela primeira vez por Asero².

Este autor observou que a maioria dos doentes com SAMF apresentava positividade no teste de soro autólogo comparativamente com os doentes com alergia a um único grupo de fármacos. Este teste foi negativo em todos os doentes atópicos do grupo controlo^{2,20}.

Ao contrário do observado por Asero, a maioria dos nossos doentes (69 %) tiveram o teste de soro autólogo negativo. Apenas nas 4 doentes, em que o estudo veio a revelar patologia auto-imune subjacente, dois casos de tiroidite auto-imune, um de síndrome de Sjogren e um de LES, se detectou positividade no teste de soro autólogo. Curiosamente, foram estes os casos que referiam reacções mais graves (3 casos de anafilaxia) e um maior número de fármacos envolvidos.

A investigação efectuada permitiu o diagnóstico de síndrome de Sjögren e LES em duas doentes com queixas recentes de artrite recorrente, em que a hipersensibilidade múltipla a fármacos precedeu as manifestações clínicas de conectivopatia.

Este trabalho realça a importância do diagnóstico de patologia auto-imune em doentes com SAMF e vai de encontro à opinião de Asero que sugere que em alguns doentes o mecanismo subjacente ao SAMF se deve à presença no soro de factores inespecíficos capazes de induzirem libertação directa

de histamina. Enquanto nestas 4 doentes o mecanismo fisiopatológico poderá ser atribuído a um mecanismo de auto-imunidade, nos restantes 9 ficam por definir os mecanismos subjacentes. Atendendo às diferentes características clínicas dos doentes estudados e a diferentes patologias torna-se difícil estabelecer um único mecanismo fisiopatológico comum. Muito provavelmente deverão estar em causa múltiplos mecanismos fisiopatológicos, correspondendo a grupos distintos de doentes. Alguns autores defendem, no entanto, que esta síndrome deve ser considerada uma entidade clínica, e encarada como uma doença específica com provável mecanismo patogénico comum não determinado, e não uma reacção adversa isolada a diferentes classes de fármacos. Estão por definir os determinantes multifactoriais que a caracterizam (psicossomáticos, hormonais, metabólicos, imunológicos, bioquímicos).

Deve realçar-se o facto dos doentes com SAMF apresentarem um risco de reacção a um novo fármaco muito superior em relação à população geral. É fundamental que sejam tomadas medidas no sentido de evitar ou prevenir infecções e minimizar, deste modo, a necessidade de antibioterapia. Sempre que possível, deve ser investigada terapêutica alternativa segura num Centro de Imunoalergologia especializado. Recomenda-se que o doente administre metade da dose terapêutica na primeira vez que ingere um novo fármaco, e sempre sob vigilância médica.

Paradoxalmente estes doentes toleram, em geral, baixas doses de antibióticos, pelo que em situações de infecções recorrentes poderá efectuar-se antibioterapia profiláctica.

Em casos especiais, e na ausência de medicação alternativa, poderá haver necessidade de terapêutica de dessensibilização

BIBLIOGRAFIA

1. Adkinson NF. Drug Allergy: Allergy Principles and Practice. Ed: E Middleton, CE Reed, EF Ellis, NF Adkinson, JWYunginger, WW Busse. 5th Edition. United States of America: Mosby - Year Book Inc 1998; 1212-24.
2. Asero R. Multiple Drug Allergy Syndrome: A Distinct Clinical Entity. *Curr Allergy Reports* 2001, 1: 18-22.
3. Asero R. Detection of patients with multiple drug allergy syndrome by elective tolerance tests. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998; 80: 185-8.
4. Park J, Matsui D, Rieder MJ. Multiple antibiotic sensitivity syndrome in children. *Can J Clin Pharmacol* 2000; 7: 38-41.
5. Netis E, Colanardi MC, Paola RD, Ferrannini A, Tursi A. Tolerance test in patients with multiple drug allergy syndrome. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2001; 23 (4): 617-26.
6. Sullivan TJ, Ong RC, Gilliam LK. Studies of the multiple drug allergy syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 270.
7. Warrington R. Multiple drug allergy syndrome. *Can J Clin Pharmacol.* 2000; 7(1):18-9
8. Patriarca G, Venuti A, Schiavino D, Romano A, Fais G, Di Rienzo V. The syndrome caused by multiple drug intolerance. *Recenti Prog Med.* 1980; 68(1):21-33.
9. Scala E, Giani M, Pirrotta L, Guerra EC, De Pita O, Puddu P. Multiple drug allergy syndrome: severe anaphylactic reaction due to topical rifamycin SV in a patient with hypersensitivity to ciprofloxacin. *Int J Dermatol.* 2001; 40(9):603-4.
10. Kruppa A, Scharffetter-Kochanek K, Krieg T, Hunzelmann N. Immediate reaction to roxithromycin and prick test cross-sensitization to erythromycin and clarithromycin. *Dermatology.* 1998; 196 (3): 335-6.
11. Moseley EK, Sullivan TJ. Allergic reaction to antimicrobial drugs in patients with an history of prior drug allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 226-31.
12. Kamada M M, Twarog F, Leung D Y. Multiple antibiotic sensitivity in a pediatric population. *Allergy Proc* 1991, 12 (5): 347-50.
13. Khoury L, Warrington R. The multiple drug allergy syndrome: a matched-control retrospective study in patients allergic to penicillin. *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 98 (2): 462-4.
14. Pleasants RA, Walker TR, Samuelson WM. Allergic reactions to parenteral beta-lactam antibiotics in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1994; 106(4): 1124-8.
15. Ramesh S. Antibiotic hypersensitivity in patients with cystic fibrosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2002; 23(1): 123-41.
16. Pirmohamed M, Park BK HIV and drug allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2001; 1(4): 311-6.
17. Wignants H, Van den Ende J, Colebunders R. Multiple drug reactions in a patient with AIDS. *Lancet.* 1989;16; 2 (8677): 1455.
18. Pope J, Jerome D, Fenlon D, Krizova A, Ouimet J. Frequency of adverse drug reactions in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2003; 30(3): 480-4.
19. Petri M, Allbritton J. Antibiotic allergy in systemic lupus erythematosus: a case-control study. *J Rheumatol.* 1992; 19(2): 265-9.
20. Asero R, Tedeschi A, Lorini M, Caldironi G, Barocci F. Sera from patients with multiple drug allergy syndrome contain circulating histamine-releasing factors. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003; 131(3):195-200.
21. Clark DW. Genetically determined variability in acetylation and oxidation. *Drugs* 1985; 44: 831-4.

22. Asero R, Tedeschi A, Lorini M. Autoreactivity is highly prevalent in patients with multiple intolerance to NSAIDs. *Annals of Allergy Asthma Immunol.* 2002; 88 (5): 468-72.
23. Stevenson DD, Simon RA - Sensitivity to Aspirin and Anti-inflammatory Drugs: *Allergy Principles and Practice*. E. Middleton, C.E. Reed, E.F. Ellis, N.F. Adkinson, J.W. Yunginger, W.W. Busse Eds. 5th Edition. Mosby - Year Book Inc, USA, 1998; 1747-1765.
24. Wedi B, Novacovic V, Koerner M, Kapp A. Chronic urticaria serum induces histamine release, leukotriene production and basophil CD63 surface expression. Inhibitory effect of anti-inflammatory drugs. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 552-60.
25. Grattan C, Francis D, Hide M, Greaves M, Detection of circulating histamine releasing autoantibodies with functional properties of anti-IgE in chronic urticaria. *Clin Exp Allergy* 1991; 21: 695-704.
26. Baldo BA, Pham NH, Zhao Z. Chemistry of drug allergenicity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2001; 1: 327-35.
27. Pham NH, Baldo BA, Puy RM. Studies on the mechanism of multiple drug allergies. Structural basis of drug recognition. *J Immunology* 2001; 22(1):47-73.
28. Patriarca G, Schiavino D, Nucera E et al. Multiple drug intolerance: allergological and psychological findings. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1991;1(2), 138-44.
29. Gruchalla RS. Approach to the patient with multiple antibiotic sensitivities. *Allergy Asthma Proc.* 2000; 21 (1): 39-44.
30. Vonlanthen MC, Jeunet F, Schultz KH et al. Clinical trial of a monovalent benzylpenicilloyl hapten inhibitor (R06-0787) in penicillin allergy. *Chemotherapy* 1976; 4: 351-7.
31. Demole P, Kropf R, Bircher A, Picher W J. European Network of Drug Allergy. *Allergy* 1999; 54: 999-1003.
32. Torres MJ, Blanca M, Fernandez J, Romano A et al for ENDA / EAACI interest group on drug hypersensitivity. Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy* 2003; 58 (10): 916- 72.
33. Faria E, Carrapatoso I, Tavares MB, TodoBom A, Pereira C, Chieira C. Prevalence of allergy to antibiotics and alternative therapy. *Allergy* 2002; 57 (73): 261s.
34. Szczeklik A, Stevenson D. Aspirin-induced asthma: Advances in pathogenesis, diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111 (5): 913-921.
35. Inoue K, Takaano H, Kawahito Y, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors in aspirin-induced asthma. *Chest* 2003; 123 (4): 1317-1318.
36. Greaves M. Chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105: 664-72.
37. Szczeklik A. Adverse reactions to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Allergy.* 1987; 57: 113-18.
38. Faria E, Tomás MR, Carrapatoso I et al. Intolerância aos anti-inflamatórios não esteroides: atitude diagnóstica e alternativa terapêutica. *Via Pneumológica VIII* 1995; 8: 47-57
39. Faria E, Carrapatoso I Tavares MB et al. Safety of nimesulide and meloxicam in aspirin intolerant patients *Allergy* 2000; 55 (suppl. 63): 49.
40. Blanca M, Mayorga C, Torres MJ, Reche M et al. Clinical evaluation of Pharmacia CAP System RAST FEIA amoxicilloyl and benzylpenicilloyl in patients with penicillin allergy. *Allergy* 2001; 56 (9): 862-70.

