REV PORT PNEUMOL n (2): 145-160

CURSO P6S-GRADUADO

Imunologia na pratica pneumologica

Conceitos actuais sobre defesa

imuoologica do pulmao

VI. do intersticio por agressores extrinsecos *

LUIS DELGADO

Scrvic;o de lmunologia, Faculdade de Medicina
e Hospital deS. Joao. 4200 Porto.

As doenc;as do intersticio pulmonar constituem wn
grupo muito diverso de patologias inflarnat6rias que
cnvolvem as estruturas alveolares e intersticiais do pulmao, i.e. a regiao anatomo-funcional habitualmente designada por "Pulmao Profunda", e que re(mem caracteristicas clinicas, fisiol6gicas e radiol6gicas comuns (1.2).0s progressivos avanc;os no conhecimen-to da biologia celular e molecular do Pulmao Profunda tern levado a sugerir a existencia de mecanismos comuns na patogenia destas entidades (2.3). Estes mecanismos tern sido fonnulados com base no tipo de "alveolite" encontrada, i.e. o perfil das celulas imunes

• Os resultados apresentados neste trabalho serviram de base a do autor no Curso Pos·Graduado "lmunologia na Pnitica Pncumologica". X Congrcsso de Pneumologia.
Lisboa. Novembro de 1994

Recebido para 96.4.9

1996

e intlamat6rias que infiltram o intersticio e os alveolos, e na frequente evoluyao destas patologias para a fibrose pulmonar, com ou sem reacyao granulomatosa (2-6). A hjp6tese da participayao da resposta imunol6gica na patogenia das doenc;as pulmonares intersticiais tern como principal ponto de partida a sua frequente associ-ayao a situac;oes de imunopatologia, como sao exemplo as doenc;as auto-imunes (1,7), ou a situac;oes em que ha contacto repetido do aparelho respirat6rio com poeiras orgarucas que, reconhecidas antigerucamente, sensibili-zam o individuo (8).
Das numerosas entidades nosol6gicas englobadas nas doenc;as do intersticio pulmonar (1.7) as que sao atribuiveis a agentes ex6genos - ocupacionajs ou ambienciais, drogas ou iatrogenicas - ocupam urn Iugar de destaque, essencialmente por do is motivos: por urn lado, muitas delas sao potencialrnente prevenfveis por atitudes correctas de Saude ocupacional e ambiencial

Vol.[] W2 145

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

(9); por outro, a identificayao do(s) agente(s) etio16gi-co(s) pennit:i.ra, a partida., urna investigayao mais frutuosa da sequencia dos mecanismos patogenicos envolvidos e, idealmente, uma melhor compreensao das entidades nosol6gicas de causa desconhecida. Alem disso, a identifica9ao de agentes ex6genos causadores de doenc;a respirat6ria tern urn particular impacto em tennos de Saude PUblica pois, muito provavelmente, outros individuos igualmente expostos virao a desenvolver a doenc;a (8).
0 objectivo deste trabalho e 0 de rever alguns aspectos dos mecanismos imunopatogenicos das doenc;as do intersticio por agressores extrinsecos, nomeadamente as que se associam a inalac;ao de poeiras organicas e quc designamos de Pneumonites de HipersensibiHdade. Nao foi nosso objectivo fazer uma revisao detalhada da fisiopatologia e das caracteristi-cas clinicas e de diagn6stico destas entidades, sendo o leitor mais interessado remetido para algumas das cuidadas publicac;oes na literatura medica Nacional (1-16). Quizemos, tao s6mente, apresentar alguns dados da investiga9ao imunol6gica destas doenc;as que poderao representar um pequeno exemplo da Jmunolo-gia na Pratica Pneumo/6gica.

Ocupaf;oes de risco e prevalencia das Pneumonites de Hipersensibilidade.

Apesar da identificac;.ao clinica destas entidades datar do sec. XVIJI, a partir dos trabalhos de Ramazzi-ni, a individuauzac;ao clinica c patogeoica dcstas formas de lesao pulmonar ocupacional data dos anos 30, pela descric;.ao do "pulmao de fazendeiro" par Campbell (17). A partir dos anos 60. ap6s o estabeleci-mento das bacterias termofilicas como agentes etiol6-gicos do "pulmao de fazendeiro" (18), tern sido identifi-cadas numerosas poeiras organicas e ambientes ocupa-cionais (19-21) que podem originar a doenc;.a (revistos nas ref's II e 12).
Contudo, a verdadeira prevalencia das pneumonites de hipersensibilidade, quer na populayao)aboral, quer na que acorre aos hospitais, tern sido dificil de estabele-cer, dadas as diliculdades de diagn6stico e urn menor

146

alerta dos clinicos para a sua identifica9ao. Para isso contribui o facto dos sinais e sintomas da doenc;.a serem frequentemente nao especificos, semelhando outras doenyas, infecciosas (pneumonia virica, gripe, p.ex.) ou intersticiais (sarcoidose, p.ex.) e tambem porque frequentes vezes estao associadas a condi96es particu-Lares de ambiente profissional e/ou domestico que podem passar despercebidas numa hist6ria ocupacional menos cuidada. Por outro lado. os anticorpos precipi-tantes para o antigenio inaJado, o marcador por exce-lencia da sensibilizac;ao ocupacional, podem desapare-cer como afastarnento. dificultando a identificayao de formas cr6nicas e avanyadas, ou serem falsamente negativos pela utilizac;ao na sua pesquisa de metodos pouco sensiveis e mal estandardizados.
A prevalencia dos varios agentes etiol6gicos tern diferenc;as geograficas importantes, quer nacionais quer mesmo regionais, que tern sobretudo a ver com micro-ambientes laborais e/ou domesticos pr6prios de cada area, por sua vez condicionados por factores socio-econ6rnicos. Entre n6s, a doenc;a surge essencialmente nos operarios da industria da cortiya (Suberose) enos criadores de aves (21-22).
No caso da industria da cortic;a, que representa actualmente 3,3% do comercio extemo de Portugal, o principal produtor mundial deste produto (23.24), ha uma concentrac;ao particular no distrito de A veiro. on de I abo ram 64,5% dos cerca de I 0 500 operarios desta indtistria (24.25) e, nomeadamente, no concelho de St". Maria da Feira, onde se localizam cerca de 67% da unidades fabris de transforma9ao da corti9a (26}. Estudos conduzidos em operarios desta indtistria, por Ramiro Avila, Cortez Pimentel e Thome Villar, revela-ram uma prevalencia de Suberose entre os 14 e 19% (27,28). Urn outro estudo, realizado em duas fabricas de St". Maria da Feira e em que tivemos a oportunidade de colaborar (29,30), levou-nos a conclusao que as diferen-tes condic;.oes laborais intluenciam de modo importante o aparccimento da doenc;a. Assim, numa unidade de menores dimensoes, mais artesanal, em que as diferen-tes fases de laborayao se encontravam menos individu-alizadas, a prevalencia de queixas respirat6rias foi da ordem dos 68% e dos 17% para a Suberose. Numa outra unidade mais modem a, com maior separayao das

1996

zonas laborais, esses nfuneros foram, respectivamente, de 45 e 9% (29,30). Neste contexto e de realc;ar que, actualmente, mais de 80% das unidades de transfonna-da cortic;a ainda tern menos de I 0 openirios, sendo habitualmente empresas de pequena dimensao, baixa tecnologia e caracter familiar e, seguramente, com baixos niveis de higiene industrial (24,26).
A prevalencia da doenca de criadores de aves e ainda mais dificil de estabelecer, pois tratando-se de uma actividade de ocupac;ao de tempos livres o doente fi-equentemente nao reconhece e/ou valoriza os seus sintomas, ou abandona a ocupac;ao o que, tambem a partida, nao e garante de regressao da doenc;a. Na revisao de 432 criadores de pombos que acorreram a uma consulta hospitalar, Ramiro Avila e cols. relata-ram a sua presenc;a em cerca de 4% (21). Em 242 criadores de pombos, que acorreram a uma Reuniao Columb6fila, encontrfunos uma prevalencia da doenc;a na ordem dos 5% (31).

Anticorpos precipitantes na resposta imune
e diagnostico das Pneumonites de Hipersensibilidade.

