REV PORTPNEUMOL IV (4): 375-386

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

0 Hialuronano no lavado broncoalveolar, urn marcador de dos fibroblastos, reflecte a intensidade da

intersticial na Suberose·

Hyaluronan in bronchoalveolar lavage, a marker of pulmonary fibroblast activation, reflects the interstitial inflammation in Suberosis

LUIS DELGADO••. JOAO CARLOS WINCK.•• • JOSE MANUEL SAI'AGEu•. JOSE AUGUSTO FLEMING TORR!NHA**

RESUMO

0 Hialuronano (ou Acido Hialuronico) e um
glicosaminoglicano presente na matriz intersticial do
pulmio. sendo produzido por fibroblastos ap()s
diversos estimulos inflamatorios. 0 seu aumento no
lavado broncoalveolar (LBA) tem sido descrito em diversas patologias pulmonares humanas e experi-mentais que evoluem para a fibrose e relacionado com a de fibroblastos.

ABSTRACf

Hyaluronan (hyaluronic acid) is a glycosamino-glycan present in the interstitial lung matrix, and produced by activated fibroblasts stimulated by several inflammatory mediators. The increase of hyaluronan in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) has been described in several experimental and human fibrotic lung diseases and associated with fibroblast activation.

Trabalho entregue a concurso ao Pn!mio Thome Villar 1996. da Sociedade Portuguesa de Pneumologia
de lmunologia, Faculdadc de Medicina c Hospital deS. Joclo. Pono (Director: Prot: Doutor JA Flemmg Torrinha)
••• Consulta de Profissionais de Causa lnalat6ria, Dcpanamento de Pneumologia. Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia
(Director: Or. A Ramalho de Almeida)

Recebido para 98.05.09
Aceite para 98.06.04

Julho/Agostol998 375

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

Objedivos: Partindo da hipotese de que a acti-
de fibroblastos acompanha o recrutamento intersticial de linfocitos T citotoxicos e de mastocitos na Suberose, caracteristicamente observados nas formas de Pneumonite de Hipersensibilidade (P.H.), medimos os niveis de hialuronano (RA) no LBA de 31 doentes com queixas respiratorias associadas a ocupacional na industria da
Tentamos, tambem, relacionar os niveis de HA no LBA com a intensidade do envolvimento intersticial, avaliado pelas caracteristicas da alveolite e a detio-funcional respiratoria.
Ooentes e Metodos: 31 doentes estudados por historia clinica e ocupacionaJ, exame fisico, telerradi-ograf18 de toras., pletismografia corporal espirome-tria, difuslo de CO, gasometria arterial em repouso e broncofJ.broscopia com lavagem broncoalveolar. A dos doentes- 20 com P.R., 8 com asma
bronquica e 3 com bronquite cronica - foi feita de acordo com criterios clinicos, funcionais e da analise do liquido de lavagem broncoalveolar. 0 hialurona-no no LBA foi quantificado por metodo radiometri-co e a contagem celular diferencial e de mastocitos foi realizada em de citocentrifuga. A AJbumina e lgG no LBA foram medidas por nefelo-metria cinetica.

Principals Resultados: Os niveis de HA no LBA estavam significativamente mais elevados no grupo com P.H., com uma mediana (e ambito interqua rtis) de 67,1 f,lgiL (33,7-111,5) versus 22,7f,lg!L (12,8-40,7) nos casos com obstrutiva das vias aereas (p<O,Ol, teste de Mann-Whitney). Encontramos no LBA uma directa do HA com a celulari-

dade total e com os niveis de lgG e Albumina (p<0,02, de Spearman), bern como com o numero absoluto de linfocitos e mastocitos (p<O,OI). Por outro lado, os niveis de HA correlacionaram-se inversamente com a difusao pulmonar e Capacidade Vital (OLCO r, = -0,58, CV r, = -0,61, p<0,002) e com o tempo de (r. = -0,45, p<0,05). Conclus6es: Os resultados obtidos sugerem que
a de fibroblastos acompanha a resposta
celular do intersticio pulmonar a de poeiras orginicas na indu5tria da e apontam para a
sua com a intensidade da e com

a de linfocitos e mastocitos na superficie
alveolar.

REV PORT PNEUMOL 1998; TV (4): 375-386

Palavras-chave: Hialuronano: Lavado broncoalveolar: Suberose: Mast6citos: Fibroblastos.

376 Vol. IV N° 4

Aims: To Investigate the hypothesis that pulmo-nary fibroblast activation follows lung recruitment of T lymphocytes and mast cells in Suberosis, we measured BALF hyaluronan in 31 symptomatic cork workers with distinct clinicopathologic patterns. Patients and Methods: We studied 31 patients with a clinical and occupational history, physical examination, chest X-ray, spirometry, body plethis-mography and carbon monoxide diffusing capacity, resting blood gases and BAL. Patients were classified in two different syndromes according to clinical, functional criteria and BALF analysis: 20 with hypersensitivity pneumonitis and l I with obstructi-ve lung disease (8 with bronchial asthma and 3 with chronic bronchitis). BALF hyaluronan Levels were measured by a radiometric assay, BALF Albumin and JgG by rate nephelometry and differential and mast cell counts performed in BALF cytospins. Results: BALF hyaluronan levels were signifi-cantly higher in patients with hypersensitivity pneumonitis, with a median (and interquartile range) of 67.1 IJ.g/L (33.7-111.5) versus 22.7 IJ.g/L (12.8-40. 7) in patients with obstructive lung disease (p<O.Ot, Mann-Whitney). We found a significant correlation between BALF hyaJuronan, total cell numbers, albumin and lgG levels (p<0.02, Spearman correlation) and also with the total lymphocyte and mast cell counts (p<O.OI). Moreover, we also found a significant inverse correlation between BALF hyaluronan, lung diffusion and Vital Capacity (DLCO r, = -0,58, VC r, = -0,61, p<0.002}, and also with the ye.ars of exposure (r, = -0.45, p<O,OS). Conclusions: Our findings suggest that, in Sube-rosis, pulmonary fibroblast activation relates to the alveolar inflammatory response to mouldy corkdust inhalation and reflects its intensity, as seen by the presence of lymphocytes and mast cells in broncho-alveolar lavage.

REV PORT PNEUMOL 1998; TV (4): 375-386

Key-words: Hyaluronan: Bronchoalveolar lavage; Suberosis: Mast cells: Fibroblasts.