Tratamento e prognóstico da sarcoidose. A propósito de um caso clínico.

Sarcoidosis's treatment and prognosis. Case report

Graça Loureiro¹, Carlos Loureiro², Celso Chieira³

¹ *Interna Complementar de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra*

² *Assistente Graduado de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra*

³ *Director de Serviço de Imunoalergologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra*

Resumo

Apresenta-se caso clínico de doente do sexo masculino, com 51 anos de idade, que apresenta quadro clínico de dispneia sibilante para médios esforços, tosse seca e emagrecimento, com um ano de evolução. O estudo realizado concluiu tratar-se de sarcoidose. Neste doente, apesar da presença de dados radiológicos de mau prognóstico, os dados imunológicos existentes apontam para um prognóstico favorável. Atendendo à gravidade clínica, decidiu-se pela introdução de corticoterapia oral.

A propósito deste caso revê-se a abordagem diagnóstica da sarcoidose e, atendendo a que não estão definidos os marcadores preditivos do prognóstico da sarcoidose, nem o papel da corticoterapia na progressão da doença, salienta-se a necessidade de identificação de marcadores imunológicos com uso na prática clínica, particularmente diagnósticos e preditivos da evolução da doença.

Summary

We report a case of a 51 year old male with complaints of exercise induced dyspnea, cough and weight loss. In September 1996 he was medicated with inhaled budesonide and oral prednisolone. The tests performed revealed sarcoidosis. This patient presented bad prognostic radiologic features, but good prognostic immunologic features. Because of the severe clinical presentation corticosteroid treatment was started.

There are no predictive markers of disease outcome. Immunological markers are needed to be validated as a clinically useful predictor of disease progression.

Palavras-chave: sarcoidose, marcadores imunológicos, evolução

INTRODUÇÃO

A primeira descrição de sarcoidose remonta a 1877, quando J. Hutchinson refere um caso de lesões cutâneas múltiplas das mãos e pés, de cor purpúrea com dois anos de evolução. Em publicações subsequentes descreve casos adicionais, sugerindo tratar-se de “*form of skin disease which has ... hitherto escaped special recognition*”. Muito se acrescentou desde então, tendo sido reconhecido tratar-se de uma doença granulomatosa sistémica, sem no entanto se esclarecerem alguns aspectos da doença. Em 1999, decorreu uma reunião conjunta da American Thoracic Society (ATS), da European Respiratory Society (ERS) e da World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG), no intuito de se definirem consensos diagnósticos e terapêuticos, os quais foram adoptados pelas ATS e ERS¹. Actualmente, são conhecidos os dados clínicos, a abordagem diagnóstica, o efeito benéfico a curto prazo da corticoterapia, a incidência e prevalência, a influência de alguns factores genéticos e as características imunológicas do início da doença. Estão ainda por definir testes preditivos da progressão da doença, o papel da corticoterapia na história natural da doença, a duração óptima da terapia, a existência de terapêuticas menos agressivas que a corticoterapia, o mecanismo pelo qual os factores genéticos alteram a expressão da doença, o mecanismo de lesão pulmonar e fibrose, os mecanismos que resultam em doença persistente e a causa da sarcoidose.

A propósito do caso clínico apresentado salientam-se alguns aspectos controversos desta entidade nosológica, nomeadamente o não esclarecimento da sua história natural e prognóstico, com as implicações terapêuticas controversas consequentes. Realça-se a necessidade de identificação de marcadores com uso na prática clínica, tanto diagnósticos como preditivos da evolução da doença.

CASO CLÍNICO

Apresenta-se caso clínico de doente do sexo masculino, 51 anos de idade com antecedentes pessoais patológicos irrelevantes, com actividade laboral numa cimenteira.

Inicia queixas de dispneia sibilante para médios esforços, tosse seca, cansaço fácil e perda ponderal não quantificada, com evolução de um ano. Ao exame objectivo apresenta crepitações bibasais à auscultação pulmonar, sem outras alterações. O estudo realizado revelou: hemograma com leucograma dentro dos parâmetros da normalidade, LDH 465 U/L, restantes parâmetros da bioquímica sérica e sumária de urina dentro dos valores de referência, Velocidade de Sedimentação (VS) 53mm; hiper-gamaglobulinémia policlonal (IgG 28,10g/L; IgA 5,73g/L; IgM 6,88g/L; IgE 378 UI/ml); SACE 87 U/L; Anticorpos antinucleares positivos (padrão granular denso); marcadores reumáticos e tumorais negativos (PSA, CA19.9, NES, CEA); PCR negativa. Os testes cutâneos por método de picada demonstraram reactividade cutânea a ácaros do pó doméstico e ácaros de armazenamento; o doseamento sérico de IgE específica a *Lepidoglyphus destructor* foi <0,35 KU/l (classe 0) e o doseamento de IgE específica a *Tyrophagus putrescentiae* foi de 0,9 KU/l (classe 2). A telerradiografia do tórax revelou opacidades de predomínio reticular e micro-nodular dispersas em ambos os hemitórax, com predomínio nas regiões para-hilares e basais (figura 1); o Estudo Funcional Respiratório revelou padrão ventilatório misto com DLCO diminuída (quadro 1); a gasometria revelou hipoxémia. A Tomografia Axial Computorizada (TAC) toracoabdominal revelou extensas áreas de fibrose em ambos os pulmões mais evidentes nos lobos inferiores, múltiplas adenopatias mediastino-hilares, e não documentou alterações abdominais (figura 2). A Broncofibroscopia (BFO) revelou árvore brônquica permeável com granulomas dispersos da parede. Foram realizados: a) lavado



Figura 1 – Telerradiografia do tórax: “opacidades de predomínio reticular e micronodular, dispersas em ambos os hemitórax com predomínio nas regiões para-hilares e basais”.

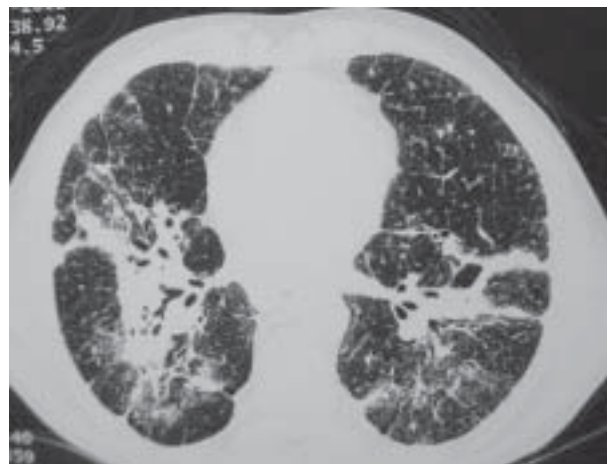


Figura 2 – TAC torácica: “extensas áreas de fibrose em ambos os pulmões mais evidentes nos lobos inferiores, múltiplas adenopatias mediastino-hilares”.

broncoalveolar (LBA) que revelou alveolite linfocítica (170 células/mm^3 com 50% de linfócitos e 50% de macrófagos) com relação CD4/CD8 elevada (7,64); b) aspirado brônquico, cujo esfregaço revelou “células ciliadas reacionais, células inflamatórias e PMN, ausência de células neoplásicas, pesquisa de micobactérias negativa”; c) escovado cujo esfregaço revelou “células brônquicas ciliadas reacionais, células inflamatórias, macrófagos e metaplasia epidermóide com displasia ligeira”; d) biópsia pulmonar cujo estudo anatomo-patológico revelou “fragmentos de parênquima pulmonar justabrônquico mostrando numerosos granulomas epitelióides, não necrotizantes e com células gigantes tipo multinucleadas de Langhans, escassa coroa linfocitária e sem resposta inflamatória exuberante de parênquima pulmonar. Estas características apontam para sarcoidose. Fragmentos colhidos no brônquio lobar médio correspondem a epitélio respiratório sem alterações”; realizou ainda ecografia abdominal e endoscopia digestiva alta que se revelaram normais. ECG sem alterações.

Quadro I – Estudo funcional respiratório: evolução

2002	Março	Mai	Outubro
CVF	58	63	67
VEMS	52	48	55
IT	65	65	67
DEMA			83
DEM 50	14	18	22
R	165	259	192
VR	95	118	103
DLCO	diminuído	diminuído	



Figura 3 - Telerradiografia do tórax: “em ambos os andares médios e inferiores, múltiplas imagens em estria – lesões fibróticas”.

Foi submetido a mediastinoscopia de Carlens com “exploração das grandes cadeias ganglionares peritraqueais e biópsias destas”. Foi observada a “presença de múltiplas adenopatias, de tom amarelo palha, sugestivas macroscopicamente de sarcoidose”. O estudo histopatológico da peça operatória revelou: “numerosos granulomas epitelióides não necrotizantes e hialinizantes – sarcoidose”.