A producao de anticorpos para o material antigeni-co inalado tern sido considerada uma caracteristica

fundamental da resposta imune nas pneumonites de hipersensibilidadc c um dos argumentos fundamentais do cnvolvimcnto da hipersensibilidade de tipo m nesta doenc;a (rcvisto na ref' 32). Esses anticorpos sao facilmentc dcmonstniveis, quer no soro quer no lavado broncoalveolar (LBA), por metodos imuno-quimicos de precipitac;ao ou de enzimo-imunoensaio (21 ,31.33.34). No entanto, eles estao tam bern presentes em individuos cxpostos sem doenc;a, apesar de, habitualmente, em niveis mais baixos. Assim, a demonstracao de anticorpos precipitantes para o antigenio em causa e considerada urn marcador de cxposic;ao e nao de doenc;a, sendo a nao estandardiza-c;ao dos metodos de pesquisa in vitro a principal dificuldade na sua valorizac;ao pratica (35,36). A utilizac;ao de material antigenico apropriado, bern como de metodos que pennitam uma quantificac;ao rna is prccisa, poderiio levar a uma melbor descrimina-cao dos individuos expostos e com doenc;a.

1996

IMUNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOL6GICA

Assim, num estudo de criadores de pombos (31), verificamos que a presenca de anticorpos precipitantes para urn extracto das penas dos pombos, apesar de urna menor sensibilidade para o diagn6stico, melhora a sua especificidade - i.e. origina menor numero de "falsos-positivos" (Quadro f).

QUADROI
Anllcorpos precipitantes no di:tgn6stico da doen9a de criadores de pombos 1311• Em 242 criadores de pombos foram pesquisa-dos, por difusao dupla em gelose, anticorpos precipitantes para varios extractos Apesar de uma menor sensibilida-de. as precipitinns para as penas tern maior especificidade para o diagn6stico (estabelecido por criterios clinicos, radiol6gicos e funcionais)

Prec1p111nas para: Fcas de pombo Soro de pombo Penas de pombo

EspeclficJcbde 44% 60"/o 70% Sens•b•hcbde 77% 73%
Valor pred•cuvo 27% 31% 36%
POSIII\"0

No caso do Penicilliumfrequentans, a positividade em trabalhadores expostos varia dos 16 aos 32% (27.30) c, em doentes, dos 81% nas formas de pneumo-nite de hipersensibilidade a 27% nos doentes com quadros de asma (37). No entanto, em nenbum dos estudos publicados ate a data (27.30,36) a presenca de precipitinas sc relacionou com as alterac;oes espirome-tricas, radiograticas ou da lavagem broncoalveolar. Recentemente (38}, cstudamos a utiliza9iio de urn metodo de fluoro-enzimoimunoensaio, o "CAP® System", na quantificac;ao destes anticorpos no soro e LBA de 20 doentes com queixas respirat6rias associa-das a uma longa exposic;ao na industria da cortic;a (media 18 anos). Nestes, em que se incluiram 9 doentes com pneurnomte de hipersensibilidade e II com asma bronquica, (tendo 8 precipitinas positivas) foi possivel verificar, a par de uma boa concordancia entre os metodos (19 dos 20 casos), uma relayao entre a sua quantidade no LBA e a gravidade clinica da Pneurnonite de Hipersensibilidade. Assim. neste ultimo grupo, OS nlveis de IgG especifica para 0 Penicillium frequentans no LBA correlacionam-se

Vol. II N° 2 147

REVIST A POR11JGUESA DE PNEUMOLOGIA

negativamente com a Capacidade Vital e Capacidade Pulmonar Total, o que nao aconteceu com os seus niveis sericos (Fig. I). Do mesmo modo, apenas para os niveis de IgG especifica no LBA se verificou urna significativa com o n° total de celulas e linf6citos do LBA (r5=0,75, p=0,03, correlayao de Spearman).

-Q3
.... 150

as
0

!E 100 0
Q)
a.
(/)
Q)

C) 50

•

It

• •

B

11!1

•
It

1111

• • •

11!1

•

B &oro
• LBA

• B

85 90 95 100 105 110 115 120 125

CVF (%valor teorico)
Fig. I - de lgG especifica para o Penicillium frequentans em nove doentes com Pneumonite de Hipersensibilidade (Suberose). Verifica-se uma correla-
in versa entre a Capac1dade Vital Fo1"93da e os nive1s
de lgG especifica no lavado broncoalveolar (LBA:r, - 0,783,p=0.027) mas niio no soro (r,=0,259,p=0.463).

Apesar de continuar a ser controversa a participa-yao da resposta humoral na patogenia das pneurnonites de hipersensibilidade, estes dados refor9IDJ1 observa-c;oes experimentais recentes (39-41) que sugerem que a formayao de complexos antigenio-anticorpo no pulmao profundo, consequente a inalac;ao cronica do antigenio, podera ter urn papel importante na fonnac;ao de granulomas e na ampliac;ao inflamat6ria e activac;ao celular no intersticio pulmonar.

Os linfocitos T no /avado broncoalveolar e na media-das Pneumonites de Hipersensibilidade.

A principal caracteristica histopatologica das Pneurnonites de Hipersensibilidade e a presenc;a de urn infiltrado difuso de celulas mononucleares no intersti-

148 Vol. II W2

cio pulmonar, com fonnayao de granulomas e diferen-tes graus de fibrose (42-44) e que se acompanha de urn predominio de 1inf6citos T supressores/ citotoxicos (CDS+), quer no parenquima pulmonar (44) quer no lavado broncoalveolar (45). Neste, e caracteristica a presen9a de urn elevado numero de linfocitos T, que chegam a atingir cerca de 90% das celulas e que, funcional (44) e fenotipicamentc (46), se comportam como cclulas citot6xicas e/ou supressoras. Caracteris-ticamente, estas mesmas celulas podem encontrar-se, apesar de em menor numcro, no LBA de individuos expostos mas assintomaticos, o que tern sido interpre-tado como urn sinal de "alveolitc subclinica" mas cujo verdadeiro significado clinico e prognosrico pennane-cc por esclarecer (6,14.47,48).
No entanto, as alterayocs pulmonares observadas em modelos animais expostos por via inalatoda ao antigenio, ap6s a transfercncia passiva de linfoblastos
(49) ou de celulas T (50) de animais sensibilizados. apoia tambem o papel destas celulas na regulac;ao da inflamayao intersticial das Pncumonites de Hipersensi-bilidade. Por outro lado, o infiltrado mononuclear e as lesoes que se observam em modelos experimentais
(39) sao inibidas pela imunossupressiio com corticos-teroides ou eiclosporina A (51), fannacos que reconhc-cidamente interferem na func;ao efectora dos linfocitos T, nomeadamente na sua actividade citot6xica. Alguns estudos, no homem (44.45) e no animal de experiencia (revistos na ref' 39), sugcrem que uma diferente actividade imunorreguladora destes linfoeitos pulmo-nares, poden1 estar na base da diferente evolu9iio clinica e patologica observada em individuos com idcntica exposi9ao.
Em trabalho anterior (52) pudemos confinnar que nas Pneun1onites de Hipersensibilidade, nomeadamen-tc nos trabalhadores da industria da cort1c;a, o numero de linf6citos CDS+ no LLBA se correlaciona inversa-mente com os parametros ventilat6rios (CVF e DLCON A), sugerindo a sua interven9iio na patogenia da doen9a. A identificac;ao mais recente de diferentes fcn6tipos nas subpopulayoes linfocitarias CDS+, a que correspondem diferentes actividades efectoras e de imunorregulayao (Quadro 11), levou-nos a melhor caracterizar nesta patologia as diferentes subpopula-

Maryo/Abril 1996

QUADRO II
Fcn6tipos hnfocitanos estudados e funr;Oc:s atnbUJdas

Fcn6tlpo Fun,.ao atribuidn Rcfcrcncin

linf6cttos T J /mnumol
CD8,.CD-15RA- CtlOlOXICOS de "me- 1991; 146:208!!-94
mona"

hnf6citos T Ct!llular lmmrmol
CD8+CD29-. citot6xicos elccto- 1990: 128. 314-28

rc!>

hnf6cuos T niio

CD3+CDif> 56- c restnctos ao MHC. Am Resprr Drv
CD8+CD57• com baaxa ncuvada- 1987: 135:941-9
de NK

hnf6catos T ga- J lmmrmol
CD4-CDR-CD29;e rna/delta: CllOlOXICi- 1989: 143: 1108-17
TCRI- dade nao restncta lmmunol Today
ao MHC c amunada- 1991: 12 (10).346-8
de anubactenana

