30 O PROCESSO INFLAMATÓRIO EM DPOC E EM ASMA

Dra. Denise Cotrim
Pós-Graduanda da Disciplina de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Dr. Rafael Stelmach
Professor Doutor da Disciplina de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Médico da Divisão de Doenças Respiratórias do Serviço de Pneumologia do Hospital das Clínicas/Incor da FMUSP
Prof. Dr. Alberto Cukier
Professor Livre Docente da Disciplina de Pneumologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Coordenador do Grupo de Doenças Pulmonares Obstrutivas da Divisão de Doenças Respiratórias do Serviço de Pneumologia do Hospital das Clínicas/InCor da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Asma e Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) representam, não apenas uma única entidade patológica, mas um espectro de condições clínica-patológicas que têm em comum a limitação ao fluxo aéreo (obstrução).

Em Asma, a limitação é habitualmente variável e reversível, embora possa existir um componente subjacente irreversível. Em DPOC a limitação (particularmente ao fluxo expiratório) é usualmente, mas não sempre, persistente e, tipicamente, mostra uma deterioração rápida e progressiva bem maior do que a esperada para a idade (1).

Historicamente a asma foi classificada como extrínseca (atópica ou alérgica) e intrínseca (não atópica), diferindo em seus fatores desencadeantes, mas descritas patologicamente de uma única forma.

Por sua vez, a DPOC compreende três condições clínicas:

· Bronquite crônica: definida, clinicamente, como tosse produtiva de longa duração (pelo menos 3 meses em 2 anos consecutivos) com hipersecreção de muco;

· Bronquiolite crônica: mais difícil de ser definida, e baseada em avaliações funcionais com alterações em fluxos de pequenas vias aéreas;

· Enfisema: definido em termos anatômicos, como alteração destrutiva permanente do espaço aéreo para além dos bronquíolos respiratórios.

Sabe-se hoje que tanto Asma como DPOC são doenças inflamatórias. Estudos do escarro e, mais recentemente, do lavado brônquico têm auxiliado na compreensão dos achados inflamatórios que ocorrem na mucosa de pacientes portadores de doenças obstrutivas (2).

Na Asma encontramos no escarro: eosinófilos, células metacromáticas, espirais de Curshmann (muco condensado), os corpúsculos de Creola (constituídos por aglomerados de células epiteliais) e os cristais de Charcot-Layden (composto por restos de membranas celulares de eosinófilos e por grânulos de lisofosfolipase) (3) Estes achados não estão presentes no escarro dos pacientes com Bronquite Crônica (BC). Em BC o escarro é mucoso, exceto nas exacerbações em que, habitualmente, se torna purulento e rico em neutrófilos.

Estudos com lavado broncoalveolar em asmáticos mostram aumento de eosinófilos e linfócitos T "helper" e positividade de marcadores de degranulação de eosinófilos e mastócitos. Em bronquite crônica ocorre aumento de neutrófilos no lavado. A concentração de neutrófilos no lavado se correlaciona negativamente com o VEF1.

INFILTRADO CELULAR

A inflamação das vias aéreas é parte central da patogênese da asma. O desenvolvimento, a progressão ou a resolução da inflamação das vias aéreas parece ser crítica para a presença e desenvolvimento dos sintomas, as alterações da função pulmonar, a presença de hiper-reatividade, gravidade da doença e sucesso do tratamento. Os primeiros estudos para

avaliação de inflamação foram "post mortem" e mostravam extensão do processo inflamatório por toda a via aérea, especialmente de infiltrado eosinofílico. No entanto, estes achados não explicavam o padrão de obstrução reversível que caracteriza o dia a dia da asma. Somente com o advento da broncoscopia flexível - e sua transformação em um instrumento de estudo das vias aéreas de asmáticos - é que a existência de um processo inflamatório na fisiopatologia de asma pode ser avaliado. O uso da broncoscopia flexível abriu novos campos de investigação permitindo a realização de estudos que iriam correlacionar o índice de atividade clínica da doença com as alterações na atividade celular (4).