Inicia terapêutica com metilprednisolona oral (1 mg/kg/dia), associada a terapia inalada (fluticasona 500 mg 2id e salmeterol 50mg 2id). Aos 6 meses de evolução, apresenta-se assintomático. Foi realizado estudo laboratorial e imagiológico para reavaliação, que revelou: hemograma,

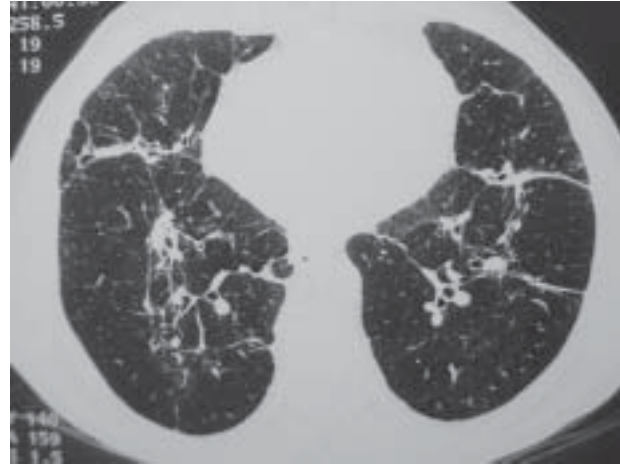


Figura 4 - TAC torácica: “evidentes alterações de fibrose, com distorções vasculares, mais evidentes nos segmentos inferiores dos lobos superiores e nos lobos inferiores, no entanto melhoria das áreas de densificação parenquimatosa grosseira em relação ao exame anterior, adenopatias na loca de Baretty e subcarínicas”.

bioquímica sérica, sumária de urina e Imunoglobulinas séricas dentro dos parâmetros da normalidade; VS 7mm; SACE 15 U/L; Anticorpos antinucleares negativos; Marcadores reumáticos e tumorais negativos; PCR negativa. A telerradiografia do tórax revelou “em ambos os andares médios e inferiores, múltiplas imagens em estrias - lesões fibróticas” (figura 3). O Estudo Funcional Respiratório revelou padrão ventilatório misto (quadro 1) e a gasometria não apresentou alterações. A TAC toracoabdominal revelou “evidentes alterações de fibrose, com distorções vasculares, mais evidentes nos segmentos inferiores dos lobos superiores e nos lobos inferiores, no entanto melhoria das áreas de densificação parenquimatosa grosseira em relação ao exame anterior, adenopatias na loca de Baretty e subcarínicas; sem alterações abdominais” (figura 4). A BFO realizada não demonstrou alterações morfológicas, tendo sido realizados: a) LBA – alveolite linfocítica com relação CD4/CD8 de 4,81 e b) Aspirado brônquico com pesquisa de

micobactérias negativa. Manteve corticoterapia sistêmica, mantendo-se assintomático.

DISCUSSÃO

Neste caso, o correcto enquadramento clínico da dispneia sibilante conduziu ao diagnóstico de sarcoidose, que é uma doença granulomatosa sistêmica de etiologia desconhecida¹. Os estudos epidemiológicos disponíveis, em paralelo com o esclarecimento do tipo de resposta inflamatória, permitem propor que a doença resultará da exposição a agente ambiental específico em indivíduo geneticamente susceptível, com o desenvolvimento duma resposta imune celular exagerada conduzindo à formação de granulomas. Sendo a raça um factor de risco reconhecido e atendendo à descrição de casos em agregados familiares, é de admitir a importância dos factores genéticos na etiopatogenia da sarcoidose. A análise HLA das famílias afectadas sugere uma transmissão genética poligénica, em que os génotipos mais frequentemente encontrados foram HLA-A1 e HLA-B8 da classe I e HLA-DR3 da classe II^{2,3}. Quanto ao antigénio implicado têm-se acumulado várias hipóteses propondo o envolvimento de agentes ambientais, ocupacionais ou infecciosos, sem no entanto nenhuma ter sido comprovada^{1,4}. Neste caso não se documentou antecedentes familiares de sarcoidose, nem suspeita de agente ambiental suspeito.

Apesar de a etiologia da sarcoidose permanecer desconhecida, esta doença é caracterizada por eventos imunopatológicos identificados⁴, tratando-se de uma reacção mediada por células. Sumariamente, ocorre uma acumulação sistêmica de células T activadas, predominantemente expressando o fenótipo CD4, e macrófagos. O evento imunopatológico final é a formação de granuloma, em resposta a estímulo específico que induz uma resposta local mediada por células T tipo Th₁, o qual,

por ser persistente, resulta na estimulação crónica de macrófagos, cujos mediadores inflamatórios libertados perpetuam a acumulação de células Th₁, contribuindo para a estrutura do granuloma. A resposta Th₁ persistente tem sido associada à fibrose que ocorre na sarcoidose, enquanto que um desvio para Th₂ tem sido associada à resolução do granuloma com ou sem fibrose. Permanecem por esclarecer os mecanismos imunológicos da progressão e da resolução da doença.

A distribuição dos granulomas sarcóides é sistêmica, com localizações predominantes nos gânglios linfáticos, pulmão, fígado, baço e pele, podendo qualquer órgão estar atingido. Apesar da etiologia desconhecida e da diversidade de apresentação clínica, a sarcoidose é uma doença com abordagem diagnóstica consensual¹, obedecendo ao cumprimento de três critérios: apresentação clínica e radiológica compatível; evidência histológica de granulomas não caseosos e exclusão de outras doenças granulomatosas.

Apresentação clínica e radiológica A apresentação clínico-radiológica depende de factores como a raça, a duração da evolução da doença, o local e extensão da doença e a actividade do processo granulomatoso. Neste doente, o quadro clínico caracterizou-se por rebate constitucional insidioso, tal como pode ocorrer com 1/3 dos doentes e manifestação pulmonar grave. O envolvimento pulmonar ocorre em 90% dos doentes, ainda que apenas 40 a 60% tenham sintomatologia respiratória (dispneia, tosse seca, desconforto torácico e ocasionalmente hemoptises). A tradução radiológica do envolvimento intra-torácico é definida em cinco estádios (quadro 2). Este doente apresentava um envolvimento pulmonar bilateral, poupando o mediastino, enquadrando-se num estádio III. A radiologia convencional não foi concordante com a TAC, uma vez que demonstrava o envolvimento mediastínico, além de caracterizar a natureza do envolvimento pulmonar, descrevendo extensas áreas de fibrose. A sarcoidose apresenta um

Quadro II – Estadiamento. Classificação em função dos achados radiológicos (radiologia convencional)

Estádio	Características
0	Telerradiografia do tórax normal
I	Linfadenopatia hilar bilateral
II	Linfadenopatia hilar bilateral e Infiltrado pulmonar
III	Infiltrado pulmonar (sem Linfadenopatia hilar bilateral)
IV	Fibrose pulmonar

conjunto de parâmetros laboratoriais e funcionais que não são diagnósticos *per se*, mas que têm valor no diagnóstico diferencial, e também como marcadores de actividade e/ou gravidade da doença. O hemograma pode revelar anemia e/ou leucopenia, a VS habitualmente está elevada e observa-se uma hipergamaglobulinémia policlonal, a qual traduz a activação policlonal dos linfócitos B; a hipercalcúria com ou sem hipercalcémia quando presente indica actividade do granuloma e resulta da alteração da produção de 1,25-(OH) 2-D3 (calcitriol) pelas células de Langhans, podendo consequentemente resultar em envolvimento renal. O SACE elevado⁴ tem uma sensibilidade diagnóstica de 57% e especificidade de 91%, não tendo deste modo valor diagnóstico pois pode ocorrer em muitas patologias. No entanto valores superiores a pelo menos o dobro do normal são raros noutras doenças⁵. Neste doente, os parâmetros laboratoriais encontrados foram o aumento da VS e do SACE e a hipergamaglobulinémia policlonal. A avaliação funcional respiratória traduziu o que habitualmente ocorre nesta patologia: síndrome restritivo com diminuição do DLCO, com componente obstructivo nos casos de sarcoidose endobrônquica, o que foi evidenciado neste doente pela observação de granulomas endobrônquicos na BFO. O LBA apresentou uma alveolite linfocítica com uma relação CD4/

/CD8 elevada (normal – 1,2 a 1,6:1), o que se encontra neste caso. Costabel⁶ descreve que a relação CD4/CD8 > 3,5 tem uma sensibilidade de 53%, especificidade de 94%, VPP 76% e VPN 85%, no diagnóstico de sarcoidose.

Neste doente não se evidenciou o envolvimento extra-pulmonar, o qual poderia ser variável: adenopatias (móveis e não dolorosas) em 32% dos casos; hepatomegália em 27% dos casos, usualmente anomalias da função hepática sem repercussão como hipertensão portal ou insuficiência hepática, ainda que em dados anatomo-patológicos de autópsias o envolvimento hepático atinja 50 a 80% dos casos; lesões cutâneas em 23% dos casos; uveíte (17%); envolvimento dos nervos periféricos (15%); esplenomegália, habitualmente mínima (13%); artrite (10%); atingimento cardíaco, o qual pode manifestar-se com um espectro amplo, variando de arritmias até morte súbita (5%); aumento das glândulas salivares (5%); edema da mucosa nasal (5%) e paralisia facial (2%). A pele encontra-se envolvida em 25% dos casos, sendo duas as manifestações cutâneas clinicamente importantes e facilmente reconhecíveis: eritema nodoso e lupus pernio, sendo o eritema nodoso a lesão major da sarcoidose aguda.

