

**PRÉMIO THOMÉ VILLAR/BOEHRINGER INGELHEIM 2002 (SECÇÃO A)\*  
THOMÉ VILLAR/BOEHRINGER INGELHEIM AWARD 2002 (SECTION A)**

## **Suberose e doença dos criadores de aves: estudo comparativo do perfil radiológico, funcional e do lavado broncoalveolar**

### **Suberosis and bird fancier's disease: comparative study of radiological, functional and bronchoalveolar characteristics profile**

ANTÓNIO MORAIS<sup>1</sup>, JOÃO C. WINCK<sup>1</sup>, LUÍS DELGADO<sup>2,4</sup>, MARIA C. PALMARES<sup>2</sup>,  
JOÃO FONSECA<sup>3,4</sup>, JOÃO MOURA E SÁ<sup>5</sup>, J. AGOSTINHO MARQUES<sup>1</sup>.

#### **RESUMO**

A alveolite alérgica extrínseca (AAE) é uma doença intersticial pulmonar de mediação imunológica, resultando da inalação repetida de vários agentes ambientais. Tem sido descrita heterogeneidade da apresentação clínica e do perfil do líquido de lavagem broncoalveolar (LLBA),

#### **ABSTRACT**

Extrinsic Allergic Alveolitis (EAA) is an immunologically mediated interstitial lung disease that may result from repeated inhalation of many different environmental agents. Heterogeneity of the clinical presentation and bronchoalveolar lavage profiles has been described, possibly related

Serviço de Pneumologia<sup>1</sup>,

Serviço de Imunologia<sup>2</sup>,

Serviço de Biostatística e Informática Médica<sup>3</sup>

e Unidade de Imunoalergologia<sup>4</sup>,

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, e Hospital São João, Porto. Serviço de Pneumologia do Hospital Santos Silva, V. N. de Gaia<sup>5</sup>.

\* Vencedor ex-aequo

**Recebido para publicação/Received for publication: 02.11.14**

possivelmente relacionada com diferentes exposições ocupacionais.

O objectivo deste trabalho foi comparar as características clínicas, funcionais, radiológicas e do LLBA de duas das mais frequentes AAE no nosso país: a suberose e a doença de criadores de aves (DCA).

Foram estudados 81 doentes com suberose, com média de idades de  $38,8 \pm 11,3$  anos e exposição média de  $20,0 \pm 10,5$  anos e 32 doentes com DCA, com uma média de idades de  $46,3 \pm 11,8$  anos e exposição média de  $10,5 \pm 1,0$  anos.

Os doentes com DCA apresentavam mais formas agudas, enquanto as formas subagudas e crónicas predominaram na suberose. A síndrome ventilatória restritiva foi o padrão funcional mais frequente, sendo mais severo na DCA. As opacidades em “vidro despolido” foram o padrão mais frequentemente encontrado na tomografia axial computadorizada de alta resolução. A normalidade da radiografia de tórax foi mais frequentemente observada na suberose. Ambos os tipos de AAE tinham alveolite linfocítica no LLBA: suberose –  $6,6 \pm 5,7 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> células,  $58,8 \pm 18,9\%$  linfócitos; DCA –  $9,0 \pm 6,5 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> células,  $61,7 \pm 22,2\%$  linfócitos. Apesar de os linfócitos CD8<sup>+</sup> do LLBA predominarem em ambas doenças, a percentagem de células CD4<sup>+</sup> e a relação CD4/CD8 eram significativamente mais elevadas na DCA (suberose:  $0,47 \pm 0,33$  versus BFD:  $1,1 \pm 1,5$ ;  $p < 0,005$ ). Para além disso, a celularidade do LLBA e o número de mastócitos eram também significativamente mais elevados na DCA.

Em conclusão, a suberose e a doença de criadores de aves são AAE com diferentes perfis clínicos e laboratoriais, sugerindo que, apesar das suas semelhanças fisiopatológicas, diferentes exposições antigénicas podem causar uma diferente dinâmica da resposta imune/inflamatória do pulmão.

REV PORT PNEUMOL 2004; X (1): 63-75

**Palavras-chave:** Lavagem broncoalveolar, TAC-AR, suberose, doença de criadores de aves.

to different occupational exposures. The aim of our study was to compare bronchoalveolar lavage fluid (BALF), clinical, functional and radiological characteristics of the two most frequent forms of EAA seen in our practice: Suberosis and Bird Fancier's Disease (BFD).

We included 81 patients with Suberosis, with a mean age of  $38.8 \pm 11.3$  years and a mean exposure of  $20.0 \pm 10.5$  years and 32 patients with BFD, with a mean age of  $46.3 \pm 11.8$  years and mean exposure of  $10.5 \pm 1.0$  years.

Patients with BFD had more acute forms, while subacute and chronic presentations predominated in Suberosis. Restrictive defect was the most frequent pattern of lung function impairment, and more severe in BFD. Ground glass opacities were the most frequent pattern in high-resolution computed tomography. A normal chest x-ray was more frequently seen in Suberosis. Both types of EAA had lymphocytic alveolitis in BALF: Suberosis –  $6.6 \pm 5.7 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> cells,  $58.8 \pm 18.9\%$  lymphocytes; bird fancier's disease –  $9.0 \pm 6.5 \times 10^5$  ml<sup>-1</sup> cells,  $61.7 \pm 22.2\%$  lymphocytes. Although BALF CD8<sup>+</sup> lymphocytes predominated in both diseases, the proportion of CD4<sup>+</sup> and CD4/CD8 ratios were significantly higher in Bird Fancier's Disease (Suberosis:  $0.47 \pm 0.33$  versus BFD:  $1.1 \pm 1.5$ ;  $p < 0.005$ ). Moreover, BALF cellularity and mast cell counts were also significantly higher in BFD.

In conclusion, Suberosis and bird fancier's disease are EAA with different clinical and laboratory profiles, suggesting that despite their pathophysiological similarities, different antigenic exposures may cause different immune and inflammatory response dynamics in the lung.

REV PORT PNEUMOL 2004; X (1): 63-75

**Key-words:** Bronchoalveolar lavage, HRCT, suberosis, bird fancier's disease.

## INTRODUÇÃO

A alveolite alérgica extrínseca (AAE) ou pneumonite de hipersensibilidade é uma doença granulomatosa do interstício pulmonar. Associa-se à inalação repetida de determinado(s) anti-génio(s) que desencadeia(m) uma reacção de hipersensibilidade em indivíduos sensibilizados<sup>1</sup>.

