

Edwin Roger Parra Cuentas

**Pneumonias intersticiais idiopáticas: da patogênese e
do remodelamento aos determinantes anátomo-
clínico-radiológicos de prognóstico e sobrevida com
ênfase ao componente vascular**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Patologia

Orientadora: Profa. Dra. Vera Luiza Capelozzi

SÃO PAULO
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

© reprodução autorizada pelo autor

Parra Cuentas, Edwin Roger

Pneumonias intersticiais idiopáticas: da patogênese e do remodelamento aos determinantes anátomo-clínico-radiológicos de prognóstico e sobrevida com ênfase ao componente vascular / Edwin

Roger Parra Cuentas. -- São Paulo, 2006.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Patologia.

Área de concentração: Patologia.

Orientadora: Vera Luiza Capelozzi.

Descritores: 1. DOENÇAS PULMONARES INTERSTICIAIS 2. FIBROSE PULMONAR 3. VASOS SANGUÍNEOS/lesões 4. MATRIZ EXTRACELULAR 5. INFLAMAÇÃO 6. COLÁGENO TIPO V 7. IMUNOHISTOQUÍMICA 8. PROGNÓSTICO 9. SOBREVIVÊNCIA

USP/FM/SBD-0919/06

Dedico este trabalho aos meus pais, Antonio Parra Cárdenas e Flora Cuentas de Parra, por todo o esforço que eles realizaram na minha educação e formação humana.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sentido de todas as coisas.

Aos meus pais, pela vida física, moral e intelectual.

À Prof^ª. Dra. Vera Luiza Capelozzi, minha orientadora que me ensinou o verdadeiro valor da pesquisa científica, sem a qual não teria concluído, desenvolvido, ou mesmo começado este trabalho.

A meu colega e amigo Dr. Alexandre Muxfeldt Ab'Saber, o Xandão, pesquisador no campo das doenças pulmonares, quem me ensinou a diferenciar os padrões histológicos das pneumonias intersticiais idiopáticas e sempre esteve para me dar uma força.

A Dra. Ligia Rodrigues Silvério da Costa por sua importante participação na pesquisa e no sentimento emocional que faz de min uma das pessoas mais felizes.

Aos alunos de iniciação científica Carlos Felício Chivero, Aline Lourenzo, Otavio Tavares Ranzani e Lívia Delgado com os quais compreendi mais um pouco estas doenças.

Ao amigo Dr. Rogério de Souza, excelente pneumologista, quem me incentivo na procura de respostas às diversas perguntas sobre estas doenças nas alterações vasculares.

Ao Prof. Dr. João Valente Barbas Filho, pneumologista de grande experiência, sempre disposto a ajudar e me orientar ante as dúvidas surgidas no decorrer da pesquisa.

A minha amiga, Dra. Yonara Rivelle David pelo apoio na pesquisa dos prontuários, levantamento de dados clínicos e provas de função pulmonar dos pacientes.

Às amigas Sandra de Moraes Fernezlian, Esmeralda Miristene Eher, Ana Lucia Garippo e Ângela Batista dos Santos, profissionais exemplares, pelo

profundo conhecimento e enorme dedicação, que fazem do laboratório de imunohistoquímica um dos melhores desta Faculdade, pela qualidade do seu trabalho nas colorações imunohistoquímicas por elas realizadas.

Aos Professores e profissionais da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Walcy Teodoro Rosolina, Natalino Hajime Yoshinari, Ana Paula Pereira Velosa, Cristiane Carla de Oliveira, pelo apoio prestado na elaboração dos marcadores de imunofluorescência.

À Dra. Estela Novak, pesquisadora de projeção internacional, que me facilitou o anticorpo V-CAM-1 para minha pesquisa.

Ao meu amigo Dr. Mauro Canzian, patologista do Instituto do Coração, que me auxiliou no levantamento dos casos de seu serviço.

Aos professores Jessé Silvério da Costa e María Cristina Silvério pela correção do português.

Ao Prof. Dr. Venancio Alvancini Alves pelo apoio que me deu no transcurso da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Paulo Hilário Nascimento Saldiva pela facilidade que me deu ao permitir a utilização das instalações dos laboratórios de investigação médica LIM-05.

Aos amigos Douglas Moreira e Hermogênio Rafael de Oliveira, responsáveis pelo blocário do Serviço de Patologia do nosso hospital, sempre dispostos a orientar com profissionalismo e paciência a todos aqueles que necessitam das lâminas e dos blocos de parafina do seu serviço.

A todos os servidores do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial Ludivina da Silva Neta de Barrose e Vera Lucia de Carvalho Noya, pela forma prestimosa com que me auxiliaram no desembaraço das questões administrativas.

A todas as técnicas do Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da FMUSP.

Aos meus queridos irmãos Delia e Marco.

Aos meus sobrinhos Julian David, Marco Aurelio, Manuel e Enrique.

Aos Pacientes.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
(Processo N° 01/14566-9) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico (CNPq).

“Com a esperança de contribuir pelo menos mais um pouco no entendimento das enfermidades intersticiais pulmonares, peço que o Senhor me ilumine na procura das verdades ocultas”.

Edwin Roger Parra Cuentas

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

ÍNDICE

Lista de Siglas	
Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. CARACTERÍSTICAS MORFO-FUNCIONAIS DO PULMÃO	3
1.2. FISIOPATOLOGIA DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS	15
1.3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1. CLASSIFICAÇÃO DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	22
2.2. PAPEL FUNDAMENTAL DA CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO CONSENSO DA ATS/ERS	26
2.3. PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	29
2.3.1. FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA	29
2.3.2. PNEUMONIA INTERSTICIAL NÃO ESPECÍFICA	34
2.3.3. PNEUMONIA INTERSTICIAL AGUDA	39
2.3.4. PNEUMONIA ORGANIZANTE CRIPTOGÊNICA	43
2.3.5. BRONQUIOLITE RESPIRATÓRIA ASSOCIADA À DOENÇA PULMONAR INTERSTICIAL (RB-ILD)	45
2.3.6. PNEUMONIA INTERSTICIAL DESCAMATIVA	48
2.3.7. PNEUMONIA INTERSTICIAL LINFÓIDE	50
2.4. PARADIGMAS DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	53
2.4.1. INFLAMAÇÃO	53
2.4.2. APOPTOSE DAS CÉLULAS EPITELIAIS	55
2.4.3. ANGIOGÊNESE	58
2.4.4. MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR	59
2.4.5. MATRIZ EXTRACELULAR E COLÁGENO V	68
3. OBJETIVOS DO ESTUDO	71
3.1. OBJETIVOS GERAIS – IMPACTO DOS DETERMINANTES ANATOMO-CLÍNICO- RADIOLÓGICOS NO PROGNÓSTICO E SOBREVIVÊNCIA DOS PACIENTES COM IPF, AIP E NSIP. ...	72
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS – RELAÇÃO ETIOPATOGÊNICA DO REMODELAMENTO VASCULAR NA IPF, AIP E NSIP E O IMPACTO NO PROGNÓSTICO E SOBREVIVÊNCIA DESTES PACIENTES.	72
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	73
4.1. CASUÍSTICA	74
4.2. MÉTODOS	76
4.2.1. RECLASSIFICAÇÃO DO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO	76
4.2.2. LEVANTAMENTO DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS	77
4.2.2.1. ANÁLISE E DETERMINAÇÃO DAS PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR	78

4.2.3.	ANÁLISE DAS BIÓPSIAS PULMONARES	79
4.2.3.1.	DETERMINAÇÃO DO GRAU DE COMPROMETIMENTO PARENQUIMATOSO	79
4.2.3.2.	DETERMINAÇÃO DO GRAU DE OCLUSÃO VASCULAR.....	84
4.2.4.	TÉCNICAS DE COLORAÇÃO	85
4.2.4.1	TÉCNICA EMPREGADA NA COLORAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENO E FIBRAS ELÁSTICAS.....	85
4.2.4.2.	TÉCNICA IMUNOHISTOQUÍMICA EMPREGADA NA DETECÇÃO DOS ANTÍGENOS CD-34, VCAM-1, E-SELECTINA, ICAM-1, CD-68, NEUTRÓFILO ANTI-ELASTASE (+), CD-20, CD-4, CD-3 E CD-8.....	87
4.2.4.3.	TÉCNICA EMPREGADA NA MARCAÇÃO DOS COLÁGENOS TIPOS I, III E V.....	90
4.2.4.4.	MARCAÇÃO DOS COLÁGENOS I, III E V PARA RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL	91
4.2.5.	QUANTIFICAÇÃO DA MARCAÇÃO ENCONTRADA	93
4.2.5.1	QUANTIFICAÇÃO DAS FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS.....	93
4.2.5.2.	DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES IMUNOHISTOQUÍMICOS	94
4.2.5.3.	QUANTIFICAÇÃO DO COLÁGENO V POR IMUNOFLUORESCÊNCIA	96
4.2.5.4.	RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL DOS COLÁGENOS TIPOS I, III E V	97
4.2.6.	ANÁLISE DOS DADOS	98
4.2.6.1.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	99
5.	RESULTADOS	100
5.1.	DESCRIÇÃO DA CASUÍSTICA	101
5.1.1.	GÊNERO.....	101
5.1.2.	IDADE	102
5.2.	REMODELAMENTO VASCULAR.....	102
5.2.1.	REMODELAMENTO VASCULAR PRÉ E INTRA ACINAR	102
5.2.2.	REMODELAMENTO DO SISTEMA DE FIBRAS DE COLÁGENO E DE FIBRAS ELÁSTICAS VASCULARES PRÉ E INTRA ACINARES.....	108
5.2.3.	CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS DO SISTEMA DE FIBRAS DE COLÁGENO E FIBRAS ELÁSTICAS VASCULARES PRÉ E INTRA ACINARES	112
5.2.4.	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO REMODELAMENTO DA MICROCIRCULAÇÃO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	116
5.2.5.	AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA MICROCIRCULAÇÃO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	122
5.3.	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE EPITELIALNAS PNEUMONIAS INTERSTICIAS IDIOPÁTICAS	130
5.4.	MAPEAMENTO DO SISTEMA INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL.....	136
5.4.1.	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO ESPECTRO INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS.....	136
5.4.2.	AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DO ESPECTRO INFLAMATÓRIO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS	140
5.5.	AVALIAÇÃO DO COLÁGENO V	149

5.5.1.	CARACTERIZAÇÃO DO COLAGENO V NA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL/FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA	149
5.5.2.	COMPORTAMENTO DO COLÁGENO V NA ATIVIDADE FIBRÓTICA DA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL/FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA	153
5.5.3.	COLÁGENO V NA HETEROGÊNEIDADE DA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL/FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA	153
5.5.4.	RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL DOS COLÁGENOS I, III E V NA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL/FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA	156
5.6.	PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR E PROGNÓSTICO.....	159
5.6.1.	AVALIAÇÃO DAS PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR	159
5.6.2.	PROGNÓSTICO	160
6.	DISCUSSÃO	163
6.1.	LIMITAÇÕES DO TRABALHO	164
6.1.1.	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	165
6.1.2.	DESENHO EPIDEMIOLÓGICO DO ESTUDO.....	165
6.1.3.	ÓBITOS NÃO RELACIONADOS	165
6.2.	REMODELAMENTO VASCULAR.....	166
6.2.1.	REMODELAMENTO VASCULAR DAS ARTÉRIAS PRÉ E INTRA ACINARES	166
6.2.2.	SISTEMA COLÁGENO/ELÁSTICA VASCULAR PRÉ E INTRA ACINAR	169
6.2.3.	REMODELAMENTO DA MICROCIRCULAÇÃO	173
6.3.	ATIVIDADE DAS CÉLULAS EPITELIAIS	177
6.4.	ESPECTRO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL	179
6.5.	REMODELAMENTO DO COLÁGENO DO TIPO V	181
6.6.	PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR E SOBREVIDA GLOBAL	183
6.7.	PERSPECTIVAS.....	185
7.	CONCLUSÕES	187
8.	ANEXOS	191
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	196
10.	APÊNDICES	232

LISTA DE SIGLAS

%	Porcentagem
µm	Micrômetro
µm ²	Micrômetro quadrado
AIP	Acute Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial Aguda)
APCs	Células Apresentadoras de Antígenos
ATS/ERS	American Thoracic Society/European Respiratory Society (Sociedade Americana Torácica/Sociedade Europeia Respiratória)
Bic	Bicarbonato
BSA	Soro Albumina Bovina
BIP	Bronchiolar Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial Brônquica)
BOOP	Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (Bronquiolite obliterante com pneumonia em organização)
CAMs	Moléculas de Adesão Celular
Cap.	Capítulo
CD-34	Catepsina D-34
COP	Cryptogenic organizing pneumonitis (Pneumonia organizante criptogênica)
CPT	Capacidade Pulmonar Total
CVD	Collagen Vascular Disease (Doenças Vasculares do Colágeno)
CVF	Capacidade Vital Forçada
DAB	3-3'-diaminobenzamida
DAD	Dano Alveolar Difuso
DLCO	Fator de Difusão do Monóxido de Carbono
DLCO/VA	DLCO (corrigida pelo volume alveolar)

DIP	Desquamative Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial Descamativa)
DP	Desvio-padrão
Ed.	Edição
EP	Erro Padrão
Et al.	e colaboradores
FEF25-75%	Fluxo Expiratório Forçado
FR	Frequência Respiratória
GIP	Gigant Cell Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial de Células Gigantes)
HE	Hematoxilina-Eosina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICAM-1	Molécula de Adesão Inter Celular-1
IFN- δ	Interferon gama
IIPs	Idiopathic Interstitial Pneumonia (Pneumonias Intersticiais Idiopáticas)
IL	Interleucina
IPF	Idiopathic Pulmonary Fibrosis (Fibrose Pulmonar Idiopática)
LIP	Lymphoid Interstitial Pneumonia (Pneumonia intersticial linfóide)
LSAB	“Labeled Streptavidin-Avidin-Biotin”
MALT	Linfócitos Associados à Mucosa
MHC	Complexo Maior de histocompatibilidade
NSIP	Non-Specific Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial Não Específica)
p	Probabilidade de erro alfa
p.	Página

PaCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial
PaO ₂	Pressão parcial de oxigênio no sangue arterial
PBS	Tampão Fosfato de Sódio
pH	O logaritmo negativo, para base 10, da concentração de íons livres de hidrogênio em uma solução
RB	Respiratory Bronchiolitis (Bronquiolite respiratória)
RB-ILD	Respiratory Bronchiolitis Associated Interstitial Lung Disease (Bronquiolite respiratória associada à doença intersticial)
r _s	Risco relativo
SaO ₂	Saturação arterial de oxigênio
SARA	Síndrome de Angústia Respiratória do Adulto
SPSS	“Statistical Package for Social Science”
Status	Condição de óbito ou vivo
TCR	Complexo Receptor de Células T
Th1	Resposta T helper 1
Th2	Resposta T helper 2
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral
UIP	Usual Interstitial Pneumonia (Pneumonia Intersticial Usual)
VCAM-1	Molécula de Adesão Vascular Celular-1
VEF ₁	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo
VEF ₁ /CVF	Razão entre Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo e a Capacidade Vital Forçada
PAS	Ácido Periódico de Schiff
VEGF	Fator de Crescimento Vascular Endotelial
VR/CPT	Razão entre Volume Residual e a Capacidade Pulmonar Total