J ulho/ Agosto 1998

0 HlALURONANO NO LA V ADO BRONCOALVEOLAR, UM MARCADOR DE ACTIVACAO DOS FlBROBLASTOS, REFLECT£ A INTENSIDADE DA INFLAMA<;AO INTERSTlClAL NA SUBEROSE

INTRODU<;AO

0 Hialuronano (ou Acido Hialur6nico) e urn
glicosaminoglicano presente na matriz intersticial do
pulmao, podendo ser sintetizado por diversas celulas
mesenquimatosas e, particulannente, por fibroblastos ap6s, activac;:ao por diversos estimulos pr6-inflamat6-rios (1). 0 seu aumento no lavado broncoalveolar (LBA) tern sido descrito em varias patologias pulmo-nares humanas e experimentais que evoluem para a fibrose intersticial e relacionado com a activac;:ao de fibroblastos (2-8).
Em modelos experimentais de fibrose intersticial, induzida pela bleomicina (6) ou por irradiac;:ao pulmo-nar (7), tern sido observada uma progres-siva de hialuronano no intersticio pulmonar, com uma subida concomitante da sua no LBA. que e tambem paralela a do intersticio pulmonar por celulas intlamat6rias e ao aumento da celularidade do LBA. Clinicamente, tern sido encon-trada uma entre os niveis de hialuronano no LBA e a actividade da doenya pulmonar intersticial, quer na Sarcoidose (2) quer nas pneumonites de hipersensibilidade (3,9), bern como uma possivel relac;:ao com o progn6stico e da Fibrose Pulmonar Idiopatica (4). Na Sarcoidose tern sido tambem descrita uma directa do hiaJuronano no LBA com a intensidade da aJveolite, nomeadamen-te como numero de liof6citos e mast6citos, e com a da pulmonar (1 e.11).
A Suberose, uma pulmonar ocupacional, e devida a cr6nica de poeiras de bolo-renta e pode apresentar-se clinicamente como uma Pneumonite de Hipersensibilidade ou uma obstructiva das vias aereas (12-15). 0 infiltrado inters-ticial mononuclear e a fibrose intersticial sao aspectos frequentes na histopatologia da Pneumonite de Hiper-sensibilidade da Suberose (13), sendo o achado mais caractedstico no LBA uma intensa alveolite linfociti-ca, predominantemente de linf6citos CDS+ (14), acompanhada de aumento do niunero de mast6ci-tos(l5). Em trabalhos anteriores (14.15) verificamos que a destes do is tipos celulares no LBA esta

Julho/Agostol 998

directamente relacionada com a da respirat6ria, o que apoia a sua na patoge-nia da Suberose. Estando hoje bem estabelecido que os mast6citos tern a capacidade de influenciar a
e dos fibroblastos (16.17) e que estes, reciprocamente, intervem na diferenciac;:ao tecidular dos mast6citos (18-21), colocamos a hip6tese do aumento de mast6citos alveolares na Suberose, e as funcionais encontradas, estarem relaciona-
das com a de fibroblastos no pulmao pro fun-
do. Assim, fomos avaliar urn marcador soluvel da dos fibroblastos, o hialuronano no LBA, e a
sua possivel relayao com a intensidade e caracteristi-cas da alveolite e com as perturbac;:oes funcionais respirat6rias da Suberose.

OOENTES E METODOS

Doentes - neste estudo incluiram-se 31 doentes (23 homens e 8 mulheres, com 37,5±9,9 anos) com ocupacional na industria da cortic;:a (de
19,3± 10,9 anos), submetidos a wna lavagem broncoal-veolar para diagn6stica de queixas respira-t6rias relacionadas com a Todos foram estudados, para alem da broncofibroscopia com lavagem broncoalveolar, pela hist6ria clfnica e ocupa-cional, exame fisico, telerradiografia de t6rax, pletis-mografia corporal/espirometria (Erich Jaegger), difusao de CO e gasometria arterial em repouso.
A dos doentes nos diversos grupos
estudados foi feita de acordo com criterios clinicos, funcionais e da analise do lfquido de lavagem bronco-alveolar (13.22). Em 20 foi feito o diagn6stico de Pneumonite de HipersensibiJidade (P.H.) por tosse e
dispneia de associadas a sintomas gerais de
mialgias, astenia e/ou emagrecimento, relacionados com a com ou sem urn sindrome ventilat6-rio restritivo ou defeito de difusao, e uma celularidade aumentada no LBA com alveolite linfocitica intensa (240%). Os restantes II doentes apresentaram qua-dros de envolvimento das vias aereas- 8 com asma bronquica, apresentando dispneia paroxistica no

Vol. IV NR4 377

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGLA

trabalho com rcvcrsivcl das vias aereas elou hiperreactividade bronquica incspecifica (Pc20 hista-mina mg/dl), veriticando-sc em 6 dos dcbitos cxpirat6rios nos pcriodos de trabalho (asma ocupacional); em 3 doentes foi fcito o diagn6stico de
bronquite cr6nica por tosse e a maior
parte dos dias, por periodos supcriorcs a 3 mescs no ano, pelo menos 2 anos, com nao reversivcl das vias aereas (apenas I era cx-fumador de 3 unida-des).
Lavagem broncoalveotar - o LBA foi realizado no lobo medio ou lingula com 4x50ml de soro tisiol6-gico, a 370C, aspirando suavemente o liquido ap6s cada instilac;:ao (23). Uma amostra do liquido recupera-do foi imediatamcntc ccntrifugada a 400g durante I 0 minutos c o sobrcnadante congelado a -200C para posteriores doseamcntos. A contagem diferencial foi realizada em preparar;ocs de citocentrifuga (Labofugc AE. Heraues. Germany), obtidas com 40).ll da arnos-tra c contando 500 celulas em microscopia de luz com a objectiva de lOOx (coradas pelo May-Gnmwald-Gie-msa-M.G.G.}. A contagem total de mast6citos realizou-se em 20 campos adjacentes com uma
tiva de 40x (15.24).
0 hialuronano (HA} foi rncdido em amostras duplicadas do LBA por urn metodo radiometrico (Pharmacia HA Test. Kabi Pharrnacia Diagnostics AB) que tern por base a com uma proteina isolada da cartilagem bovina e que liga o HA (HABP). Resumidamente. o HA na amostra reage, em
com a HABP marcada com 1

125
; a HABP-1 125 livre e
entao quantificada por com HA ligado covalentemente a particulas de Scpharose de pequeno tamanho e baixa densidadc. Ap6s das particulas e a sua radioactividade e medida num contador de radiacyoes gama, sendo
inversamente proporcional as de HA na
amostra (25). 0 limite de deste metodo e de 5 J..lg/L. A lgG e Albumina foram medidas no LBA por nefelometria cinetica utihzando imunossoros e calibradores para nefelometria (QM 300, Kallestad). Analise estatistica - utilizaram-se metodos nao parametricos nas entre grupos ou varia-

378 Vo1. 1V NR4

veis - teste de Mann-Whitney e cotTelacyao de Spear-man (r5

) considerando-se significativo urn p<O,OS.