Evidência histológica de granulomas não caseosos A confirmação histológica da doença é fundamental. O local para a realizar a biópsia é variável e decorre da apresentação clínica, sendo possível a biópsia de parênquima pulmonar (transbrônquica ou a céu aberto), pele, lábios ou gânglios linfáticos, mediastínicos ou periféricos. O estudo histopatológico das biópsias realizadas neste doente, pulmonar (transbrônquica) e ganglionar mediastínica, comprovou a presença de granulomas não caseosos sugestivos de sarcoidose. Os granulomas sarcóides são caracteristicamente granulomas de células epitelióides, compactos e não caseosos, cuja porção central consiste em linfócitos T CD4, rodeados de linfócitos T CD8. Podem resolver ou sofrer alterações fibróticas com início na periferia

e evoluindo para o centro até terminar em fibrose completa do granuloma sarcóide.

Exclusão de outras doenças granulomatosas. Outras doenças cursam com granulomas (tuberculose, infecções fúngicas, berliose, por exemplo), sendo fundamental a exclusão destas para o diagnóstico de sarcoidose.

ESTADIAMENTO E PROGNÓSTICO

Uma vez feito o diagnóstico é imperativo definir a extensão e gravidade da doença, avaliar a estabilidade/probabilidade de evolução e determinar se o tratamento beneficiará o doente. São aspectos que permanecem controversos, uma vez que a expressão clínica, a história natural e também o prognóstico da sarcoidose são muito variáveis, não estando definidos marcadores preditivos de evolução e prognóstico da doença. Há poucos estudos que analisam a história natural da doença, e a maioria é confundida com o uso de corticoterapia, alterando eventualmente o curso natural da doença.

Actualmente, o estadiamento baseia-se na apresentação radiológica do envolvimento pulmonar (quadro 2), proposto por Wurm em 1958 e que tem vindo a ser adoptado como indicador de prognóstico. No entanto tal não é satisfatório pois não traduz realmente o envolvimento pulmonar, e consequentemente não se correlacionará com a extensão e gravidade da doença. Está descrito que a TAC apresenta uma maior sensibilidade na detecção de granulomas e adenopatias, não alterando o diagnóstico ou tratamento. No entanto, como é documentado neste caso, a radiologia convencional caracteriza este doente num estágio III e a TAC esclarece não só a gravidade do envolvimento pulmonar, como também o envolvimento mediastínico. A cintigrafia com gálio detecta a inflamação pulmonar de qualquer etiologia, mas tem utilidade limitada, quer diagnóstica quer prognóstica, porque

não se correlaciona com a actividade da doença. A avaliação funcional respiratória é importante como parâmetro preditivo da evolução pulmonar.

A evolução dos granulomas para fibrose ou resolução é imprevisível e tal reflecte-se na variabilidade da evolução da doença. Está descrito que 60% dos doentes têm remissão espontânea, quer clínica quer radiológica, em 2 anos, 20% resolvem com tratamento e 10 a 20% evoluem mesmo sob corticoterapia. O que não está esclarecido é a objectividade de indicadores clínicos, laboratoriais e/ou radiológicos da evolução da doença. Há vários factores, quer epidemiológicos, quer clínicos, radiológicos e imunológicos que têm sido associados a melhor ou pior prognóstico.

Factores epidemiológicos¹⁻³ Apesar de ter uma distribuição universal, afectando ambos os sexos, todas as raças e idades, a sarcoidose tem uma incidência variável, registando-se as prevalências mais elevadas na população escandinava e afro-americana. São também os afro-americanos que têm formas de apresentação clínica de pior prognóstico. Além destes factores raciais, tem sido descrito que os factores genéticos, nomeadamente os marcadores HLA reflectem o local de envolvimento e consequentemente o prognóstico. Um estudo realizado em escandinavos sugere um prognóstico favorável relacionado com o haplotipo DR17, enquanto que os haplotipos DR15 e DR16 sugerem pior evolução. Outro estudo realizado em checos e italianos, correlaciona um bom prognóstico com HLA-DR3. Muitos outros estudos têm sido publicados, sem no entanto se ter esclarecido qualquer relação entre o fenótipo HLA e o curso clínico. A doença atinge predominantemente adultos jovens (idade inferior a 40 anos) com um pico entre os 20-29 anos, e tem sido descrito que a idade de início da doença superior a 40 anos é factor associado a pior prognóstico.

Factores clínicos.^{1,2} Também o início e a extensão da doença têm sido correlacionados com a evolução da doença, sendo que o início agudo com eritema

nodoso ou linfadenopatia hilar bilateral assintomática está associado a uma resolução rápida e espontânea em > 80 % dos casos, enquanto que o início insidioso, especialmente com lesões extratorácicas múltiplas pode progredir para fibrose progressiva, pulmonar e de outros órgãos. Também a hipercalcemia tem sido descrita como factor de pior prognóstico. O envolvimento do sistema nervoso central e/ou cardíaco têm sido associados a uma maior mortalidade.

Quanto aos parâmetros radiológicos definidos no estadiamento, está associado a resolução espontânea os doentes do estágio 0 e 55 a 90% dos doentes com estágio I, 40 a 70% dos doentes em estágio II, 10 a 20% dos doentes em estágio III e 0% dos doentes em estágio IV.

O prognóstico para os doentes dos estágios II e III é variável. A radiologia convencional não discrimina realmente a inflamação activa da fibrose, sendo o caso apresentado ilustrativo desse problema, pelo que a definição de estadiamento depende dos sintomas iniciais e compromisso funcional.

Tem sido descrito o bom prognóstico associado à documentação de relação CD4/CD8 elevada (>3,5), bem como à descida destes parâmetros imunológicos². Neste doente, a elevada relação CD4/CD8 no LBA e a sua descida após tratamento, constituem um parâmetro sugestivo de bom prognóstico.

Neste caso o doente apresenta vários factores de mau prognóstico: idade, sexo, ausência de apresentação clínica favorável e gravidade radiológica. Por outro lado apresenta ausência de factores descritos como de mau prognóstico, nomeadamente o envolvimento cardíaco, lesões extratorácicas e hipercalcemia, e apresenta dados imunológicos sugestivos de bom prognóstico,.

Com o progressivo esclarecimento da imunopatogénese da sarcoidose, vários parâmetros genéticos e imunológicos têm sido propostos na identificação destes doentes e seu estadiamento, uma vez

que os parâmetros utilizados são insatisfatórios, como é exemplo este caso. Como já referido os marcadores genéticos propostos são vários e traduzem a heterogenicidade da doença, não constituindo valor uniforme de identificação diagnóstica e prognóstica. Quanto aos parâmetros imunológicos, também não se conhece a sua sensibilidade e especificidade como avaliação prognóstica, mas admite-se a correlação desses mediadores com a actividade da doença. Os marcadores séricos são o SACE, com o valor limitado já referido, e porções extramembranas de receptores de citocinas como o TNF-RI e sIL-2R, bem como do-seamento de citocinas no LBA, tais como TNF- α e IL-2, cuja utilidade permanece aquém da aplicabilidade na prática clínica actual, uma vez que nenhum marcador sérico ou do LBA está validado como preditivo da progressão da doença ou da resposta ao tratamento.

TRATAMENTO

O tratamento adequado da sarcoidose não é conhecido. Sabe-se que a corticoterapia tem benefícios nos efeitos agudos dos granulomas pulmonares, no entanto não se conhecem os seus efeitos na história natural da doença. O tratamento indicado é a corticoterapia (prednisolona) sistémica na dose de 20-40mg/dia, estando indicado no grupo de doentes que beneficiam do tratamento, ou seja aqueles que não têm remissão espontânea e aqueles que não apresentam irreversibilidade. Tal como exposto anteriormente, e inerente à imprevisibilidade e ausência de marcadores preditivos de evolução de doença, a definição de critérios para introdução terapêutica tem sido sobejamente discutida, sendo considerada em sintomáticos com evidência de deterioração funcional e radiológica pulmonar ou doentes com envolvimento extratorácico. Define-se que os assintomáticos com envolvimento pulmonar exclusivo não necessitam

de tratamento. Os doentes com fibrose terão doença irreversível. Um estudo multicêntrico⁷ realizado pela British Thoracic Society propõe que os doentes com sarcoidose pulmonar assintomáticos, mas sem regressão radiológica, após um período expectante de 6 meses, devem ser submetidos a corticoterapia sistémica prolongada, uma vez que estes doentes têm benefício, pelo menos funcional. Descrevem também que 50% dos doentes que nesse período não necessitam de corticoterapia para controlo dos sintomas têm resolução espontânea nesse período.

De acordo com os parâmetros radiológicos, este doente apresentava um quadro sugestivo de fraca resposta ao tratamento (fibrose). A gravidade clínica, quer sintomatológica quer funcional, associada a parâmetros imunológicos indicadores de bom prognóstico, apesar da gravidade radiológica, impuseram a introdução de corticoterapia sistémica, que resultou em melhoria clínico-radiológica e imunológica, evidenciada pela reavaliação aos 6 meses de tratamento.