Esta patologia foi inicialmente descrita por Campbell em 1932, em agricultores expostos a feno com bolor (pulmão do fazendeiro), reconhecendo-se hoje que se pode associar à exposição a uma variedade de antigénios, geralmente orgânicos e de origem fúngica, aviária e bacteriana, mas também substâncias de origem química, como são exemplo os haptenos de baixo peso molecular dos isocianatos<sup>1,2,3</sup>.

A inalação crónica e/ou intensa destas substâncias é o ponto de partida para uma reacção inflamatória de mediação imunológica, envolvendo principalmente a região interstício-alveolar e os bronquíolos terminais<sup>1</sup>. Além da variedade dos agentes etiológicos, verificam-se diferentes formas de apresentação clínica, estando descritas formas agudas, subagudas e crónicas<sup>1,2,3</sup>. O diagnóstico tem por base uma interpretação conjunta das alterações clínicas, radiológicas, função respiratória e testes imunológicos<sup>4,5</sup>. A TAC torácica de alta resolução (TAC-AR)<sup>6</sup> e a lavagem broncoalveolar (LBA)<sup>7</sup> aumentaram consideravelmente a acuidade diagnóstica das várias doenças do interstício pulmonar, incluindo a AAE<sup>8</sup>.

Embora as várias formas de AAE partilhem uma patogenia comum por mediação imunológica, alguns factores, como a natureza do anti-génio e a intensidade da exposição, podem levar a expressões diferentes da doença<sup>3,9</sup>. De facto, o desenvolvimento de formas crónicas da doença pode resultar de uma exposição prolongada a pequenas quantidades de anti-génio, como ocorre frequentemente na doença dos criadores de aves (DCA)<sup>10</sup>. Por outro lado, está descrita

alguma diversidade nas subpopulações linfocitárias do líquido de lavagem broncoalveolar<sup>9</sup> e nas alterações da TAC-AR<sup>11</sup> em diferentes formas clínicas de AAE.

A suberose (SUB) é uma forma de AAE provocada pela inalação repetida de *Penicillium glabrum* (anteriormente designado *P. frequentans*) que contamina a cortiça durante o seu processamento industrial<sup>12</sup>. Ela é especialmente prevalente em Portugal e, conjuntamente com a DCA, representam os tipos de AAE mais frequentes no nosso país.

## OBJECTIVOS

O objectivo do nosso estudo foi a avaliação da apresentação clínica, da função respiratória, do exame radiológico e do estudo imunológico do líquido de lavagem broncoalveolar (LLBA) em doentes com suberose, em comparação com a doença de criadores de aves.

## DOENTES E MÉTODOS

Foram incluídos 113 doentes com AAE, que se distribuíram da seguinte forma:

- a) SUB: 81 doentes (63 homens e 18 mulheres) média de idades de 38,8±11,3 anos
- b) DCA: 32 doentes (20 homens e 12 mulheres) média de idades de 46,3±11,8 anos
- c) Todos os doentes foram referenciados a consultas de doenças respiratórias ocupacionais, apresentando-se na altura sintomáticos e sem terem efectuado terapêutica relevante para a doença, nomeadamente corticóides. A avaliação diagnóstica englobou a realização de provas funcionais respiratórias, radiografia torácica, TAC-AR e LBA.

### **Critérios de diagnóstico**

Após confirmação da exposição na indústria da cortiça ou a aves, o diagnóstico de AAE foi considerado perante a presença das seguintes alterações:

- 1) Tosse e/ou dispneia de esforço, associada a mialgias, fadiga ou emagrecimento.
- 2) LLBA com alveolite linfocítica, representando os linfócitos mais de 22% das células observadas<sup>13</sup>.
- 3) Alterações da função respiratória ou dos exames radiológicos.

- A *forma aguda* foi definida pela presença de sintomas respiratórios e sistémicos que ocorriam algumas horas após a exposição antigénica e que melhoravam alguns dias após a evicção da mesma
- A *forma subaguda* foi considerada quando se observava uma progressão dos sintomas durante dias ou semanas.
- A *forma crónica* quando os doentes apresentavam uma evolução insidiosa dos sintomas respiratórios associados a uma longa e persistente exposição antigénica.

### **Provas funcionais respiratórias**

Os volumes pulmonares estáticos e a capacidade de difusão pulmonar (DLCO) pelo método de *single-breath* foram efectuados por pletismografia corporal (6200 Autobox DL, SensorMedics, Yorba Linda, USA), e os volumes dinâmicos por pneumotacógrafo (Vmax229, SensorMedics, Yorba Linda, USA), com os doentes sentados, de acordo com o procedimento habitual<sup>14</sup>. Foram usados os valores preditivos de Quanjer e col.<sup>15</sup>.

Foi considerada *alteração ventilatória de tipo restritivo* quando a capacidade vital forçada

(CVF) e/ou a capacidade pulmonar total (CPT) eram menores de 80% do valor previsto, associados a uma relação do volume expiratório máximo por segundo (VEMS)/CVF normal (> 80%); e *alteração ventilatória de tipo obstructivo* quando se observava uma diminuição do VEMS < 80% associada a uma diminuição da relação VEMS/CVF < 80% ou um volume residual (VR) aumentado > 120%.

### **Tomografia axial computadorizada com cortes de alta resolução**

A tomografia axial computadorizada com cortes de alta resolução foi efectuada por um modelo 9800 scanner (GE Medical Systems, Milwaukee, Wis) em 51 (63%) doentes com SUB e 27 (84%) com DCA. Para cada um dos doentes foram obtidos cortes de 1 a 5 mm, com intervalos de 10 mm, usando 120 kw e 40 mA. Foram definidos 3 padrões predominantes: vidro despolido, reticular ou reticulonodular e fibrose. A classificação foi efectuada pelos autores (AM e JMS) e um radiologista, todos com experiência em doenças do interstício pulmonar.