RE ULTADOS

Caracteristicas dos doentes esrudados

De acordo com a avaliacao clfnica e laboratorial os docntes forarn classificados em dois grupos- Pneu-monitc de Hipersensibilidadc {n=20) c doenr;a das vias acrcas (DV A; n= I I)- grupos que. dado os criterios de inclusao, diferiram significativamcnte nos parcimetros funcionais respirat6rios (Quadro I) e nos dados da lavagem broncoalveolar (Quadro II). A idade media dos doentes com P.H. foi mais baixa (34,0±9,5 versus 43,7±7,4 anos na OVA, p=0,007), assim como o tempo rnedio de exposicyi'io, cmbora este nao diferissc significativamente entre os do is grupos (17,3±9,8 vs 23,0±12,3, p=0,22).
Seis dos doentes com P.H. cstavarn afastados da cxposiyao, tendo sido incluidos neste estudo por manterem queixas respirat6rias c na avalia-cyao clinica e laboratorial; de facto, em aos corrcntemente expostos, esses doentes nao diferiam nos parrunetros do LBA ou funcionais respirat6rios (dados omitidos) apresentando apcnas uma
nao significativa dos valores de lgG sericos e do LBA (media ± EP- soro: 2290 ± 290 vs I 572±155 mgldl. LBA:27 ± 5 vs 11±4mg/dl, p=0,08 em ambas as).

0 hialuronano no LBA est a aumentado nas formas de pneumonites de hipersensibilidade da Suberose.

Quando comparamos os niveis de HA no LBA dos docmes com Pneumonite de Hipersensibilidade e com doencya obstructiva das vias aereas (Fig. I) verificamos que estes eram signiticativamente mais elevados no primeiro grupo: medjana (e ambito interquartis) de 67,1).lg/L (33,7-111,5) versus 22,7).l giL (12,8-40,7), p<O.OI (teste de Mann-Whitney).
Niio encontramos niveis significativamente dife-

Julho/ Agosto 1998

0 HIALURONANO NO LAVADO BRONCOALVEOLAR, UM MARCADOR DE ACTIVA<;:AO DOS FLBROBLASTOS, REFLECTE A INTENSIDADE DA lNFLAMA<;:AO INTERSTICIAL NA SUBEROSE

QUADROI
Caracteristicas cllnicas e funcionais respirat6rias (% do valor esperado) nos do is grupos de doentes com queixas respirat6rias e ocupacional na indUstria da Em 20 doentes foi diagnosticada uma Pneumonite de Hipersensibilidade e em II
das vias aereas (8 com asma bronquica c 3 com bronquite cr6nica).

Diagn6stico Scxo I dade Tempo de cv CVF VEMS IT CPT DLCO

Pneumonite de 16M/ 34 ±9 17,3±9.8 82,6% 90,3 % 85,8± 82,8 ± 97,7± 81,8%
Hipersensibilidade (n=20) 4F a nos anos 14.7% 18,9% 19.2% 10.6% 13,7% 23,7%

Vias aereas 1M! 44%7 23.0±12,3 102,0± 109.5% 94.3 ± 73.5:1: 108,9:1: 13Q.4 %
(n- Il) 4F anos anos 18.2% 16.5% 24,2% 10.8% 8.5% 20,0%

p• < 0.01 n.s. < 0.005 < 0.005 n.s. <0,02 < 0,02 < 0.001
M- mascuJino: F- fcminino; CV- capacidade vital: CVF- capacidade vital forcada; VEMS - volume expirat6rio maximo no I 0

segundo:
IT- indice de TifTencau: CPT - capacidade pulmonar total: DLCO difusao de CO: •teste de Mann-Whitney

QUADROH
Caracteristicas do lavado broncoalveolar nos do is grupos de doentcs com queixas rcspirat6rias e ocupacional na indUstria

Diagn6stico Volume Celulas Totais Macr6f. Linf6citos P.M.N. Eosin6f. Mast6c.
ml x Alveolares % % % %
%

Pneumonite de 107 ± 24 11.1 ±7,0 23,3 ± 14,1 71.1 ± 13,0 4,4 ± 4,0 0,7 ± 1,1 0.24 ± 0.32
Hipersensibilidade
(n=20)

das Vias 101 ±28 1.7 ±0,8 71,6% 14.0 24.1 ±3,9 3,1 ± 3,4 1.2 %2,2 0,05 ± 0,09
aereas (n= II)

p• n. s. < 0,0000 I < 0,000 I < 0,0000 I n. s. n. s. n. s. (0,07)
Macr6f.- macr6fagos: P.M.N.- polimorfonucleares neutr6tilos: Eosin6f.- eosin6tilos: Mast6c.- mast6citos:
• teste de Mann-Whitney

rentes nos 6 doentes com P .H. que se encontravam ja
afastados (entre 4 e 60 meses) a data do LBA (media-
na: 41,7 vs 72, I J..lg/L, p=0,39). Observamos tam hem
a existencia de uma negativa entre o HA do
LBA e o tempo de (r5 = -0,390, p=0,04), tempo esse que foi inferior nos doentes com P.H.,
embora de modo significativo (mediana:l5 vs 28
anos).

Relar;i.io do hialuronano com as caracteristicas doLBA.

Verificamos existir uma directa e

Julho/Agostol998

significativa do HA com a celularidade total do LBA (r5=0,521, p=O,OOS) e com os seus niveis de lgG. (r5=0,589, p=0,002) e Albumina (r5=0,45l, p=O,O 17). Em as celulas presentes no LBA encontramos uma significativa com o n6mero percentual e abs6luto de linf6citos (% rs=0,367, p=0,04;xl04ml-'
r
5=0,490, p=0,008) e com o numero de mast6citos (%
r
5=0,61 0, p=O,OO l; x20 campos/40pl r p=0,004) (Fig. 2). No grupo de 20 doentes com P.H.
observamos que essa se verifica especial-
mente com o n° de mast6citos no LBA (r5=0,552, p=0,03; linf6citos r5=0,379, p=0,09).