CD3-CDI6 5C>• t J lmmrmol
CD8-C'D57• nctividadc NK 1986: IJ6 (12):
4480-6

c;oes de linf6citos a que tern sido atribuida actividade citot6xica (53).
Jncluimos neste estudo 14 docntes com Pneumoni-

te de Hiperscnsibilidade (13 casos de Suberose e I caso de Pulmiio de Criador de Aves), todos com sintomas respirat6rios e "alveolite" intensa (linf6citos no LBA= 61,5± 6, 1% 59,5 ± 16,1x.104

/ ml;
CD4/CD8=0.38±0.24; linf6citos CD8+=65,3± 3,4%). A maior parte dos linf6citos CD8+ obtidos no LBA eram CD29+ c CD45RA-, i.e. com o fen6tipo dos linf6citos T citot6xicos restrictos ao MHC (Quadro III). A expressao percentual do CD29 nos linf6citos CD8+ (i.e a percentagem de linf6citos CD8+ que marca com anticorpo anti-CD29) foi significativamen-te mais elcvada na LBA do que no sangue (83,5:1: 4.6% versus 57 ,8±5,4%, p<O,O I).
Em 6 casos de Suberose quantificamos tambem os linf6citos T nao-restrictos ao MHC e com fen6tipo NK, pela expressao linfocitaria do CD 57, e a coex-pressao de CD 16 e CD56, habitualmente considera-

MarC(o/Abril 1996

IM UNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOL6GJCA

QUADRO Ill
Subpopula,.Oc:s CDS+ nas Pneumomte de Hapersensibilidade tm A percentagem de linf6citos positivos (medaa.±SEM) foi calculada por amunofluorescencia de duas cores e camomctria de fluxo em I I doenu:s.

0 aumento dos linf6citos T CDS+ no LBA verealica-se sobretudo pclo aumento da CD29-t

CDS+ CD8•CD29•
Lavado
Bronco alveolar 6S.ll3.4% 5S,Oi5,0% 9.6±6.6%

34,7.1.2.7% 19.7:1.2.1% 13.3±5,2%

dos marcadores de linf6citos NK (linf6citos nao-T. nao-B, com actividade "Natural Killer"). A presenc,:a destes antigenios em linf6citos que co-exprimem marcadores T (CD8 ou CD3), scrviu-nos para definir a subpopulac,:ao T citot6xica nao-restricta ao MHC (Quadro II). No LBA das Pneumonites de Hipersensi-bilidade predominou o fen6tipo CD8+ CD57+ (21 ,0±4,8%) sobre o CD3+ CD16/56+ (4,6±0,5%), o mesmo acontecendo nas subpopulavoes NK: o numero relativo de linf6citos CD8-CD57+ foi maior que o CD3-CD16/56+ (7,5± 1 ,0% versus 2,0±0,8%) (Fig. 2). Por outro Jado, a fenotipagem de linf6citos T ga-ma/delta mostrou que o valor relativo de Jinf6citos TCRI + no LBA, de 8,1±3,6%, foi semelhante ao fen6tipo CD4-CD8-CD29+ com 9,7±3,1%. Em nenbwn dos casas estudados e para ambos os fen6ti-pos, o numero relativo de linf6citos T gama/delta no LBA foi superior ao do sangue.
Apesar de urn numero limitado de observac,:oes, os dados obtidos sugerem a presenc,:a de uma populac,:ao heterogenea de linf6citos como fen6tipo das celulas citot6xicas e "Natural Killer" no pulmao profundo dos doentes com Pneumonite de Hipcrsensibilidade, sem uma expansao preferencial dos linf6citos T gama/delta, e com uma proporc,:ao minoritaria das subpopulac,:oes Jinfocitarias com fen6tipo "supressor" (CD8+CD45RA +).
As implicavoes funcionais do recrutamento desta heterogenea de linf6citos citotoxicos ao
pulmao e o seu papel na regulac,:ao da inflarnac,:ao intersticial nas Pneumonites de Hipersensibilidade, esta ainda por estabelecer. No entanto, dados recentes

149

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

. CD8+CD57+ GlrcRl+
Dcoo+ CD16f.i6+ • CD57+ coe.
rslco16f.i6+ coo. n = 6

TCYT NK
Fig. 2- Propor<;ao relativa de subpopulacoes linfocitarias com distintos fen6tipos dos hnfocitos T citotoxicos "nao restrictos ao MHC" no lavado broncoalveolar de seis docntes com Pncumonite de Hipersensibilidadc. Estao representadOS OS vaJores percentU31S mediOS. determina-
dOS por lmlmonuorescencia de duas cores e citometria de nuxo. E caracteristico o predominio do fenotipo CD8+CDS7+ dos linlocitos T citot6xicos (T CY T) sobre
os Jinf6citos Gama!Oelta (TCRI+) e «Natural Kille!" (NK).

(54.55) que apontam para um papel das celulas K e das subpopular;ocs de linf6citos CD8+ na indur;ao e amplia9iio das resposta T de hipersensibilidade retar-dada (de tipo T11 1), refor9am a hip6tcse da sua partici-pac;:iio na imunopatogenia das Pneumonites de Hiper-sensibilidade.

Os mast6citos e a activar;ao de jibroblasros nas Pneumonites de Hipersensibilidade.

Os mast6citos sao potentes celulas intlamat6rias claramente envolvidas em situar;oes de imunopatolo-gia pulmonar, onde tem sido sobretudo implicados na media9ii0 da hipersensibilidade imediata, pela sua liga9ao de alta afinidade a IgE. Apesar deste mecanis-mo niio estar implicado na patogenia das Pneumonites de Hipersensibilidade, dados recentes sugerem que os mast6citos humanos participam tam bern em situac;:oes de intlamat;iio cr6nica e fibrose no pulmao, possivel-mente atraves da libertac;:ao de citocinas e mediadores que modulam a actividade dos fibroblastos (39,56).

150 Vol. U N° 2

Neste sentido, os mast6citos estiio normalmente presentes nos alveolos pulmonares e surgem em numero aumentado no LBA de doen9as pulmonares intersticiais (57). Tambem relevante e a observa9iio, num modelo experimental de pneumonite de hipersen-sibilidade em ratinhos deficientes de mast6citos (W /WV, de uma dependencia da doenc;:a da transplan-tat;iio de mast6citos derivados da medula 6ssea (58). o scntido de avaliar a participac;:ao destas celulas
na patogenia da Suberose e a sua relac;:ao com os diversos quadros clinicos desta doenya (37.38), analisa-mos a sua presenc;:a, por duas colorac;:oes distintas-Wright-Giemsa (WG) e Awl de Toluidina (AT)- em 53 amostras de lavado broncoalveolar de trabalhado-res da industria da corti9a com queixas respirat6rias (59). Para alem de uma excelente correlac;:ao entre os dois metodos de colorayiio (Fig. 3), verificamos que o numero de mast6citos no LBA estava significativa-mente mais elevado nos doentes com Pneumonite de Hipersensibilidade (n=25) - 13,9±4,7 mast6citos/ 20 campos/ 40 111 (x±SEM) - quando comparados aos doentes com asma bronquica (n=7) ou bronquite cr6nica (n=8) -1.5±0.7 (p<0.002, teste de Mann Witlmey).
Encontriunos, tambem, uma correlac;ao positiva entre o n° de mast6citos no LBA com os niveis de

Albumina (r5 =0,53, p<0,05, correla9ii0 de Spearman) e de lgG (r5=0,50, p<0,05) do LBA. bern como com o n° absoluto de linf6citos (rs =0,50, p<0,05). Nos doentes com Pneumonite de Hipersensibilidade verificamos, tambem, que o subgrupo com maior 0° de mast6citos (>5/20 campos/40 J.ll. n=7) tinha uma menor Capacidade Vital Forc;:ada (80,3± 16,2% versus 98,8±17,6%,n=14,p<0,02). nao havendo diferenyas no tempo rnedio de exposic;ao (18,4±5,6 versus 16,6±1 1 ,5 anos, p n.s.) entre ambos.
Estas observavoes sugerem urn papel dos mast6ci-tos na resposta celular do intersticio pulmonar a inalac;:ao de poeiras organicas da cortic;:a, nas formas de Pneumonite de Hipersensibilidade. Por outro !ado, a sua presen9a na superficie broncoalveolar relaciona-se com a intensidade da tinfocitose e da inflamac;ao do intersticio pulmonar. Face a dados recentes que apontam para interacyoes bidireccionais na diferencia-

Maryo/Abril 1996

IMUNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOL6GJCA

:

Fig. 3- Presenc;:a de mast6citos no lav<l(io hroncoalveolar de doentes cmn Pneumonite de Hipersensibilidade (Suberose). Os mast6citos sao facilmente identificados pela de Wright-Giemsa (A 1) ou pelo
· btl de Toluidinu CB). Em 53 amostras analisadas verificamos uma excclcnte correla¥fio entre os dois metodos de coloraciio (WGIAT r : 0.96. p<O.OOI) centre as contagcns de do is observadores (AT:
r, o.g9. WG: r.-0.91l. p<O.OOI).