### **Broncofibroscopia com lavagem broncoalveolar**

A realização da LBA, assim como o seu processamento, foram efectuados segundo as recomendações do *European Society of Pneumology Task Group on BAL*<sup>16</sup>. Resumidamente, a LBA foi realizada num dos brônquios subsegmentares do lobo médio ou da língula, utilizando 4 x 50 ml de soro fisiológico tamponado a 37°, aspirando suavemente o líquido após cada instilação. As 3 últimas amostras recuperadas foram homogeneizadas e determinada a celularidade total (câmara de Neubauer), e a viabilidade (exclusão do azul de tripano). A contagem diferencial de 500 células

realizou-se em preparações de citocentrífuga (Wright-Giemsa). Procedeu-se ao estudo das subpopulações linfocitárias, por citometria de fluxo, após coloração com marcadores de linfócitos T (CD2+), B (CD19+), T auxiliares (CD4+) e supressores ou citotóxicos (CD8+).

### Análise estatística

A análise estatística foi efectuada pelo programa SPSS®-Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL). Foi predominantemente usada a análise descritiva simples e os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e as frequências como n (%), excepto em alguns casos, que foram devidamente assinalados. As diferenças entre os dois grupos (SUB e DCA) foram analisadas utilizando testes não paramétricos. Para estudar a relação entre variáveis categóricas utilizamos os testes de Fisher e o qui-quadrado de Pearson. A comparação entre variáveis independentes contínuas com grupos de doentes foram analisadas com teste de Mann-Whitney's U, e para as variáveis independentes múltiplas com o teste Kruskal-Wallis. A correlação de Spearman foi usada para comparação entre variáveis contínuas, nomeadamente nos valores de função pulmonar e do LBA. Foram consideradas significativas diferenças superiores a 5%.

## RESULTADOS

### Apresentação clínica

Os 81 doentes com SUB tinham um tempo médio de exposição de  $20,0 \pm 10,5$  anos na indústria da cortiça (predominando broquistas e rabaneadores) e a maioria (74,1%) encontrava-se em actividade. Os doentes que já haviam cessado a exposição na altura do estudo (n=21), apresentavam em média  $14,8 \pm 16,6$  meses de

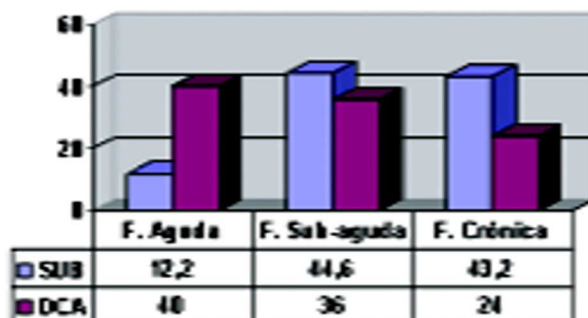


Fig. 1 — Distribuição das formas de apresentação clínica (em %) na suberose (SUB) e doença de criadores de aves (DCA).

afastamento. Dos 81 indivíduos, apenas 7 (9,1%) eram fumadores e 10 (13%) ex-fumadores. Quanto à apresentação clínica, 9 (12,2%) apresentavam a forma aguda, 33 (44,6%) subaguda, e 32 (43,2%) a forma crónica.

Dos 32 doentes com DCA, 84% eram criadores de aves, com um tempo médio de exposição de  $10,5 \pm 1$  anos. A grande maioria (88%) encontrava-se em exposição na altura do diagnóstico. Os restantes 5 indivíduos já se tinham afastado há cerca de  $6,6 \pm 9,8$  meses. Só 2 (6,5%) eram fumadores e 6 (19,4%) ex-fumadores. A forma aguda da doença ocorreu em 10 (40%) doentes, a subaguda em 9 (36%) e a crónica em 6 (24%).

As formas agudas eram mais frequentes em doentes com DCA enquanto que os casos com SUB apresentavam geralmente formas subagudas ou crónicas ( $p=0,006$ ) (Fig. 1). Por sua vez, os doentes com SUB tiveram um tempo de exposição significativamente mais longo ( $20,0$  versus  $10,5$  anos,  $p<0,001$ ).

### Radiologia

A radiografia do tórax era normal em 22,7% dos doentes com SUB e apenas em 3,2% dos

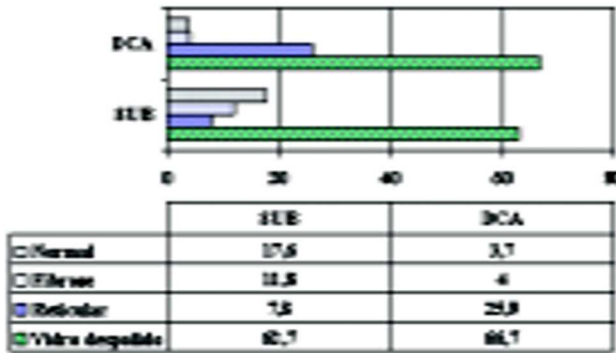


Fig. 2 — Alterações radiológicas (TAC-AR) mais frequentes (em percentagem) encontradas na SUB (suberose) e doença de criadores de aves (DCA).

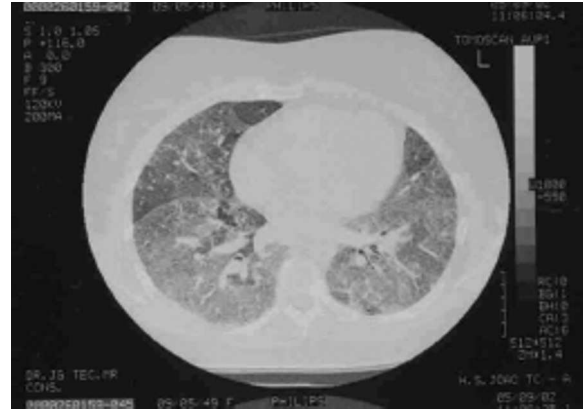


Fig. 3 — TAC-AR num columbófilo com forma de apresentação aguda e padrão em vidro despolido bilateral.

doentes com DCA ( $p=0,017$ ). De todos os casos com radiografias consideradas normais, 53,8% apresentavam alterações na TAC-AR. A opacificação em ‘vidro despolido’ foi o padrão radiológico mais frequente em ambas AAE (Figs. 2 e 3).

No entanto, as principais diferenças encontradas entre as duas AAE não foram significativas, nem se observaram associações significativas entre os diferentes padrões radiológicos e as diferentes apresentações clínicas.

### Função respiratória

Na SUB verificou-se síndrome ventilatória restritiva em 47,1% dos doentes, síndrome

ventilatória obstrutiva em 5,7% e 30% tinham uma função normal. Na DCA 63,3% dos doentes apresentavam uma síndrome restritiva, 10% uma síndrome obstrutiva e 6,7% não tinham alterações funcionais (Fig. 4).