Vol. IV Na 4 379

REYISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGLA

500

ug/L •

• • •
ct
aJ
..J
0
c

0 ... c 50 ftl

c

0 I/ .A.· l / .. I/!-,' :J
.. 'I'. /; ...,·.·; J: • I l.t. ..

e ·j l, I

.. / ....
• ...

...

5

• PH o PH (Afastados) .t. DOVA Fig. 1 - Os nivcis de hialuronano no LBA cstao significativamente mais elevados nos doentes com Pneumonite de Hipersensibilidade (PH) do que nos doentes com doenca obstruct iva das vias aercas (DOYA). As barrdS representam o ambito interquartis de cada
grupo. co traco a respectiva mediana. Os grupos diferem significativamcnte com p< 0,01 (teste de Mann-Whitney)

500 100

- "'OOVA • E • • • • .- • <(

• PH • • • 0
...- • • • • II)

X • ....J

- 50 •• 10 .. <(• • 0

•• • • • c II) • • • ....J 1/) • • "' • 0 "' 0

c "' -

"' ·o • .. •
(/) "' -o

0 5 "' r=0,49 -1/) r=0,58 "' 6

- "' "' p =0,008 ca ·o p =0,004 :E -o A

- "' "' "' c
:.:::; "' ' "' 11
"'. "'"' • .. ,

0.5 0.1 .
5 50 500 5 50 500

Fig.2- Correlacao directa entre o hialuronano no LBA 'eo numero absoluto de linf6citos ou de mast6citos (contadps em 20 campos de ampliacao / 40 JJL de LBA). Estao representados os val ores de rep obtidos na correlacao de Spearman. DOYA· doenca obstructiva das vias aereas; PH- Pneumonite de Hipersensibilidade

Relaqiio do hialuronano do LBA
com a funqiio respiratoria.

Neste estudo podemos tambem verificar que os
niveis de HA no LBA se correlacionam inversamente

380 Yoi. IYNR4

com os parametres que traduzem un maior compro-misso da fun'rao respirat6ria e das trocas gasosas a nivel do intersticio pulmonar: a Capacidade Vital (r5=-0,61, p=O,OO I), a Capacidade Pulmonar Total (TLC r5=-0,370, p=0,04) e a difusao pulmonar

J ulho/ Agosto 1998

0 HlALURONANO NO LA V ADO BRONCOAL VEOLAR, UM MARCADOR DE ACT IV A<;:AO DOS FlBROBLASTOS, REFLECTE A INTENSIDADE DA INFLAMA<;:AO INTERSTICIAL NA SUBEROSE

150

130 6

-0
-(/)

·::; 110 • Q)

....

a. •

?fl. 6

90 A6

- A

> A ••
()
70

6 OOVA

r=-0,61 -160 • PH

6

r =-0,58

p=0,001 0 A • 6 p=0,002
A iii 140 A A ·::; 6.

A Q) A

A • • a. 120 A A • • •
. A 0 • A -1oo
A • • 0 A .. •
• •• • ()
• -

_ J 80
• 0

601

• • • •• • • • •
• • •
40 •
5 50 500 5 50 500
Fig. 3- inversa entre o hialuronano no LBA c a Capacidade Vital (CV) ou a difusao pulmonar (DLCO). Estao
representados os valores de rep obtidos na de Spearman

(DLCO rs=-0,583, p=0.002: DLCO/V A rs=-0,390,
p=0,04) (Fig. 3). Assim, os doentes com CV ou
DLCO < 80% do previsto (n= 12) apresentaram niveis
significativamente mais elevados de HA no LBA:
77,8).lg/L (35,9-1 11,5) versus 3l,l).lg/L (15,8- 55,2),
p=0,03.

DISCUSSAO

Neste estudo foram incluidos 3 I doentes com

queixas respiratorias associadas a ocupacio-nal na industria da cortir;:a (em media de 19 anos), sendo o LBA realizado em todos eles com fins diagnosticos (14,15.26). De acordp com os criterios de diagnostico os dois grupos de doentes diferiram significativamente no perfil do LBA e na respirat6ria, com evidencia de envolvimento interstici-al no grupo com P.H. traduzida, nomeadamente, pela diminuir;:ao da difusao pulmonar e alveolite linfocitica intensa. Seis destes doentes mantinham, apesar de afastados, queixas respiratorias com funcio-nais e do LBA, que tern sido tambem descri-ta noutras formas de Pneumonite de Hipersensibilida-de (30). De facto, ao comparar os dados funcionais e do LBA destes doentes com os que mantinham a antigenica, nao se encontraram
significativas.

Julho/ Agosto 1998

Em trabalhos anteriores verificamos que as formas de Pneumonite de Hipersensibilidade da Suberose se caracterizam, para alem de uma intensa alveolite linfocitica CD8+ (14.26,27), pela presenr,:a de urn numero aumentado de mastocitos no LBA (1 5). Colocamos entao a hip6tese de que a de mastocitos no intersticio pulmonar se pudesse relacio-nar com a local de fibroblastos, tal como tern sido observado noutras intersticiais, exponta-neas ou experimentais, que evoluem para a fibrose pulmonar (2-4,6,7,17.28). Os resultados obtidos alargam as nossas anteriores na Suberose, sugerin-do que a de fibroblastos e urn componente da resposta imune e inflamatoria do pulmao profundo a inalar,:ao cronica do empoeiramento industrial da cortir,:a. estando possivelmente relacionada com o recrutamento e de linfocitos e mastocitos no intersticio pulmonar.
Os valores elevados de HA no LBA dos doentes com P.H. (Fig. I) estao de acordo com os resultados de Bjermer e cols. no Pulmao de Fazendeiro, uma outra forma de P.H. que surge em individuos expos-tos a actinomicetos termofilicos (3,9,29). No entanto, os val ores por n6s encontrados sao relativamente mais baixos, o que podera ser devido ao facto de nos estudos referidos terem sido incluidos doentes com formas agudas de P.H., onde os autores encontraram valores iniciais muito elevados (medianas entre os 500