No "Estado Asmático" ocorre um importante infiltrado tanto na parede das vias aéreas como na formação de "pluggs" dentro da luz. A célula característica é o eosinófilo e os neutrófilos estão ausentes. Os linfócitos são abundantes. A associação entre asma e eosinófilos é forte e foi estabelecida no início do século XX.

Os estudos de biópsias, obtidos por broncoscopia ou a céu aberto, usualmente demonstram presença de eosinófilos no parênquima. Mas, embora eosinófilos sejam característicos e usualmente encontrados em asma fatal, em alguns casos não observamos eosinofilia tissular, um achado que corrobora a heterogeneidade desta doença (5).

A infiltração tissular com eosinófilos e linfócitos ocorre mesmo em asma leve. O linfócito predominante é o CD4 e o perfil inflamatório em asma consiste das Interleucimas 4 , 5 e 10.

Em DPOC o infiltrado é constituído por células mononucleares: linfócitos, plasmócitos e macrófagos. O linfócito predominante é o CD8. Observam-se poucos eosinófilos e neutrófilos no parênquima (6). Nas exacerbações da BC pode ocorrer aumento de eosinófilos, mas o número é menor que em asma e não existem sinais de sua degranulação. Precocemente em BC pode-se observar hiperplasia de células globosas e hipertrofia glandular submucosa (7).

Em fumantes que têm morte súbita, as lesões encontradas são inflamação nos bronquíolos e bronquíolos respiratórios consistindo de macrófagos pigmentados associados a metaplasia de células mucosas, hipertrofia de músculos lisos, fibrose peribronquiolar e excesso de vias aéreas com diâmetro menor que 400 mm. As alterações inflamatórias observadas nas pequenas vias aéreas parecem guardar relação com a obstrução detectada clinicamente (8).

A destruição de bronquíolos respiratórios nas regiões de enfisema parecem resultar de uma reação inflamatória. A ruptura das ligações alveolares leva a perda de tração radial com tendência a fechamento das pequenas vias aéreas e aumento da tortuosidade de bronquíolos que se encontram sem suporte.

SUPERFÍCIE EPITELIAL

Descamação da superfície epitelial é proeminente em asma e é vista tanto em asma fatal como em biópsia de doentes com asma leve. Quanto maior a perda da superfície epitelial (mucosa careca), maior parece ser o grau da hiper-reatividade das vias aéreas (9). As junções das células epiteliais parecem estar danificadas e contribuem para a fragilidade epitelial que ocorre na asma.

Metaplasia escamosa pode ser vista tanto em DPOC como em Asma, mas com características diferente. Em DPOC a metaplasia escamosa é estratificada e multifocal e em asma ela é simples e esparsa.

MEMBRANA BASAL EPITELIAL

Espessamento e hialinização da lâmina reticular, abaixo da lâmina basal é característica da Asma e está presente precocemente, mesmo em asma leve, estando associada à presença de miofibroblastos (10). Em DPOC pode ocorrer espessamento, porém apenas de forma focal.

CÉLULAS SECRETORAS DE MUCO

Hiperplasia de células globosas e aumento da glândulas submucosas é característica da BC e se correlaciona com a hipersecreção de muco observada. Aumento das glândulas mucosas pode ser visto de forma não intensa no "estado asmático".

O aumento da massa glandular que ocorre em BC decorre de um aumento na proporção dos ácinos mucosos em relação aos serosos. Os ácinos serosos produzem substâncias com ação bactericida e propriedades antiproteases (lisozina, lactoferrina e antileucoprotease). A perda do componente seroso

tende a favorecer a colonização bacteriana e o dano proteolítico, favorecendo o aparecimento de enfisema. Entretanto, no enfisema o aumento glandular é menos marcante.

Embora hiperplasia de células globosas *bronquiais* possa ocorrer em asma e em BC, metaplasia e hiperplasia de células mucosas *bronquiolares* é característica de doença de pequenas vias aéreas e não é descrita em asma. O muco encontrado em vias aéreas distais em asma pode ocorrer por aspiração.