Não houve diferenças significativas na distribuição dos padrões funcionais respiratórios entre SUB e DCA, nem entre aqueles e as diferentes formas de apresentação clínica. No entanto, na SUB houve significativamente mais doentes com valores de função respiratória normais ( $p=0,018$ ) (Fig. 4).

A DLCO foi, dos parâmetros funcionais estudados, aquele que mais frequentemente se

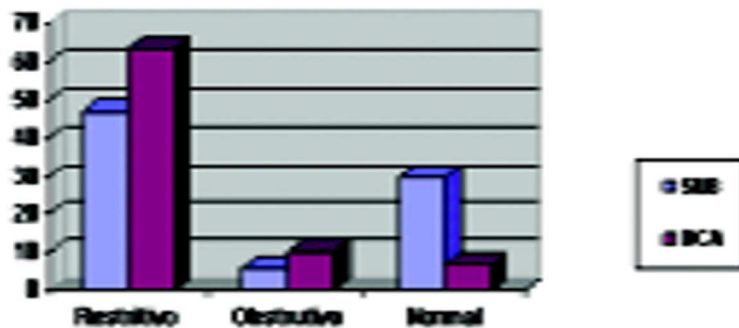


Fig. 4 — Padrões ventilatórios predominantes (em %) nas duas formas de AAE.

encontrou alterado, com 55% dos doentes a terem valores abaixo de 80% do valor previsto: 48,2% na SUB e 70,8% na DCA ( $p=0,03$ ). Foram também encontradas diferenças significativas em relação à CPT ( $p=0,036$ ), VR/CPT ( $p=0,02$ ), DLCO ( $p<0,001$ ) e DLCO/VA ( $p=0,002$ ), com os valores mais baixos na DCA, comparativamente com a SUB (Quadro I)

### Lavagem broncoalveolar

Como pode ser observado no Quadro II, ambos os tipos de AAE tinham alveolite linfocítica intensa (SUB 58,5% *versus* DCA 61,7%,  $p=n.s.$ ) com predomínio de linfócitos CD8+.

Os doentes com DCA apresentavam uma celularidade total mais elevada ( $9,0 \pm 6,5 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ), relativamente à SUB ( $6,0 \pm 5,7 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ ;  $p=0,025$ ). Por outro lado, na DCA verificou-se um valor mais elevado de linfócitos ( $n.^{\circ}$  absoluto,  $p=0,048$ ), linfócitos CD4+ e de mastócitos.

### QUADRO I

Provas funcionais respiratórias nos dois tipos de AAE

	Suberose	DCA	<i>p</i>
<b>CVF % pred</b>	83.8 ± 24.5	76.2 ± 18.6	<b>n.s</b>
<b>VEMS % pred</b>	80.3 ± 26.0	76.3 ± 18.8	<b>n.s</b>
<b>VEMS/CVF</b>	87.9 ± 16.4	89.3 ± 11.6	<b>n.s.</b>
<b>CPT % pred</b>	92.5 ± 17.9	83.7 ± 16.3	<b>0.04</b>
<b>VR/CPT</b>	119.2 ± 38.6	86.9 ± 57.6	<b>0.02</b>
<b>DLCO % pred</b>	83.1 ± 24	60.9 ± 24	<b>&lt;0.001</b>
<b>DLCO/VA % pred</b>	95.2 ± 23.2	76.8 ± 27.7	<b>0.002</b>

Na SUB, a relação CD4/CD8 era significativamente inferior à DCA ( $p=0,002$ ), devido ao aumento acentuado da proporção dos linfócitos CD8+ ( $p=0,004$ ).

Em relação aos doentes afastados da exposição na altura da realização do LBA, a única diferença significativa foi uma menor proporção de linfócitos CD8+ na SUB, respectivamente,  $55,5 \pm 15,5$

### QUADRO II

Dados do LLBA nos dois tipos de AAE

	Suberose	DCA	<i>p</i>
<b>Contagem celular total</b>	$6.6 \pm 5.7 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$	$9.0 \pm 6.5 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$	<b>0.025</b>
<b>Macrófagos</b>	34.4 ± 17.8 %	30.5 ± 21.4%	<b>n.s.</b>
<b>Linfócitos</b>	58.8 ± 18.9 %	61.7 ± 22.2 %	<b>n.s.</b>
<b>Neutrófilos</b>	5.7 ± 7.6 %	4.4 ± 5.7 %	<b>n.s.</b>
<b>Eosinófilos</b>	0.7 ± 1.1 %	1.3 ± 2.3 %	<b>n.s.</b>
<b>Mastócitos</b>	0.04 ± 0.1 %	0.3 ± 0.6 %	<b>0.002</b>
<b>Linfócitos CD4+</b>	23.5 ± 10.6 % $1.0 \pm 1.1 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$	35.0 ± 17.3 % $2.1 \pm 1.5$	<b>&lt;0.001</b> <b>&lt;0.001</b>
<b>Linfócitos CD8+</b>	56.3 ± 13 % $2.5 \pm 6.6 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$	45.8 ± 18.8 % $3.2 \pm 3.7$	<b>0.004</b> <b>n.s.</b>
<b>relação CD4/CD8</b> Mediana [percentis]	0.5 ± 0.3 0.4 [0.2-0.6]	1.1 ± 1.5 0.6[0.4-1.7]	<b>0.002</b>

e  $49,3 \pm 15,1\%$  para expostos e não expostos ( $p=0,012$ ), não se observando diferenças na celularidade total: ( $2,8 \pm 2,9$  e  $2,0 \pm 2,0 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ ,  $p=0,415$ ).

Não foram encontradas diferenças significativas relativamente aos parâmetros do LLBA nos fumadores.

### Relação entre a apresentação clínica e os achados da função respiratória e da radiologia

Nos doentes com apresentação aguda, observou-se uma celularidade total significativamente mais elevada ( $9,9 \pm 7,8$  versus  $6,5 \pm 5,5 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ ,  $p=0,04$ ) e maior número de mastócitos ( $0,23 \pm 0,38$  versus  $0,08 \pm 0,26\%$ ,  $p=0,04$ ). Não se encontraram diferenças significativas em relação à contagem de neutrófilos ( $7,3 \pm 12,3$  versus  $5,1 \pm 5,9\%$ ) ou linfócitos ( $61,6 \pm 19,2$  versus  $58,4 \pm 20,3\%$ ).