A resposta clínica ao tratamento foi francamente positiva, caracterizada por resolução sintomatológica acompanhada de melhoria dos parâmetros laboratoriais, designadamente a VS, o SACE e a hipergamaglobulinémia, que normalizaram. Também a BFO não evidenciou alterações, e os parâmetros imunológicos do LBA melhoraram. O estudo radiológico por TAC também evidenciou a resposta positiva ao tratamento, com melhoria da densificação parenquimatosa pulmonar e regressão parcial do envolvimento ganglionar mediastínico. A evolução funcional respiratória não acompanhou a evolução clínica observada. Admitindo que o padrão restritivo será devido a fibrose, não se esperaria grandes melhorias nesta reavaliação funcional; já no componente obstrutivo, descrito como decorrente da presença de granulomas endobrônquicos, seria de esperar melhoria, uma vez que se documentou a regressão de tais granulomas (BFO).

Outro aspecto não consensual relativamente à sarcoidose é a duração do tratamento. Não estando

definida, a evolução clínica continuará a ser um indicador precioso no acompanhamento dos doentes, em cada caso.

FACTORES PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO E DE RESPOSTA AO TRATAMENTO

Os dados que a literatura acumula não são suficientes para esclarecer a história natural da doença, ou melhor, são insuficientes para definir o uso de marcadores de prognóstico, e consequentemente preditivos de resposta ao tratamento, pois não sabemos perante cada doente qual vai ser a sua evolução. Os factores descritos como de bom ou pior prognóstico da evolução da doença, muitas vezes entrecruzam-se no mesmo doente. A propósito deste caso, o qual apresenta dados clínicos, radiológicos e imunológicos díspares em termos de valor preditivo na evolução da doença, exemplifica-se a necessidade de identificação de marcadores imunológicos com uso na prática clínica, particularmente diagnósticos e preditivos da evolução da doença.

Associadamente à compreensão da patogénese da sarcoidose, um dos objectivos dos estudos imunológicos é a identificação de marcadores, como antígenos de superfície e produção de citocinas, que possam ser utilizados na abordagem dos doentes, não só em termos prognósticos, mas também para definir diferentes fases de doença com directo interesse no estadiamento e abordagem terapêutica inerente.

BIBLIOGRAFIA

1. Statement on Sarcoidosis. Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS), the European Respiratory Society (ERS) and the World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG) adopted by the ATS Board of Directors and by the ERS Executive Committee, February 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 736-755.

2. Pasturenzi L, Martinetti M, Cuccia M *et al.* HLA Class I, II and III polymorphism in Italian patients with sarcoidosis. *Chest* 1993; 104: 1170-1175
3. Martinetti M, Tinelli C, Vitèzslav K *et al.* "The sarcoidosis map": a joint survey of clinical and immunogenetic findings in two European countries. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 557-564
4. Comron M, du Bois RM. Immunological mechanisms in sarcoidosis. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 543-554
5. Allen RK. A review of angiotensin converting enzyme in health and disease. *Sarcoidosis* 1991; 8: 95
6. Costabel U. Sensitivity and specificity of BAL findings in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9 (S1): 211
7. Gibson GJ, Prescott RJ, Muers MF *et al.* British Thoracic Society Sarcoidosis study: effects of long term corticosteroid treatment. *Thorax* 1996; 51: 238-247.

Angioedema hereditário em idade pediátrica

Pedro Martins*, Ângela Gaspar**, Graça Pires**, Níla Godinho**,
Mário Morais de Almeida***, José Rosado Pinto****

* *Interno do Internato Complementar de Imunoalergologia*

** *Assistente Hospitalar de Imunoalergologia*

*** *Consultor do Serviço de Imunoalergologia*

**** *Director do Serviço de Imunoalergologia*

Serviço de Imunoalergologia, Hospital de Dona Estefânia, Lisboa

Resumo

O angioedema hereditário é uma doença autossómica dominante, associada a deficiência ou disfunção de C1 inibidor esterase. As manifestações clínicas surgem habitualmente na segunda década de vida, existindo diversos factores precipitantes dos episódios de angioedema, sendo os traumatismos e as infecções os mais frequentes. Os autores apresentam um caso clínico de uma criança do sexo feminino de 6 anos de idade, com diagnóstico de angioedema hereditário do Tipo 2. Discutem-se as diferentes alternativas terapêuticas disponíveis para o tratamento, com particular ênfase na idade pediátrica.

Palavras-chave: angioedema hereditário; terapêutica; criança.

Contacto:

Ângela Gaspar

Serviço de Imunoalergologia

Hospital de Dona Estefânia

Rua Jacinta Marto

1169-045 Lisboa

E-mail: hde.imunoalergo@mail.telepac.pt

Abstract

Hereditary angioedema is an autosomal dominant disease, typified by a deficiency or dysfunction of C1-esterase inhibitor. First manifestation symptoms occurs during the second decade of life and most attacks are associated with trauma or infections. The authors present a case report of a six-year-old girl with a type 2 hereditary angioedema. The treatment of this disease is discussed, emphasizing the paediatric management.

Key-words: hereditary angioedema; therapy; children.

INTRODUÇÃO

Angioedema é um termo utilizado para definir uma situação de edema subcutâneo ou submucoso de instalação súbita e carácter transitório, envolvendo áreas bem delimitadas, não pruriginoso, com sensação dolorosa ou de queimadura. O edema atinge, preferencialmente face, lábios, língua, laringe, mãos, pés e áreas genitais. O compromisso das áreas cervicais, laringe, hipofaringe e língua pode traduzir-se numa situação de extrema gravidade. A bradiquinina, péptido vasoactivo, desempenha um papel fundamental na fisiopatologia do angioedema.⁽¹⁾

Apesar de, segundo alguns autores, existirem referências anteriores de descrições de angioedema, historicamente a que é apontada como a primeira observação data de 1876, da autoria do cirurgião britânico Jonh Milton. Foi no entanto Heinrich Quincke, médico alemão, quem introduziu alguns anos mais tarde o termo de edema angioneurótico num artigo publicado em 1882.⁽²⁾ Em 1888 William Osler, médico canadiano, descreveu aquela que é considerada como a primeira observação de angioedema hereditário,⁽³⁾ doença cuja base bioquímica foi estabelecida em 1963 por Donaldson e Evans.⁽⁴⁾

O angioedema hereditário (AH) é uma doença que constitui a causa de cerca de 2% de todos os casos de angioedema, não estando no entanto convenientemente estabelecida a sua prevalência

que varia, conforme os estudos analisados, entre 1:10000 e 1:150000. Não parece existir um predomínio de sexo ou raça.⁽¹⁾

É uma doença de transmissão autossómica dominante, associada a um defeito ao nível do gene que codifica o inibidor do C1 esterase (C1-INH), localizado no cromossoma 11 (11q11 q13.1). Esta proteína consiste numa α_2 -globulina, da família das serpinas - proteínas inibidoras do soro - sendo produzida na quase totalidade pelos hepatócitos e também pelos monócitos. A função do C1-INH não se encontra limitada à regulação da activação da via clássica, desempenhando um papel importante ao nível dos sistemas de coagulação (inactivação dos factores XIIa, XIIf e XIa), de contacto (inibição da calicreína activada) e fibrinolítico (inibição da acção activadora de C1 pela plasmina).⁽¹⁾ O AH constitui o defeito genético mais frequente do sistema do complemento.

Apesar de alguns doentes apresentarem sintomas na primeira década, esta doença manifesta-se como um angioedema recorrente que tipicamente surge durante a segunda década de vida. O envolvimento da pele é descrito classicamente como não estando associado a urticária. As regiões habitualmente mais afectadas são a face, os membros, particularmente as extremidades distais, e a região genital. Ressalva-se no entanto que poderão desenvolver-se lesões semelhantes às de urticária, que tendem a não ser pruriginosas.⁽¹⁾ Os sintomas gastrintestinais, com o aparecimento de cólica abdominal, vómitos ou

diarreia são outros achados frequentes. As queixas abdominais são de tal modo intensas que existem casos descritos de laparotomias exploradoras.⁽¹⁾ No entanto, dentro das manifestações de AH, a mais temida é o edema da glote que se encontra associado a uma elevada taxa de mortalidade por atraso no diagnóstico e tratamento inadequado. Outra complicação grave é o choque hipovolémico, resultante da depleção do compartimento intravascular secundário ao edema. Em teoria o AH pode afectar qualquer órgão, existindo relatos de envolvimento do sistema nervoso central, pulmões e aparelho urinário.^(1,5,6) Os episódios de angioedema surgem habitualmente na sequência de traumatismos, extracções dentárias, cirurgias e infecções. As crises podem ser precipitadas ainda pelo *stress* psíquico, ingestão de inibidores da enzima de conversão da angiotensina e anticoncepcionais orais.^(1,7,8) As crises duram habitualmente cerca de 2 a 5 dias com resolução espontânea. É comum ocorrer um agravamento durante os períodos menstruais, facto que se encontra associado a uma maior frequência dos episódios de angioedema nas

doentes do sexo feminino a partir da puberdade. A gravidez tem sido associada a uma diminuição dos níveis séricos de C1-INH, mesmo em mulheres que não apresentam qualquer evidência genética de AH.⁽⁹⁾ No entanto, a gravidez não parece aumentar o risco das crises, existindo inclusivamente relatos de uma diminuição da sua frequência.⁽¹⁰⁾ Mais recentemente foi descrita uma nova forma de AH que se pode apresentar durante a gravidez.^(11,12)