9ao, prolifera((ao e activa9ao de mast6citos e fibroblas-tos (56. 60) fomos tambem investigar a rela<;ao entre a presen9a de mast6citos na superficie broncoalveolar c a activa9ao de fibroblastos no pulmao profundo, avaliada pelos niveis de bialuronato na LBA (61).
0 hialuronato e urn glicosaminoglicano presente na matriz intersticial do pulmao e e produzido por fibro-blastos ap6s varios estimuJos inflamat6rios (62. 63). 0 seu aumento no LBA tern sido relacionado com a activayao de fibroblastos em djversas patologias pulmonares que evoluem para a fibrose. como a Sarcoidose, o Pulmao de Fazendeiro e a Fibrose Pulmonar Idiopatica (63). Em 25 doentes, com 22± II anos de exposi<;ao na industria de corti<;a, podemos verificar a existencia de niveis mais elevados no LBA dos doentes com Pneumonjte de Hipersensibilidade do que nos casos com envolvimento das vias aereas

Marl;lo/Abril 1996

(asma e/ou bronquite cronrca, media geomctrica 19,9J1g/L versus 92,2J.lg/L, p<0,0002, tesre de Mann Withney), assim como nos doentes com DLCOIV A <80% (113,7 vs 32, 1 J.lg/L se >80%). Os niveis de hialuronato correlacionaram-se directamente como

11° de mast6citos (r5=0,68, p<O,OO I) e linf6citos (x I a'
ml'

1

) do LBA (r5=0, 76, p<O,OO I) e inversamente com
a DLCOIV A (r5=-0,58, p<O,O I).
Assim, na Suberose, a activa<;ao de fibroblastos pulmonares podera estar relacionada com a resposta inflamat6ria local a inalac;ao de poeiras de cortic;a com fungos e parece reflectir a intensidade da infiltrac;ao de linf6citos T e mast6citos no pulmao profundo. Por outro lado, a identificayao do CD44, uma ·molecula envolvida na adesao e rnigrac;ao extra-vascular dos linf6citos, como o principal receptor celular para o hialuronato {64,65), leva a colocar a hip6tese da uma

Vol. II N°2 15 1

REVlSTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGlA

possivel deste glicosaminoglicano nas interac¢es celulares do pulmao profunda nas Pneu-monites de Hipersensibilidade.

Heterogeneidade dos Macrofagos Alveolares na reposta injlamatoria do intersticio pulmonar.

Os macr6fagos sao as principais celulas residentes na supecficie alveolar, onde desempenham, pela sua actjvidade fagocitica, urn importante papel de depura-vao do material inalado que atinge a imerface do pulmao profunda com o meio ambiente (66). No entanto, tal como outras populavoes macrofagicas, os macr6fagos alveolares (M0A) produzem uma grande diversidade de substancias que poderao participar na de situacoes inflamat6rias agudas e cr6nicas
do pulmao e na da resposta imune aos antige-nios inaJados (67-69).
Sabendo-se que a partida representam apenas urn dos compartimcntos das populavocs macrofagicas pulmonares (66) e das cclulas que podem potencial-mente funcionar como aprcsentadoras de antigcnio no pulmao (70), os M0A sao por si uma populacao heterogenea, estrurural c funcionalmente {69). Por exemplo, em relacao a sua fum;:ao acess6ria na rcspos-ta imunol6gica de linf6citos T e B, considcraveis varia¢es tern sido descntas (revisto nas referencias 68 e 71). Na espec1e humana, a maiona do cstudos sugere que, pelo menos no individuo nom1al, a sua funy.1o c essencialmentc de suprcssao da rcsposta linfocttaria a mitogenios ou antigenios, particularmcnte na propor-cao macr6fagosllinf6c11os habill1.thnentc cncontrada no pulmao profunda (71). No estudos mais detalhados tern demonstrado que em propon;:oes inferiores, ou ap6s fracc10namento a partir do LBA, os M0A humanos poderao funcionar como celulas apresentadoras de antigcnio (72) de modo comparavel aos mon6citos circulantes.

E possivcl que, SUbJaCente a hetcrogeneidade na func;ao acess6ria das poputacoes macrofagicas recupe-radas por lavagem broncoalvcolar, estejam difercntes subpopulavaes elou estadios de difercnciavao celular, cuja dinamica sera potencialmente alterada em situa-

152 Vol II W 2

coes intlamat6rias. De tacto, quer em situacoes intlamat6rias que envolvem o intersticio puJmonar (73) ou as vias aerias (74), quer em mode los experimentais (75). tern sido observado 0 recrutamento de celulas de tipo "monocitico" e/ou dendritico a superficie bronco-alveolar, celulas com importantes funcoes acess6rias na resposta imune (76). Assim, estas poderao ser em parte responsaveis pelo aumento da capacidade de apresentac;ao antigenica das populac;oes macrofagicas recuperadas do pulmao nestas situacoes (70. 71. 77). Por ourro lado, a diminuivao da funcrao acess6ria dos macr6fagos alveolares poderci estar dependente da maturavao destas celulas no puJmao, ja que em parte eles se originam dos mon6citos circulantes e estes ultimos adquirem igualmente funcoe de supressao da resposta T ap6s maturacrao "in vitro" (78}.
No homem, a caracteristica autotluorescencia dos M0A tern permitido, com recurso a citometria de Ouxo, separar as celulas mononucleares obtidas por digestao enzimatica do pulmao em duas subpopula-croes - de baixa e elevada autofluorescencia - com efettos diametralmente opostos na activacrao de linf6citos T, i.e. estimulavao intensa ou suprcssao. respectivamente (79). See ccrto que cssas celulas de baixa autofluorescencia, com caracteristtcas da celulas dendriticas. estao habitualmcntc pouco rcprc-sentadas no lavado broncoalveolar (LBA) de individu-os norma is (80), em modelos experimentais. como c a inflamavao pulmonar induzida pelo BCG (75. 81), cia!. estiio claramente aumcntadas no LBA e podern !'.Cr distinguidas dos M0A que supnmcrn a resposta dos hnf6citos T com base nas suas caracteristtcas cllome-tricas (81). De facto, e possivel obscrvar no LBA c61ulas com caracteristicas morfo16gicas que sc as cclulas dendriticas, quer dtrectamenle
(F1g. 4) quer ap6s a sua cultura "in VItro" (Fig. 5). Partindo da hip6tese que em situar;:oes de inOama-cao intersticial do pulmao a hetcrogcncidade natural das populacoes macrofag1cas recuperadas pelo LBA estara aumentada, por recrutamento de celulas mono-citicas ou dendriticas clou por modilicacroes das caracteristicas das celulas residentcs 1mpostas pela cttocmas e mediadores produzidos local mente, fomos investigar a possibilidade da citometria de tluxo

Maryo/Abnl 1996

IMUNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOL6GICA

Fig. 4 - l leterogeneidade morfol6gica dos Macr6fagos Alveolares. de Macr6fagos com morfologm dcndritica. lonnando agregados com linf6citos.
no LBA de um doente com urm• Pneumonite de Hipersensibilidade por •soc.anatos. 5 dias ap6s ao antigenio (endurecedor contendo HOI);
a heterogeneidade e tambem aparente na expressao de HLA-DR
vennclhal que pode ser predominantemente de membrana. citoplasmatica ou
me mo negal!va (imunocitoquimica para HLA-DR. APAAP, x200 na amphaciio original).