No grupo com DCA, verificou-se uma correlação negativa entre a DLCO e a contagem celular total do LLBA ( $r_s = -0,4$ ,  $p=0,03$ ). Neste grupo, os doentes com apresentação aguda (40% de todos os doentes) tinham um número significativamente maior de linfócitos CD8+ no LLBA ( $54,4 \pm 15,8\%$  versus  $34,1 \pm 14,2\%$  e  $5,5 \pm 5,2$  versus  $1,4 \pm 1,1 \times 10^3 \text{ ml}^{-1}$ ,  $p=0,02$ ).

Os doentes com SUB apresentavam diferentes alterações no LLBA em relação aos padrões radiológicos encontrados: os indivíduos com padrão em vidro despolido tinham um número relativo de linfócitos significativamente mais elevado ( $65,8 \pm 16,6$  versus  $51,6 \pm 18,2\%$ ,  $p=0,012$ ), enquanto nos doentes com fibrose o número de mastócitos era significativamente maior ( $0,15 \pm 0,28$  versus  $0,01 \pm 0,04\%$ ,  $p=0,029$ ). Comparando os valores obtidos na avaliação destes doentes com os diferentes intervalos de exposição (<10 anos, 10-20 anos, >20 anos), observámos uma diminuição progressiva da

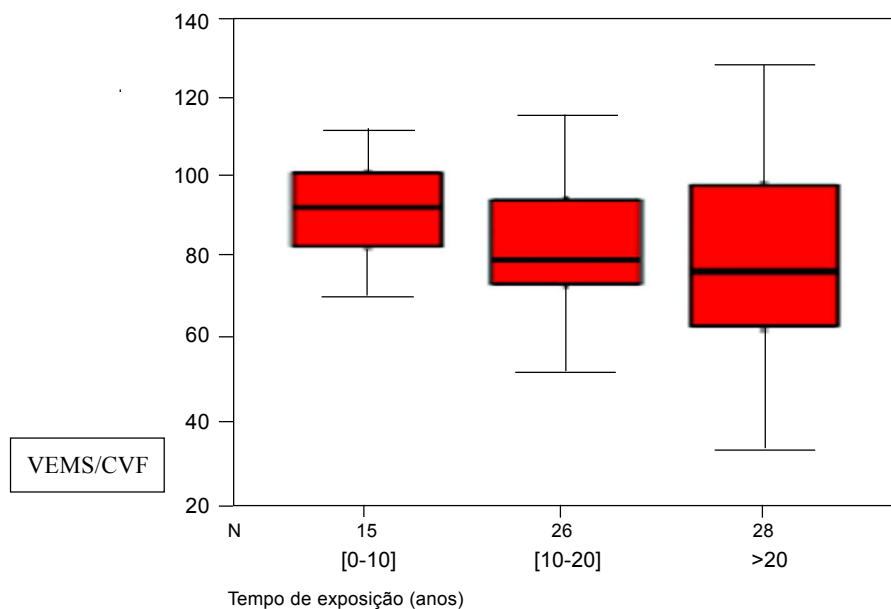


Fig. 5 — Redução progressiva da relação VEMS/CVF com o aumento da exposição na suberose (a linha preta representa a mediana e os extremos das caixas os percentis 25-75).



relação VEMS/CVF ( $p=0,044$ ), celularidade total ( $p=0,001$ ), linfócitos ( $p=0,001$ ), linfócitos CD4+ ( $p=0,002$ ) e CD8+ ( $p=0,001$ ) (Fig. 5).

## DISCUSSÃO

A AAE é uma síndrome complexa, em que a apresentação e a evolução da doença são determinadas por factores externos como intensidade, frequência e tipo de exposição antigénica (antígenos solúveis dos pombos induzem uma resposta menos intensa, comparada com os antígenos particulados dos fungos), gravidade do primeiro ataque e factores intrínsecos ao próprio hospedeiro que controlam a resposta imunológica, nomeadamente os alelos HLA e polimorfismo do gene promotor do TNF $\alpha$ <sup>18-22</sup>.

Neste estudo, os doentes com as duas formas de AAE, tinham distribuições etárias semelhantes (35 a 45 anos) e eram predominantemente do sexo masculino, característica nestas actividades (indústria da cortiça e criadores de aves). Um maior número de doentes com DCA apresentavam a forma aguda, de acordo com a exposição intensa, mas intermitente, geralmente experimentada pelos criadores de aves<sup>3</sup>. Na SUB, a exposição significativamente mais prolongada sugere níveis antigénicos de menor intensidade mas de maior duração<sup>12</sup>, condicionando predomínio das formas subaguda e crónica.

Neste série, com diferentes formas de apresentação clínica, o padrão em 'vidro despolido' foi a alteração radiológica mais frequente na TAC-AR (66,7 e 62,7% respectivamente na DCA e SUB), o que está de acordo com estudos de outras formas de AAE, como na apresentação aguda do pulmão do fazendeiro<sup>23</sup> ou nas formas subagudas e crónicas da DCA<sup>24,25</sup>. Não encontramos diferenças significativas entre os padrões radiológicos e as diferentes formas de apresentação clínica.

Cerca de 1/5 dos doentes apresentavam radio-

grafia e TAC torácicas normais, com maior incidência na SUB. Em outras séries, Hansell et col<sup>26</sup> observaram 18% de doentes com AAE e TAC normal, enquanto Remy-Jardin et col.<sup>25</sup> descreveram 30% de radiografias de tórax normais em doentes com apresentação subaguda da DCA. Foi na SUB que encontramos correlações significativas entre os achados radiológicos e os outros parâmetros estudados: os doentes com TAC torácica normal apresentavam um número significativamente menos elevado de linfócitos e de linfócitos CD8+ do que os indivíduos com anomalias radiológicas, sugerindo uma alveolite menos intensa. Poderão eventualmente corresponder a formas mais leves de AAE, que não induzem alterações radiológicas detectáveis nos exames geralmente efectuados no estudo desta patologia. Exames imagiológicos mais sensíveis, como a depuração pulmonar por 99mTc-DTPA, poderiam determinar se havia envolvimento interstício-alveolar nestes doentes<sup>27,28</sup>. O padrão em 'vidro despolido' apresentou correlação significativa com a proporção de linfócitos no LLBA, de acordo com o que tem sido descrito nos estudos histológicos, onde este padrão está relacionado com infiltração de células mononucleares das paredes alveolares<sup>29</sup>.