A classificação de AH engloba actualmente 3 tipos (tabela 1). O Tipo 1, o mais frequente e que abarca cerca de 85% dos casos, em que ocorre um défice quantitativo de C1-INH. O Tipo 2, que corresponde a cerca de 15% dos casos, está associado a um défice qualitativo (funcional) de C1-INH. Em ambos os casos, AH Tipo 1 e Tipo 2, ocorre redução da fracção C4 do complemento. O AH Tipo 3 é uma patologia ligada ao cromossoma X, que se manifesta só em indivíduos do sexo feminino, pensando-se que a sua expressão se encontre relacionada com a presença de estrogénios; neste caso o doseamento e a função do C1-INH, bem como a fracção C4, são normais.^(1,11,12)

Tabela 1 - Classificação e diagnóstico do angioedema hereditário			
Angioedema	AH Tipo 1	AH Tipo 2	AH Tipo 3
Início (idade)	1. ^a ou 2. ^a década de vida		<1-63 anos
Hereditariedade	Autossómica dominante		Ligada ao X
Predomínio sexo		Não	Feminino
C1-INH	↓	Normal ou ↑	Normal
C1-INH (função)		↓	Normal
C4		↓	Normal
C1	Normal		Normal

No diagnóstico diferencial de AH deve-se ter em conta a existência de angioedemas adquiridos, nos quais podem existir igualmente alterações do C1-INH mas que se encontram associadas a um baixo doseamento de C1. Estas situações, no entanto, não são valorizáveis em idade pediátrica, pois nestes casos a idade de aparecimento dos primeiros sintomas é mais tardia, habitualmente após a quarta década de vida.^(13,14)

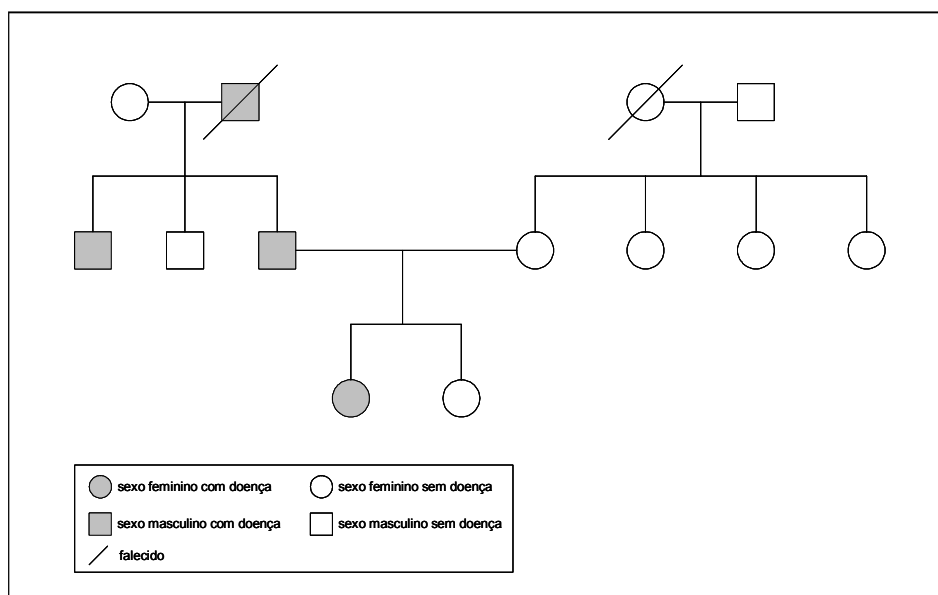
Os autores apresentam um caso clínico de uma criança seguida na Consulta de Imunoalergologia do Hospital de Dona Estefânia, após o qual se discutem as diferentes possibilidades de tratamento actualmente disponíveis em idade pediátrica para esta doença.

CASO CLÍNICO

Criança de 6 anos de idade, sexo feminino, raça caucasiana, sem antecedentes pessoais relevantes. Relativamente aos antecedentes familiares existia uma história de AH Tipo 2 na família paterna (avô,

pai e tio paterno); a árvore genealógica familiar está representada na figura. Desde os dois anos e meio de idade, iniciou episódios recorrentes de edema da face e extremidades, de agravamento progressivo, desencadeados por traumatismos e infecções. A criança referia também queixas frequentes de dor abdominal tipo cólica. Em nenhum destes episódios ocorreu dificuldade respiratória. As queixas regrediam espontaneamente, ou com terapêutica, cerca de 48 horas após o seu início. Na sequência de diversas deslocações ao Serviço de Urgência motivadas pelas queixas descritas, a criança foi referenciada à Consulta de Imunoalergologia. Refira-se que o tratamento administrado no Serviço de Urgência consistia em adrenalina, corticosteróides e antihistamínicos, com regressão da sintomatologia.

Perante o quadro clínico e a história familiar da doente, foram pedidos diversos exames analíticos, destacando-se o estudo do complemento. A doente apresentava hipocomplementémia com actividade hemolítica total (CH100) inferior a $488U_{CH100}/ml$ (V.R: $488-1150U_{CH100}/ml$), fracção C4 de $0.045g/l$



Árvore genealógica familiar

(V.R: 0.15-0.45g/l) e função de C1-INH reduzida (69% do normal). As fracções C1q e C3 apresentavam valores dentro dos parâmetros normais, respectivamente 131mg/l (V.R: 80-150mg/l) e 1.36g/l (V.R: 0.75-1.4g/l). O doseamento do C1-INH era de 703mg/l (V.R: 150-550mg/l). Efectuou também ecografia abdominal que se revelou sem alterações.

Confirmando-se o diagnóstico de AH Tipo 2 foram aconselhadas medidas de prevenção das crises de angioedema, nomeadamente sensibilização dos pais, educadores de infância e colegas sobre a necessidade de evitar traumatismos e prevenção de estados infecciosos. Inicialmente a criança foi medicada com cetirizina 7.5mg/dia por via oral, com aparente controlo da situação. Em Julho de 2003, por aumento da frequência e da intensidade das crises, apresentando mais de um episódio de angioedema e/ou dor abdominal por mês, foi iniciada terapêutica com ácido tranexâmico 500mg/dia por via oral. Desde então nega a ocorrência de novos episódios de cólica abdominal e de angioedema.

Os pais são portadores de um protocolo de urgência para tratamento das crises de angioedema, incluindo kit para auto-administração de adrenalina, e onde consta também o tipo de profilaxia a efectuar.

DISCUSSÃO

O tratamento do AH na infância é uma área controversa em que a atitude terapêutica poderá ter repercussões a médio e longo prazo na saúde da criança, nomeadamente ao nível do seu desenvolvimento. Os antihistamínicos, corticosteróides e adrenalina são tratamentos que resolvem rapidamente situações do tipo de angioedema alérgico mas que apresentam uma eficácia limitada no tratamento agudo do AH.

Existem diversas armas terapêuticas disponíveis para o tratamento do AH, que apesar de serem

consideradas eficazes nenhuma delas é isenta de riscos. A decisão depende do objectivo pretendido: tratar uma crise, profilaxia a curto prazo ou tratamento crónico (tabela 2).

Para uma situação aguda, o concentrado de C1-INH é considerado como o tratamento de primeira linha quando disponível.^(1,15-18) A perfusão de C1-INH está formalmente indicada nas crises com envolvimento laríngeo e nas crises abdominais graves. Um nível plasmático de C1-INH inferior a 38% do normal, encontra-se associado a risco elevado de angioedema.⁽¹⁶⁾ Devem ser administradas inicialmente 500U, independentemente do peso, esperando-se uma melhoria na meia hora seguinte. Se após 30 a 60 minutos não ocorrer melhoria deverão ser administradas mais 500U.^(18,19) Raramente são necessárias doses superiores a 1000U numa situação de AH. Tratando-se de um derivado sanguíneo, o risco de aloimunização e infecção não se encontra completamente excluído, apesar de se encontrar bastante diminuído com os critérios actuais de colheita e preparação.^(6,19) Refira-se que o concentrado de C1-INH apresenta um elevado preço, e que só recentemente se encontra disponível em Portugal, comercializado com o nome de Berinert® (Aventis Behring).⁽²⁰⁾ Por esta razão, no caso de não ser possível a sua utilização deverá ser utilizado em alternativa o plasma fresco congelado na dose de 5 a 15ml/kg, que não sendo o tratamento ideal é igualmente eficaz.⁽¹⁾ No entanto o seu uso é discutível devido ao risco de exacerbação paradoxal do angioedema ao fornecer substratos da cascata de coagulação^(1,6) e ao maior risco de transmissão de infecção. O concentrado de C1-INH pode também ser utilizado se necessário na profilaxia a curto prazo, nomeadamente no caso de cirurgias não electivas, quando não foi possível iniciar atempadamente os androgénios modificados, sendo recomendada a administração de 500U, uma a duas horas antes do procedimento.⁽⁶⁾

Relativamente à utilização dos antifibrinolíticos no tratamento agudo, como o ácido-ε-aminocapróico