Vol. IV NR4 381

REVLSTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

a que diminuem com o afastamento da antigenica {3.9,29). Na nossa serie, que.
incluiu essenciahnente doentes com formas de P.H. subagudas ou cr6nicas (30), verificamos tambem a existencia de valores mais baixos nos doentes ja afastados. embora nao diferindo em media dos ainda expostos (Fig. I). De facto, urn dcsses 6 doentes, com urn valor de HA de giL, tinha sido ja avaliado anteriormente numa fase de da
cerca de 3 anos antes da sua inclusao neste estudo. altura em que apresentou urn valor de HA no LBA de

Nos docntcs com obstructiva das vias aereas cncontramos niveis baixos de HA no LBA, apesar de em alguns estarem acima dos valores espera-dos (1.4.11.23.31.32). De facto, pelo metodo por n6s utilizado. o HA no LBA e indoseavel em cerca de urn dos individuos normais {3.11,31) c habitual mente inferior a nao sendo intlucnciado pela idadc (4,11,3 1), scxo (4, 11), habitos tabagicos (2,4), nem pelos seus niveis plasmaticos (3.9.12,29). No LBA de doentes asmaticos foi recentemente descrito urn ligeiro aumen-to do HA (mediana I9J.1g/L) (31) e relacionado com a fibrose subcpitelial que acompanha a
br6nquica da asma (31.33).
A inversa com o tempo de ocupacional podera em parte ser explicada pelo facto de, na Subcrose, os doentes com P.H. terem habitual-mente urn tempo de rna is curto (1 5,26). Essa correlac;:ao podera tam bern suportar a hip6tese do HA ser urn marcador precoce da dos fibroblastos {2,6,7.10,16). Por exemplo, na Sarcoidose, apesar de nao haver uma com a da
(2.10) sao observados valores elevados em doentes nas fases iniciais da doenya (2) ou ainda sem .. grande compromisso funcional respirat6rio (10). Do mesmo modo, no Pulmao de Fazendeiro, sao habitualmente as formas agudas e iniciais que apresentam os valores mais elevados de HA no LBA (3).
Encontramos tambem neste estudo uma
directa entre os niveis de HA no LBA e a intensidade

da resposta imune e inflamat6ria do pulmao profundo, quer avaliada pelos niveis de proteinas, quer pel a sua

382 Vol. IV Ng4

celularidade. De entre as celulas inflamat6rias presen-tes no pulmilo profundo na Suberose parecem ser os mast6citos que melhor se relacionam com os niveis de hialuronano no intersticio (Fig. 2). A do HA como numero de mast6citos prcsentes no pulmilo profundo tern sido tambem obscrvada noutras P.H. (29), na Sarcoidosc (11.34) e em modelos experimen-tais de fibrose pulmonar, como por exemplo a induzi-da por radiayao {7.17). Estas correlac;:oes reforc;:am o papel dos mast6citos na de fibroblastos no pulmao (1 5- 18), tal como tern sido observado noutros 6rgaos (21.35). Em modelos expcrimentais de fibrose pulmonar, induzida por radiac;:ilo {7), vcrifica-se difusa de HA no intersticio, particular-
mente em areas de maior celular, c que c paralela ao seu aumento no LBA: a cinetica dcssc aumento e tam bern paralela ao aumento da celularida-de do LBA e a intersticial de mast6citos. E de notar que oeste modelo experimental a resposta do tecido conjuntivo (aumento do hialurano c intensidadc da fibrose) e dcpendcnte da dos mast6-citos; se esta for induzida antes da sua chegada ao intersticio ha da fibrose intersticial difusa e do

aumento de HA no LBA; pelo contrario, se ocorrer ap6s essa chegada, a de HA no intersticio c alveolar e potenciada. Um dos possivcis mediadorcs mastoeitarios envolvidos nessa resposta c a histamina, que nilo s6 estimula o crescimento dos fibroblastos pulmonares {36) como, quando inalada, induz aumento do HA no LBA (37). A histamina esta tambem aumentada no pulmao na fibrose p6s-radia-yao (17) e em intersticiais com fibrose pulmo-nar (38-40).
No nosso estudo os niveis de hiaJuronano correlaeionaram-se com o numero de linf6citos recuperados no LBA (Fig. 2), linf6citos esses que na Suberose silo essencialmente CD8+ (14) com o fen6tipo dos linf6citos citot6xicos e dos linf6citos T «de mem6ria», CD29+ CD45RA- (27). Os linf6citos T «de mem6ria» tern uma preferencial para tecidos nilo-linfoides (41,42), particularmente se alvo de processos inflamat6rios (41). Nestes, os componen-tes da matriz extracelular poderilo participar na co-esti-

J ulho/ Agosto 1998

0 HJALURONANO NO LA VADO BRONCOALVEOLAR, UM MARCADOR DE ACTIV AC;.AO DOS FIBROBLASTOS, REFLECTE A INTENSIDADE DA INFLAMA<;AO INTERSTICIAL NA SUBEROSE

(43) e na dos linf6citos T nos
tecidos (44). Assim, e possivel que o aumento do
hialuronano no intersticio participe no recrutamento e
local de tinf6citos T que caracteriza a
alveolite das pneumonites de hipersensibilidade (45,46) Varias suportam esta hip6tese: o HA e considerado 0 principal glicosaminoglicano do intersticio pulmonar e, tendo uma essen-cialmente peribronquica e perivascular no pulmao normal. aumenta marcadamentc no intersticio em de fibrose experimental (7.47). Paralela-
mente, o receptor celular do hialuronano - o CD44, uma glicoproteina de membrana expressa em muitas celulas (48) - tern a sua exprcssao aumentada nos linf6citos T «memoria» (49.50) e aumenta a sua aftni-dade para o HA nos linf6citos T activados (48,51 -53). 0 CD44 dos linf6citos T activados esta envolvido, conjuntamcnte com o LF A-1, nao s6 na adesao e transcndotelial (54) como na agrcgac;:ao homotipica de linf6citos e de linf6citos/mon6citos (55) (conjuntamcnte como CD2/LFA-3), podendo o HA funcionar como uma matriz pericelular das cclulas CD44+ e contribuir para essa agregac;:ao (48).
Por outro lado, foi recentemente demonstrado que, tal como outros componentes da matriz extracelular
- p.ex. a da fibroncctina ou laminina com integrinas PI (CD29) (43.56.57)- a interacc;:ao hialuro-nano com o CD44 e co-estimuladora dos linfocitos T,

em conjunto com sinais mediados pelo TCR/C03. E o caso da proliferac;:ao T, da P.roduc;:ao de lL2 por linf6citos T auxiliares e da actividade dos linf6citos T citot6xicos (53,58). Estas poderao estar envolvidas na manutenyao de uma actividade inflama-t6ria no pulmao profunda em alguns destes doentes que, mantendo dos niveis de HA no LBA, cessararn ou diminuararn a exposiyao ocupacional como, alias, tern sido observado noutras formas de Pneumonite de Hipersensibilidade (59). Finalmente, o. MIP-1, uma citoquina quimiotactica para os tinf6citos T (particuJarmente CD8+) e produzida no pulmao profun-da nas pneumonites de hipersensibilidade (60-62), pode ligar-se ao CD44 ou a glicosaminoglicanos como o hialuronano, promovendo a adesao desta subpopula-