MÚSCULOS LISOS BRONQUIAIS

A porcentagem da parede brônquica ocupada por músculo liso tem um aumento importante no "estado asmático" (11). Em bronquite crônica não sibilante e em enfisema a espessura do músculo brônquico é normal. Pode ocorrer algum espessamento muscular em bronquite sibilante. O espessamento muscular observado em asma não se estende a vias aéreas com menos de 2 mm de diâmetro, em contraste pode haver um aumento do músculo liso bronquiolar em fumantes.

ACHADOS "POST MORTEM"

Estudos de asma fatal comumente mostram "pluggs" de secreção difusos nos pequenos brônquios. Estes "pluggs" são formados por uma mistura de exsudato inflamatório, muco, células epiteliais descamadas, linfócitos e eosinófilos (12). O arranjo destes elementos no "plugg" sugerem que as alterações não ocorrem em um único episódio fatal de asma, mas refletem a natureza crônica do processo inflamatório.

Em bronquite crônica existe também um aumento de muco nas vias aéreas, mas sem a eosinofilia e as células epiteliais abundantes vistas na asma. Existe pouca evidência de enfisema destrutivo e hipertrofia ventricular direita em asma fatal. Em contraste, ambos são comuns em DPOC. Um resumo dos achados descritos encontra-se no QUADRO 1.

QUADRO 1 - COMPARAÇÃO SIMPLIFICADA ENTRE DPOC E ASMA

	DPOC	ASMA
Obstrução ao fluxo aéreo	Deterioração progressiva da função pulmonar (componente reversível ?)	Variável (componente irreversível ?)
Pós-morte	Muco excessivo (mucóide/purulento) doença de pequenas vias, enfisema	Hiperinsuflação de vias aéreas, plugs (exsudato e muco)
Escarro	Macrófagos Neutrófilos	Eosinófilos Corpúsculos de "Creola"
Superfície Epitelial	Fragilidade indeterminada	Fragilidade e Perda
Célula Mucosa Bronquiolar	Metaplasia/Hiperplasia	Discute-se metaplasia
Membrana Basal Reticular	Normal ou variável	Homogeniamente espessada e hialina
Congestão/ Edema	Variável/Fibrose	Presente
Músculos lisos bronquiais	Aumentado (pequenas vias aéreas)	Aumentado (grandes vias aéreas)
Glândulas Bronquiais	Aumentado (aumento de glicoproteínas ácida)	Aumentada (sem alterações na histoquímica de mucina)
Infiltrado celular	Predomínio CD3, CD8, CD68, CD25, VLA-1, HLA-DR Eosinofilia leve sem degranulação Aumento de mastócitos	Predomínio CD3, CD4, CD25 (IL_2R) Acentuada eosilofilia(EG2+/ degranulação) Aumento de mastócitos (diminuído em casos graves ou fatais)
Citocinas	GM-CSF, IL-4, IL-5	IL-4 e IL-5 mas não IFN g _ perfilTh2

CD3 –linfócitos totais ,CD4 –Linfócito T-helper , CD8-Linfócito T-supressor,
CD68- Macrófago, VLA –1- ativação tardia, IL-INTERLEUCINA, EG2 –marcador de ativação de eosinófilos, CD25 – Linfócitos ativados, GM-CSF – Fator Colônia Estimulante Granulócito/Macrófago

ASMA - MECANISMO DE LESÃO

Acredita-se que o linfócito CD4 seja o maior regulador e/ou organizador da especificidade do sistema imune e que ele é um efetor direto ou, pelo menos, um estimulador e regulador da maior parte das respostas imunológicas do corpo. Trabalhos experimentais em ratos evidenciam a existência de 2 ou 3 fenótipos de células CD4, e existem evidências que este arranjo é similar em humanos.

A divisão de linfócitos T em tipos celulares TH1 e TH2 surgiu há uma década atrás em estudos feitos por Timothy Mossman e Robert Coffman. Mais recentemente um outro fenótipo de linfócito T "helper" foi reconhecido, tanto em ratos como em homens e foi denominado Th0. Este subtipo é caracterizado pela habilidade de gerar uma grande variedade de citocinas, incluindo Interferon gama e Interleucina, característicos da resposta Th1 ou Th2, respectivamente.