Tabela 2 - Tratamento do angioedema hereditário		
TRATAMENTO DE CRISE		
FÁRMACO	DOSE	EFEITOS INDESEJÁVEIS
Concentrado C1-INH	500-1000U (25U/kg)	Hipotético risco de infeção / aloimunização
Plasma fresco congelado	2U (5-15ml/kg)	Risco de exacerbação paradoxal Hipotético risco de infeção / aloimunização
Antifibrinolíticos		
- ácido tranexâmico	1g cada 3-4h, por 12 a 15h e depois 3-4 tomas/dia	
- ácido-ε -aminocapróico	3g/m ² ou 100mg/kg ev na primeira hora, seguido de 1g/m ² /h ou 33mg/kg (dose máx. de 18g/m ² /dia)	Rabdomiólise, acidentes trombóticos, alterações gastrintestinais, <i>rash</i> cutâneo, cefaleias, tonturas, insuficiência renal
Adrenalina (1:1000)	0.01ml/kg sc (máx. 0.5ml) Repetir após 20 min. se necessário	Eventuais alterações cardiovasculares
Corticosteróides (prednisolona)	2mg/kg/dose (máx. 60mg) cada 4-4h	Praticamente isentos de efeitos secundários quando utilizados no tratamento agudo
PROFILAXIA A CURTO PRAZO (antes de procedimentos estomatológicos, endoscópicos ou cirúrgicos) (outras situações: viagens, férias)		
FÁRMACO	DOSE	EFEITOS INDESEJÁVEIS
Androgénios modificados (danazol)	200-600mg/dia nos 5 dias anteriores e nos 3 dias posteriores	Praticamente isentos de efeitos secundários quando utilizados na profilaxia a curto prazo
Antifibrinolíticos - ácido tranexâmico - ácido-ε -aminocapróico	(não indicados em caso de procedimento cirúrgico)	Rabdomiólise, acidentes trombóticos, alterações gastrintestinais, <i>rash</i> cutâneo cefaleias, tonturas, insuficiência renal
Concentrado de C1-INH	500U (25U/kg) antes do procedimento	Hipotético risco de infeção / aloimunização
Plasma fresco congelado	5-15ml/kg antes do procedimento	Hipotético risco de infeção / aloimunização

Continua

Continuação		
PROFILAXIA A LONGO PRAZO (pelo menos 1 episódio com perigo de vida) (> 1 episódio por mês)		
FÁRMACO	DOSE	EFEITOS INDESEJÁVEIS
Androgénios modificados (danazol)	Iniciar com 600 mg/dia, diminuindo até alcançar a dose mínima eficaz (pode chegar a 100 mg cada 3 dias) 20-30mg/kg/dia (máx. 800mg)	Atraso de crescimento, virilização, alterações do comportamento, dislipidémias, hipertensão arterial, intolerância à glicose, eritrocitose, hepatotoxicidade, tumores hepáticos
Antifibrinolíticos - ácido tranexâmico - ácido- ϵ -aminocapróico	- 0.5 a 2g/dia - 0.5 a 10g/dia. Pode ser necessária dose superior no início do tratamento (18g/dia)	Rabdomiólise, acidentes trombóticos, alterações gastrointestinais, <i>rash</i> cutâneo, cefaleias, tonturas, insuficiência renal

(ϵ -ACA) e o ácido tranexâmico, segundo alguns autores estes medicamentos poderão ser úteis numa situação em que não ocorra perigo de vida. Apesar de não existirem estudos controlados, há relatos de resultados satisfatórios com o ácido tranexâmico, na dose de 1g cada 3-4 horas.⁽⁶⁾ Os antifibrinolíticos são fármacos conhecidos desde o final do século XIX,⁽²¹⁾ que actuam através da inibição do plasminogénio e da plasmina,⁽⁶⁾ existindo evidências da sua utilidade no tratamento do AH desde a década de setenta.^(21,22) A posologia habitual para o ácido tranexâmico, no tratamento crónico, é de 500mg a 2g por dia.^(6,18) Relativamente ao ϵ -ACA, a posologia no tratamento crónico não se encontra bem estabelecida podendo chegar na criança aos 18g por dia nos primeiros dias de tratamento, com redução progressiva para a dose diária de manutenção de 7 a 10g, repartida em 3-4 tomas.^(1,21) Outros autores defendem esquemas terapêuticos com doses inferiores de ϵ -ACA, com doses de 2g por dia durante 3 meses com intervalos de 6 meses⁽²³⁾ ou de 0,5 a 1g por dia.⁽⁵⁾ Com as doses referidas não foram

observados os efeitos secundários associados a estes fármacos, dos quais se destacam o risco de rabdomiólise e o de acidentes trombóticos. Estes tendem a ocorrer com doses elevadas, sendo observados com mais de 30g para o ϵ -ACA.⁽²¹⁾ Por este motivo recomenda-se uma vigilância clínica e laboratorial com especial atenção às queixas musculares, e doseamentos de CPK e aldolase regulares.^(18,21) O risco de trombose implica a interrupção desta terapêutica em caso de intervenção cirúrgica. A utilização dos antifibrinolíticos parece ser mais bem sucedida no tratamento do angioedema adquirido do que no angioedema hereditário onde o tratamento com androgénios modificados é mais eficaz.^(1,24) O receio dos efeitos secundários dos androgénios modificados, tem levado no entanto a considerar os antifibrinolíticos como primeira linha na criança.^(1,18) Estes medicamentos poderão ser úteis na profilaxia a curto prazo.⁽⁹⁾ O ϵ -ACA encontra-se comercializado com o nome de Epsicaprom® (Laboratórios Bial). De acordo com a informação contida no Resumo das Características do

Medicamento a dose diária total na criança não deverá exceder os 18g/m². O ácido tranexâmico não se encontra na actualidade disponível em Portugal.

Os androgénios modificados, como o danazol, estanozolol, metiltestosterona e oxandrolona são fármacos disponíveis há várias décadas. São substâncias semelhantes à testosterona mas que foram modificadas no sentido de serem menos androgénicas e mais anabólicas.⁽²⁵⁾ Este potencial anabólico tem sido utilizado no tratamento de diversas patologias e também tem sido alvo de utilização indevida por atletas de modo a conseguirem um melhor desempenho durante as competições. O danazol é dos androgénios modificados o mais utilizado, encontra-se comercializado com o nome de Danatrol[®] (Sanofi-Synthelabo). Apesar do seu mecanismo de actuação não estar completamente esclarecido, pensa-se que a actuação dos androgénios modificados no AH seja devido à sua actividade anabólica que conduz a um aumento de produção de C1-INH.^(2,25,26) É um fármaco bastante eficaz tanto na profilaxia a curto prazo como no tratamento crónico, com resultados mais satisfatórios do que os conseguidos com os antifibrinolíticos. Infelizmente, os androgénios modificados encontram-se associados a efeitos secundários graves como atraso de crescimento, virilização, alterações do comportamento, dislipidémias, hipertensão arterial, intolerância à glicose, eritrocitose, hepatotoxicidade e os temidos tumores hepáticos, que podem ser tanto benignos como malignos.^(8,25) Por estes motivos deverá ser efectuada, antes do início do tratamento, uma revisão analítica com hemograma, bioquímica completa, marcadores de hepatite viral e uma ecografia abdominal.⁽¹⁸⁾ Após o início do tratamento deverá ser feita uma vigilância do doente com repetição das análises e ecografia abdominal, inicialmente em cada 3 a 4 meses e após 2 anos de tratamento, em cada 6 meses. Em crianças o registo da progressão estatura-ponderal e do desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários não deve

ser descurado, uma vez que nesta faixa etária os efeitos secundários registados encontram-se relacionados com estes dois itens.⁽¹⁸⁾ Não existem relatos de tumores hepáticos em crianças, associados à utilização de androgénios modificados, parecendo existir um efeito dose e tempo dependente.⁽²⁵⁾ Relativamente à dose necessária, o tratamento crónico inicia-se habitualmente com 600mg por dia, podendo ser utilizadas doses superiores, devendo-se ir diminuindo progressivamente até à menor posologia capaz de controlar a doença, que pode chegar aos 100mg em dias alternados.^(1,18) Relativamente ao estanozolol, outro dos medicamentos desta classe mais utilizados no AH, a posologia varia entre os 2 e os 12mg por dia.⁽¹⁾ À semelhança do que se passa com outros medicamentos endocrinológicos, os androgénios modificados não devem ser interrompidos bruscamente. Em situações de profilaxia a curto prazo, como casos de cirurgias electivas ou procedimentos estomatológicos, deverão ser administradas 200 a 600mg por dia nos 10 dias anteriores,^(1,26) ou nos 5 dias anteriores e nos 3 dias posteriores.⁽⁶⁾ Este tipo de profilaxia é eficaz e segura mesmo em crianças, não se encontrando associada aos efeitos secundários relacionados com tratamentos prolongados.⁽⁶⁾

Relativamente a outros tratamentos disponíveis, a possibilidade da heparina ser útil no tratamento de AH não parece confirmar-se.⁽²⁷⁾ Em relação aos antihistamínicos, apesar do principal mecanismo desta doença não ser histamino-dependente e de não existirem evidências conclusivas na literatura do benefício no tratamento do AH, pelo facto de estes fármacos serem praticamente desprovidos de efeitos secundários, a sua utilização diária, em conjunto com a prevenção dos factores desencadeantes de angioedema, poderá ser útil em crianças com formas ligeiras de doença. Salienta-se que a excreção urinária da histamina encontra-se aumentada em cerca de 18% dos doentes com AH, sugerindo a participação da histamina em alguma fase do

mecanismo de angioedema.⁽²⁸⁾ Relativamente à utilização e eficácia relativa de corticosteróides e adrenalina no tratamento agudo, fará algum sentido no contexto do AH já que os primeiros são substâncias aparentadas dos androgénios modificados, enquanto que a adrenalina é um agente vasoconstrictor que poderá contribuir para a diminuição do extravasamento de plasma.