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação histológica das pneumonias intersticiais idiopáticas segundo: Leibow 1968; Katzentein 1997 e Muller e Colby 1997.....	24
Tabela 2.	Classificação clínico-radiológico-patológica das pneumonias intersticiais idiopáticas: American Thoracic Society/European Respiratory Society 2001.....	25
Tabela 3.	Médias e valores de dispersão das espessuras dos vasos, áreas internas de luz e perímetros internos da pneumonia intersticial usual, nas três subclassificações histológicas deste grupo. Análise estatística destas associações.....	107
Tabela 4.	Médias e valores de dispersão da quantificação de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística da correlação entre estas variáveis (teste “t” de Student).....	113
Tabela 5.	Médias e valores de dispersão da quantificação de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares nas três subclassificações padrões de pneumonia intersticial usual (UIP), de acordo com o grau de atividade fibrótica. Análise estatística da correlação entre estas variáveis (teste “t” de Student).....	115
Tabela 6.	Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.....	127
Tabela 7.	Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina nos três nas três subclassificações padrões de pneumonia intersticial usual (UIP), de acordo com o grau de atividade fibrótica. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.....	128
Tabela 8.	Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.....	129
Tabela 9.	Médias e valores de dispersão das porcentagens de ICAM-1 no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP), pneumonia intersticial usual (UIP) e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.....	135

Tabela 10. Médias e valores de dispersão das porcentagens de células inflamatórias intersticiais no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP), pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis.	144
Tabela 11. Médias e valores de dispersão das porcentagens de células inflamatórias intersticiais no grupo controle e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis.....	147
Tabela 12. Valores médios e de dispersão do colágeno do tipo V em relação ao grupo controle, padrões histológicos e áreas histológicas da pneumonia intersticial usual. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas.	155
Tabela 13. Valores das provas de função nos três grupos de análise.	160
Tabela A1. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Pneumonia Intersticial Não Específica (N=22)	192
Tabela A2. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Pneumonia Intersticial Aguda (N=25)	193
Tabela A3. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Fibrose Pulmonar Idiopática (N=62).....	194

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista panorâmica do ácino pulmonar, mostrando suas características principais e os diferentes interstícios que o compõem.	10
Figura 2. Constituição da parede de uma grande via aérea cartilaginosa.	11
Figura 3. Bronquíolo terminal (BT) evidenciando a constituição das camadas de sua parede.	12
Figura 4. Características das paredes alveolares.	13
Figura 5. Corte histológico da artéria do bronquíolo terminal e da veia do interstício septal mostrando suas camadas e as características da parede destes vasos.	14
Figura 6. Agrupamento das doenças intersticiais pulmonares difusas (DILDs).....	17
Figura 7. Características tomográficas e histológicas da fibrose pulmonar idiopática (IPF).	33
Figura 8. Padrão tomográfico e histológico da pneumonia intersticial não-específica (NSIP).	38
Figura 9. Padrão tomográfico e histológico da pneumonia intersticial aguda (AIP).	42
Figura 10. Mostrando os padrões tomográficos e histológicos da bronquiolite obliterante criptogênica (COP) e da bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar (RB-ILD).	47
Figura 11. Mostrando os padrões tomográficos e histológicos da pneumonia intersticial descamativa (DIP) e da pneumonia intersticial linfóide (LIP).	52
Figura 12. Gráfico da distribuição de frequência dos diagnósticos das doenças intersticiais pulmonares difusas (DILDs) em biópsias pulmonares a céu aberto realizadas de janeiro de 1979 a dezembro de 2004 no HC-FMUSP.	75
Figura 13. Gráfico da distribuição de frequência dos padrões histológicos das pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs) em biópsias pulmonares a céu aberto realizadas de janeiro de 1979 a dezembro de 2004 no HC-FMUSP.	77
Figura 14. Padrões histológicos do dano alveolar difuso (DAD)	81
Figura 15. Padrões histológicos da pneumonia intersticial não-específica (NSIP)	82
Figura 16. Padrões de remodelamento ativo da pneumonia intersticial usual (UIP). ..	83
Figura 17. Graus histológicos da classificação de Heath-Edwards encontrados no padrão histológico da pneumonia intersticial usual (UIP).	105
Figura 18. Intervalo de confiança mostrando a associação existente entre as variáveis de alteração vascular na pneumonia intersticial usual (UIP).....	106
Figura 19. Artérias do bronquíolo terminal de controle e de caso de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) coradas com Hematoxilina-Eosina, com Picrossírius e visualizadas sob luz polarizada para identificação de fibras de colágeno e com resorcina-fucsina de Weigert para identificação de fibras elásticas vasculares.....	110
Figura 20. Artérias do bronquíolo terminal com diferentes graus de alteração vascular, segundo a classificação de Heath Edwards, encontradas no padrão histológico da pneumonia intersticial usual, coradas com Hematoxilina-Eosina, com Picrossírius e visualizadas sob luz polarizada para identificação de fibras de colágeno e com resorcina-fucsina de Weigert para identificação de fibras elásticas vasculares.....	111
Figura 21. (A,B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a fração de área das fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares no	

	grupo controle e nos casos de pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs): dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). (C,D) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a fração de área das fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares nas três subclassificações de UIP, de acordo com o grau de atividade fibrótica.	114
Figura 22.	Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção endotelial por CD-34 e VCAM-1.....	118
Figura 23.	Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção por CD-34 e por VCAM-1.....	119
Figura 24.	Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção endotelial por E-Selectina.....	120
Figura 25.	Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção por E-selectina.	121
Figura 26.	Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (A) CD-34 e (B) VCAM-1 no grupo controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (C) CD-34 e (D) VCAM-1 nas três subclassificações da atividade fibrótica da UIP. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (E) CD-34 e (F) VCAM-1 nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP.	125
Figura 27.	(A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina nas três subclassificações da atividade fibrótica da UIP. (C) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.....	126
Figura 28	Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção epitelial por ICAM-1.....	132
Figura 29	Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção epitelial por ICAM-1.....	133
Figura 30.	(A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de ICAM-1 no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de ICAM-1 nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.	134
Figura 31.	Mapeamento do infiltrado inflamatório intersticial na pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e no dano alveolar difuso (DAD).	138

Figura 32. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção do infiltrado inflamatório intersticial.	139
Figura 33. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (A) células inflamatórias totais, (B) linfócitos totais, subpopulações de linfócitos T (C) CD-4, (D) CD-8 e (E) CD-3 e (F) linfócitos B (CD-20) no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP).	142
Figura 34. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a (A) porcentagem de células inflamatórias plasmocitárias, (B) elastase de neutrófilos positiva e (C) macrófagos (CD-68) no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP).	143
Figura 35. Intervalos de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de células inflamatórias no grupo controle e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.	146
Figura 36. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunofluorescência para colágenos I, II e V.	151
Figura 37. Pneumonia intersticial usual (UIP): foco de fibroblastos, bronquíolo terminal e artéria pré-acinar corados com Hematoxilina-Eosina e com imunofluorescência para colágenos I, II e V.	152
Figura 38. (A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre o colágeno V nas três subclassificações da atividade fibrótica da pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre o colágeno V nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP.	154
Figura 39. Reconstrução tridimensional das associações entre colágenos I e III e I e V no foco de fibroblasto e na artéria do bronquíolo terminal.	158
Figura 40. Kaplan-Maier mostrando o tempo de sobrevivência dos pacientes com: Fibrose Pulmonar Idiopática (IPF), Pneumonia Intersticial Não Específica (NSIP) e Pneumonia Intersticial Aguda (AIP).	161
Figura 41 Kaplan-Maier mostrando a relação existente entre a densidade de linfócitos CD-3+ e a sobrevivência dos pacientes com fibrose pulmonar idiopática.	162

RESUMO

Parra ERC. *Pneumonias intersticiais idiopáticas: da patogênese e do remodelamento aos determinantes anátomo-clínico-radiológicos de prognóstico e sobrevida com ênfase ao componente vascular* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

As pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs) são parte de um grupo de doenças difusas do parênquima pulmonar. Entre estas, a fibrose pulmonar idiopática (IPF), a pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e a pneumonia intersticial aguda (AIP) ocupam, por sua morbidade, um lugar de destaque entre as IPs. Os fatores desencadeantes do desenvolvimento das IIPs são ainda desconhecidos. Nos últimos anos, o remodelamento vascular observado nestas doenças tem chamado a atenção pela sua provável participação no processo de fibrose. Talvez este remodelamento possa justificar a evolução rapidamente progressiva para o óbito de alguns pacientes com IIPs. Este estudo iniciou-se com a abordagem retrospectiva dos casos do HC-FMUSP de doenças intersticiais pulmonares difusas, com biópsias pulmonares à céu aberto efetuadas de janeiro de 1979 a dezembro de 2004. Após reclassificação clínica e histológica, foram incluídos no estudo 25 casos de AIP, 22 casos de NSIP e 62 casos de IPF. Remodelamento vascular, alterações da matriz extracelular, tanto vascular como intersticial, assim como atividade epitelial e densidade do infiltrado inflamatório intersticial foram avaliados. Análises semiquantitativas e quantitativas foram usadas para determinar o grau de oclusão vascular de artérias pré e intra-acinares. Área interna, perímetro interno, espessura da parede e quantidade de fibras de colágeno e elásticas foram analisados nesses vasos. Densidade e atividade vascular da microcirculação foram avaliados mediante a quantificação da marcação imuno-histoquímica para CD-34, VCAM-1 e E-selectina. Atividade epitelial foi determinada mediante imunomarcagem e quantificação de ICAM-1. Imunomarcagem por CD-68, elastase de neutrófilos, CD-20, CD-4, CD-8 e CD-3, assim como quantificação de células plasmocitárias, foram utilizadas para o mapeamento e quantificação do infiltrado inflamatório intersticial. Análise quantitativa e reconstrução tridimensional foram utilizadas para o estudo dos colágenos I, III e V na IPF. A análise estatística multivariada mostrou a existência de associação diretamente proporcional entre oclusão vascular e grau de atividade fibrótica do parênquima nos casos de IPF. Houve oclusão vascular acompanhada de fibroelastose proporcional e diminuição importante da densidade de microvasos maiores no grupo de IPF que nos grupos de NSIP e AIP. A atividade endotelial e epitelial foram diretamente proporcionais ao grau de remodelamento fibroso do parênquima nas IIPs. O infiltrado inflamatório intersticial foi maior no grupo AIP, seguido pela IPF e NSIP. A quantidade de colágeno do tipo V foi diretamente proporcional à atividade fibrótica parenquimatosa. A reconstrução tridimensional evidenciou desorganização espacial e aumento da espessura das fibras de colágeno V. Houve associação direta entre provas de função pulmonar, remodelamento vascular e infiltrado inflamatório intersticial na IPF. Neste grupo, observou-se

correlação importante entre sobrevivência e subpopulação de linfócitos CD-3 do infiltrado inflamatório intersticial. Podemos concluir que existe um remodelamento vascular ativo e fibroelástico diretamente proporcional ao grau de atividade fibrótica parenquimatosa no grupo das IPF, o de maior comprometimento fibrótico. Este remodelamento vascular foi caracterizado por diferentes graus de oclusão vascular, de densidade e de atividade microvascular. Estes fatos motivaram considerarmos a IPF protótipo da alteração vascular entre as IIPs. O infiltrado inflamatório e o aumento da atividade endotelial e epitelial nos mostram uma participação ainda não bem esclarecida do componente inflamatório no desenvolvimento da fibrose. As mudanças espaciais do colágeno V apontam para uma possível participação deste componente na patogênese da fibrose pulmonar.

Descritores: 1. DOENÇAS PULMONARES INTERSTICIAIS 2. FIBROSE PULMONAR 3. VASOS SANGUÍNEOS/lesões 4. MATRIZ EXTRACELULAR 5. INFLAMAÇÃO 6. COLÁGENO TIPO V 7. IMUNOHISTOQUÍMICA 8. PROGNÓSTICO 9. SOBREVIVÊNCIA

SUMMARY

Para ERC. *Idiopathic interstitial pneumonias: pathogenesis and remodeling for determinants anathomic-clinical-radiologic of prognostic and survival enfaticed of varcular component* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

The idiopathic interstitial pneumonias (IIPs) are part of a group of diffuse interstitial lung diseases. Between these, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), non-specific interstitial pneumonia (NSIP) and acute interstitial pneumonia (AIP) occupies, for its morbidity, a place of prominence between the IIPs. The desencadeantes factors of the development of the IIPs are still unknown. In the last years, the observed vascular remodelling in these diseases has called the attention for its probable participation in the fibrosis process. Perhaps this remodelling can justify the quickly gradual evolution for the death of some patients with IIPs. This study retrospect of the cases of the HC-FMUSP of diffuse interstitial lung diseases was initiated with the boarding, with effected open lung biopsy of January 1979 to December 2004. After clinical and histological reclassification, 25 cases of AIP, 22 cases of NSIP and 62 cases of IPF had been enclosed in the study. Vascular remodelling, alterations of the extracellular matrix, vascular as in such a way interstitial, as well as epithelial activity and density of the interstitial inflammatory infiltrated one had been evaluated. Semiquantitative and quantitative analyses had been used to determine the degree of vascular occlusion of arteries daily pay and intra-acinares. Internal area, internal perimeter, thickness of the wall and amount of collagen staple fibres and elastic had been analyzed in these vases. Density and vascular activity of the microcirculation had been evaluated by means of the quantification of the imunochemystri marking for CD-34, VCAM-1 and E-selectina. Epithelial activity was determined by means of imunomarcation and quantification of ICAM-1. Imunomarcation for CD-68, elastase of neuttophiles, CD-20, CD-4, CD-8 and CD-3, as well as quantification of plasmicitic cells, had been used for the mapping and quantification of the interstitial inflammatory infiltrated one. Quantitative analysis and three-dimensional reconstruction had been used for the study of collagens I III and V in the IPF. The analysis multivaried statistics showed to the existence of directly proportional association between vascular occlusion and degree of fibrotic activity of the parenchymal in the IPF cases. It had proportional vascular occlusion folloied of fibroelastotic and important reduction of the density of bigger microvases in the group of IPF that in the groups of NSIP and AIP. The endotelial and epithelial activity had been directly proportional to the degree of fibroso remodelamento of the parenchymal in the IIPs. The interstitial inflammatory infiltrated one was bigger in group AIP, followed for IPF and NSIP. The amount of collagen of type V was directly proportional to the parenquintosa fibrótica activity. The three-dimensional reconstruction evidenced space disorganization and increase of the thickness of staple fibres of collagen type V. Had direct association between tests of pulmonary function, interstitial inflammatory vascular and infiltrated remodelamento in the IPF. In this group, one observed survaival important correlation between and

limphocytes CD3+ of the interstitial inflammatory infiltrated one. We can conclude that an active and fibroelastptic vascular remodelling to the degree of parenchymal fibrotic activity in the group of IPF exists directly proportional, of bigger comprometiment fibrotic. This vascular remodelling was characterized by different degrees of vascular occlusion, density and microvascular activity. These facts had motivated to consider the IPF archetype of the vascular alteration between the IIPs. Infiltrated inflammatory and the increase of the endotelial and epithelial activity in still shows not a well clarified participation to them of the inflammatory component in the development of fibrose. The space changes of collagen type V point with respect to a possible participation of this component in patogenesis of pulmonary fibrosis.

Descriptors: 1. INTERSTITIAL LUNG DISEASE 2. PULMONARY FIBROSIS
3. VASCULAR VASSELS/letions 4. EXTRACELLULAR MATRIX 5.
INFLAMMATION 6. TYPE V COLLAGEN 7. IMUNOCHEMYSTRE 8.
PROGNOSTHIC 14. SURVIVAL

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Dentre as pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs) ou de etiologia desconhecida, a fibrose pulmonar idiopática (IPF), a pneumonia intersticial aguda (AIP) e a pneumonia intersticial não-específica (NSIP) constituem um grave problema de saúde, ocupando, por sua morbidade, lugar de destaque entre as doenças crônico-degenerativas. Os fatores desencadeantes do desenvolvimento das IIPs são desconhecidos, podendo estar em jogo componentes imunológicos, genéticos e/ou virais. Provavelmente, a doença surge em indivíduos susceptíveis após contato com determinado estímulo. Este estímulo inicial leva a uma cascata de eventos, que envolvem controles inflamatórios, imunológicos e fibrótico - pulmonares.