A importância da heterogeneidade dos linfócitos T repousa no fato de que virtualmente todas as diferenças funcionais entre as células T são mediadas por citocinas por elas secretadas. Existe portanto um significado funcional na diferenciação entre TH1 e Th2. Em asma ocorre uma resposta Th2, levando à produção de Interleucina 4 e Interleucina 5. A Interleucina 4 é um importante indutor de produção de IgE e a Interleucina 5 é um potente indutor de eosinofilopoiese e regula várias atividades de eosinófilos. A combinação de Interleucina 3, Interleucina 4, Interleucina 9 e Interleucina 10 promovem o crescimento "in vitro" de mastócitos, que tem importante papel na asma (13).

A célula Th1, por sua vez, produz interferon gama que inibe ou antagoniza as funções Th2.

A questão fundamental é como ocorre o desenvolvimento da célula T em determinado subtipo. Em ratos, dois fatores foram identificados para indução da diferenciação Th1: interferon e fator de transformação de crescimento beta (TGFb). Ë possível que um estímulo desencadeie um sinal para um precursor, levando à produção de interleucina 4; isto poderia ocorrer muito cedo durante a estimulação primária e direcionar a diferenciação celular. Existem evidências que a interleucina 4 age diretamente sobre a célula precursora T induzindo a diferenciação Th2. A fonte destas citocinas permanecem sem resposta. Uma vez que a polaridade foi estabelecida, parece ser mantida pela relação interleucina 4 *versus* interferon gama.

Estudos em asmáticos realizados com lavado bronco alveolar e biópsia encontraram linfócitos CD4 ativados (CD25+) e liberação de citocina associada ao fenótipo TH2. Os mastócitos também liberam Interleucina 4 e isto levanta a possibilidade que mastócitos podem ser importantes em manter ou estabelecer o processo inflamatório em asma.

Quando consideramos o papel do linfócito T na asma e a persistência das anormalidades existentes nesta doença é importante entender que as células T são capazes de gerar uma memória de resposta, o que explica porque pacientes podem ter sintomas recorrentes quando expostos novamente a estímulos semelhantes.

A possibilidade de que esta dualidade de subtipos de linfócitos T "helper" - Th1 *versus* Th2 – seja importante neste paradigma, surgiu como mecanismo essencial na asma. O controle destes mecanismos está sob a regulação de fatores genéticos ainda não completamente identificados**.**

Estes mecanismos estão demonstrados na FIGURA 1, na próxima página.

DPOC - MECANISMO DE LESÃO

Vários mecanismos parecem estar implicados na lesão em DPOC.