Embora na SUB a apresentação crónica seja significativa (43,2% dos doentes), apenas 6 casos (11,8%) tinham padrão 'em favo'. Este dado é inferior ao de algumas séries de AAE com apresentação crónica, em que este padrão radiológico ocorre em 50% em doentes com DCA<sup>25</sup> e em 68% de casos com várias etiologias de AAE<sup>30</sup>. Por sua vez, noutra série de doentes com pneumonite de hipersensibilidade de Verão (*Summer Type Hypersensitivity Pneumonitis*), apenas 20% apresentavam o referido padrão<sup>31</sup>. Curiosamente, no LLBA de doentes com SUB observa-se uma correlação significativa entre a proporção de mastócitos e o padrão de fibrose na TAC-AR, o que está de acordo com o papel desempenhado por estas células na fibrogénese pulmonar<sup>32,33</sup>.

Nesta série, a alteração funcional que revelou

maior sensibilidade foi a diminuição da capacidade de difusão (DLCO). Este resultado é concordante com estudos de doentes com pulmão do fazendeiro, onde a DLCO se revelou um excelente marcador da presença e intensidade da doença<sup>34</sup>. A síndrome ventilatória restritiva mostrou-se claramente predominante; apenas 5,7% dos doentes com SUB e 10% com DCA apresentaram uma síndrome ventilatória obstrutiva. De facto, os doentes com AAE crónica podem desenvolver obstrução brônquica semelhante à do enfisema<sup>18,25</sup>, o que está relacionado com fenómenos de inflamação peribronquiolar, fibrose e/ou bronquiolite obliterativa<sup>35</sup>. Embora não estejamos em presença de um estudo longitudinal, observámos que quanto mais prolongada fosse a exposição ao antigénio, mais significativa era a diminuição da relação VEMS/CVF na SUB<sup>36</sup> (Fig. 5).

Na DCA, as alterações funcionais foram mais frequentes do que na SUB, assim como o padrão restritivo associado à diminuição da capacidade de difusão. Estes resultados, conjuntamente com as alterações do LLBA, que mostram uma alveolite linfocítica mais intensa e uma correlação negativa entre a DLCO e a contagem celular total, sugerem que a DCA induz uma alveolite e uma deterioração funcional mais graves que a SUB.

A média da contagem linfocitária no LLBA > 50% em ambas as patologias confirma a linfocitose intensa, característica das AAE.

Existem vários estudos de fenotipagem linfocitária na AAE<sup>37-41</sup>, alguns dos quais comparam diferentes formas de AAE<sup>9,31</sup>. O presente estudo tem a vantagem de analisar um maior número de doentes com apresentações clínicas diferentes (formas agudas, subagudas e crónicas). No grupo com DCA, observou-se um valor significativamente mais elevado da relação CD4/CD8 relativamente ao grupo com SUB (mediana e [percentis]): 0,6 [0,4-1,7] versus 0,4 [0,2-0,6], respectivamente. Estes resultados sugerem que os doentes com DCA apresentam uma relação

CD4/CD8 mais próxima dos valores normais que outras formas de AAE<sup>3</sup>. De facto, num estudo epidemiológico alargado no Japão, Ando e col.<sup>9</sup>, descreveram uma relação CD4/CD8 de  $2 \pm 0,5$ , num grupo de 19 doentes com DCA.

Na nossa série observamos, também, que nos doentes com DCA e apresentação clínica aguda havia uma proporção significativamente maior de linfócitos CD8+ ( $54,5 \pm 15,8\%$  nas agudas *versus*  $34,1 \pm 14,2\%$  nas não agudas), sem, contudo, alterarem significativamente a relação CD4/CD8 (mediana e [percentis]): 0,6 [0,3-0,8] *versus* 1,2 [0,6-2,5]. Estes resultados divergem da série de 59 doentes com formas agudas de DCA, publicada por Drent et al<sup>42</sup>, na qual se verificava um valor médio de CD4/CD8 superior. A diferente metodologia usada no estudo das subpopulações linfocitárias (imunofluorescência indirecta no estudo de Drent e col. e a citometria de fluxo no nosso) poderá ser responsável por algumas diferenças nos resultados.

Na SUB, a relação CD4/CD8 foi significativamente menor do que na DCA, de acordo com o que foi descrito para a pneumonite de hipersensibilidade de Verão<sup>9</sup>. Por sua vez, a percentagem de linfócitos CD8+, embora aumentada (49,3%), foi significativamente inferior nos doentes afastados da exposição. Estes resultados estão em conformidade com os referidos num estudo de doentes com pulmão do fazendeiro, nos quais os linfócitos CD8+ apresentavam uma tendência decrescente nos que já tinham sido afastados do antigénio<sup>41</sup>. Noutros casos de AAE, Costabel e col., também descreveram uma diminuição daquelas células após a cessação da exposição<sup>43</sup>.

Na nossa série, o consumo tabágico não afectou de forma significativa quer a contagem celular diferencial, quer as subpopulações linfocitárias em ambas as AAE, contrastando com séries de doentes com pulmão do fazendeiro e pneumonite dos humidificadores nos quais foi descrita a influência do consumo tabágico na contagem celular total e na relação CD4/CD8<sup>9</sup>. A pequena

percentagem de fumadores na nossa série poderá justificar os resultados obtidos.

Algumas das diferenças encontradas nas subpopulações linfocitárias do LLBA entre a SUB e a DCA poderão ser explicadas por apresentações clínicas diferentes, existência simultânea de outros produtos inalantes na indústria da cortiça (as próprias partículas da cortiça) e tipo de exposição (contínua na indústria da cortiça *versus* intermitente nos criadores de aves<sup>44</sup>), que poderão influenciar a resposta inflamatória e imunológica do pulmão profundo.