Julho/ Agosto 1998

T ao VCAM-1 das celulas endoteliais (63). Ass-sim, o aumento do HA no pulmao profundo podera, indirectamente e como ligando do MIP-1, contribuir para a manutenc;:ao da alveolite T CDS+ que caracteri-za as pneumonites de hjpersensibilidade (14.27.45.46). Contirmamos tambem neste estudo a existencia de uma correlac;:ao in versa entre os parametros funcionais respirat6rios co hialuronano no LBA (Fig. 3). como tern sido obscrvado noutras doenc;:as pulmonares intersticiais (2,3.4,9.11.32.34). Apcsar de nestes doentes nao ter sido fcita uma histopatol6gica ou imagiol6gica que pcrmitisse uma melhor definic;:ao da
fibrose pulmonar cxistente, as negativas
do HA com a Capacidadc Vital c Difusao Pulmonar apoiam, indirectamente, uma possivcl com a intensidade da fibrose intersticial. Por outro lado, tern sido proposto que a capacidade de imobilizayao de agua do hailuronano pode cootribuir para edema local no espac;:o alveolar c intersticio e, conscquentementc, para a perturbac;ao das trocas gasosas pulmonares (9,32). Em conclusao, o hialuronano no lavado broncoal-
veolar, urn marcador soluvel da dos fibro-
blastos. renecte a intensidade da interstici-
al na Suberose. relacionando-sc particulannente com o numero de mast6citos no pulmao profunda. Para alem destcs dados apoiarem urn papel dos mast6eitos nos mecanismos de fibrose pulmonar intersticial da Suberose, o aumento do hialuronano no pulmao profunda podcra contribuir para a da difusao pulmonar e para o recrutamento e
local de linf6citos T, aspectos que caracterizam a alveoljte das pneumonites de hipersensibilidadc.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a do Dr. Joao Moura e Sa, do Sector de Broncologia, Departamento de Pneumologia do Centro Hospitalar de V N Gaia, na das lavagens broncoalveolares, e ao Dr. Carlos Cuesta a colaboracao nas contagens celularcs de mast6citos. Este trabalho foi parcial mente apoiado por uma bolsa do ex-Instituto Naeional de Investigacao Cientifica (n°27343) e pelo projecto 901.86. 55 da Junta Nacional de lnvestigayi\o Cientifica e Tecnol6gica.

Vol. IV ND4 383

REVlSTAPORTUGUESA DE PNEUMOLOGLA

BmLIOGRAFlA

I. LAURENTTC, FRASERJRE. The properties and turnover ofhyaluronan. Ciba Symposium 1986; 24: 9-29.
2. HALLGREN R. EKLUND A. ENGSTROM-LAURENT A, SCHMEKEL B. Hyaluronate in bronchoalveolar lavage fluid: a new marker in sarcoidosis reflecting pulmonary disease. Brit Med J 1985: 290: 1778-1781.

3. BJERMER L. ENGSTROM-LAURENT A, LUNDGREN R, ROSEN HALL L. HALLGREN R. Hyaluronate and type
Ill procollagen peptide concentrations in bronchoalvcolar lavage fluid as markers of disease activity in tanner' s lung. Brit Med J 1987: 295: 803-806.

4. BJERMER L, LUNDGREN R. HALLGRI.;'N R. Hyaluronan and type U1 procollagen peptide concentrations in broncho-alvcolar lavage fluid in idiopathic pulmonary fibrosis. Tilorax 1989; 44: 126-13 I.

5. ENGSTROM-LAURENT A. Changes in hyaluronan concentratio11 in tissues and body tluids in disease states. Ciba Symposium 1989; 143: 233-247.
6. NETTELBLADT 0; LUNDBERG K, TENGBLAD A, HALLGREN R. Accumulation ofbyaluronan in bronchoal-veolar lavage fluid is independent of iron-, complement- and granulocyte-depletion in bleomycin-induced alveolitis in the
rat. Eur Respir J 1990: 3: 765-771.
7. NILSSON K, BJERMER L, HELLSTROM S, HENRJKS-SON R, HALLGREN R. A mast cell secretagogue, com-pound 48/80, prevents the accumulation of hyaluronan in lung tissue injured by ionizing irradiation. Am J Rcspir Cell Mol Bioi 1990:2: 199-205.
8. ROBALO CORDEIRO AJA. Fibrose Pulmonar. Rev Port Pneumol 1995; I (I): 7-16.
9. LARSSON K, EKLUND A, MALMBERG P, BJERMER L. LUNDGREN R, BELIN L. Hyaluronic acid (Hyaluro-nan) in BAL fluid distinguishes farmers with allergic aJveolitis from farmers with asymptomatic alveolitis. Chest 1992; 101: 109-114.
10. EKLUND A, HALLGREN R, BLASCHKE E, ENGSTROM-LAURENT A, PERSSON U, SVANE B. Hyaluronate in bronchoalveolar lavage fluid in sarcoidosis and its relationship to alveolar cell populations. Eur 1 Respir Dis 1987: 71: 30-36.