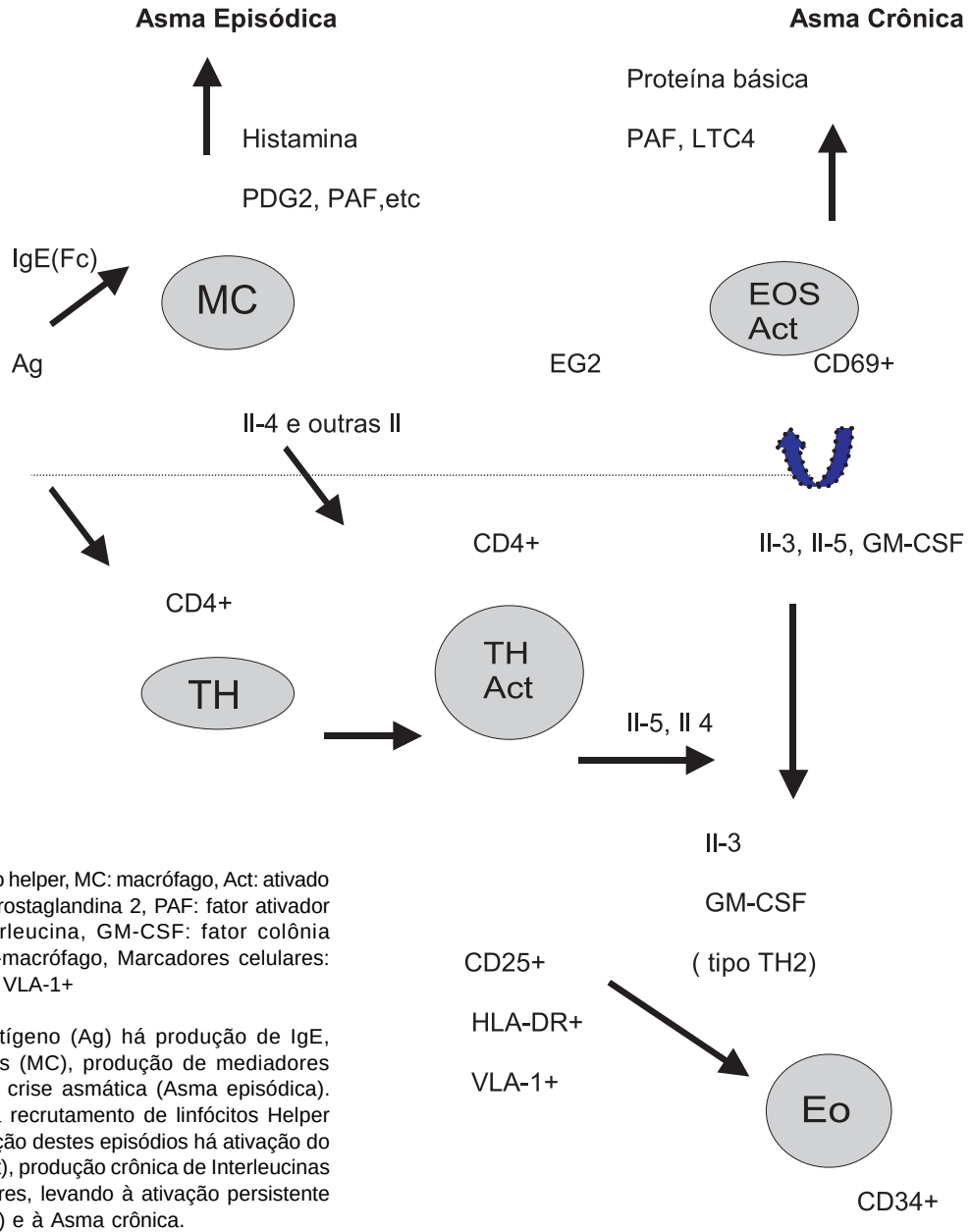
Desequilibrio entre proteases e antiproteases

Acredita-se hoje que os neutrófilos têm papel importante na patogênese de DPOC. Os pulmões de fumantes contêm um número aumentado de neutrófilos e ocorre recrutamento destes para a luz das vias aéreas. Os neutrófilos produzem enzimas proteolíticas: elastase, proteinase 3, catepsina B, todas armazenadas no mesmo grânulo, liberadas em conjunto e inativadas por alfa 1 anti-tripsina. Na passagem em direção à luz, o neutrófilo libera enzimas proteolíticas que são neutralizadas pelas antiproteases. No entanto o fluxo intenso e repetido de neutrófilos que ocorre na DPOC pode levar ao esgotamento do sistema, à destruição de elastina e ao aparecimento de enfisema (14)

Estresse oxidativo

Existe evidência crescente que a alternância entre oxidação e antioxidação ocorre em DPOC, e que

FIGURA 1 - MECANISMO DE ALERGIA



Ag: antígeno, TH: linfócito helper, MC: macrófago, Act: ativado Eo: Eosinófilo, PGD2: prostaglandina 2, PAF: fator ativador de plaquetas, Il : interleucina, GM-CSF: fator colônia estimulante granulócito-macrófago, Marcadores celulares: EG2, CD25+, HLA-DR+, VLA-1+