Os mastócitos encontram-se significativamente elevados na DCA, reflectindo provavelmente a percentagem significativa de formas agudas neste grupo<sup>35,45</sup>. Na nossa série, o número de neutrófilos presente no LLBA (Quadro II) foi semelhante nos dois tipos de AAE, sendo no entanto inferior ao geralmente descrito na literatura, e que incluem doentes com formas agudas de DCA<sup>42</sup> ou pulmão do fazendeiro<sup>46</sup>. No entanto, o aumento dos neutrófilos associado a formas agudas de AAE tem sido relacionado com exposições recentes ao antigénio, naturais<sup>42</sup> ou induzidas<sup>47</sup>, o que não é o caso do presente estudo. A média de neutrófilos do LLBA nas formas agudas não se revelou significativamente diferente das formas subagudas ou crónicas, mas apresenta uma variação de valores mais ampla (formas agudas  $7,3 \pm 12,3$  *versus* formas crónicas  $5,1 \pm 5,9\%$ ).

Os eosinófilos, apesar de ligeiramente aumentados, especialmente na DCA, apresentam um valor mais baixo do que o descrito na DCA com formas agudas e exposição recente (< 1 semana)<sup>42</sup>. Na nossa experiência, o aumento do número de eosinófilos está associado a asma ocupacional relacionada com a cortiça, e não com a AAE resultante da mesma exposição<sup>48</sup>.

Em conclusão, nesta série, envolvendo um grande número de doentes, observaram-se diferenças significativas entre os que tinham suberose e os que apresentavam doença de criador de aves no que respeita à apresentação clínica, função

respiratória, radiologia e lavagem broncoalveolar.

A suberose mostra-se uma forma de alveolite alérgica extrínseca com envolvimento radiológico e funcional menos marcado, além de se caracterizar por uma alveolite linfocítica menos intensa, e uma menor relação CD4/CD8. A TAC-AR parece ser mais útil na avaliação do envolvimento radiológico da suberose. Estes doentes, embora com um tempo de exposição geralmente mais prolongado, apresentaram doença com menor gravidade do que aqueles com doença dos criadores de aves. Este facto poder-se-á dever a um reconhecimento mais precoce dos sintomas e referenciação mais rápida, por ser mais fácil estabelecer uma associação causa-efeito entre a doença e a exposição profissional.

Em contraste, os doentes com DCA recorrem a avaliação médica numa fase mais avançada da doença, o que acarreta consequências graves na sua evolução, uma vez que a duração da exposição após o início dos sintomas tem consequências práticas no prognóstico<sup>18</sup>. A DLCO é um parâmetro funcional de grande sensibilidade e muito importante na avaliação da AAE, especialmente na DCA.

Apesar das semelhanças fisiopatológicas entre as estas duas formas de alveolite alérgica extrínseca, a exposição a distintos antigénios parece induzir uma diferente dinâmica da resposta imune/inflamatória do pulmão.

## BIBLIOGRAFIA

1. WILD L, LOPEZ M. Hypersensitivity Pneumonitis: a comprehensive review. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001;11:3-15
2. CORMIER Y, LAVIOLETTE M. Farmer's Lung. *Semin Respir Med* 1993;14:31-36
3. CALVERT J, BALDWIN C, ALLEN A, TODD A, BOURKE S. Pigeon fanciers' lung: a complex disease? *Clinical and Experimental Allergy* 1999;29:166-175
4. SCHUYLER M, CORMIER Y. The diagnosis of Hypersensitivity Pneumonitis. *Chest* 1997; 111:534-536
5. AMERICAN THORACIC SOCIETY. Respiratory Health Hazards in agriculture. *Am J Respir Crit Care Med*

- 1998;158:S1-S76
6. SILVER SF, MULLER NL, MILLER RR, LEFCOE MS. Hypersensitivity pneumonitis: evaluation with CT. *Radiology* 1989;173:441-445
  7. TRENTIN L, FACCO M, SEMENZATO G. Hypersensitivity Pneumonitis. In: Mapp C, ed. *Occupational Lung Disorders*. Vol. 4: European Respiratory Monograph 1999: 301-319
  8. COSTABEL U, GUZMAN J. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2001;7:255-261
  9. ANDO M, KONISHI K, YONEDA R, TAMURA M. Difference in the phenotypes of bronchoalveolar lavage lymphocytes in patients with summer-type hypersensitivity pneumonitis, farmer's lung, ventilation pneumonitis, and bird fancier's lung: report of a nationwide epidemiologic study in Japan. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87:1002-1009
  10. PÉREZ-PADILLA R, SALAS J, CHAPELA R, SANCHEZ M, CARRILLO G, PÉREZ R, SANSORES R, GAXIOLA M, SELMAN M. Mortality in mexican patients with chronic pigeon breeder's lung compared with those with usual interstitial Pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:49-53
  11. ERKINJUNTII-PEKKANEN R, RYTKONEN H, KOKKARINEN J, TUKIAINEN H, PARTANEN K, TERHO E. Longterm risk of emphysema in patient's with farmer's lung and matched control farmers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:662-665
  12. ÁVILA R, LACEY J. The role of *Penicillium frequentans* in Suberosis (Respiratory disease in cork workers). *Clinical Allergy* 1974;4:109
  13. LEBLANC P, BELANGER J, LAVIOLETTE M, CORMIER Y. Relationship among antigen contact, alveolitis, and clinical status in farmer's lung disease. *Arch Intern Med* 1986;146:153-157
  14. OFFICIAL STATEMENT OF THE EUROPEAN RESPIRATORY SOCIETY. Standardized lung function testing. *Eur Respir J* 1993;6:1-100
  15. QUANJER P. Working Party on "Standardization of lung function test". *Bull Eur Physiopatol Respir* 1983;19 (suppl. 5):7-10
  16. KLECH H, HUTTER C. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of the European Society of Pneumology Task Force on BAL. *Eur Respir J* 1990;3:937-974
  17. DAUBER J, WAGNER M, BRUNSVOLD S, PARADIS I, ERNST L, WAGGONER A. Flow cytometric analysis of lymphocyte phenotypes in bronchoalveolar lavage fluid: comparison of a two-color technique with a standard immunoperoxidase assay. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7::531-541
  18. ZACHARISEN MC, SCHLUETER DP, KURUP VP, FINK JN. The long-term outcome in acute, subacute and chronic forms of pigeon breeder's disease hypersensitivity pneumonitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;88:175-182
  19. BOURKE S, BANHAM S, CARTER R, LYNCH P, BOYD G. Longitudinal Course of Extrinsic Allergic Alveolitis in Pigeon Breeders. *Thorax* 1989; 44:415-418
  20. SCHUYLER M. Are polymorphisms the answer in Hypersensitivity Pneumonitis? *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1513-1514
  21. SCHAAF BM, SEITZER U, PRAVICA V, ARIES SP, ZABEL P. Tumor Necrosis Factor alpha-308 promotor gene polymorphism and increased tumor necrosis factor serum activity in Farmer's Lung patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:379-382
  22. CAMARENA A, JUAREZ A, MEJIA M, ESTRADA A, CARRILLO G, FALFAN R, ZUNIGA J, NAVARRO C, GRANADOS J, SELMAN M. Major histocompatibility complex and tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1528-1533
  23. CORMIER Y, BROWN M, WORTHY S, RACINE G, MULLER NL. High-resolution computed tomographic characteristics in acute farmer's lung and in its follow-up. *Eur Respir J* 2000;16:56-60
  24. HANSELL DM, WELLS AU, PADLEY SP, MULLER NL. Hypersensitivity pneumonitis: correlation of individual CT patterns with functional abnormalities. *Radiology* 1996;199:123-128
  25. REMY-JARDIN M, REMY J, WALLAERT B, MULLER NL. Subacute and chronic bird breeder hypersensitivity pneumonitis: sequential evaluation with CT and correlation with lung function tests and bronchoalveolar lavage. *Radiology* 1993;189:111-118
  26. HANSELL DM, MOSKOVIC E. High-resolution computed tomography in extrinsic allergic alveolitis. *Clin Radiol* 1991;43:8-12
  27. BOURKE MP, BANHAM S, J.H. M, BOYD G. Clearance of 99mTc-DTPA in pigeon fancier's hypersensitivity pneumonitis. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:1168-1171
  28. SCHMEKEL B, WOLLMER P, VENGE P, LINDEN M, BLOM-BULOW B. Transfer of 99mTc DTPA and bronchoalveolar lavage findings in patients with asymptomatic extrinsic allergic alveolitis. *Thorax* 1990;45:525-529
  29. LEUNG AN, MILLER RR, MULLER NL. Parenchymal opacification in chronic infiltrative lung diseases: CT-pathologic correlation. *Radiology* 1993;188:209-214
  30. ADLER BD, PADLEY SP, MULLER NL, REMY-JARDIN M, REMY J. Chronic hypersensitivity pneumonitis: high-resolution CT and radiographic features in 16 patients. *Radiology* 1992;185:91-95
  31. YOSHIZAWA Y, OHTANI Y, HAYAKAWA H, SATO A, SUGA M, ANDO M. Chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan: a nationwide epidemiologic survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:315-320
  32. BJERMER L, ENGSTROM-LAURENT A, LUNDGREN R, ROSENHALL L, HALLGREN R. Bronchoalveolar mastocytosis in farmer's lung is related to the disease activity. *Arch Intern Med* 1988;148:1362-1365
  33. DELGADO L, CUESTA C, WINCK JC, SAPAGE JM,