Apesar de apresentarem características semelhantes, as várias IIPs têm aspectos individuais, fazendo com que cada uma delas seja estudada separadamente. Por outro lado, a gravidade das doenças envolvidas e a evolução clínica comumente insatisfatória da maioria delas têm desencadeado pesquisas quanto à patogênese das IIPs. Estudos histológicos, ultra-estruturais, funcionais e do lavado broncoalveolar há décadas são realizados em pacientes acometidos e em modelos experimentais objetivando melhor conhecimento dos mecanismos evolutivos,

aprimoramento dos métodos diagnósticos e estabelecimento de novas terapêuticas. Se por um lado, essas técnicas têm permitido conhecer melhor o comportamento de tais doenças, por outro, têm levantado novas questões, muitas das quais sem resposta até o momento. Para os patologistas, isto tem refletido na formulação de múltiplas e complicadas classificações, que dependem da técnica empregada para examinar o tecido. Para os clínicos esta explosão de conhecimentos tem aberto novos caminhos para o desenvolvimento de protocolos de tratamento. Protocolos esses que dependem diretamente da caracterização histológica do processo inflamatório e fibrótico. Daí verifica-se a importância de um sistema de classificação no reconhecimento dos vários padrões histológicos.

1.1. CARACTERÍSTICAS MORFO-FUNCIONAIS DO PULMÃO

Os pulmões constituem um elemento de extraordinária interação entre os meios externo e interno do indivíduo. Eles têm um volume constituído por 80% de ar, 10% de tecido e 10% de sangue ⁽¹⁾. O tecido pulmonar é extraordinariamente delicado e precisa de suficiente capacidade para suportar as injúrias a que é submetido no transcurso da vida em íntimo contato com o ar e o sangue. Este sucesso é devido a uma grande especialização celular e histoarquitetural, que permite a filtragem do ar inspirado, a manutenção da estabilidade mecânica de centenas de milhões de alvéolos, o fluxo de fluidos e gases através da barreira alvéolo-capilar e a adequada distribuição do débito cardíaco proveniente das câmaras

cardíacas direitas ao longo do parênquima alveolar, de forma a permitir uma eficiente relação entre ventilação e perfusão ⁽²⁾.

Se considerarmos a traquéia como ponto de referência entre as vias de condução dos gases antes de atingir o território de troca gasosa, o ser humano possui, em média, 16 gerações de vias aéreas até que o último segmento do território envolvido exclusivamente com a condução de gases – o bronquíolo terminal – seja alcançado. A partir do bronquíolo terminal, aparece a unidade funcional do território de troca gasosa – o ácino pulmonar – onde ocorre a transferência de gases. Um ácino é composto de bronquíolos respiratórios que se originam do bronquíolo terminal, dos ductos alveolares, sacos alveolares e alvéolos subseqüentes (Figura 1). Os bronquíolos respiratórios emitem lateralmente vários alvéolos. A seguir, os bronquíolos respiratórios dão origem aos ductos alveolares, que imediatamente se ramificam e terminam nos sacos alveolares – terminações cegas das passagens respiratórias, cujas paredes são totalmente formadas por alvéolos ⁽³⁾.

O volume acinar calculado em média é de 187 mm^3 ⁽³⁾, podendo ter até 9 milímetros na maior dimensão (média, 7.5 milímetros) ⁽³⁻⁴⁾. Utilizando um diâmetro médio de 7.5 milímetros, há aproximadamente 25.000 ácinos no pulmão de um adulto normal do sexo masculino, com um volume de 5.25 litros ⁽⁴⁾. O lóbulo pulmonar é definido como "o complexo de três a cinco bronquíolos terminais, cada um com seus ácinos".

Este ponto de demarcação de funções de transporte e difusão de gases é importante na patologia, pois doenças dos segmentos proximais aos

bronquíolos respiratórios de primeira ordem geralmente levam a prejuízos da ventilação pulmonar, ao passo que os processos patológicos que envolvem os ácinos causam distúrbios da difusão ou alteração entre ventilação e perfusão⁽⁵⁾.

O pulmão tem uma fonte vascular dupla: as artérias pulmonares e as artérias brônquicas. As artérias pulmonares acompanham as vias aéreas, se dividindo progressivamente até a periferia pulmonar e formando uma rede capilar ramificada nas paredes alveolares. Esta rede capilar rica em interanastomoses envolve os alvéolos para fornecer uma área máxima de superfície para a troca gasosa. As artérias brônquicas são sistêmicas, surgidas das artérias aorta e intercostais; dão forma a um plexo na parede brônquica que se estende periféricamente até os bronquíolos respiratórios. Ramos das artérias brônquicas fornecem também irrigação sanguínea para a pleura visceral e algumas partes do tecido conectivo intersticial.

O sistema venoso pulmonar leva o sangue eferente da rede capilar alveolar da periferia dos lóbulos para as veias pulmonares. As pequenas veias localizam-se principalmente nos septos interlobulares. Em geral, uma veia principal, que usualmente corre na face anterior do bronquíolo, drena cada segmento broncopulmonar. No entanto, freqüentemente os segmentos broncopulmonares são drenados por mais de uma veia pulmonar. Segmento broncopulmonar é o segmento do pulmão suprido por um brônquio segmentar, que corresponde à terceira geração de subdivisão das vias aéreas desde a traquéia e se origina de um brônquio lobar ou secundário, que é ramo de um brônquio principal⁽⁶⁾.

As paredes das vias aéreas dos brônquios são compostas por três componentes: 1) a mucosa, constituída por um epitélio e um tecido conectivo laminar, 2) a camada muscular e 3) uma envoltura de tecido conectivo provida de cartilagem (Figura 2). Nos bronquíolos, a cartilagem desaparece e a camada muscular se faz fina (Figura 3), desaparecendo completamente nos alvéolos (Figura 4) ⁽⁷⁾.

O epitélio das vias aéreas exibe características diferentes ao longo dos brônquios, bronquíolos e da região alveolar. Um epitélio colunar alto pseudoestratificado recobre as paredes dos brônquios (Figura 2), diferente do que acontece nos níveis mais inferiores, onde a cobertura epitelial é do tipo colunar simples ciliada nos bronquíolos (Figura 3) e fina na região alveolar, na qual ocorre a troca gasosa (Figura 4) ⁽⁷⁾. Nos alvéolos, o epitélio é constituído por uma camada simples de células, denominadas pneumócitos ⁽⁸⁾. Existem, basicamente, dois tipos de células nesta região: o pneumócito do tipo I e o tipo II. O pneumócito tipo I é uma célula de espessura fina, adequada para a troca gasosa, que recobre praticamente 97% da superfície alveolar. Apresenta finas extensões citoplasmáticas. As bordas destas células se juntam umas às outras através de junções firmes, que impedem a saída de sal ou água ⁽⁸⁾. Estas células são lábeis e não apresentam capacidade para regeneração, sua substituição depende de um segundo grupo de células, chamadas pneumócitos tipo II. Estas são células cuboidais que contem corpos lamelares característicos no seu citoplasma. São metabolicamente mais ativas, apresentando como principal função a elaboração do surfactante e a substituição dos pneumócitos tipo I quando eles são lesados (Figura 4) ⁽⁹⁾.

O endotélio que reveste as artérias e veias é similar ao dos capilares, apesar de mais grosso e de ter o citoplasma dotado de maior quantidade de vários tipos de organelas ⁽¹⁰⁾. As células endoteliais das artérias e veias são metabolicamente mais ativas do que as do endotélio capilar e apresentam grânulos específicos que regulam proteínas, como as de von Willebrand, selectinas e fatores de adesão celular. Muitas das funções metabólicas não respiratórias pulmonares – particularmente a transformação de numerosas substâncias bioativas, como angiotensina e prostaglandina – são realizados nas células endoteliais, mas a localização intracelular destes processos ainda é pouco conhecida.

As propriedades físicas das paredes vasculares seguem as características funcionais dos vasos ⁽¹⁰⁾. A parede da maioria das artérias pulmonares é feita para suportar oscilações de pressão, graças às lâminas elásticas que se interconectam com as fibras musculares, as quais estão dispostas circularmente em relação à luz do lume vascular (Figura 5). Comparadas às artérias sistêmicas, a espessura da artéria pulmonar é menor em relação à pressão sistólica que suportam ⁽¹⁰⁾. Em cortes histológicos, as artérias pulmonares mostram duas membranas elásticas, uma membrana elástica interna e outra externa, ao contrário do que é visto nas veias, que apresentam uma única membrana elástica externa (Figura 5) ⁽¹⁰⁾.

As arteríolas são bem definidas no sistema vascular do corpo e constituem uns dos maiores sítios de resistência arterial. No entanto, as arteríolas pulmonares são mais difíceis de se localizar e de se definir. Uma simples camada muscular – definição histológica de arteríola – está presente

nos ramos de 100 μm de diâmetro no pulmão. Na circulação pulmonar, as arteríolas pré-capilares, vasos de 20 a 40 μm de diâmetro, apresentam completa falta da camada muscular ⁽¹⁰⁾. Esta pobreza da camada muscular contribui sobremaneira para a baixa resistência ao fluxo sanguíneo vigente na árvore arterial ⁽¹⁰⁾.

Além dos componentes aéreos e vasculares, o interstício é também fundamental na determinação das características peculiares do pulmão que garantem seu adequado desempenho na execução de suas funções, principalmente a troca gasosa ⁽²⁾. O esqueleto intersticial é formado por um sistema de fibras que se estendem por três compartimentos: axial, septal e periférico (Figura 1). O interstício axial se estende desde o hilo até a unidade respiratória terminal e constitui o interstício peribrocovascular, ou seja, é o tecido conectivo que acompanha as vias aéreas e vasos sanguíneos. O interstício septal ou alveolar é o tecido conectivo presente na zona de troca gasosa entre as membranas basais epiteliais e endoteliais, incluindo estas membranas em sua composição. Este interstício é fino, mas se fixa fortemente aos sistemas axial e periférico. O interstício periférico é aquele que se estende a partir da pleura visceral para o interior do pulmão, acompanhando veias pulmonares e completando a estrutura de lobulação e segmentação pulmonar ⁽¹¹⁾.

O espaço intersticial é povoado por elementos celulares diversos, tais como células inflamatórias, fibroblastos, células mioepiteliais e pericitos, entre outras.

A histoarquitura do território alveolar provê que uma das faces do septo alveolar esteja comprometida com a troca gasosa, sendo o interstício

septal constituído por uma fina camada amorfa entre as membranas basais endoteliais e epiteliais. A outra face do septo alveolar encontra-se envolvida na sustentação mecânica do septo alveolar, abrigando as fibras elásticas, colágenas e proteoglicanos altamente hidrofílicas, que possuem a capacidade de absorver o fluido proveniente da luz alveolar ou dos capilares alveolares⁽¹²⁾.

As fibras de colágeno, tanto intersticiais como das membranas basais, constituem 15 a 20% do peso seco pulmonar. O colágeno do tipo I é o mais abundante, representa 65% dos colágenos, o colágeno do tipo III representa aproximadamente 35% e os outros tipos, como o colágeno V e VI, encontram-se em pequenas quantidades. As fibras elásticas representam 20 a 30% do tecido conectivo intersticial e é constituído por elastina e miofibrilas⁽¹²⁾.

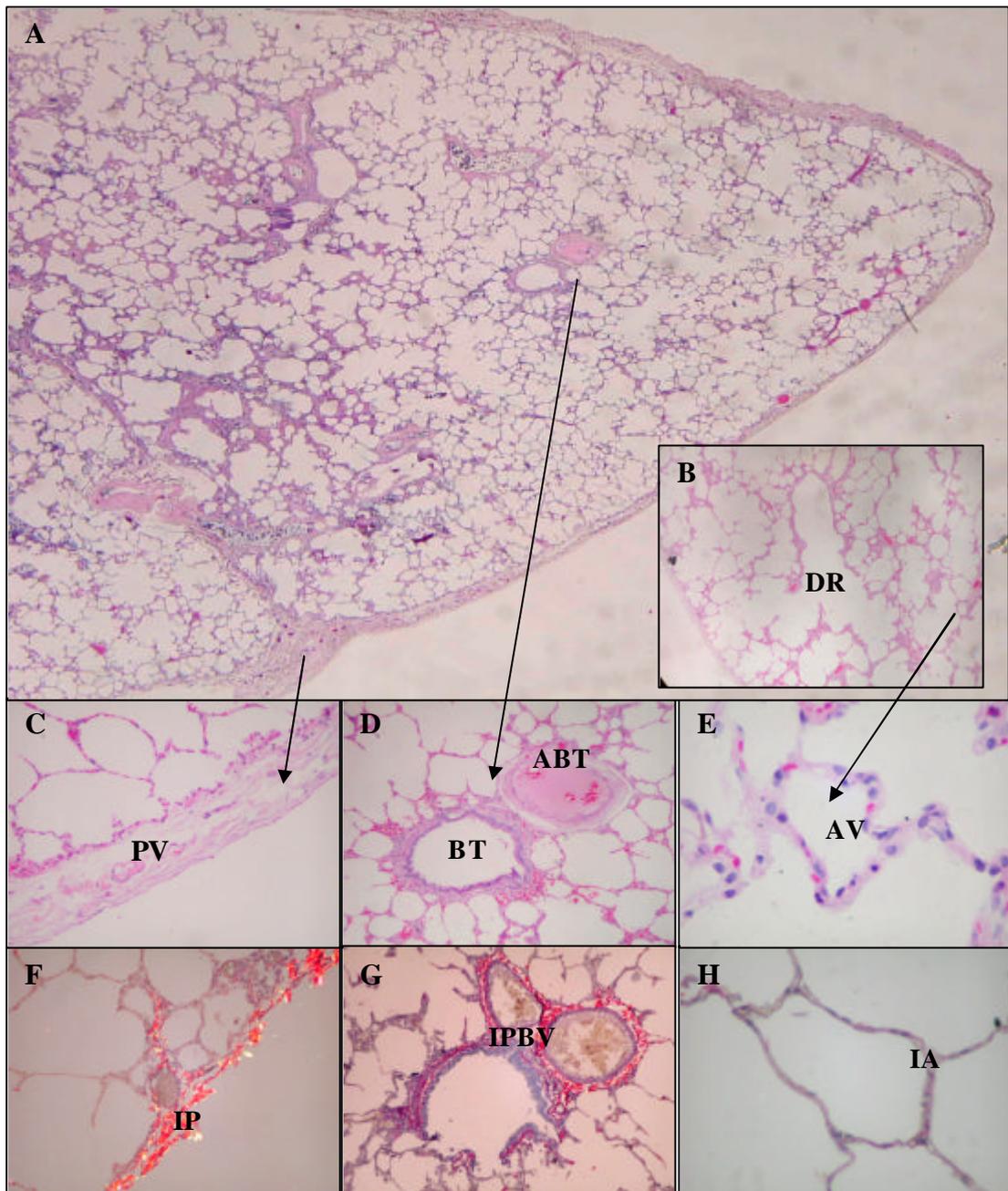


Figura 1. Vista panorâmica do ácino pulmonar, mostrando suas características principais e os diferentes interstícios que o compõem.