Após exposição ao antígeno (Ag) há produção de IgE, ativação de Macrófagos (MC), produção de mediadores inflamatórios levando a crise asmática (Asma episódica). Durante este evento há recrutamento de linfócitos Helper (TH) CD4. Com a repetição destes episódios há ativação do linfócito T-helper (TH Act), produção crônica de Interleucinas 4 e 5 e outros mediadores, levando à ativação persistente de eosinófilos (EOS Act) e à Asma crônica.

este estresse oxidativo é um evento central na patogênese desta doença. O cigarro contêm 10^{16} a 10^{17} moléculas oxidativas por tragada. Além disto há um aumento no influxo de células inflamatórias no pulmão de fumantes (neutrófilos e macrófagos) que liberam radicais oxidantes. Vários eventos se relacionam ao estresse oxidativo: lesão de componentes da matriz (elastina e colágeno), inativação de antiproteases, lesão do epitélio, aumento do seqüestro de neutrófilos na micro-vasculatura pulmonar e a expressão de genes pró-inflamatórios (15).

Alterações do epitélio

O epitélio possui papel importante como barreira físico-química, impedindo a passagem de vírus, bactérias e outras partículas. Sabe-se hoje que, além da função de barreira, o epitélio tem ação fundamental na defesa do organismo sintetizando e liberando vários

mediadores que levam a diferenciação de células inflamatórias, quimiotaxia e ativação celular e produção de várias substâncias com ação antimicrobiana. Alterações nestas funções tem papel fundamental na iniciação e na manutenção do processo inflamatório que ocorre na DPOC (16). (FIGURA 2).

FIGURA 2 – Alterações epiteliais na DPOC

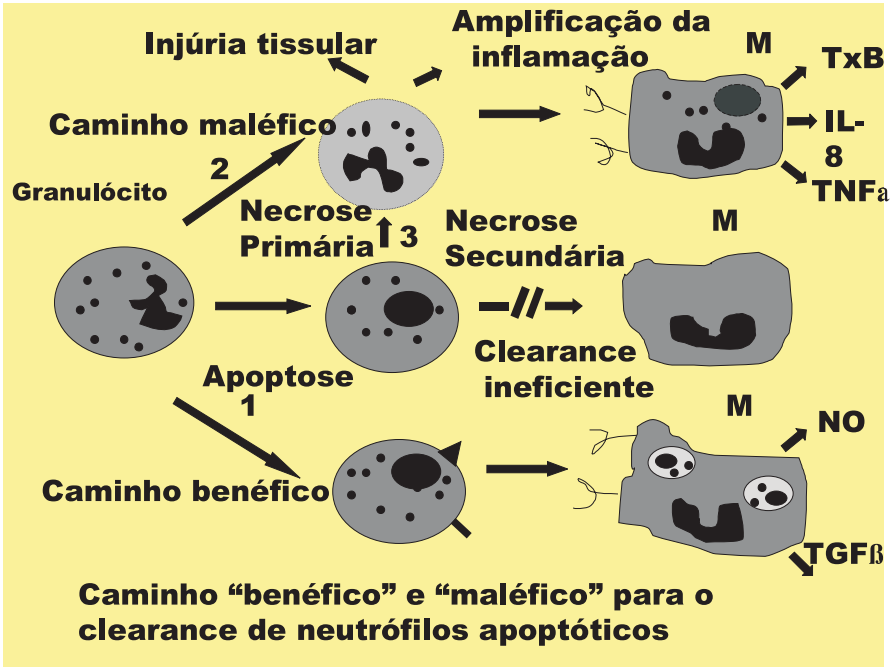
ALTERAÇÕES DA MATRIZ METALOPROTEINASE DE MACRÓFAGOS

Componentes da fumaça do cigarro recrutam macrófagos e estes liberam proteinases que levam a digestão da elastina. Os fragmentos de elastina recrutam mais monócitos que irão diferenciar-se em macrófagos e assim sucessivamente, fechando um círculo vicioso.