- MOURA E SA J, FLEMING TORRINHA JA. [Suberosis: involvement of bronchoalveolar +mastocytes in the genesis of interstitial involvement]. *Arch Bronconeumol* 1999;35:71-78
34. CORMIER Y, BELANGER J, TARDIF A, LEBLANC P, LAVIOLETTE M. Relationships between radiographic change, pulmonary function, and bronchoalveolar lavage fluid lymphocytes in farmer's lung disease. *Thorax* 1986;41:28-33
35. LAMA M, PÉREZ-PADILLA R. Airflow Obstruction and Airway Lesions in Hypersensitivity Pneumonitis. *Clinics in Chest Medicine* 1993;14
36. ERKINJUNTII-PEKKANEN R, KOKKARINEN J, TUKIANEN H, PEKKANEN J, HUSMAN K, TERHO E. Long-term outcome of pulmonary function in farmer's lung: a 14 year follow-up with matched controls. *Eur Respir J* 1997;10:2046-2050
37. MILBURN HJ. Lymphocyte subsets in hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J* 1992;5:5-7
38. SUDA T, SATO A, IDA M, GEMMA H, HAYAKAWA H, CHIDA K. Hypersensitivity pneumonitis associated with home ultrasonic humidifiers. *Chest* 1995;107:711-717
39. BAUR X. Hypersensitivity pneumonitis (extrinsic allergic alveolitis) induced by isocyanates. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:1004-1010
40. SEMENZATO G, AGOSTINI C, ZAMBELLO R, TRENTIN L, CHILOSI M, PIZZOLO G, MARCER G, CIPRIANI A. Lung T cells in hypersensitivity pneumonitis: phenotypic and functional analyses. *J Immunol* 1986;137:1164-1172
41. CORMIER Y, BELANGER J, LEBLANC P, HÉBERT J, LAVIOLETTE M. Lymphocyte subpopulations in Extrinsic Allergic Alveolitis. *Ann NYAc Sci* 1986;465:370-377
42. DRENT M, VAN VELZEN-BLAD H, DIAMANT M, WAGENAAR SS, HOOGSTEDEN HC, VAN DEN BOSCH JM. Bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis: effect of time elapsed since antigen exposure. *Eur Respir J* 1993;6:1276-1281
43. COSTABEL U, BROSS KJ, MARXEN J, MATTHYS H. T-lymphocytosis in bronchoalveolar lavage fluid of hypersensitivity pneumonitis. Changes in profile of T-cell subsets during the course of disease. *Chest* 1984;85:514-522
44. MCSHARRY C, ANDERSON K, BOYD G. A review of antigen diversity causing lung disease among pigeon breeders. *Clin Exp Allergy* 2000;30:279-289
45. HASLAM PL, DEWAR A, BUTCHERS P, PRIMETT ZS, NEWMAN-TAYLOR A, TURNER-WARWICK M. Mast cells, atypical lymphocytes, and neutrophils in bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis. Comparison with other interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:35-47
46. CORMIER Y, BELANGER J, LEBLANC P, LAVIOLETTE M. Bronchoalveolar lavage in farmers' lung disease: diagnostic and physiological significance. *Br J Ind Med* 1986;43:401-405
47. REYNOLDS SP, JONES KP, EDWARDS JH, DAVIES BH. Inhalation challenge in pigeon breeder's disease: BAL fluid changes after 6 hours. *Eur Respir J* 1993;6:467-476
48. WINCK JC, DELGADO L, VANZELLER M, GUIMARAES T, TORRES S, SAPAGE JM. Broncho-alveolar inflammation in cork worker's asthma. *Allerg Immunol (Paris)* 2002;34:199-203