No ácino pulmonar podemos observar: o interstício periférico = IP constituído pela pleura visceral = PV, o interstício peribrocovascular = IPBV albergando o bronquíolo terminal = BT e sua correspondente artéria de bronquíolo terminal = ABT. O interstício alveolar = IA integra os alvéolos = AV, os quais encontram-se ancorados nos ductos respiratórios vizinhos = DR. (HE – (A) 10X; (B) 100X; (C,D,E) 200X. Picrosíríus sob luz polarizada; (F,G,H) 200X.

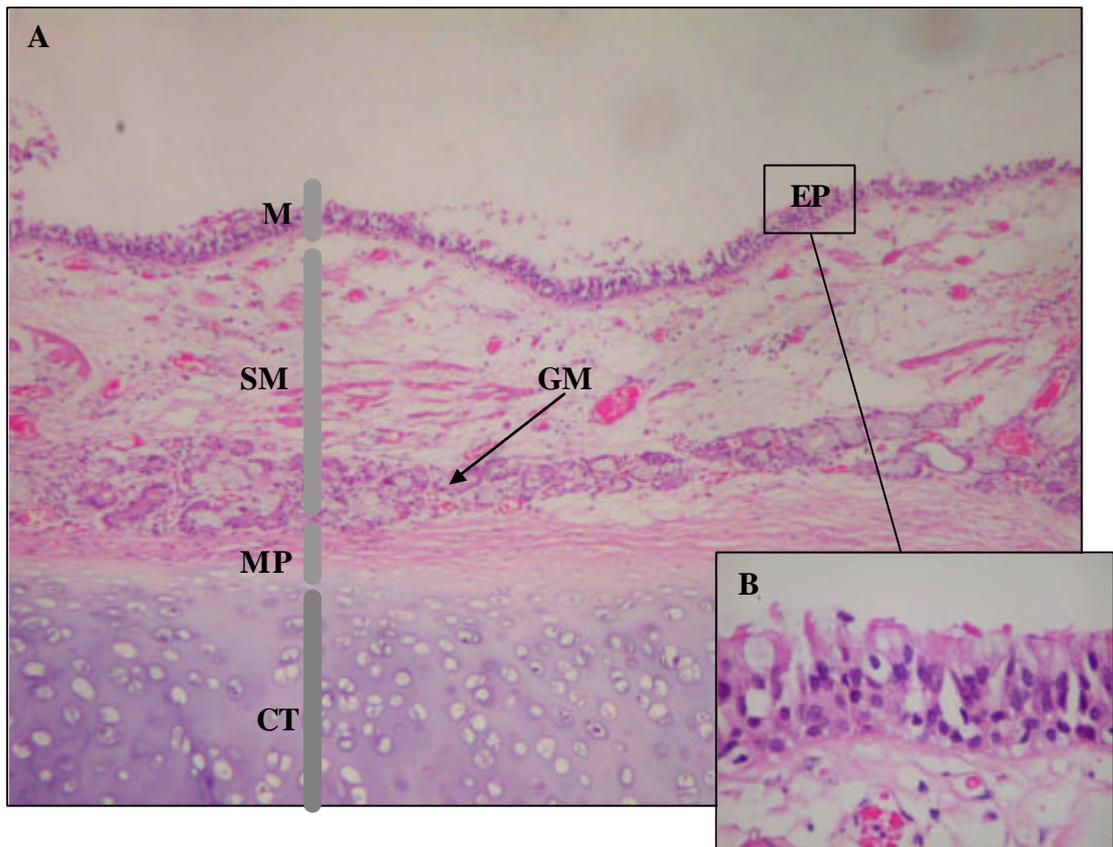


Figura 2. Constituição da parede de uma grande via aérea cartilaginosa.

Podemos observar as diferentes camadas que a compõem: mucosa = M; submucosa = SM albergando no seu interior as glândulas submucosas, somente presentes nas vias cartilaginosas; muscular própria = MP, abaixo da qual observa-se claramente um segmento de cartilagem = CT. A MP envolve interna e externamente o anel cartilaginoso. No detalhe, podemos observar o epitélio pseudoestratificado que caracteriza as grandes vias aéreas, constituído por células basais, células mucosas, também chamadas de *globet cells* e células cilíndricas ciliadas. HE – (A) 400X; (B) 1000X.

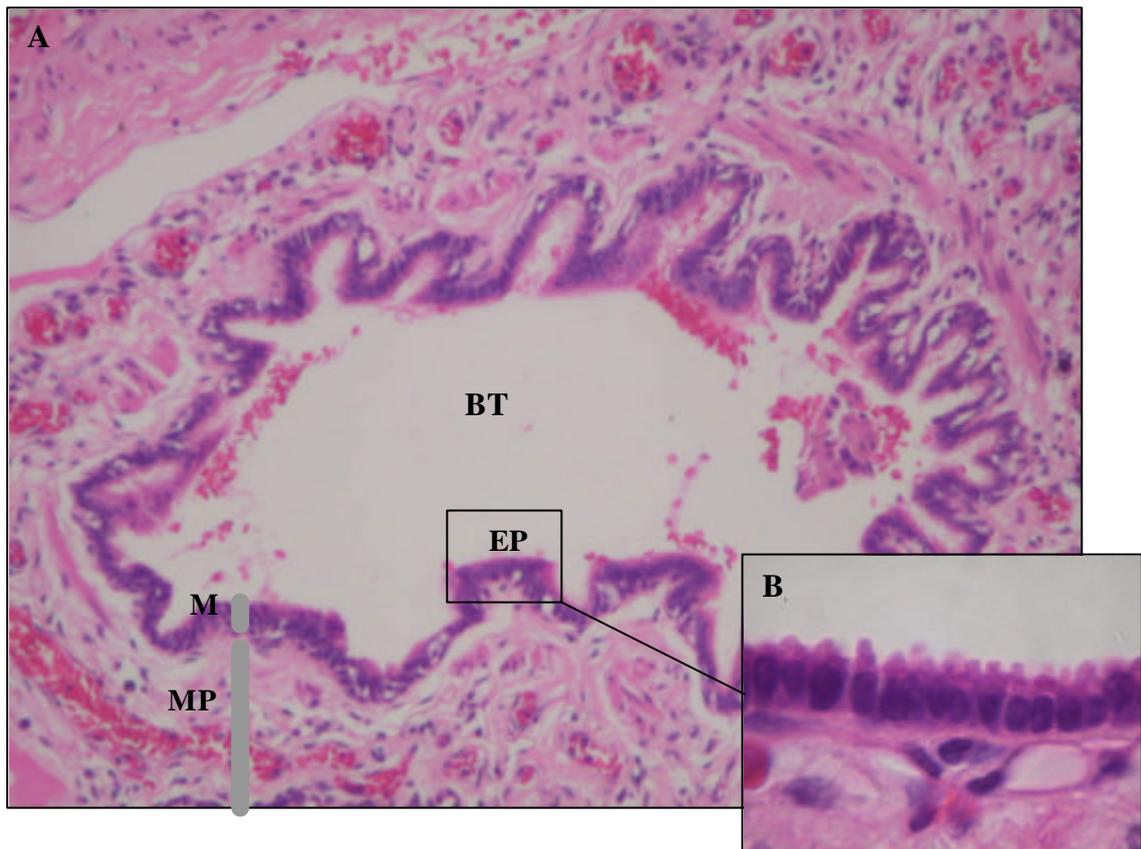


Figura 3. Bronquíolo terminal (BT) evidenciando a constituição das camadas de sua parede.

Observam-se as camadas mucosa = M e muscular própria = MP como partes principais da estrutura da parede do bronquíolo terminal. No detalhe, a camada mucosa mostra o epitélio = EP característico deste segmento, do tipo simples, cilíndrico, cíliado e alto. HE – (A) 400X; (B) 1000X.

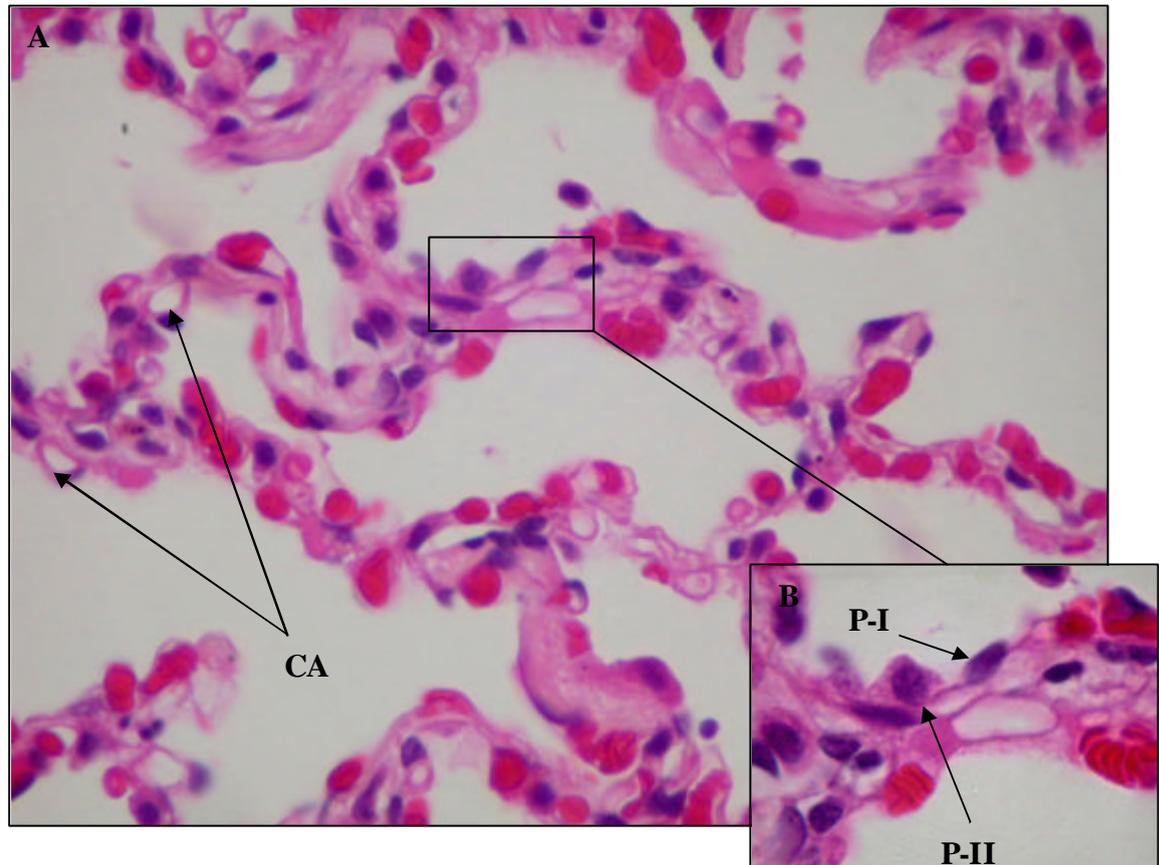


Figura 4. Características das paredes alveolares.

Observa-se a característica fina dos septos alveolares onde estão bem representados os capilares = CA. No detalhe, podemos observar que estas paredes estão revestidas principalmente por dois tipos de células, os pneumócitos do tipo I = P-I, célula achatada que recobrem quase 97% da superfície alveolar, e os pneumócito do tipo II = P-II, com formato típico cuboidal e produtoras do surfactante pulmonar. HE – (A) 400X; (B) 1000X.

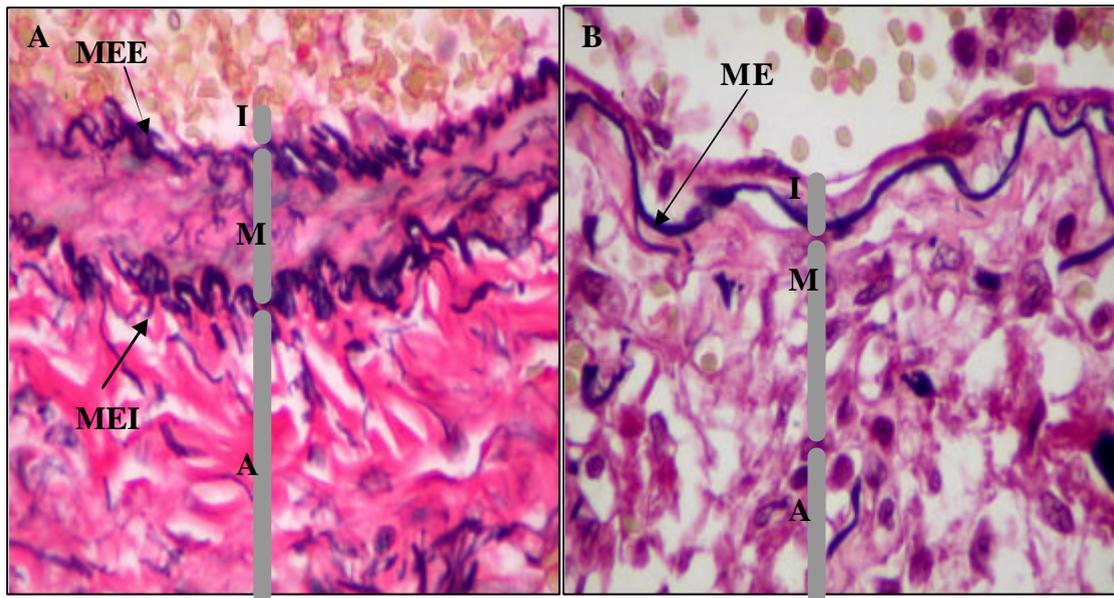


Figura 5. Corte histológico da artéria do bronquíolo terminal e da veia do interstício septal mostrando suas camadas e as características da parede destes vasos.

Observam-se as três camadas assim denominadas: íntima = I; média = M e adventícia = A. É importante observar que a parede da artéria exhibe claramente a presença de duas membranas elásticas (membrana elástica externa = MEE e membrana elástica interna = MEI). A parede da veia pulmonar mostra a presença de uma única membrana elástica = ME, fato que as diferencia histologicamente das artérias pulmonares. Verhoeff – (A e B) 400X.

1.2. FISIOPATOLOGIA DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS

As doenças intersticiais pulmonares difusas, do inglês *diffuse interstitial lung diseases* (DILDs), são aquelas que acometem as membranas basais alveolares e capilares e o espaço que se encontra entre elas, ou seja, acometem o interstício alveolar ⁽¹³⁾. Esta definição é incompleta pois, do ponto de vista anatomopatológico, a maior parte delas afeta globalmente o espaço aéreo terminal: alvéolos e vias aéreas distais ⁽¹³⁾. O predomínio de alteração intersticial explica a semelhança existente entre as doenças pertencentes ao grupo das DILDs de suas manifestações clínicas, radiológicas e funcionais. Mas muitas destas entidades, em algum ponto da sua evolução, originam maior comprometimento do espaço alveolar que do próprio interstício. Outras, tradicionalmente incluídas dentre as DILDs, apresentam alterações histológicas fundamentalmente do espaço aéreo terminal como a proteinose alveolar, a pneumonia eosinofílica e as síndromes de hemorragia pulmonar.

Doença pulmonar intersticial difusa é um termo comum que inclui mais de 200 doenças pulmonares crônicas. A etiologia pode ser determinada em aproximadamente 30% destas doenças intersticiais, sendo que as 70% restantes são de causa desconhecida ⁽¹⁴⁻¹⁵⁾.