Alteração do mecanismo de apoptose de neutrófilos

A apoptose é um mecanismo de "suicídio" celular, que controla o tempo de sobrevida da célula e é considerado um caminho "benéfico". Em contraste com a necrose (caminho "maléfico") a apoptose permite a remoção da célula sem liberação de seu conteúdo, sendo pois um mecanismo que tende a limitar a injúria tissular e a promover a resolução ao invés de promover a da inflamação. Ao entrar em apoptose o neutrófilo pode ser removido do local sem extravasamento do seu conteúdo histotóxico pois durante este processo o neutrófilo preserva sua membrana intacta. Os macrófagos são responsáveis pela remoção das células necróticas ou apoptóticas. Os macrófagos podem remover grande número de neutrófilos apoptóticos sem que haja extravasamento de substâncias com grande potencial de injúria tissular presente nos neutrófilos. A apoptose é um processo altamente controlado. Acredita-se porém, que pode surgir inflamação se houver falência ou ineficiência deste mecanismo. Na DPOC pode ocorrer alteração do mecanismo da apoptose de neutrófilos por desequilíbrio do balanço primário entre o caminho ideal (caminho 1) e o caminho "maléfico" (caminho 2) – vide figura 3 – e/ou necrose secundária de células apoptóticas por "clearance" ineficiente (caminho3) (17).

FIGURA 3 – Mecanisnos de apoptose celular



CONCLUSÕES

Hoje já se pode descrever mecanismos específicos de injúria pulmonar para e asma e para a DPOC ainda que muitas das informações sobre estes processos inflamatórios não sejam totalmente conhecidas. A existência de células e outros mediadores característicos de cada uma delas permitirá, num futuro breve, certeza diagnóstica com evidentes implicações terapêuticas. Certamente beneficiar-se-ão os pacientes, especialmente enfisematosos, asmáticos com obstrução fixa ou fumantes e bronquíticos sibilantes, para os quais a tática de tratamento é sempre difícil e o prognóstico duvidoso.

Referência bibliográfica

1.Jeffery P K. Differences and similarities between chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Clinical and Experimental Allergy*, 1990; 20 (Supp 2):14-26

2.Cosio M G and Guerassimov A. Chronic obstructive pulmonary disease. Inflammation of small airways and lung parenchyma. . *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160: S21-25.

3.Reed C E. Basic mechanisms of Asthma. *Chest* 1988; 94(1):175-177.

4.Holgate S T, Wilson J R and Howarth P H. New Insihts into Airway Inflammation By Endobronquial Biopsy . *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:S2-S6.

5.Wenzel S E, Schwartz L B, Langmack E L *et al* . Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *Am Rev Respir Dis* 1999; 160:1001-1008.

6.Kemeny D M . CD8+ T cell subsets and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160: S33-37.

7.O'Byrne P M and Postma D S. The many faces of airway Inflammation. Asthma and Chronic Obstructive Pulmonaty Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159 (Number 5 part 2): Supp41-66.

8.Jeffery P K , Wardlaw A J, Nelson F C. *et al*. Bronchial biopsies in Asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140:1745-1753.

9.Djukanovic R, Roche W R, Wilson J W *et al*. Mucosal Inflammation in Asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 434-457.

10.Holgate S T, Wilson J R and Howarth P H. New insights into airway inflammation by endobronquial biopsy. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:S2-S6.

11.Busse W, Elias J, Sheppard D *et al* . Airway remodeling and Repair. *Am Rev Respir Dis* 1999; 160:1035-10042.

12.Kay A B. "Helper"(CD4) T cells and eosinophils in allergy and Asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:S22-26.

13.Drazen J and Turino G. Progress at the interface of inflammation and asthma. Report of the ALA/ATS Workshop on future directions in asthma research. . *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:385-424.

14.Stockley R. A. Neutrophils and Protease/Antiprotease Imbalance, *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:S49-S52.

15.MacNee W and Rahman I. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S58-65.

16.Rennard S I. Inflammation and repair processes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S12-16.

17.Haslett C. Granulocyte apoptosis and its role in the resolution and control of lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999