II. BJERMER L, ENGSTROM-LAURENT A. THUNELL M, HALLGREN R. Hyaluronic acid in bronchoalveolar lavage fluid in patients with sarcoidosis: relationship to lavage mast cells. Thorax 1987; 42: 933-938.
12. CARVALHO A, MOURA E SA J. RODRIGUES FF, SEADA J, BRITO MC, CAMJNHA JC et al. Manifesta-

384

c;oes broncopulmonares em operarios inalando poeiras de
0 Medico 1986: 115: 310-31 8.
13. A VILA R. VILLAR TG. A Suberose como modclo de estudo das granulomatoses pulmonares dcvidas a
de poeiras orgiinicas. Pulmonarcs de causa malat6ria. Lisboa, 1976; U: I -97.
14. DELGADO L. Wl:NCK JC, SAPAGE JM, TORitES S. RIBEIRO Jl, SA JM. Respiratory disease in cork workers: characterization ofSuberosis alveolitis by bronchoalveolar lavage. Eur Respir J 1992: 5: 503-4s (abstract).
15. DELGADO L, CUESTA C. WINCK JC, SAPAGE JM. MOURA E SA J. FLEMING TORRlNHA JA. 0 aumento
de mast6citos broncoalvcolares caracteriza as pneumonites
de hipersensibilidade nos trabathadores da industria da Arch Bronconeumol 1993; 29 (sup! I): 54-55
(abstract).
16. JORDANA M. Mast cells and fibrosis - who's on first? Am J Respir Cell Mol Bioi I 993: 8: 7-8.
17. ALDENBORG F, NILSSON K. JARLSHAMMAR B. BJERMER. ENERBAK L. Mast cells and biogenic amines
in radiation-induced pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol l993; 8: I 12-117.
18. GALLI SJ. New insights into "the riddle of the mast cells": microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. Lab Invest I 990; 62: 5- 33.
19. VALENTP. Theriddle ofthe mast cell: kit(CD I 17)-ligand asthcmissinglink? lmmunolToday 1994; 15: 111-114.
20. GALLI SJ. WERSHlL BK. COSTA JJ. TSAl M. For bencr or for worse: does stem cell factor importantly regulate mast cell function in pulmonary physiology and pathology? Am
J Respir Cell Mol Bioi I 994; I I: 644-645.
2 I. CLAMAN HN. Mast cells, T cells and abnormal fibrosis. 1mmunol Today 1985; 6: I 92-195.
22. RICHERSON HB, BERNSTEIN Ll, KINK JN. HUN-NINGHAKE GW, NOVEY HS ct al. Guidelines for the clinical evaluation of Hypersensitivity Pneumonitis. J Allergy Clin lmmunol 1989; 84, 5 (part 2): 839-844.
23. KLECH H, POHL Weds. Technical recommendations and guidelines for bronchoaJveoJar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Gr.oup on BAL. Eur Respir J 1989: 2: 561-585.
24. XAUBET A, MOISES JA, AGUSTi C, MARTOS JA, PICADO C. Identification of mast cells in bronchoalveolar lavage fluid. Comparison between different fixation and staining methods. Allergy 1991: 46: 222-227.
25. BRANDT R, HEDLOF E, ASMAN 1, BUCHTA, TENG-

J ulho/ Agosto 1998

0 HlALURONANO NO LAY ADO BRONCOALVEOLAR, UM MARCADOR DE ACTlVA<;:AO DOS FIBROBLASTOS, REFLECT£ A INTENSlDADE DA lNFLAMA<;:AO INTERSTiCIAL NA SUBEROSE

BLAD A. A convenient radiometric assay for hyaluronan.
Acta Otolaryngol (Stockh) 1987; Suppl. 442: 31-35.
26. SAP AGE JM. DELGADO JL. TORRES S, VICENTE P,
WINCK JC. RODRIGUeS P ct al. Suberose: contributo da
Lavagem Broncoalveolar no diagn6stico da patologia respirat6ria nos trabalhadores da Industria da cortica Arq S.P.P.R. 1992: 9 (6): 321-327.
27. DELGADO L. RAMOS JP. WINCK JC, CUESTA C, TORRJNHA JAF. Cytotoxic lymphocytes in hypersensiti-vity pneumonitis. Clio Exp Allergy 1993: 23 (suppl 1): 25 (abstract).
28. TORNLING G. EKLUND A. ENGSTROM-LAURENT A, HALLGREN R. UNGE G, WESTMAN 13. Hyaluronic acid
in bronchoalveolar lavage in rats exposed to quartz. Br J lndustr Med 1987:44: 443-445.

29. BJERMER L. ENGSTROM-LAURENT A. LUNDGIU::N R. ROSENHALL L, HALlGREN R. Bronehoalveolar mastocytosis in Farmer's Lung is related to disease activity. Arch Lntem Med 1988: 148: 1362-1365.

30. RODRIGUES J. MOR.E.IRA DASILVA JP. DEL(iADO JL. CASTEL-BRANCO MG. Pneumonites de Hipersensibi-lidade. Rev Port lmunoalergol I 992: I (3): 34-39.
3 1. BOUSQUET J. CHANEZ P. LACOSTE JY. EN ANDER I. VENGE P., PETERSON C et al. Indirect evidence of bronchia.! inflammation assessed by titration of inflamma-tory mediators in BAL fluid of patients with asthma . .I AHergy Clin lmmunol I 99 I; 88: 649-660.
32. HALLGREN R. SAMUELSSON T. LAURENT TC. MODIG J. Accumu.lation ofhyaluronan (Hyaluronic Acid)
in the lung in adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis. 1989: 139: 682-687.
33. ROCHE WR, WILLIAMS JH. BEASLEY R. HOLGATE ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. Lancet 1989: 1: 520-524.

34. BJERMER L. ENGSTROM-LAURh'N'l A. THUNELL M. HALLGREN R. The mast cell and signs <>f pulmonary fibroblast activation in sarcoidosis. lnt Archl' Allergy Appl lmmunoll987: 82:298-301.

35. FRIER! M. Systemic sclerosis. The role ofthc cell and cytokines. Ann Allergy 1992; 69: 385-397.
36. JORDANA M. BEFUS AD. NEWHOUSE J, BIENENS-TOCK J. GAULDIEJ. Effcect of histamine on proliferation
of normal human adult lung fibroblasts. Thorax 1988: 43: 552-558.

37. SODERBERG M, BJERMER L. HALLGREN R. LUND-GREN R. Increased hyaluronan (hyaluronic acid) levels in bronchoalveolar lavage fluid after histamine inhalation. lm Arch Allergy Appllmmunol 1989: 88: 373-376.
38. SOLER 0. NIOCHE S. V ALEYRE D. BASSET F. BEN-VENISTE J. BUR'I'IN C. BATf'ES'I'I JP. GEORGES R.