Fig. 5- Heterogene1dade morlol6g1ca dos Macr6fagos Alveolares. Em cultura alguns Macr6fagos do LBA apresentam, em contraste com a morfo logia mais habitual (A). longos prolongamentos citoplasmaticos (B), sugerindo a morfologia das celulas dendriticas (microscopia electr6nica de varrimento, x3900 e x2700 na original).

pennitir a caracterizar;ao de diferentes fenotipos de
macr6fagos broncoalveolares nas Pneumonjtes de
Hipersensibilidade.
Estudamos, assim, II casos de Pneumonite de
Hipersensibilidade que companimos a 6 doentes com

Marvo/Abril 1996

exposir;ao ocupacional, mas sem doenr;a pulmonar intersticial, e a 7 com Sarcoidose, todos nao-fumado-res. Nos respectivos LBA a regiao dos linf6citos foi definida e separada dos macr6fagos com base nas caracteristicas de dispersao de luz - ortogonal (SSC

Vol.ll N°2 153

REV!STA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

"side scatter") e em linha recta (FSC "forward scatter"
- que sao tipicas destas celulas (Fig. 6A) e aferida, num histograma de contomo, pela sua expressao elevada de CD45 (o "antigenio leucocitfuio comum") e baixa dispersao de luz ortogonal (Fig. 68). Em todos os casos estudados foi possivel definir, nas

nao-autotluorescentes (MeNF 63,4% VS 36,3% de Me AF, p=0,007) (Fig. 6E e F). Na Sarcoidose as duas subpopulac;oes estao presentes no LBA em proporc;ao identica (MeNF 42,4% vs Me AF 47,8%, p n.s.). Assim, comparativamente a Sarcoidose, as Pneu-mon ites de Hipersensibilidade parecem distinguir-se

50" Log

.

. ' 11-.

ldas
\'

c

'

• ""Y'!S ...... ,...,.

1 f 1
SSc-H\SSc-Helght->
Fig. 6- por citometria de fl uxo dos macr6fagos do lavado broncoalveolar. A. identificat;ao da regilio dos macr6fagos e linf6citos com base nas suas caracteristicas no histograma de dispersao de luz ortogonal (S C "side scatter") e em linha recta (FSC "forward scatter") - e. num histograma de contomo. pcla sua expressao de CD45 e dispersiio de luz ortogonal (8). C. hisLograma de distribuir;:ao
da autofluorcscencia vem1elha (FL3) dos M0A. onde e possivel definir duas regioes distintas de macr61agos autofluorescentes (M0AF) e "niio-autofluorescentes" (M0NF). A relativa destas
duas c. nas Pneumonites de Hipersensibilidade (De E). muito distinta da dos casos sem intersticial (F).

celulas com a dispersao de luz caracteristica dos MeA, duas regioes distintas com base no bistograma de distribuic;ao da autofluorescencia vermelha (Fig. 60 e C), a partir das quais se calculou a propon;ao relatiya das subpopulac;oes de macr6fagos autofluorescentes (Me A F) e "nao-autofluorescentes" (MeNF) (Fig. 6E e P).
A proporc;ao relativa das duas subpopulac;oes de M0A foi diferente nos 3 grupos estudados (Fig. 7). Enquanto que nos doentes sem doenc;a pulmonar intersticial predorninam os macr6fagos alveolares autofluorescentes (M0AF) 67,4 % versus 30,8 /o de MeNF, p=0,02, teste de Wilcoxon) nas Pneumonites de Hipersensibilidade (PH) ha urn predominio franco dos

154 Vol. 11 N" 2

pela presenc;a no LBA de uma proporyao significativa-mente mais elevada de Me A "nao-autofluorescentes" (63,4% vs 42,4%, p=0,03, Fig.7) que, simultaneamen-te, poderao ter urn tamanho (FSC) pr6ximo ao dos mon6citos circulantes {89). Resultados preliminares apontam tambem para uma diferente expressao, nestas duas subpopulac;oes, de antigenios caracteristicamente expressos nos mon6citos (CD45, CD 14, CD4 e ALA-DR), sugerindo diferentes estadios de diferencia-c;ao/maturayao dos macr6fagos recuperados no LBA. Face aos dados recentes que apontam para diferen-te actividade destas subpopulayoes na estimulayao "in vitro" de linf6citos T (79-81), estes resultados sao consistentes com a hip6tese de, no pulmab profundo

Mar¥o/Abril 1996

< 100 Control a P. Hipers. Sarcoidose
CJ)
...J
0
c: 80
IJl
CD

iij 60 g

>

< 40
0
Ill
IJl

0 20

"0

'#.
0

• ••

p=0,02 p=0,007 p n.s.

I 0 MC21AF MCZINF I

Fig. 7- Propor((ao relaliva de duas de macr6fagos do LBA. definidas pel a autofluorescencia e citometria de
fluxo, em individuos naofumadores. Enquanto que nos doentes sem doen((a pulmonar intersticial (Controlo.
n=6) predominam os macr6fagos alveolares autofluo_res-
centes (M0AF) nas Pneumonites de Hipersensibilidadc
(P. Hipers., n=ll) ha urn predominio franco dos nao-autofluorescentes (M NF). Na Sarcoidose (n=7) as duas subpopula((oes estiio presentes no LBA em propor<;ao identica. Estiio assinaladas, pelo n• de asteriscos. as diferen((aS estatisticamente signilicativas em rela<;iio ao
grupo Controlo.

das Pneumonites de Hipersensibilidade. predominar uma popula<;:ao macrofagica apresentadora de antige-nic aos linf6citos T ("nao-autofluorescentes") e haver uma redu<;:ao dos macr6fagos "supressores" (auto-fluorcscentes). Estudos futuros, dirigidos a cat·acteri-za<;:ao fenotipica e funcional destas subpopula<;:oes e seu isolamento, poderao vir a corroborar esta hip6tese.

CONCLUSAO

Apresentamos alguns dados da investiga<;:ao imunol6gica das doen9as do intersticio pulmonar, que

Mar((o/Abril 1996

IMUNOLOGlA NA PRA TICA PNEUMOL6GICA

tiveram por objective uma melhor caracteriza9iio da resposta imune e inflamat6ria do pulmao profunda a inalayao de poeiras orgarucas. Face aos resultados obtidos e aos avanyos recentes no conhecimento da biologia celular do Pulmao, propoe-se urn modele dos mecanismos envolvidos na imunopatogenese das Pneumonites de Hipersensibilidade (Fig.8), muitos dos quais poderao ser comuns a outras doen9as pulmonares por agressores extrinsecos e/ou a doen<;:as intersticiais idiopaticas. Espera-se que uma melhor compreensao destes mecanismos complexes permita perspectivar, no futuro, novas terapeuticas oeste importante grupo de patologia pulmonar.

AGRADECIMENTOS

0 autor agradece a colabora((iio de todos os Colegas que. directa ou indirectamente, participaram nos trabalhos apresenta-dos. pois OS resultadOS obtidos SO foram possiveis a colabora<;iio de varias equipas de investigayiiO. Nestas, desta.co a colabora<;iio dos Drs. Joiio Carlos Winck, J. Manuel Sapage, J. Moura e Sa. Fernando Filipe e Veiga de Macedo e das Dr's Silv1a Torres. Natalia Taveira, Aurora Carvalho e Isabel Melo. do Departamento de Pneumologia do Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia. No Servi((o de lmunologia agrade<;o a colaborayiio da Dr' Josefina Rodrigues e Dr. Carlos Cuesta (Unidade de lmunoalergo-logia, H. S. Joiio), da Sr's D• Irene D6ria e D"Conceiyiio Maga-lhiies. Dr. Joiio Pedro Ramos e Prof. Doutor Fleming Torrinha. Reconhece-se, tambem, a colabora((iio da Sr" D• Alice Guimariies (Cenrro de Morfologia Experimental) e do Eng •carlos Sa (Centro de Metalurgia e Ciencias dos Materiais), da Universidade do Porto. nos trabalhos de microscopia electr6nica. Aos Drs Joiio Carlos Winck e Jorge Palmares agradece a revisiio critica do manuscrito. Este trabalbo foi parcialmente financiado por uma bolsa do ex-1nstituto Nacional de lnvestigac;:ao Cientifica (n • 27343) e pelo projecto 901.86.55 da Junta Nacional de Jnvesliga-((iiO Cientifica e Tecnol6gica.