Quando uma pessoa tem DILD, o pulmão é afetado em três etapas consecutivas. Primeiramente, o tecido pulmonar é danificado de alguma forma por um agente conhecido ou desconhecido. Em segundo lugar, as paredes alveolares apresentam inflamação e finalmente, na terceira etapa,

ocorre fibrose que começa no interstício pulmonar. Pelo comprometimento do interstício pulmonar, estas entidades produzem diminuição da distensibilidade, redução dos volumes pulmonares e da troca gasosa, conseqüência destas duas últimas alterações e da redução da capacidade de difusão da barreira alvéolo-capilar espessada. A hipóxia presente nestes pacientes geralmente é atribuída a estes mecanismos⁽¹³⁾. No entanto, além do comprometimento intersticial, também contribui para a hipóxia o preenchimento dos espaços aéreos distais por células inflamatórias e a distorção das pequenas vias aéreas, que podem produzir um desequilíbrio na relação difusão-perfusão, considerado também importante na produção da hipoxemia.

A maior parte dos pacientes apresentam alterações restritivas manifestadas por redução da capacidade pulmonar total (CPT), da capacidade vital forçada (CVF) e do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1), mantendo níveis elevados ou normais na relação destas duas últimas variáveis (VEF_1/CVF)⁽¹⁶⁾. Os gases arteriais nestes pacientes em repouso mostram variáveis graus de hipoxemia.

Todas as DILDs remodelam a arquitetura pulmonar, comprometendo as diferentes estruturas pulmonares e determinando, desta maneira, alterações funcionais qualitativas e quantitativas.

As pneumonias intersticiais idiopáticas, do inglês *idiopathic interstitial pneumonias* (IIPs), foco deste trabalho, são parte das DILD de causa desconhecida (Figura 1)⁽¹⁴⁾.

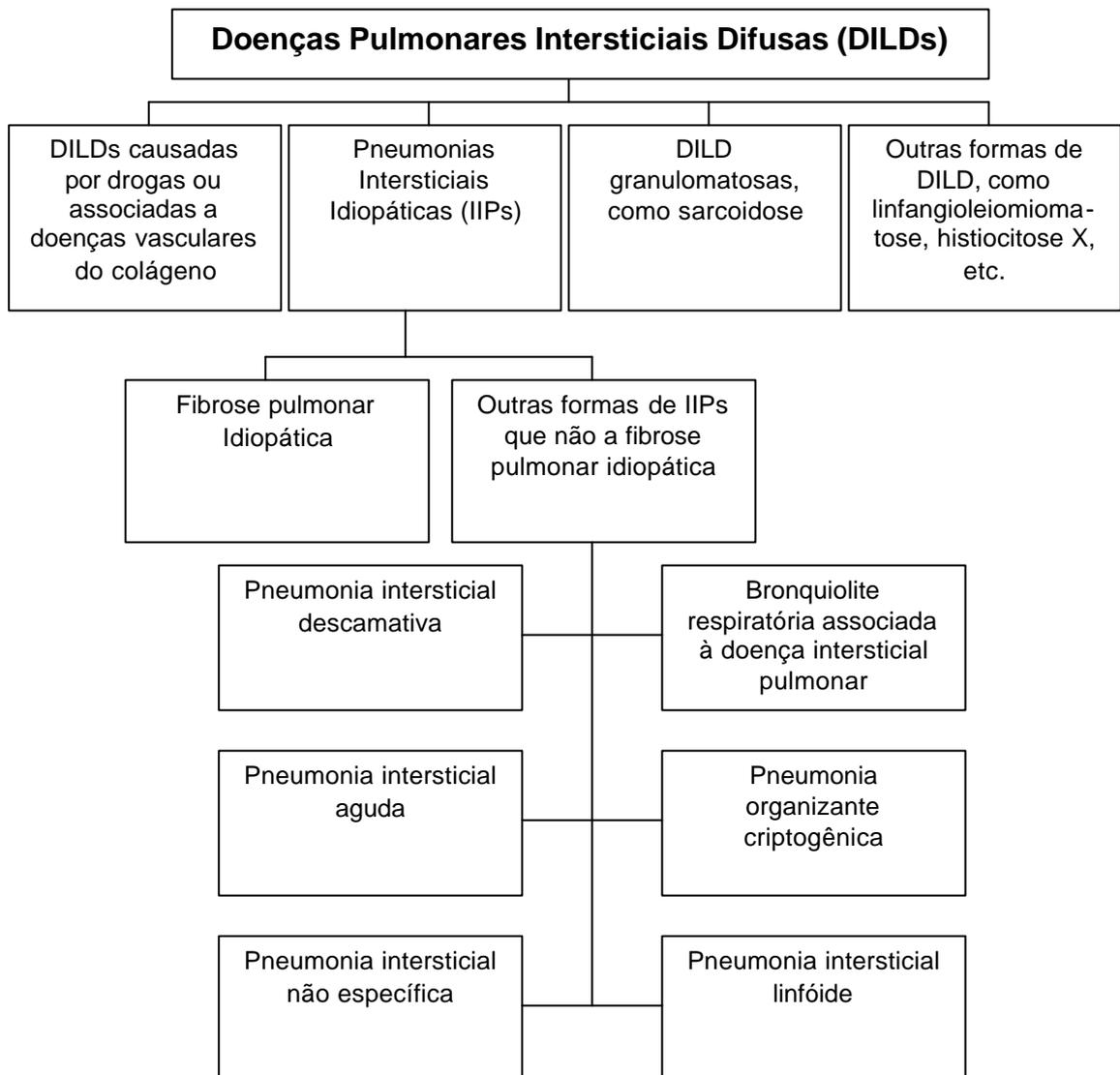


Figura 6. Agrupamento das doenças intersticiais pulmonares difusas (DILDs).

As DILDs consistem em desordens de causas conhecidas (doenças vasculares do colágeno, exposições ocupacionais ou drogas) assim como desordens de causas não conhecidas. Neste último grupo estão incluídas as pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs), doenças granulomatosas (sarcoidoses) e outras formas de doenças intersticiais pulmonares, incluindo a linfangioleiomiomatose (LAM), histiocitose de células de Langerhans/histiocitose X (HX) e a pneumonia eosinofílica. É importante ressaltar, dentre as pneumonias intersticiais idiopáticas, a fibrose pulmonar idiopática, pneumonia intersticial não específica, pneumonia intersticial específica, pneumonia intersticial descamativa, bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar, pneumonia intersticial aguda, pneumonia intersticial criptogênica e a pneumonia intersticial linfóide.

Fonte: Modificado da American Thoracic Society/European Respiratory Society. 2002. International multidisciplinary consensus classification of idiopathic interstitial pneumonias: general principles and recommendations. *Am J Respir Crit Care Med* 165:277–304.

1.3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

A observação de numerosos casos de IIPs, em nossa rotina diagnóstica e nas séries de trabalhos que já publicamos, têm nos chamado a atenção para dois fatos importantes. O primeiro deles diz respeito ao remodelamento da matriz extracelular e vascular nas IIPs. O segundo relaciona-se à evolução rapidamente progressiva para óbito e a não resposta ao tratamento de alguns casos de IIPs.

Os vasos pulmonares reagem às alterações no parênquima pulmonar adjacente na forma de trombose/tromboembolismo pulmonar ou remodelando-se na forma de esclerose vascular progressiva pela muscularização, fibrose intimal em artérias e arteríolas pulmonares e neoangiogênese. O resultado final de ambos os processos é a obliteração fibrosa total da luz vascular ou recanalização. Hipertrofia da média, com ou sem lesões aneurismáticas (por dilatação), com ou sem hemossiderose, como nas cardiopatias congênitas podem estar presentes.

As veias pulmonares também não são poupadas e exibem marcante oclusão vascular por proliferação fibrocelular da íntima. Arteriolização da parede, por sua vez, pode ser muito evidente. O remodelamento venoso determina ainda a formação de varizes.

Tais alterações vasculares podem justificar a evolução rapidamente progressiva para óbito de alguns pacientes com IIP.

O que diminuiria a mortalidade destas doenças? Eliminar os fatores ambientais, diagnosticar precocemente a doença, detectar atividade da

doença e detectar doenças secundárias, como o tromboembolismo e a hipertensão pulmonar; ou tratar todos os casos com corticosteróides?

Estas questões apontadas e mais a constante interação clínico-radiológico-anatomopatológica que necessitamos para caracterizar uma IIP, motivaram-nos a direccionar este estudo à pesquisa das IIPs com o intuito de fornecer informações adicionais em termos de etiologia, patogênese e correlações anátomo-radiológicas funcionais sobre estas doenças.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

As doenças que afetam principalmente o interstício pulmonar despertam grande interesse pela variedade de processos patológicos, nem sempre conhecidos do ponto de vista etiopatogênico e pelos transtornos funcionais que provocam.

As IIPs são parte de um grupo de doenças difusas do parênquima pulmonar, cuja classificação e diagnóstico são difíceis, tanto para os patologistas como para os clínicos. Parte da problemática do estudo destas doenças reside nas anormalidades histológicas relativamente inespecíficas que apresentam, consistindo em inflamação e fibrose. Além disso, requerem substancial correlação com dados clínicos, radiológicos e histopatológicos, para sua classificação.

As características histológicas, radiológicas e clínicas correlacionadas nos permitem chegar ao diagnóstico final na maior parte das vezes. Assim, a atuação em conjunto de patologistas, radiologistas e clínicos permitem o diagnóstico em muitos casos, o que não seria possível se cada profissional atuasse isoladamente.

2.1. CLASSIFICAÇÃO DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

Desde sua descrição e classificação, há mais de um século, as IIPs desafiam os médicos. Progresso significativo na compreensão das doenças pulmonares intersticiais foi feito em meados do ano de 1960, com o reconhecimento das doenças vasculares do colágeno (CVD), das doenças pulmonares produzidas por drogas e causadas por exposições ocupacionais. Entretanto, numerosas entidades pertencentes ao grupo das doenças pulmonares intersticiais permaneceram com o rótulo de idiopáticas. Em 1968, Liebow e Carrington foram os primeiros a classificar estas doenças crônicas nos seguintes cinco subgrupos histopatológicos: pneumonia intersticial usual (UIP), pneumonia intersticial bronquiolítica (BIP), pneumonia intersticial descamativa (DIP), pneumonia intersticial de células gigantes (GIP) e pneumonia intersticial linfóide (LIP) ⁽¹⁷⁾ (Tabela 1).

Nos vinte anos seguintes, outras doenças classificadas dentre as IIPs foram descritas, o estudo destas últimas foi se aprofundando ainda mais e, com o avanço das técnicas diagnósticas, principalmente da tomografia computadorizada, a classificação de Liebow e Carrington foi se fazendo insuficiente para a variedade de alterações histopatológicas encontradas. Por outro lado, muitas vezes os diagnósticos eram limitados, referindo-se somente às alterações histológicas, sem levar em conta aspectos clínicos ou radiológicos.

Foram feitas novas tentativas de classificação para integrar aspectos clínicos, radiológicos e histopatológicos. Tal é o caso da classificação de Katzenstein descrita em 1997⁽¹⁸⁾. Esta classificação reconheceu cinco entidades: pneumonia intersticial usual (UIP), pneumonia intersticial descamativa (DIP), bronquiolite respiratória associada à doença pulmonar intersticial (RB-ILD), pneumonia intersticial não específica (NSIP) e pneumonia intersticial aguda (AIP), conhecida anteriormente como síndrome de Hamman-Rich (Tabela 1).

Também em 1997, Muller e Colby classificaram as IIPs em pneumonia intersticial usual (UIP), pneumonia intersticial descamativa (DIP), bronquiolite obliterante com pneumonia em organização (BOOP), pneumonia intersticial aguda (AIP) e pneumonia intersticial não específica (NISP)⁽¹⁹⁾ (Tabela 1).

Todas estas classificações deram contribuições importantes, mas não permitiram um consenso global. Desta maneira, a Sociedade Torácica Americana e a Sociedade Respiratória Européia (ATS/ERS), integradas por clínicos, radiologistas e patologistas, criaram uma nova classificação e um guia diagnóstico, enfatizando a importância da aproximação destes três profissionais para o diagnóstico das IIPs, fundamentalmente em benefício dos pacientes. Neste sentido, esta nova classificação compreende sete grandes grupos de doenças: fibrose pulmonar idiopática (IPF), pneumonia intersticial não-específica (NSIP), pneumonia intersticial aguda (AIP), pneumonia em organização criptogênica (COP), bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar (RB-ILD), pneumonia intersticial descamativa (DIP) e pneumonia intersticial linfóide (LIP) como é mostrado na Tabela 2⁽¹⁴⁾.

Tabela 1 Classificação histológica das pneumonias intersticiais idiopáticas segundo: Leibow 1968; Katzenstein 1997 e Muller e Colby 1997.

FONTE: *Liebow AA and Carrington CB. The interstitial pneumonias. In *Frontiers of Pulmonary Radiology*. M. Simon, E. J. Potchen, and M. LeMay, editors. Grune and Stratton Inc, New York 1969. pp 102-141. †Katzenstein AL and Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1301-1315. ‡Muller NL, Colby TV. Idiopathic interstitial pneumonias: high-resolution CT and histologic finding. *Radiographics* 1997; 17: 10016-1022.

Liebow 1968*	Katzenstein, 1997†	Muller e Colby 1997‡
Pneumonia intersticial usual (UIP)	Pneumonia intersticial usual (UIP)	Pneumonia intersticial usual (UIP)
Pneumonia intersticial descamativa (DIP)	Pneumonia intersticial descamativa (DIP)	Pneumonia intersticial descamativa (DIP)
	Bronquiolite respiratória com doença intersticial pulmonar (RB-ILD)	
Pneumonia intersticial bronquiolítica (BIP)		Bronquiolite respiratória com pneumonias intersticial (BOOP)
	Pneumonia intersticial aguda (AIP)	Pneumonia intersticial aguda (AIP)
	Pneumonia intersticial não-específica (NSIP)	Pneumonia intersticial não-específica (NSIP)
Pneumonia intersticial linfóide (LIP)		
Pneumonia intersticial de células gigantes (GIP)		

Tabela 2. Classificação clínico-radiológico-patológica das pneumonias intersticiais idiopáticas: American Thoracic Society/European Respiratory Society 2001

FONTE: American Thoracic Society/European Respiratory Society. International multidisciplinary consensus classification of idiopathic interstitial pneumonias: general principles and recommendations. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277–304.

Padrão Histológico	Diagnóstico Clínico-Radiológico-Patológico
Pneumonia intersticial usual (UIP)	Fibrose pulmonar idiopática (IPF)
Pneumonia intersticial não-específica (NSIP)	Pneumonia intersticial não-específica (NSIP)
Dano alveolar difuso (DAD)	Pneumonia intersticial aguda (AIP)
Pneumonia em organização (OP)	Pneumonia em organização criptogênica (COP)
Bronquiolite respiratória (RB)	Bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar (RB-ILD)
Pneumonia intersticial descamativa (DIP)	Pneumonia intersticial descamativa (DIP)
Pneumonia intersticial linfóide (LIP)	Pneumonia intersticial linfóide (LIP)

2.2. PAPEL DA CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA NO CONSENSO DA ATS/ERS

É de vital importância que as características da biópsia estejam correlacionadas com as características da tomografia computadorizada de alta resolução, já que a heterogeneidade destes padrões histológicos são comuns nas pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs) ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

A ATS/ERS propõe uma classificação histológica de acordo com padrões de acometimento microscópico e uma classificação diagnóstica global, que leva em conta aspectos clínicos, radiológicos e histológicos. Os padrões histológicos definidos por tal classificação não são específicos das IIPs, podendo ser encontrados em outras DILDs de causa conhecida ou não. Esta classificação diagnóstica global não só expande os termos histopatológicos definidos por Katzenstein e por Myers, mas também define com maior precisão a interação entre os três aspectos supracitados.