No caso da doente apresentada o diagnóstico foi essencialmente clínico já que existia uma história familiar conhecida de AH Tipo 2; os exames laboratoriais permitiram a confirmação diagnóstica desta forma pouco frequente de angioedema hereditário. Salienta-se a importância do rastreio dos familiares assintomáticos, para detecção precoce da doença e aconselhamento genético.

Actualmente as indicações para iniciar tratamento crónico com antifibrinolíticos ou androgénios modificados, são episódios de angioedema frequentes (um ou mais episódios mensais) ou um episódio com perigo de vida.⁽¹⁸⁾ Nesta criança do sexo feminino decidiu-se iniciar terapêutica diária com ácido tranexâmico, que se revelou eficaz na dose de 500mg, sem qualquer reacção adversa. O ϵ -ACA, antifibrinolítico disponível comercialmente em Portugal, apresenta maior risco de reacções adversas.^(18,21,29) O princípio da utilização de antifibrinolíticos na criança será o de prescrever a dose mínima diária necessária para controlar a doença, tendo em conta a dose máxima na criança e os cuidados já referidos. Caso o tratamento com antifibrinolíticos se venha a revelar ineficaz, estes serão interrompidos e iniciar-se-ão androgénios

Tabela 3 - Protocolo de actuação proposto na criança

Profilaxia a longo prazo

- Antifibrinolíticos: ácido tranexâmico, ou se não disponível ácido- ϵ -aminocapróico
Se ineficaz: androgénios modificados, ou concentrado de C1-INH

Tratamento da crise aguda

1. Crise grave, com envolvimento laríngeo ou crise abdominal grave

- Adrenalina por kit para auto-administração subcutânea, com posterior recurso ao SU
- Internamento em Unidade com condições para entubação endotraqueal ou traqueostomia
- Perfusão do concentrado de C1-INH

Se este não estiver disponível: plasma fresco congelado

2. Crise sem dificuldade respiratória ou dor abdominal intensa

- Maximizar dose da profilaxia utilizada (antifibrinolítico ou androgénio modificado)
- Corticosteróides

Profilaxia a curto prazo

Antes de procedimentos estomatológicos, endoscópicos ou cirúrgicos:

- Androgénios modificados nos 5 dias anteriores e nos 3 dias posteriores ao procedimento, ou
- Perfusão do concentrado de C1-INH, cerca de 60 a 120 minutos antes do procedimento

modificados. Deverão ser tomadas em atenção as ressalvas já enunciadas. Na literatura revista, as doses do danazol no tratamento crónico do AH na criança oscilam entre os 200mg por dia e os 100mg de 3 em 3 dias. Podem ser necessárias doses mais elevadas. Se o tratamento com androgénios modificados for contra-indicado, ineficaz ou surgirem efeitos secundários graves, poderá iniciar-se tratamento crónico com concentrado de C1-INH a cada 4-5 dias.⁽³⁰⁾

Numa situação de crise, com uma forma de apresentação ligeira de angioedema, o tratamento indicado nesta criança será maximizar a dose do antifibrinolítico, corticosteróides, e se necessário adrenalina subcutânea, podendo ponderar-se a utilização de androgénios modificados. Em situações mais graves, com risco de vida nomeadamente com edema da glote, deverá ser administrado concentrado de C1-INH (500-1000U), ou se este não estiver disponível plasma fresco congelado na dose de 5 a 15ml/kg tendo em atenção a possibilidade de exacerbação paradoxal (tabela 3).

Relativamente à profilaxia a curto prazo, a ser iniciada antes da exposição a factores de agravamento previsíveis como traumatismos iatrogénicos, nomeadamente intervenções cirúrgicas e tratamentos estomatológicos, deverá iniciar-se danazol na dose de 200 a 600mg por dia nos 5 dias anteriores e nos 3 dias posteriores ao acontecimento. Caso tal não seja possível, por se tratar de uma situação inesperada ou em doentes com contra-indicação para androgénios, será recomendável administrar concentrado de C1-INH nas doses recomendadas para o tratamento agudo cerca de 60 a 120 minutos antes do procedimento.^(1,15)

BIBLIOGRAFIA

1. Nzeako UC, Frigas E, Tremaine WJ. Hereditary angioedema: a broad review for clinicians. *Arch Intern Med.* 2001;161:2417-29.
2. Quincke H. Über akutes umschriebenes Hautodem. *Monatsh Prakt Dermatol.* 1882;1:129-31.
3. Osler W. Hereditary angioneurotic oedema. *Am J Med Sci.* 1888;95:362-7.
4. Donaldson VH, Evans RR. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema: absence of serum inhibitor of C1-esterase. *Am J Med.* 1963;35:37-44.
5. Fabiana JE, Avigliano A, Dupont JC. Hereditary angioedema. Long-term follow-up of 88 patients. Experience of the Argentine Allergy and Immunology Institute. *Allergol Immunopathol.* 2000;28:267-71.
6. Carugati A, Pappalardo E, Zingale LC, Cicardi M. C1-inhibitor deficiency and angioedema. *Mol Immunol* 2001;38:161-73.
7. Sabroe RA, Black AK. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and angio oedema. *Br J Dermatol.* 1997;136:153-8.
8. Cicardi M, Castelli R, Zingale LC, Agostoni A. Side effects of long-term prophylaxis with attenuated androgens in hereditary angioedema: comparison of treated and untreated patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1997;99:194-6.
9. Frank MM, Gelfand JA, Atkinson JP. Hereditary angioedema: the clinical syndrome and its management. *Ann Intern Med.* 1976;84:580-93.
10. Cohen AJ, Laskin C, Tarlo S.. C1 esterase inhibitor in pregnancy. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;90:412-3.
11. Binkley KE, Davis A III. Clinical, biochemical, and genetic characterization of a novel estrogen-dependent inherited form of angioedema. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:546-50.
12. Bork K, Barnstedt SE, Koch P, Traupe H. Hereditary angioedema with normal C1 inhibitor activity in women. *Lancet.* 2000;356:213-7.
13. Pereira AC, Alendouro P, Lourenço M, Loureiro AC, Ribeiro H, Chieira C, Robalo Cordeiro AJA. Angioedema: défice de inibidor de C1 esterase (C1-INH). *Rev Port Imunoalergol.* 1995;3:11-7.
14. Markovic SN, Inwards DJ, Frigas EA, Phyliky RP. Acquired C1 esterase inhibitor deficiency. *Ann Intern Med.* 2000;132:144-50.
15. Kunschak M, Engl W, Maritsch F, Rosen FS, Eder G, Zerlauth G, Schwarz HP. A randomized, controlled trial to study the efficacy and safety of C1 inhibitor concentrate in treating hereditary angioedema. *Transfusion.* 1998;38:540-9.
16. Visentin DE, Yang WH, Karsh J. C1-esterase inhibitor transfusions in patients with hereditary angioedema. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998;80:457-61.
17. Bork K, Barnstedt SE. Treatment of 193 episodes of laryngeal edema with C1 inhibitor concentrate in patients with hereditary angioedema. *Arch Intern Med.* 2001;161:714-8.
18. Farkas H, Harmat G, Fust G, Varga L, Visky B. Clinical management of hereditary angio-oedema in children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2002;13:153-61.
19. Waytes AT, Rosen FS, Frank MM. Treatment of hereditary angioedema with a vapor-heated C1 inhibitor concentrate. *N Engl J Med.* 1996;334:1630-4.
20. Spínola Santos A. Angioedema - Perfução de C1-inibidor: indicações e conduta. *Rev Port Imunoalergol.* 2003;11:240-4.
21. Frank MM, Sergent JS, Kane MA, Alling DW. Epsilon Aminocaproic Acid Therapy of Hereditary Angioneurotic Edema. A Double-Blind Study. *N Engl J Med.* 1972;286:808 12.
22. Sastre CA, Vereá H, Lahoz F, Perez Guerrero J, Vallejo J. Hereditary angioedema by deficit of C1 esterase. Our experience in 8 cases. *Allergol Immunopathol.* 1979;7:141-6.
23. Madalinski K, Sabbouh K, Chorazykiewicz M, Gregorek H. C1-INH defect as an example of deficiency disease. *Immunol Invest* 1991;20:133-41.
24. Cugno M, Cicardi M, Agostoni A. Activation of the contact sys-

- tem and fibrinolysis in autoimmune acquired angioedema: a rationale for prophylactic use of tranexamic acid. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;93:870-6.
25. Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic androgenic steroids. *Clin Ther.* 2001;23:1355-90.
 26. Hosea SW, Frank MM. Danazol in the treatment of hereditary angioedema. *Drugs.* 1980;19:370-2.
 27. Weiler JM, Quinn SA, Woodworth GG, Brown DD, Layton TA, Maves KK. Does heparin prophylaxis prevent exacerbations of hereditary angioedema? *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:995-1000.
 28. Brickman CM, Frank MM, Kaliner M. Urine-histamine levels in patients with hereditary angioedema (HAE). *J Allergy Clin Immunol.* 1988;82:403-6.
 29. Sastre Castillo A, Vereá H, Lahoz F, Perez Guerrero J, Vallejo J. Hereditary angioedema by deficit of C1 esterase. Our experience in 8 cases. *Allergol Immunopathol (Madr).* 1979;7:141-6.
 30. Bork K, Witzke G. Long-term prophylaxis with C1-inhibitor (C1 INH) concentrate in patients with recurrent angioedema caused by hereditary and acquired C1-inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 1989;83:677-82.