Voi.IIN"2 155

REVJSTA PORTUGUESA DEPNEUMOLOGIA

M<j>AF -'
supressor

'P •

'P 'P lHF-o L-o • • SCF

'P ::::

'P 'P 'P

• ColooWio
Granulonwl

Fig. 8 - Modelo dos mecanismos imunopatol6gicos que interve-em na patogenia das Pneumonites de Hipersensibilidade.
desde a sua fase aguda ate a fase cr6nica de infiltrar;Ao mononuclear, de granulomas e fibrose (organi-
zado a partir de dados pessoais e das ref's 39-41, 60 e 82-
-88). Em cima: a fom1ar;Ao de complexos antige-nio/anticorpo levara a uma in flarnat6ria corn participar;Ao de polimorfonucleares neutr6filos, rnast6ci-tos e macrofagica, resultando libertar;Ao de enzimas, metabolitos reactivos de oxigenio (Of'), leuco-trienos (LTs), factor activador de plaquetas (PAF) e citocinas (IL-l e TNFa): estes levam a quimiotactismo celular e contribuem para do endotelio, com de IL-8, aumento da adesividade leucocitaria
e recrutamento celular (PAF, L Ts. C5a, fL8). No meio: a participac,;iio de varias subpopulay()es de macr6fagos alveolares que,"activados", contribuem para a lesiio pulmonar e apresentayiio antigenica aos linf6citos T auxiliares (CD4+CD29+); estes, conjuntamente com as diversas subpopulay0es de linf6citos T citot6xicos e NK recrutados (produtores de IFy), contribuem para o

156 Vol. UW2

'P :::: ::::

desenvolvimento de mecanismos de hipersensibilidade retardada (reposta de tipo T H I e activar;Ao macrofagica). A acr;Ao desses macr6fagos ("niio-autofluorescentes" M0NF), mon6citos e eels dendriticas, "auxiliadoras" de linf6citos T, pode ser cont:rariada pela acr;Ao de macr6fa-gos alveolares "supressores" (autofluorescentes M0AF) e seus mediadores (PGE2, N02

-) ou de linf6citos CDS+
"supressores" (CD8+CD45RA+). Em baixo: urn grupo heterogenio de linf6citos T citot6xicos, produtores de IFy, contribuem tambem para a activar;Ao e proliferar;Ao de fibroblastos. Estes, atraves da produr;Ao de hialurona-to contribuem, conjuntamente com aIL I e TNFa, para a adesiio "homotipica" de macr6fagos e linf6citos e formar;Ao de granulomas. Os mast6citos poderiio tambem surgir e participar na fase cr6nica, sob influencia do "stem-cell factor" (SCF) dos fbroblastos e de linfocinas. A proliferar;ao e estimular;Ao dos fibroblastos e a fibrose intersticial e, assim, promovida por diversas celulas e mediadores: macr6fagos (fibronectina, IGFI, PDGF, TNFa), linf6citos (Ify) e mast6citos (Histamina, TNFa).

1996

BIBLIOGRAFlA

I. TELES DE ARAUJO A. do lntersticio Pulmonar.

m Pneumologia na Pratica Clinica. Freitas e Costa M, ed.
da Climca de Doencas Pulmonares da Faculdade de
Medicina de Lisboa; 2• Volume: 637-688.
2. CHRETIEN J. Pulmao Profundo: uma entidade a individu-

ali7..ar. Limites. Estruturas. Modalidades de Abordagem. in Pulmiio Profundo. Estruturas e Mecanismos. Robalo Cordeiro AJA. ed. XIV Jomadas de Actualizac,:ao Pneu-mol6gica. Coimbra, 1990: 1: 1-12.
3. COST ABEL U. Celulas efectoras alveolares. Mecanismos
normais e patol6gicos, m Pulmiio Profunda. Estruturas e Mecanismos. Robalo Cordetro AJA. ed. XIV Jomadas de Actualizac;ao Pneumol6gica. Coimbra.l990; 2: 13-24.
4. AZEVEDO-BERNAROA R. Fibroses lntersticiais do
Pulmao, in Pulmiio Profunda. Estruturas e Mecanismos. Robalo Cordeiro AJA. ed. XIV Jomadas de Actualizac;iio Pneumol6gica. Coimbra.l990: I 0: 125-147.
5 A VILA R.DUARTE P, MENDES B. FROES F. SANTOS
AC. AMARAL-MARQUES R. A agressiio do Pulmiio Profundo por particulas orgamcas. in Pulmiio Profundo. Estruturas e Mecanismos. Robalo Cordeiro AJA. ed. XIV Jornadas de Actualtzac;iio Pneumol6gica. Coim-bra.l990: 15: 225-237.
6 ROBALO CORDEIRO AJA. Alveolites sub-clinit.'IS -
perspectiva imunol6gica. Rev Port lmunoalergol 1992: I
{3): 73-85.
7. ROBALO CORDI::IRO. Repercussoes pulmonares das
doenc,:as Ambito e limites. Aiq da S.P.P.R.I992;
8 (4) suplemento: 93-100.
8. A VILA R. Sintomas e doen¥l!S resultantes da a
poeiras orgiinicas. Arq da S.P.P.R.I992: 9 (I): 27-56.
9. AL VIM FERRAZ MCM. FERRAZ JM. MOURA MRS. A
importiincia da polutcrao atmosfenca em Medicina do Trabalho. Arq da S.P.P.R.I992; 9 (4) :167-173.
10. RODRiGUES J. MOREIRA DASILVA JP. DELGADO JL, CASTEL-BRANCO MG. Pneumonite de Hipersensibi-lidade. Rev Port lmunoalergol 1992; I (3): 113- 122.
II. MOURA PIRES J. MONTEIRO R, CAMACHO E, NEVES MC. Pneumonite de Hipersensibilidade. Boletim
do Hospital Pulido Valente 1994; Vn (1): 33-40
12. TELES DE ARAUJO A, RAYMUNDO ME. Ocupacionais do Pulmiio, in Pneumologia na Pratica Clinica. Freitas e Costa M. ed. Edicrao da Clini£a de Doen¥l!S Pulmonares da Faculdade de Medicina de Lisboa, 1992:2° Volume: 691-744.

13. VIEIRA L. A importiincia do estudo do lavado broncoalve-olar no diagn6stico e progn6stico da Pneumonite de

Marc;o/Abril 1996

IMUNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOL6GICA

Hipersensibilidade. Boletim do Hospital Pulido Valente 1994: VII (I): 41-46.
14. SEGORBE LuiS A. Contribuic;ao para o estudo da alveoli-te subclinica do Criador de Aves. Via Pneumol6gica 1992:
V (I): 51-60.
15. LEITE A C P. A lavagcm broncoalveolar em patologia pulmonar ocupacional. Coimbra Med.1987; 8 Supt. I: 83-90.

16. TELES DE ARAUJO A. Resposta imune nas a1veolites alergtcas extrinsecas. lmunopatologta da das vias aereas. Bugalho de Almeida A. Freitas e Costa M. eds. Lisboa 1992; 39-47.

17. CAMPBELL JM. Acute symptoms following work with hay. BrMedJ 1932; 2:1 143- 1144.
18. PEPYS J, JENKINS PA. FESTENSTEfN GN. et at. Farmer's lung: Thermophilic actinomycetes as a source of "fanner's lung hay" antigen. Lancet 1963: 18: 182-196.
19. A VILA R. TELES DE ARAUJO A. VILLAR TG. Doenc;a puJmonar nos corttceiros. Jomal do Medtco 1968:1319:8-10.

20. PIMENTEL JC. Furrier's lung. Thorax 1970: 25:387-398.
21. VILLAR TG, A VlLA RG. Granulomatoses pu1monarcs de
causa inalat6ria. Lisboa.l976.