A classificação histológica da ATS/ERS proporciona réguas básicas e fundamentos para a classificação diagnóstica, embora, em alguns casos, os achados clínicos e radiológicos já sejam suficientes para se fechar o diagnóstico ⁽¹⁴⁾. Apesar desta possibilidade, muitos casos ainda requerem biópsia pulmonar a céu aberto para determinar o padrão histopatológico subjacente e definir o diagnóstico ⁽¹⁴⁾.

Para a maioria dos patologistas pulmonares, o diagnóstico das IIPs é feito mediante a análise panorâmica do fragmento, momento no qual muitas perguntas relacionadas à revisão histológica devem ser respondidas para se

chegar a um diagnóstico correto. Uma das primeiras perguntas que surge ao olharmos uma lâmina é se o processo da doença é difuso ou retalhado (*patchy*). O processo é *patchy* se tiver zonas de parênquima pulmonar normal alternadas com zonas de parênquima com inflamação e fibrose. Em contraste, se o parênquima pulmonar inteiro parecer afetado pelo processo inflamatório e fibrótico e não houver quase nenhum parênquima pulmonar normal, o processo é classificado como difuso.

A segunda pergunta importante a ser respondida visa identificar os locais anatômicos do lóbulo e do ácino pulmonar primariamente afetados pelo processo inflamatório ou fibrótico. Quando as porções anatômicas afetadas são a região subpleural ou parasseptal, que refletem alterações na porção distal do lóbulo e do ácino pulmonar, o acometimento se caracteriza pela extensão centrípeta da inflamação e da fibrose da região subpleural para o parênquima pulmonar. Já na distribuição bronquiocêntrica, a periferia do lóbulo pulmonar é poupada relativamente e o processo inflamatório se localizado fundamentalmente no eixo broncovascular com extensão aos septos alveolares e peribronquiolares contíguos. Quando a doença tem distribuição septal alveolar, há espessamento, inflamação ou fibrose, de todo o lóbulo pulmonar. O processo é linfangítico se as trilhas da inflamação estão ao longo da pleura visceral, dos septos interlobulares e dos eixos broncovasculares, poupando relativamente os septos alveolares.

A terceira pergunta básica a ser respondida para a melhor compreensão das IIPs são os conceitos de homogeneidade e

heterogeneidade temporal. Homogeneidade temporal indica que a idade da alteração pulmonar é a mesma (aguda, subaguda ou crônica) e não há alterações com idades diferentes numa mesma biópsia pulmonar. Em contraste, na alteração temporal heterogênea, numa mesma biópsia pulmonar podem ser encontradas áreas de faveolamento (*honeycombing*) (alteração crônica), de tecido conectivo fibromixóide no espaço intersticial ou alveolar (alteração subaguda) e áreas de hiperplasia de células epiteliais alveolares com presença de membranas hialinas (alteração aguda).

Finalmente, para um bom diagnóstico necessita-se observar a presença de outras alterações histológicas do tecido pulmonar: edema agudo, necrose tecidual, fibrina e membranas hialinas nos espaços aéreos, tecido de granulação, cicatrizes pulmonares, remodelamento com densa fibrose, onde a arquitetura pulmonar é destruída pelo espessamento intersticial com depósito de fibras colágenas.

É importante enfatizar que o diagnóstico das IIPs requer a exclusão de causas sabidas de lesão pulmonar, como as causadas por doenças vasculares do colágeno e as induzidas por drogas. A caracterização histológica é de suma importância para a classificação diagnóstica. Para o correto diagnóstico, a comunicação próxima entre clínicos, radiologistas e patologistas se faz necessária e pode resultar na reclassificação de um caso se informação adicional se tornar disponível.

2.3. PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

As pneumonias intersticiais idiopáticas atualmente são classificadas em concordância ao último consenso divulgado pela ATS/ERS em 2001 que as divide em sete grandes entidades clínico-radiológico-patológicas (Tabela 2), descritas em detalhes a seguir.

2.3.1. FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA

A fibrose pulmonar idiopática, do termo em inglês *idiopathic pulmonary fibrosis* (IPF), é uma forma de pneumonia intersticial fibrosante crônica limitada ao pulmão⁽¹⁸⁾. As causas relacionadas com esta doença são ainda desconhecidas, apesar dos avanços celulares e de biologia molecular atualmente alcançados.

Epidemiologicamente, os pacientes com IPF encontram-se na faixa etária dos 50 a 70 anos. A doença atinge freqüente mais homens que mulheres⁽²²⁾. Diversos fatores são implicados como causas da IPF e dentre eles, o cigarro é um possível fator potencial de risco para desenvolver a doença⁽²³⁾, ao lado de outros fatores ainda não bem estabelecidos, como alguns vírus que já foram alvo de vários estudos, mas ainda sem evidências claras da sua participação nesta doença⁽²⁴⁻²⁷⁾.

A predisposição familiar se apresenta como outro fator de risco. Casos familiares de IPF sugerem fatores genéticos implicados na doença, ainda não identificados por completo⁽²⁸⁻²⁹⁾.

Clinicamente, a maioria dos pacientes com IPF apresenta uma sintomatologia comum de seis a 24 meses de evolução antes do diagnóstico⁽³⁰⁻³¹⁾. As manifestações clínicas são invariáveis, com dispnéia, expectoração não-produtiva, distúrbios respiratórios e deteriorização gradual do estado do paciente⁽³²⁾. O tempo médio de sobrevida após o diagnóstico varia de 2.5 a 3.5 anos⁽³³⁻³⁴⁾.

Comumente a tomografia computadorizada de alta resolução mostra alterações de formato irregular com predomínio de acometimento da região periférica pulmonar, caracterizadas por opacidades reticulares de formatos variáveis, opacificações de limites imprecisos do tipo "vidro despolido", usualmente associadas a bronquiectacias de tração e alterações do tipo "favo de mel"⁽³⁵⁾ (Figura 7A). A distribuição tomográfica da IPF é geralmente basal e periférica, com acometimento retalhado do parênquima pulmonar⁽³⁶⁾.

As provas de função pulmonar mostram uma doença restritiva, com redução da capacidade pulmonar total (CPT) e da capacidade vital forçada (CVF). A relação VEF₁/CVF pode ser normal ou estar aumentada com exagerada hipoxemia arterial provocada pelo exercício⁽³⁰⁾. Também há diminuição da difusão de CO₂⁽³⁰⁾.

O diagnóstico definitivo da IPF requer uma história clínica compatível⁽¹⁸⁾ que exclua outros tipos de doenças intersticiais (por drogas, exposições ocupacionais ou doenças vasculares do colágeno)⁽³⁷⁾ e uma biópsia pulmonar cirúrgica característica, com padrão histológico de pneumonia intersticial usual (*usual interstitial pneumonia*, UIP).

O diagnóstico histológico de UIP só é feito após exclusão de outras formas de pneumonias intersticiais. As características histológicas são heterogeneidade temporal, com alternância de áreas normais, inflamação intersticial, focos de processo fibroblástico, densa fibrose e áreas com alterações parenquimatosas do tipo "favo de mel" (Figura 7B). A distribuição do processo é retalhada, com envolvimento periférico de ácinos ou lóbulos pulmonares ^(18,38). As alterações histológicas afetam principalmente a região subpleural e parasseptal, onde o acometimento parenquimatoso é mais severo. O infiltrado inflamatório intersticial é usualmente crônico e moderado, distribui-se de forma retalhada e caracteriza-se por um infiltrado alveolar septal de linfócitos, células plasmáticas e histiócitos associados com hiperplasia de pneumócitos do tipo II. Pequenos focos de inflamação são mais proeminentes nos estágios iniciais. Muitos casos mostram um infiltrado inflamatório inespecífico nas áreas de deposição do colágeno, alternadas a áreas de septos alveolares normais ⁽¹⁸⁾ (Figura 7C) e áreas intermediárias de colapso alveolar (Figura 7D). Zonas fibróticas são caracterizadas por heterogeneidade temporal, com densas áreas de depósito de colágeno (fibrose mural organizante) (alteração crônica) e conglomerados de fibroblastos jovens bem circunscritos chamados de "focos de fibroblastos" (alteração subaguda) (Figura 7E). Hiperplasia de músculo liso é freqüentemente vista nestas áreas de fibrose intensa ⁽³⁹⁾. Áreas parenquimatosas com remodelamento em "favo de mel" são constituídas por espaços aéreos císticos preenchidos por filamentos de mucina e com paredes fibrosas, revestidas freqüentemente por uma camada de células do epitélio bronquiolar (Figura 7F).

As áreas pulmonares relativamente normais observadas nas biópsias pulmonares a céu aberto destes pacientes contrastam com o padrão difuso de outras doenças intersticiais, como o da NSIP.

O padrão histológico da UIP deve ser diferenciado do resto dos padrões histológicos das demais IIPs, principalmente da NSIP fibrosante, da DIP, OP e do DAD. Neste sentido, algumas biópsias com padrão UIP na face acelerada podem apresentar uma combinação de padrões histológicos, incluindo o de DAD ou até mesmo de uma capilarite.

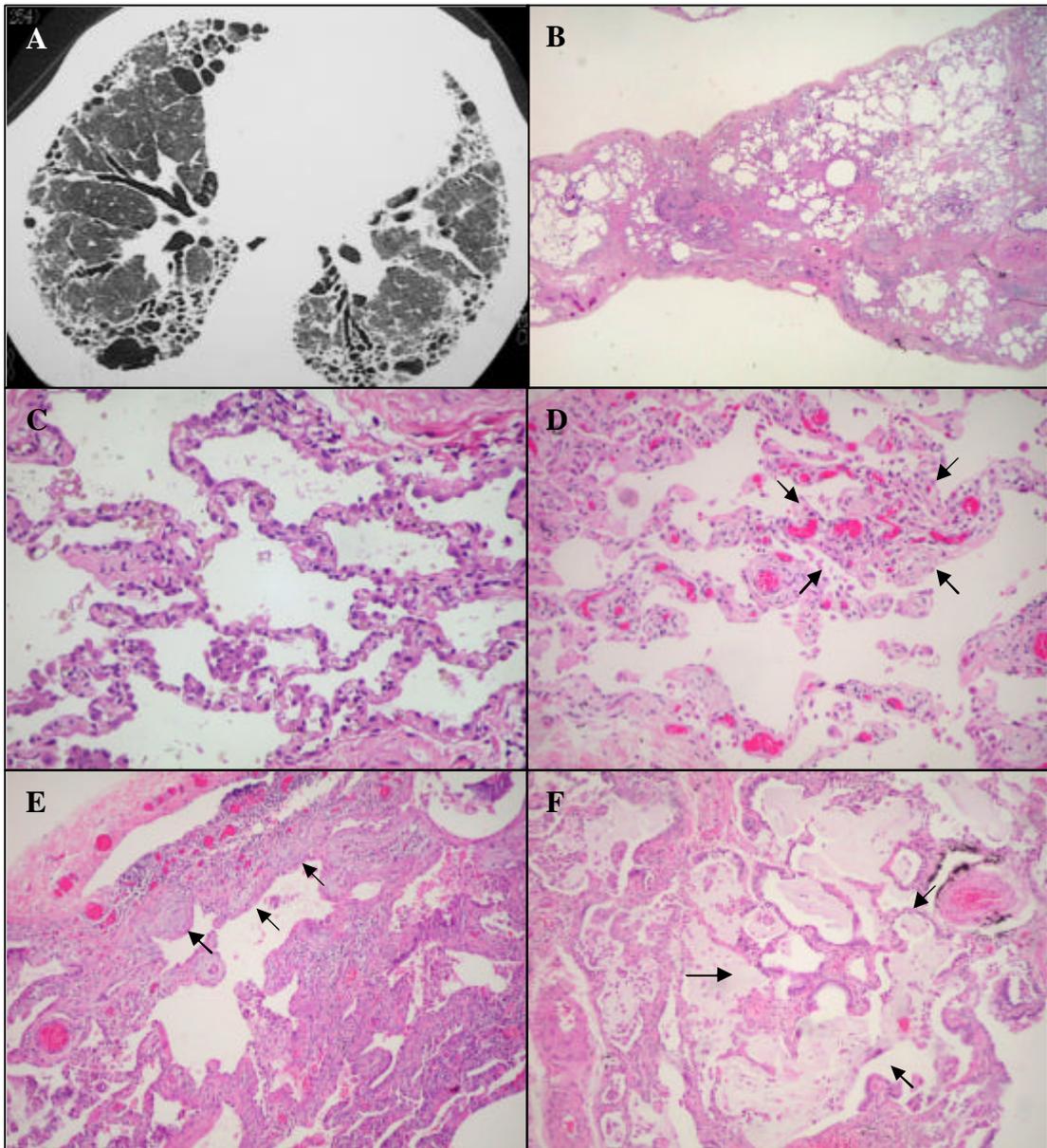


Figura 7. Características tomográficas e histológicas da fibrose pulmonar idiopática (IPF).

(A) Tomografia computadorizada de alta resolução mostrando o padrão de acometimento subpleural e periférico da doença; (B) vista panorâmica mostrando áreas normais alternando-se com áreas de fibrose mural organizante e zonas de faveolamento parenquimatoso; (C) áreas preservadas do parênquima pulmonar; (D) áreas de colapso alveolar (*setas*) com espessamento septal e dilatação dos dutos respiratórios; (E) extensas áreas de fibrose mural organizante com presença de focos de fibroblastos (*setas*); (F) zonas de faveolamento (*setas*) e marcada fibrose subpleural, caracterizando o padrão de pneumonia intersticial usual (UIP). HE – (B) 10X, (C, D, E, F) 100X.

2.3.2. PNEUMONIA INTERSTICIAL NÃO-ESPECÍFICA

A pneumonia intersticial não-específica (*non-specific interstitial pneumonia*, NSIP) é o nome dado a um padrão histológico que ocorre entre as IIPs e em outras doenças do interstício pulmonar. Também é o termo usado para nomear uma das classes de IIPs de acordo com critérios clínico-radiológico-patológicos propostos pela ATS/ERS.

Ela tem um espectro histológico diferente e prognóstico variável. Em 1990, Kitaichi propôs o termo “pneumonia intersticial inclassificável” para algumas biópsias que não se enquadravam nos padrões das IIPs conhecidas nessa época. No ano de 1994 Katzenstein e Fiorelli introduziram o conceito de NSIP à categoria das IIPs⁽⁴⁰⁾.

O diagnóstico de NSIP se dá pela exclusão de outras formas de pneumonias intersticiais, como a DIP, AIP, COP e a IPF, sendo, por tanto, um diagnóstico de exclusão. O termo NSIP foi inicialmente utilizado na prática clínica para o acometimento pulmonar em pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) que apresentavam um quadro clínico de pneumonia intersticial não infecciosa⁽⁴¹⁾. Este termo não só implicava na presença de características histológicas que não se enquadram em outras pneumonias intersticiais, mas também na presença de certas características clínicas. Recentemente, este termo está sendo mais utilizado para definir um grupo específico de pneumonia intersticial idiopática. Não obstante, os patologistas não devem incorrer na utilização indiscriminada deste termo e devem evitar o emprego do termo NSIP como

alusão a padrões que não se enquadram em nenhum dos sete padrões histológicos das IIPs.

O conceito atual de NSIP, definido pela ATS/ERS, inclui presença de achados clínicos variáveis e biópsia pulmonar caracterizada por inflamação intersticial primária e densa fibrose que não sugiram outro tipo de pneumonia intersticial⁽⁴²⁾. Epidemiologicamente, atinge pacientes na faixa etária de 40 a 50 anos, ou seja, pessoas mais jovem que as acometidas por IPF⁽⁴³⁾. Não apresenta predileção por gênero nem está associada ao fumo.