J ulho/ Agosto 1998

HANCE AJ. Role of mast cells in the pathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. Thorax 1987; 42: 565-572.
39. HASLAM PL, DEWAR A, BUTCHERS P, PRIMEH ZS. NEWMAN-TAYLOR A, TURNER-WARWICK M. Mast cells. atypical lymphocytes. and neutrophils in bronchoa.lve-olar lavage in extrinsic allergic alveolitis. Companson with other interstitial lung diseases. Am Rev Respir Dis 1987: 135: 35-47.

40. TELES ARAUJO A. VALEN<;:A J, ALMELDA A B, COSTA Mr. Release ofhistamirie by cultures ofbroncho-alveolar adherent cells. Asthma and bronchial hyperreacti-vity. Herzog H. Perruchod AP. eds. Karger. Basel. Prog Resp Res 1985; 19: 35-42.
41. SHIMIZU Y. NEWMAN W. TANAKA Y. SHAW S. Lymphocyte interactions with endothelial cells. lmmunol Today 1992: 13: 106-112.
42. MARATHIAS KP. PREFFER Fl, PINTO C. KRADlN RL. Most human pulmonary infiltrating lymphocytes display the surface immune phcnorypc and functional responses of sensitized T cells. Am J Respir Cell Mol Bioi 1991; 5: 470-476.
43. DE SOUSA M. TLLNEY NL, KUPlEC-WEGLINSKI J. Recognition of self within self specific lymphocyte positio-ning and the extracellular matrix. lmmunol Today 1991; 12: 262-266.

44. PICKER LJ. Control of lymphocyte homing. Current Opin lmmunol 1994; 6:394-406.
45. MORNEX JF. CORDIER G. PAGES J, VERGNON JM, LEFEBVRE It BRUNE J, REVlLLARD JP. Activated lung lymphocytes in hypersensitivity pneumonitis. J Allergy Clin lmrnunoll984; 74:719-728.
46. TRE.NTIN L. MIGONE. N, ZIMBELO R, Dl CELLO PF, A INA F. FERUGLIO C et al. Mechanisms accounting for lymphocytic alveolitis in hypersensitivity pneumonitis. J lmmunoll990; 145:2147-2154.
47. NETI'ELBLADT 0, BERGH J, SCHENHOLM M, TENG-BLAD A, HALGREN R. Accumulation of hyaluronic acid
in the alveolar interstitial tissue in bleomycin-induced alvcolitis. Am Rev Respir Dis 1989; 139: 759-762.
48. LAZAAR AL. PURE E. CD44: a model for regulated adhesion function. Immunologist 1995: 3/l: 19-25.
49. BUDD RC. CEROTIINI J-C. HORVATH C, BRONC, PI:::DRAZZINI T. HOWE RC et al. Distinction of virgin and memory T lymphocytes. Stable acquisition of the Pgp-1 glycoprotein concomitant with antigenic stimulation. J lmmunol 1987; 138: 3120-3129.
50. SANDERS ME. MAKGOBA MW. SHARROW SO, STEPHANY D. SPRINGER TA, YOUNG HA et al. Human memory T lymphocytes express increased levels of three cell adhesion (LFA-3. C02, and LFA-1) and three other molecules (UCHLI, CDw29. and Pgp-1)

Voi.JVN11 4 385

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

and have enhanced IFN-y production. J lmmunol 1988; 140: 1401-1407.

51. ARCH R. WIRTH K, HOFMANN M, PONT A H, MA TZ-KU S, HERRLICH Pet at. Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant ofCD44. Science 1992; 257: 682-685.
52. HERRLICH P, ZOLLER M, PALS ST. PONT A H. CD44 splice variants: metastases meet lymphocytes. lmmunol Today 1993; 14:395-399.
53. GALANDRrNI R, GALLUZZO E. ALB! N, GROSSI CE. VELARDI A. Hyaluronate is costimulatory for human T cell effector functions and binds to CD44 on activated T cells. J Immunol 1994: 153: 21 -3 1.
54. OPPENHEIMER-MARKS N. DAVIS LS, LIPSKY PE. Human T lymphocyte adhesion to endothelial cells and transcndothelial migration. Alteration of receptor use relates
to the activation status of both the T cell and endothelial ceii.J lmmunoll990: 145: 140-148.

55. KOOPMAN G, VAN KOOYK Y, OE GRAAFF M, MEYER CJLM, FGDOR CO. PALS ST. Triggering of
the CD44 antigen on T lymphocytes promotes T cell adhesion through the LFA-1 pathway. J lmmuno1 1990; 145:3589-3593.
56. DAVIS LS. OPPENHEIMER-MARKS N. BEDNARCYK JL. MciNTYRE BW. LJPSK Y PI:.. Fibroncctin promotes proliferation of naive and memory T cells by signaling through both the VLA-4 and VLA-5 integrin molecules. J

386

lmmunol 1990; 145: 785-793.
57. YAMADA A, NOJIMA Y, SUGITA N, DANG N, SCHLOSSMAN SE. MORJMOTO C. Cross-linking of the VLNCD29 molecule has a co-mitogenic effect with anti-CD3 on CD4 cell activation in serum-free culture system. Eur J lmmunol1991; 21: 319-325.
58. SH IMlZU Y. VAN SEVENTER GA. SIRAGANJAN R, WAHL L, SHAW S. Dua I role of the CD44 molecule in
T cell adhesion and activation: J I mmunol 1989; 143: 2457-2463.

59. M0NKAR.E S, HAAHTELA T. farmer's lung - a 5-year follow-up of eighty-six patients. Clin Allergy 1987; 17: 143-151.

60. DENIS M, BEDARD M. LAVIOLETIE M, CORMIER Y. A study of monokine release and Natural Killer Activity in
the bronchoalveolar lavage of subjects with farmer's lung. Am Rev Rcspir Dis 1993: 147:934-939.
61. DENIS M. Proinflamatory cytokines in Hypersensitivity Pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: 164-169.
62. STANDIFORD TJ. ROLFE MW. KUNKEL SL. LYNCH

II JP. BURDICK MO. GILBERT AR. Macrophage Inflam-matory Protein-I ex expression in intersticial lung diseases.
J lmunol 1993; 151: 2852-2863.
63. tANAKA Y, ADAMS DH, HUBSCHER S. HLRANO H. SIEBENLIST U. SHAW S. T-ccll adhesion induced by protcoglycan-immobilized cytokine MIP-1 p. Nature 1993: 61: 79-82.

Julho/ Agosto 1998