22. A VILA R. Factores de agessao do aparelho respirat6rio numa fabrica de conic;a. Jornal do Medico 1973:1573: 46-47.
23. INSTITUTO NACIONAL DE ESTA TlSTICA. Estatisticas do Comercio Extemo.l992.

24. DELGADO AP, GODfNHO IM. A Industria na regiao None: caracterizacrao estrutural. Perspectivas de evoluc,:iio
da indiJstria na Regiao None. Desafios dos Anos 90. Industrial Portuense. ed.l994.
25. fNSTITUTO NACIONAL DE ESTATiSTICA. Estatisticas Industria is, 1989.
26. ASSOCIA<;:AO DOS fNDUSTRlAJS E EXPORT ADO-RES DE CORTI<;:A DO NORTE. Estatisticas de Janeiro de
1991

27. AVILA R,GALVAO LUCASJ,ARAUJOAT.LACEY J, et at. Estudo epidemio16gico da doen¥11 respirat6ria dos trabalhadores da indiJstriada conic;a. 0 Medico 1973; 1146: 25S-268.
28. PIMENTEL C, A VlLA R. Doen¥11 respirat6ria dos openiri-os da indiistria da corti¥11 (<<suberose>>). Novos aspectos
e possibilidades de diagn6stico. Jomal do Medico 1914; 1594:16-28.
29. CARVALHO A, VEIGA DE MACEDO A, DELGADO L.

Vol. II N• 2 157

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

FLEMING TORRINHA, et al. Respiratory effect of mouldy cork dust Clinical investigation. Fifth European Congress on Diseases of the Chest.l 984; 1:12 (resumo).
30. CARVALHO A, VEIGA DE MACEDO A, DELGADO L. FLEMING TORRINHA. et al. Manifesta¢es broncopul-monares em operiuios inalando poeiras de 0 Medico 1986;115:310-318
31. SA HC, TAVEIRA N, DELGADO L, JOAO FM, et al. dos criadores de pombos. Estudo numa populalf3o
de risco. Arq S.P.P.R. 1987: IV (I): 37-42.
32. BURRELL R, RYLANDER R. A critical review of the role of prec1pitins in hypersensitivity pneumonitis. Eur J Resp
Dis 198 I: 62: 332-343.
33. PATTERSON R, WANG JLF. FINK JN. CALVANICO NJ. ROBERTS M. lgA and lgG antibody activities of serum and bronchoalveolar lavage fluids from symptomatic
and asymptomatic pigeon breeders. Am Rev Resp Dis 1979; 120: II I 3-11 I 8.
34. RODRIGUES MJA. GOMES MJM, FREITAS 0. AMARAL-MARQUES R. ldentificavao de imunoglobu-linas G especificas por ELISA. Arq. S.P. P. R.l991: 8(2): 119-123.
35. RICHERSON HB, BERNSTEIN Lt. FINK JN. HUN-NINGHAKE GW, NOVEY HS et al. Guidelines for the clinical evaluation of Hypersensitivity Pneumonitis. J Allergy Clin immunol 1989: 84, 5 (pan 2): 839-44.
36. SAP AGE JM. DELGADO JL. TORRES S. VICENTE P. WINCK JC. RODRIGUES FFP. RIBEIRO Jl. Suberose

contributo da Lavagem Broncoalveolar no diagnosttco da patolog1a resp1rat6rm nos trabalhadores da lndustna da Arq S.P.P.R. 1992:9 (6): 32 1-327
37. A VfLA R. VILLAR TG. Respiratory disease in cork workers (Suberosis). Thorax 1973 28· 409-23.
38. DELGADO L. WINCK JC. SAPAGE JM. TORRI::S S.

MOURA E SA J. FLEMING TORRINHA. Anticorpos lgG para o Pc:nicilhum frequentans na doenva resp1rat6na dos trabalhadores da indllstna da contya (Suberose). Aplicac;iio
de urn metodo de na sua quanttfica-lf3o. Arq. S.P.P.R 1994: I I (5): 353- 354 (resumo)
39. SALVAGGIO JE, MILHOLLON B. Induction and modu-lation of pulmonary inflammation by organic du.,ts: cytokines, immune complexes and <<all of those things.>> Clin Exp Allergy 1992; 22:73 1-733.
40. MULLIGAN MS. WARD PA Immune complex-induced lung and dermal vascular mjury. D1 Oi:ring requirements for Tumor Necrosis Factor-a and IL-l. J lmmunol 1992:149. 331-339.
41. DENIS M. CORMfER Y. FOURNIER M. Tumor necros1s

factor plays an essential role in determinmg hypersensiti-
vity pneumonitis in a mouse model. Am J Respir Cell Mol
Bioi 1991:5: 477-483.
42. REYES CN, WENZEL FJ, LAWTON BR, EMANUEL

158 Vol. II N" 2

DA. The pulmonary pathology of Farrner's Lung Dtsease. Chest. 1982; 8 I (2): 142-146.
43. KA WAN AMI 0. BASSET F. BARRIOS R. LACRONI-QUE. FERRANS VJ. CRYSTAL RG. Hypersensitivity Pneumomtis m man. Light- and electron-microscopic studies of I 8 lung biopsies. Am J Pathol.l983: II 0. 275-289.
44. SEMENZA TO G. AGOSTINI C. LAM BELLO R. TREN-TIN L. CHILOSI M, PIZLOLO G. MARCER G. CIPRIA
Nl A. LUNG T cells 111 llypersensitiVIty Pneumonitis: phenotypic and flmCtlonal analyses. J lmmunol 1986:137:1164-1 172.

45. SEMENZA TO G. TRENT IN L. Cellular immune respon-ses in the lung pneumonitis. Eur Rel>pir 1.1990: 3 357-359.
46. SEMENZA TO G. TRENTIN L. ZAMBI::LLO R. AGO - 11NI C. CIPRIANI A. MARCER G. D1fferent 1ypes of cytotoxtc lymphocytes reco' ered from the lungs of patients
with Hypersensitivity Pneumonllis. Am Rev Respir D1s 1988: 137:70-74.
47. SOLAL-CELIGNY Pll. LA VIOLETIJ:. M. IlEBERT J.

CORMIER Y. Immune reactions m the lungs or asymptomatic d:my farmers. Am Re' Respir Dis 19R2:
I 26: 964- 967.
4& CORMIER Y. BELANGER J. LAVIOLETTE. Pers1stem

bronchoah eolar lymphocytOSIS m asymptomatic fam1ers.
Am Re' Resp1r Ols.l986: 133: 843-847.
49. SCHUYLER M. GOTT K. SHOPP G. CROOKS L. Experimental hypersensitivity pneumonitis· influence of donor sens1t1zatiun. J Lab Cl in Med. 1990: 115: 621- 628.
50. SCIIUYLER M. GOTI K. SIIOPP G. CROOKS L.
and C04+ cells adoptively transfer cxperimentalllyper-sensitivity Pneumonitis. Am Rev Resp1r Dis. 1992.
146: 15152-1588.
51. DENIS M. CORMIER Y. J.AVIOLETIE M. Munne HypersensitiVtt) a study of cellular infiltra-
tes and cytoktne productiOn and 1ts modulation by cycloJ>- ponn A. Am Rev Rcsp Cell Mol Bioi 1992.6:68-74.
52. DElGADO L. WINCK JC. SA PAGE JM. TORRE S. RIBEIRO Jl. MOURA E SA. Respiratory disease in cork workers: characterization of Suberosis alveolitis by bronchoalveolar lavage. Eur Rcspir Journal 1992: 5 (suppl
15): 503-504s (abstract).
53. DELGADO L. RAMOS JP. WINCK JC, CUES1 A C'. TORRINHA JAF Cytotoxic lymphocytes 111 Hypersensi-tivity Pneumonitis. Mcetmg of the Bntish Society for Allergy and Clinical Immunology. Sept 1992 (abstract).
54. Romagnani S. Induction ofT "I and T "2 responses: a key role for the <<natural>> immune response? Tmmunol Today 1992; 13 (10): 379-381.
55. KEMENY OM. NOBLL:. A, HOLMES BJ, DTAZ-SAN-CHEZ D. Immune regulauon: a new role for Lhe T

Marc;:o/Abnl 1996

cell.lmmunol Today 1994;15 (3):107-110.
56. JORDANA M. Mast cells and fibrOSIS • who's on first? Am J Rcspir Cell Mol Bioi 1993; 8: 7-8.
57. PI:.SCI A. BERTORE:.LLI G. OLIVIERI D. Mast cells in broncho.1lveolar lavage fuid and 10 transbronch1al b1opsy specimens of patients w1th farmer's lung disease Chest 1991;100:1197-1202.
58. TAKIZAWA H.OIITA K. HIRAI K. MISAKI Y.IIORI-UCH I T. ct al. Mast cells are 1mporta111 m the development
of hypersensitivity pneumomtis. A Mudy with the mast· cell-deficient m1ce. J lmmunol 1982-1988.
59. DELGADO L. CUESTA L'. WINCK JC. SAPAGI: JM.