Radiologicamente, observa-se um infiltrado intersticial pulmonar bilateral, envolvendo zonas pulmonares superiores. Tomograficamente, os achados mais comuns são opacidades em vidro fosco bilaterais e simétricas com predomínio subpleural (Figura 8A). Irregularidades lineares ou opacidades reticulares são observadas em aproximadamente 50% dos casos. Bronquiectasias de tração e, raramente, faveolamento ou consolidações são observados^(35,44-45).

O padrão histológico da NSIP compreende um espectro de vários graus de inflamação e fibrose da parede alveolar, como foi descrito por Katzenstein e Fiorelli⁽⁴⁰⁾ (Figura 8B). Baseados na quantidade da inflamação e fibrose observadas no parênquima pulmonar, eles descreveram três grandes subgrupos de NSIP: o primeiro caracterizado por predomínio de um exuberante infiltrado inflamatório intersticial, chamado NSIP celular; um outro caracterizado por predomínio do componente fibroso, chamado de NSIP fibrosante; e um terceiro que mistura ambos os padrões histológicos anteriores, chamado NSIP fibro-celular⁽⁴⁰⁾. Os

subgrupos histológicos de Katzenstein e Fiorelli podem ocorrer numa larga variedade de quadros clínicos, apresentando uma associação de 31% com doenças vasculares do colágeno e com outras doenças, como a pneumonia por hipersensibilidade.

O espectro celular, ou seja, com predomínio do componente inflamatório intersticial, é caracterizado por um infiltrado inflamatório crônico moderado, constituído usualmente por linfócitos e algumas células plasmáticas envolvendo tipicamente o parênquima pulmonar de forma uniforme⁽⁴⁰⁾ (Figura 8C e 8D). O interstício pulmonar ao redor de vasos, septos interlobulares e pleurais geralmente são pouco envolvidos pelo processo. Fibrose organizante intra-alveolar pode ser observada em dois terços dos casos, mas esta fibrose é menor do que a vista no padrão da pneumonia organizante (OP). Agregados linfóides comumente são encontrados⁽⁴⁰⁾.

O espectro fibrosante da NSIP é caracterizado por uma densa fibrose intersticial com variados graus de depósito de tecido conectivo homogeneamente distribuídos e com homogeneidade temporal⁽⁴⁰⁾ (Figura 8E e 8F). Focos de fibroblastos caracteristicamente observados no padrão da UIP são ausentes ou inconspícuos no padrão da NSIP (14%). Algumas vezes, o padrão fibrosante pode apresentar acometimento não homogêneo, causando remodelamento da arquitetura pulmonar de distribuição retalhada⁽⁴⁶⁾, mas restrita a pequenas áreas. O infiltrado inflamatório que envolve o interstício alveolar no padrão fibrosante é constituído por mínima quantidade de linfócitos e plasmócitos.

Finalmente, cabe mencionar a existência de alguns casos de padrão NSIP que apresentam uma mistura dos processos celular e fibrosante com predomínio da inflamação intersticial crônica.

A classificação da NSIP nos padrões celular e fibrosante é extremamente importante pela diversidade de prognóstico que cada uma apresenta ⁽⁴⁷⁾.

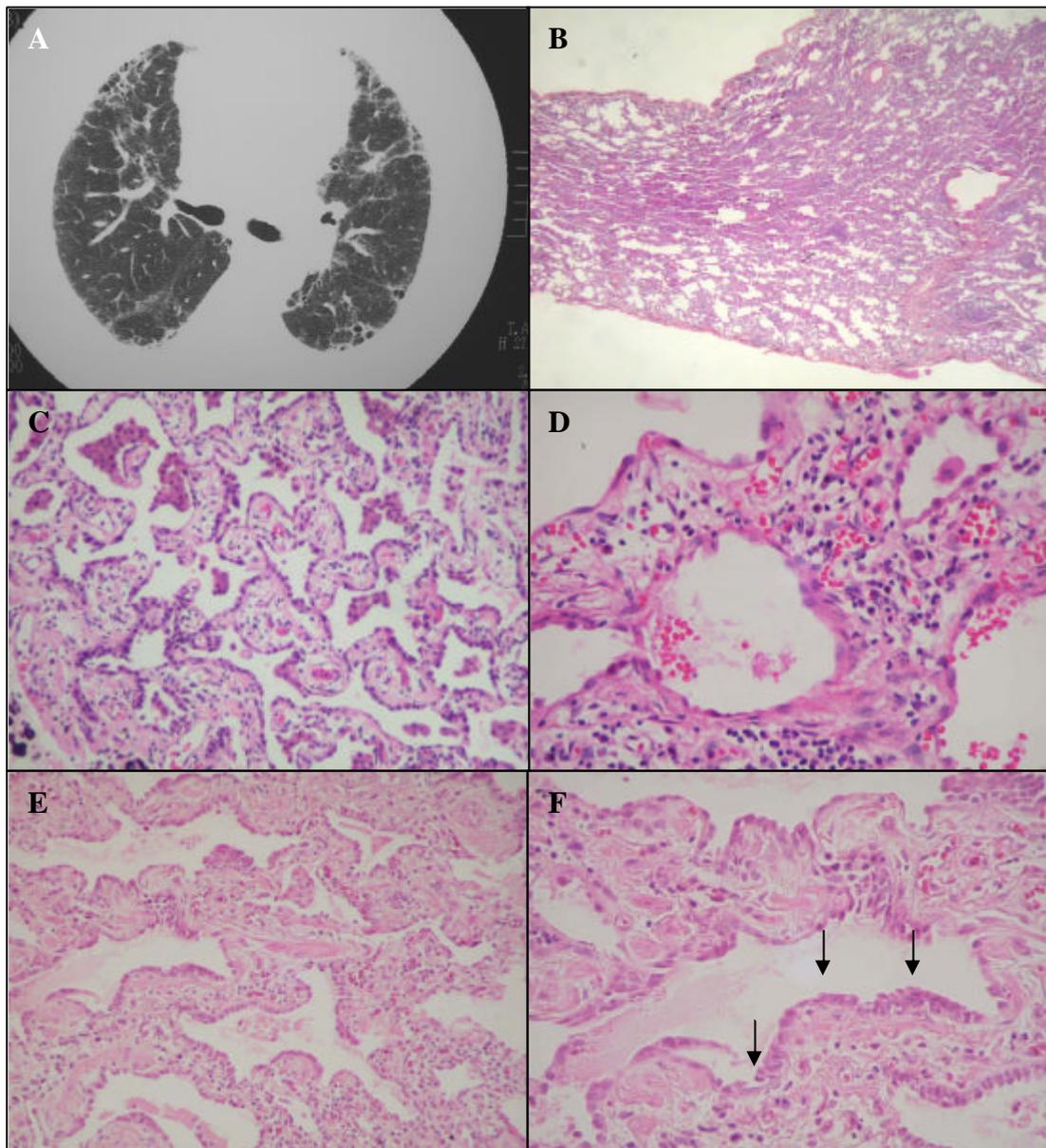


Figura 8. Padrão tomográfico e histológico da pneumonia intersticial não-específica (NSIP).

(A) Tomografia computadorizada de alta resolução mostrando o padrão difuso da doença; (B) vista panorâmica mostrando a homogeneidade temporal do processo intersticial; (C e D) subgrupo de padrão celular mostrando espessamento intersticial com predomínio de infiltrado inflamatório e mínima fibrose; (E e F) subgrupo de padrão fibrosante mostrando espessamento septal com predomínio do componente fibroso, observa-se ainda hiperplasia de pneumócitos do tipo II (*setas*), caracterizando o padrão da pneumonia intersticial não-específica (NSIP). HE – (B) 10X; (C, E) 200X; (D, F) 400X.

2.3.3. PNEUMONIA INTERSTICIAL AGUDA

O termo, pneumonia intersticial aguda (*acute interstitial pneumonia*, AIP) descreve uma condição clinico-radiológico-patológica caracterizada por envolvimento pulmonar intersticial que evolui rapidamente com falência respiratória. Esta pneumonia intersticial, conhecida também como síndrome de Hamman-Rich, evolui em surtos repetitivos⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾. Histologicamente, é uma forma distinta de pneumonia intersticial, descrita como dano alveolar difuso (*diffuse alveolar damage*, DAD), indistinguível das alterações encontradas na síndrome de angústia respiratória do adulto (SARA), causada por septicemia ou choque, motivo pelo qual o termo AIP se restringe a casos com etiologia desconhecida⁽⁵¹⁾.

A AIP atinge geralmente indivíduos em torno dos 50 anos de idade, não apresenta predominância por nenhum dos sexos nem associação ao hábito de fumar⁽⁵²⁾. Os pacientes iniciam o quadro com sintomas sugestivos de infecção viral tais como mialgias, artralgias e febre, sintomas aparentemente sugestivos de um resfriado comum⁽⁵¹⁾. Posteriormente, em alguns dias, o paciente desenvolve dispnéia associada a sinais de pneumonia de consolidação e crepitações difusas nos pulmões⁽⁵²⁾.

As provas de função pulmonar mostram padrão restritivo, com redução da capacidade de difusão. Ocorre desenvolvendo precoce de hipoxemia, com progressão rápida para insuficiência respiratória, às vezes refratária ao suprimento extra de oxigênio e que leva, em muitos casos, à necessidade de ventilação mecânica⁽⁵²⁾.

O tratamento não trás muitos benefícios e a mortalidade pode chegar a até 50% ou mais em um a dois meses, apesar da ventilação mecânica. Os sobreviventes da AIP podem experimentar recuperação ou cronicidade, com surtos repetidos da doença e evolução para insuficiência respiratória crônica por conta das lesões intersticiais fibróticas ^(49,53).

A AIP deve ser diferenciada do dano alveolar difuso decorrente da IPF, colagenoses, infecções, drogas, pneumonia de hipersensibilidade e pneumonia eosinofílica aguda ⁽⁵³⁾.

O lavado broncoalveolar nos casos da AIP não é característico, podendo se encontrar neutrófilos e, ocasionalmente, linfócitos em números aumentados ⁽⁵⁴⁾.

A radiografia de tórax pode mostrar opacidades bilaterais com broncograma aéreo. A silhueta cardíaca e a vasculatura periférica pulmonar são geralmente normais. Derrame pleural é incomum ⁽⁵⁵⁾.

A tomografia computadorizada de alta resolução mostra áreas de atenuação em vidro despolido, dilatação brônquica e espessamento septal (Figura 9A). Na fase inicial exudativa, o pulmão mostra consolidações e áreas de vidro despolido bilaterais com características de extensão geográfica. Na fase de organização do dano alveolar difuso, vê-se à tomografia distorções broncovasculares, bronquiectacias de tração, opacidades em vidro despolido e cistos ⁽³⁵⁾.

A biópsia pulmonar apresenta padrão homogêneo de distribuição (Figura 9B) e características histológicas que podem ser enquadradas em duas categorias: DAD em fase exsudativa e DAD em fase de organização

com fibrose ⁽⁵¹⁾. A fase exudativa ou aguda é caracterizada por edema, presença de membranas hialinas e inflamação intersticial aguda, com infiltrado de predomínio neutrofílico (Figura 9C). A fase de organização mostra focos de tecido de granulação, formação de neo-septos alveolares (Figura 8D, 9E e 9F) e hiperplasia de pneumócitos tipo II. Áreas de trombose de pequenas arteríolas pulmonares também podem ser vistas em alguns casos de fase aguda ⁽¹⁴⁾.

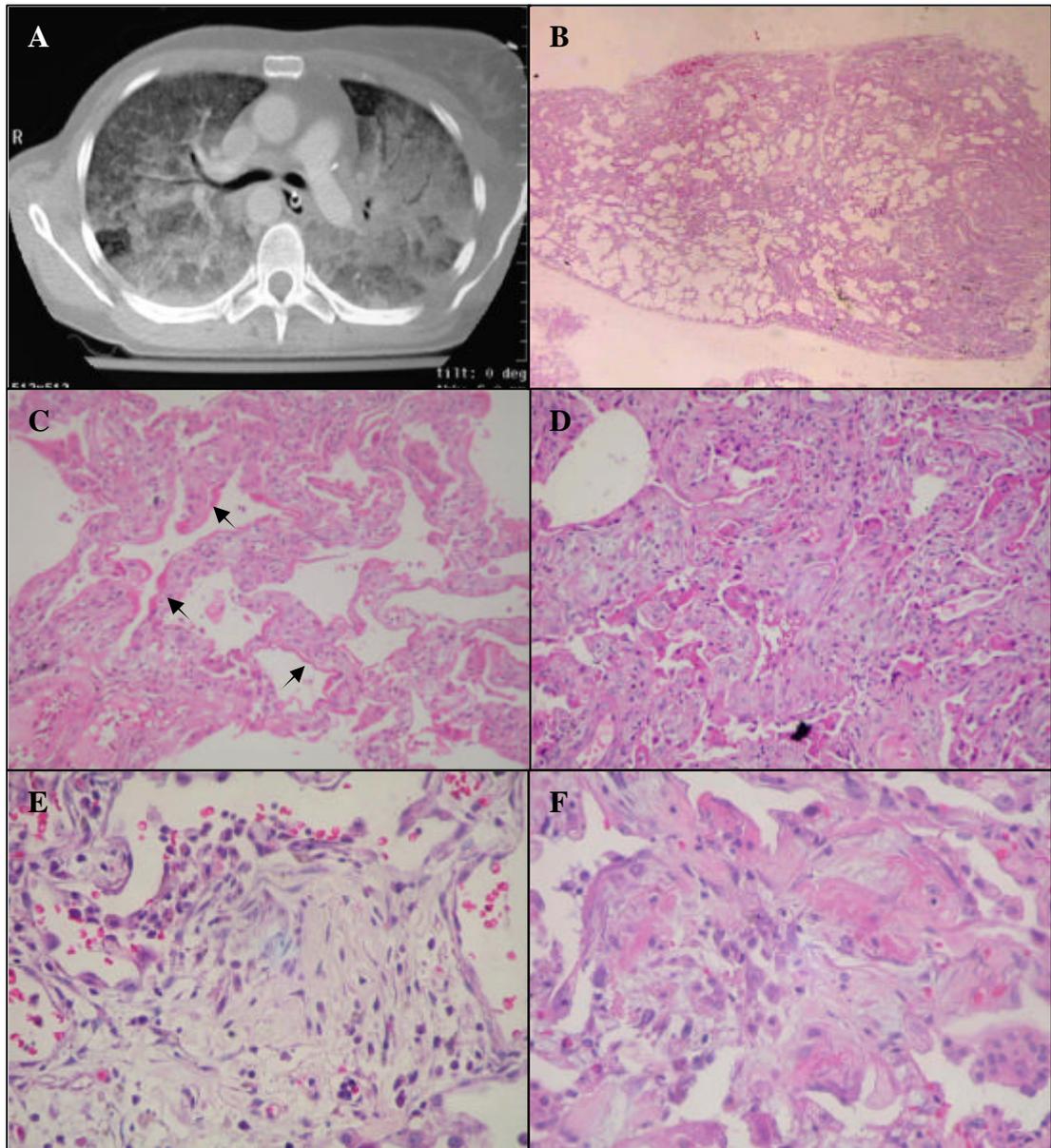


Figura 9. Padrão tomográfico e histológico da pneumonia intersticial aguda (AIP).