MOURA c SA J E I-LEMING rQRRINI IA JA 0 aumen-
to de broncoalveolares caractenza as Pneumo·
nites de Hipersensibilidade nos trabalhadores da mdustna
da conu;a. Archl\oS de Bronconeumolog•a 1993: 29 (suppl I): 54-55 (r.:sumo)
60. VALENT P The riddle of the mast cell: kit(CDII7)-Itgand as the m1ssmg lml.? lmmunol Today 1994.15.111-ll·t
61. DELGADO L. WINCK JC SA PAGE JM, MOURA E SA J E FLEMJNG TORRINHA JA. 0 H1alurano no lavado broncoalveolar. urn marcador de activacao dos libroblastos. reOecte a mtensidade da mllama;riio tntersllc•al na Subero-
se. Arq S.P.P.R.I993;10 (1): 79 (resumo).
62. WHITESIDE TL. BUCKINGHAM RB. Interactions hctween cells of the immune system and hyaluronate
by human dem1al The b1ology of hyaluronan. C1ba Foundation Symposium
143; 1989; 171-186.
63. HALLGREN R. EKLUND A. ENGSTROM-LAUREN r A. TH UNELL M. <;CHMEKEL B. Hyaluronate m bron-choalveolar lavage Jluid: a nc:w marker m sarco1dosis reflecting pulmonary disease. Br Med J 1985: 290: 1778-81.
64 KOOPMAN G. VAN KOOYK Y. DEGRAAF M. MEYI:.R JLM. FIGDOR CG. PALS ST. Triggering of
the CD44 antigen on T lymphocyte:. prom otes T cell adhesion through the LFA-1 pathway J lmmunol 1990: 145: 3589-3593

65 I'ARDI R. INVERARDl L, BENDER JR Regulatory mechamsms in leukocyte adhes1on llexible receptors
for sophisticated lmmunol Today 1992; 13. 224-230

66. BRAIN JD. Lung Macrophages: how many kmds are there? What do they do? Am Rev Resp1r Dis 1988: 137· 507-509.

67 NATHAN B. Secretory products of macrophages. J Cltn Invest 1987; 79: 3 I 9- 324
68 HERSCOWITZ HB In of the lung paradox1cal role of the pulmonary aheolar macrophage. Annals of Allergy 1985: 55: 634-650.
69. ROSSMAN MD. DOUGLAS SD. The Alveolar Macropha·

IM UNOLOGIA NA PRA TICA PNEUMOLOOICA

Immunologic Diseases of the Lung. Damele RP. ed. Blackwell Scientific Publicauons 1988; 9: 167-183

70. HOLT PG. Regulauon of antigen-presenting cell funcu-on(s) in lung and a1rway tissues. Eur J 1993. 6•120-129.

71. IIOL T PG. Down-regulation of 1mmune responses in the lower tract: the role of alveolar macrophages. Chn Exp Tmmunol 1986: 63: 261-270.
72. RJCH EA. TWEARDY DJ. FUJIWARA H. ELLNER JJ. Spectrum of 1mmunoregulatory functions and properties human alveolar Am Rev Resp1r D1s 1987: 136: 258-265.
7J MELtS M. GJOMARKAI M PACt 1:. MALIZIA G. SPATAFORA M. Increased expression of Leukocyte Function Associated Antigen-! (LFA- 1) and Intercellular Adhesion Molecule-I (ICAM-1) by alveolar macrophages
of patients w11h sarco1dosJS. Chest 1991: I 00: 910-916.
74. POULTER LW. JANOSSY G. POWER C, SREENAN S. BURKE C. lmmw1olog1caV phys1olog1cal relationships in asthma: po1ent1al regulation by lung macrophages. lmmu-
nol Today 1994:15: 258-261
75 HA VENil H CEG. BREED UK AJ. ECM. Effect ofbac11lus CalmeueGuenn moculatlon on numbers
of dendntic cells 10 bronchoalveolar lavages of ratS. lmmunob1olog} 1992:184. 336-347
76. GEPPERT m: LIPSKY PE. Antigen presentation at the 10flarnmatory site. Crit Rev lmmunol 1989; 9: 313-362.
77. LEl\1 VM. LIPSCOMB MF. WELSSLER JC. NUNEZ G. BALL EJ. STASTNY P. et at. Bronchoalveolarcells from arcoid patients demonstrate enhanced anugen presentati·
on J lmmunol 1985:135: 1766-1771
78. SCHAUBLE TL. BOOM WH. FINEGAN CK, RICH EA. Charactenzauon of suppressor function of human alveolar macrophages for T lymphocytes to Phytohe-magglutinin: cellular selectivity. revers1b1lity. and early events in T cell activation. Am J Resp1r Cell Mol B1ol 1993:8.89-97.
79 NICOD LP. LIPSCOMB MF. TOEWS GB. WEISSLER JC. Separation of potent and poorly funcuonaJ huznan lung acessory cells based on autotluorescence. J Leuk Bioi 1989: 45: 458-465

80. NICOD LP. LIPSCOMB MF. WEISSLER JC, LYONS CR. ALBERTSON J. TOEWS GB. Mononuclear cells 1n hWllan lung parenchyma. Charactenzatlon or a potent acessory cell not obtained by bronchoalveolar lavage. Am Rev Resp1r D1s 1987: 136: 818-823
81. IIA VENITH CEG. BREEDIJK AJ, VAN MIERT P.
BLIJLEVEN N, CALAME W. BEELEN RHJ. Et al.
Separauon of alveolar macrophages and dendnuc cells via
autofluorescence: phenotypical and funcuonal characteriza-
uon. J Leuk B10l 1993: 53; 504-510.
gc. receptors and effector cell funcuon, 10 Immunology and 82. WARREN JS. Relauonship between lnterleuk10-l (3 and

Abnl 1996 159

REVISTA PORTUGUESA DE PNEUMOLOGIA

Platelet-activating Factor in the pathogenesis of acute immune complex alveolitis in the rat. Am J Pathol 1992:141 (3): 551-560.
83. DENTS M. BEDARD M, LA VIOLETIE M, CORMIER Y. A study of monokine release and Nataral Killer activity in
the bronchoalveolar lavage of subjects with Farmer's lung. Am Rev Respir Dis 1993:147: 934-939.
84. MILLS CD. Molecular basis of"supressor" macrophages. Arginine metabolism via the nitric oxide synthetase pathway. J lmmunol 1991; 146: 2719-2723.
85. MILBURN HJ. Lymphocyte subsets in hypersensitivity pneumonitis. Eur Respir J 1992:5: 5-7.
86. DENlS M. CORMIER Y. LAVIOLEITE M. GHADIRI-

160 Vol. II N" 2

AN E. T cells in Hypersensitivity Pneumonitis: effects of
in vivo depletion ofT cells in a mouse model. Am J Respir
Cell Mol Bioll992; 6:183-189.

87. DENIS M, GHADIRJAN E. Murine hypersnsitivity pneumonitis: bidirectional role of interferon-gamma. Clin
Exp Allergy 1992:22:783-792.
88. DENIS M, GHADIRJAN E. Murine hypersensitivity pneumonitis: production and importance of Colony-stimulating factors in the course of a lung inflammatory reaction. Am J Respir Cell Mol Bioi 1992: 7: 441-446.
89. DELGADO L. WINCK JC. RODRIGUES J. RAMOS JP. TORRINHA JAF. Heterogeneidade dos
Alveolares em pulmonares granulomatosas. Caracteriza<;.iio por citometria de nuxo (em preparacaol.

1996