(A) Tomografia computadorizada de alta resolução mostrando uniformidade do processo pulmonar com áreas de atenuação em vidro despolido; (B) vista panorâmica mostrando envolvimento difuso e homogeneidade temporal; (C) presença de membranas hialinas (setas); (D) colapso alveolar; (E) fibrose obliterativa com presença de tecido de granulação e (F) formação de neo-septo, caracterizando o padrão histológico do dano alveolar difuso (DAD). HE – (B) 10X; (C) 100X; (D) 200X; (E, F) 400X.

2.3.4. PNEUMONIA ORGANIZANTE CRIPTOGÊNICA

Em 1955, Epler e Colby foram os primeiros a descrever a entidade clínico-patológica da bronquiolite obliterante com pneumonia em organização (*bronchiolitis obliterans organizing pneumonia*, BOOP)⁽⁵⁶⁾. No ano de 1983, Davinson e colaboradores descreveram uma entidade clínico-patológica similar à BOOP de causa desconhecida com o nome de pneumonia organizante criptogênica (*cryptogenic organizing pneumonia*, COP)⁽⁵⁷⁾. O termo de BOOP foi usado por muitos anos para se referir a esta entidade clínico-patológica de etiologia desconhecida, mas é preferível o termo COP ao termo BOOP, pois o primeiro expressa a característica essencial da síndrome descrita abaixo e evita confusão com certas doenças de vias aéreas com mesmas características histológicas.

A característica histológica da BOOP é a formação de tecido fibroso frouxo preenchendo os bronquíolos (bronquiolite obliterante polipóide) com extensão do processo para ductos alveolares e alvéolos (pneumonia em organização)⁽⁵⁶⁾.

O termo pneumonia em organização é utilizado genericamente para descrever processos como o da COP, uma pneumonia idiopática, ou mesmo pneumonias infecciosas (virais, bacterianas), por inalação de toxinas, por drogas, doença vascular do colágeno ou obstrução brônquica⁽⁵⁷⁾, ou seja, processos de etiologia desconhecida ou conhecida.

A COP faz parte da classificação das IIPs por sua natureza idiopática. Clinicamente se apresenta como uma síndrome aguda ou subaguda.

Geralmente incide em pacientes por volta de 55 anos de idade ou adultos jovens ⁽⁵⁸⁾. Os pacientes se apresentam por períodos de curta duração, entre 2 a 20 semanas (em média, aproximadamente 3 meses), com graus variados de dispnéia, tosse e escarro. A capacidade pulmonar é normal em 75% dos casos ⁽⁵⁸⁾.

Nestes períodos sintomáticos, radiologicamente podem-se observar áreas de consolidação unilateral ou bilateral sem zonas preferencialmente acometidas. Pequenos nódulos opacos são vistos em 10 a 50% dos casos. A minoria dos pacientes apresenta um infiltrado reticular, porém grandes nódulos, maiores que 1 cm, estão presentes em 20% dos casos ⁽³⁵⁾.

Topograficamente, há espaços aéreos consolidados, presentes em 90% dos pacientes, de distribuição subpleural e peribrônquica em 50% dos casos (Figura 10A). Os broncogramas aéreos são característicos quando há consolidação. Estruturas micronodulares de 1mm. são usualmente vistas ao longo do eixo broncovascular em mais de 50% dos casos e 15% dos pacientes apresentam múltiplos nódulos de tamanho grande e contornos irregulares. Broncogramas aéreos são visualizados em 88% dos nódulos ⁽³⁵⁾.

Histologicamente a COP é caracterizada por uma pneumonia em organização (*organizing pneumonia*, OP) que envolve predominantemente ductos alveolares e alvéolos com presença de pólipos intraluminais nestes espaços aéreos. Pólipos intraluninares bronquiolares também podem estar presentes ⁽⁵⁹⁾ (Figura 10B). A maioria das mudanças do parênquima pulmonar são vistas nas pequenas vias aéreas. Moderado infiltrado inflamatório, hiperplasia de pneumócitos tipo II e aumento de macrófagos

alveolares são achados comuns ⁽⁵⁷⁾. Pequenos focos de fibrina às vezes estão presentes com relativa preservação da arquitetura pulmonar⁽⁵⁷⁾.

Os pacientes com COP apresentam resolução completa do processo em 65% a 85 % após o tratamento com corticosteróide ⁽⁶⁰⁾.

2.3.5. BRONQUIOLITE RESPIRATÓRIA ASSOCIADA À DOENÇA PULMONAR INTERSTICIAL (RB-ILD)

A bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar (*respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease*, RB-ILD) é considerada uma forma de pneumonia intersticial crônica, apesar de causar primariamente comprometimento bronquiolar. A RB-ILD caracteriza-se por uma exuberante reação do parênquima pulmonar ao redor dos bronquíolos respiratórios ⁽⁶¹⁾. Esta reação envolve boa parte do parênquima e manifesta-se por sinais clínicos, radiológicos e funcionais próprios de uma doença pulmonar intersticial ⁽⁶¹⁾.

Acomete fumantes entre 25 e 55 anos, com maior predileção por homens que por mulheres, na relação de 2:1 ⁽⁶¹⁻⁶²⁾.

Os sintomas clínicos incluem tosse, expectoração e estertores em dois terços dos pacientes.

Radiologicamente, evidencia-se discreto espessamento da parede dos bronquíolos centrais e periféricos em cerca de 75% dos pacientes ⁽⁶²⁾. Infiltrados retículo-nodulares são vistos em mais de 60% dos casos. Em 17% dos casos não há alterações radiológicas. A tomografia computadorizada de

alta resolução mostra nódulos centro-lobulares, atenuação em vidro despolido de distribuição retalhada em áreas peri-bronquiolares e espessamento de vias aéreas centrais e periféricas⁽⁶³⁾ (Figura 10C).

O padrão histológico da RB-ILD, chamado de bronquiolite respiratória (*respiratory bronchiolitis*, RB), é também caracterizado por acometimento retalhado do parênquima pulmonar com predomínio de distribuição bronquiolocêntrica⁽⁶¹⁾. Bronquíolos respiratórios, dutos alveolares e espaços aéreos alveolares peribronquiolares apresentam acúmulos de macrófagos com pigmento acastanhado⁽⁶¹⁾ (Figura 10D). Estes macrófagos intraluminais são acompanhado de um infiltrado linfocitário e histiocítico, submucoso e peribronquiolar. Moderada fibrose peribronquiolar pode ser vista com extensão para septos alveolares adjacentes.

Histologicamente, a RB-ILD deve ser diferenciada da DIP, da bronquiolite e da NSIP.

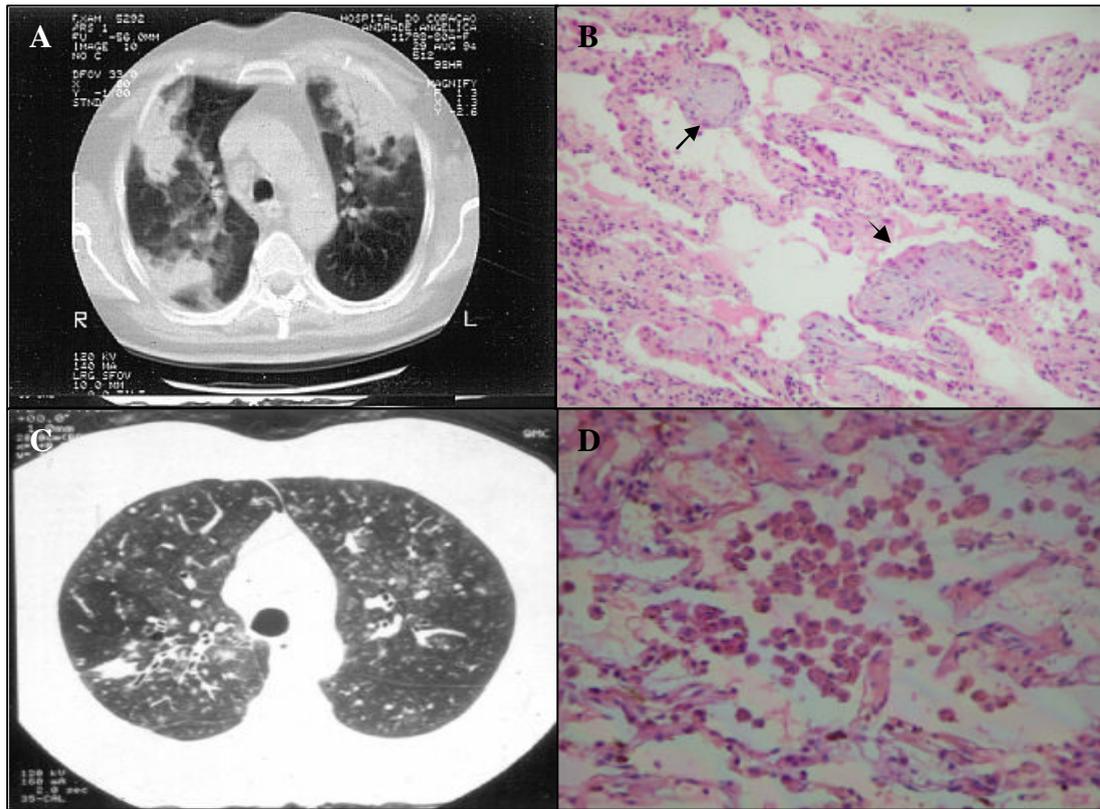


Figura 10. Mostrando os padrões tomográficos e histológicos da bronquiolite obliterante criptogênica (COP) e da bronquiolite respiratória associada à doença intersticial pulmonar (RB-ILD).

(A) Padrão tomográfico de distribuição randômica subpleural da COP; (B) observa-se formação de pólipos intraluminais de fibroblastos (*setas*) em vias aéreas de alvéolos e dutos respiratórios, característicos do padrão da pneumonia em organização (OP); (C) tomografia computadorizada de alta resolução mostrando o padrão tomográfico difuso em vidro despolido da RB-ILD; (D) presença de macrófagos com pigmento acastanhado, distribuídos nas pequenas vias aéreas respiratórias, caracterizando o padrão histológico da bronquiolite respiratória (RB). HE – (B) 100X; (D) 200X.

2.3.6. PNEUMONIA INTERSTICIAL DESCAMATIVA

O termo pneumonia alveolar macrofágica é o nome alternativo para a entidade conhecida como pneumonia intersticial descamativa (*desquamative interstitial pneumonia*, DIP), doença rara, inicialmente descrita por Liebow em 1965⁽¹⁷⁾. Esta doença caracteriza-se por causar lesão pulmonar com mínima fibrose intersticial, acompanhada de extenso acúmulo intra-alveolar de macrófagos⁽⁶⁴⁾. No passado, acreditava-se que estes acúmulos celulares nos espaços alveolares eram células epiteliais descamadas oriundas das paredes alveolares⁽⁶⁵⁾. Esta entidade é considerada o espectro final da RB-ILD com patogênese similar e invariável associação ao tabagismo.

A DIP incide pacientes tabagistas entre a quarta e quinta décadas de vida, comumente atinge mais homens que mulheres na relação de 2:1. Os pacientes geralmente apresentam um quadro de evolução lenta, caracterizado por tosse e dispnéia, eventualmente conduzindo a dificuldade respiratória intensa, cianose e baqueteamento dos dedos⁽⁶⁶⁻⁶⁷⁾.

O lavado broncoalveolar invariavelmente contém um aumento de macrófagos alveolares com pigmento de coloração amarelada, acastanhado ou preto de partículas de fumo no seu interior⁽⁶⁸⁾. Aumentos de neutrófilos, eosinófilos e linfócitos também podem ser encontrados⁽⁶⁹⁾.

O prognóstico da DIP é geralmente bom. Às vezes o simples afastamento do fumo resolve o problema; em outros casos, o tratamento com corticosteróides pode ser necessário.

O padrão radiológico classicamente mostra um infiltrado bilateral dos lobos inferiores, com opacidades em vidro despolido de predominância periférica. Tomograficamente, estas opacidades são vistas nos campos inferiores na maioria dos casos (73%) (Figura 11A), na periferia em 59% ou com uma distribuição retalhada em 23%. A distribuição é difusa e uniforme em 18% dos casos. Após o tratamento, a resolução radiológica muitas vezes não é completa, permanecendo um infiltrado reticular difuso⁽³⁵⁾.

Os achados histológicos marcantes são o acúmulo de grande número de macrófagos contendo lipídios e grânulos positivos ao ácido periódico de Schiff (PAS) nos espaços aéreos (Figura 11B). Alguns macrófagos contêm corpos lamelares (surfactantes) dentro de vacúolos fagocíticos, presumivelmente derivados de pneumócitos tipo II necróticos por eles fagocitados. Observa-se, em geral, pneumonia intersticial e hiperplasia das células epiteliais do revestimento septal, além de descamação dessas células para o interior dos espaços aéreos⁽⁷⁰⁾.

O espessamento alveolar septal é caracterizado por um infiltrado inflamatório que inclui células plasmáticas e, ocasionalmente, eosinófilos. Agregados linfóides intersticiais também podem estar presentes.

A causa da DIP é desconhecida. Os pacientes, em alguns casos desenvolvem, subseqüentemente, fibrose intersticial significativa, pelo que muitos autores consideram esta entidade como um estágio inicial da UIP. Mesmo assim, a presença do componente descamativo proeminente tem implicações práticas, pois os pacientes apresentam uma boa resposta ao tratamento com corticosteróides, não encontrada nos pacientes com UIP.

2.3.7. PNEUMONI INTERSTICIAL LINFÓIDE

O termo pneumonia intersticial linfóide (*lymphoid interstitial pneumonia*, LIP) foi introduzido por Liebow e Carrington em 1969 ⁽¹⁷⁾ para descrever a entidade que histologicamente se caracteriza por infiltrado intersticial difuso de linfócitos e para distingui-la dos outros padrões de pneumonias intersticiais descritos até então, como IPF, AIP, DIP e pneumonia intersticial de células gigantes (*gigant cell pneumonia*, GIP) ⁽¹⁷⁾.

Muitos casos classificados anteriormente como pneumonia intersticial linfóide são hoje considerados linfomas associados à mucosa brônquica (linfoma do tipo MALT) ⁽⁷¹⁾.

As pneumonias intersticiais linfóides verdadeiras se dividem em dois grandes grupos de lesões histológicas: um primeiro grupo caracterizado por um infiltrado intersticial policlonal de células linfóides e um segundo caracterizado por hiperplasia linfóide ao longo da drenagem linfática dos pulmões. Os dois grupos de lesões podem se sobrepor ⁽¹⁴⁾.

Os casos de LIP podem estar clinicamente agrupados dentro de três subgrupos: aqueles associados com doenças colagênicas; os associados com imunodeficiências e os casos idiopáticos. As doenças autoimunes (colagenoses) e as síndromes de imunodeficiência são as principais causas de LIP. Pneumonias causadas pelo *Pneumocystis carinii* e a alveolite alérgica extrínseca também podem ser causas de LIP quando acompanhadas de um intenso infiltrado linfocitário intersticial ⁽⁷²⁾.

As doenças autoimunes freqüentemente associadas à LIP são a

artrite reumatóide, síndrome de Sjogren, tireoidite de Hashimoto, lúpus eritematoso sistêmico, anemia hemolítica autoimune, cirrose biliar primária e miastenia gravis. Infecções virais, tais como HIV e infecção pelo vírus de Epstein-Bar, também podem causar LIP, muitas vezes existindo sinergismo entre estes dois vírus ⁽⁷²⁾. Em crianças, HIV associado à hepatite crônica ativa também pode precipitar uma LIP ⁽⁷³⁾.

A detecção do comprometimento pulmonar nestes processos muitas vezes pode ser incidental ou como consequência do rápido desenvolvimento de dispnéia e tosse não produtiva ⁽⁷³⁾.

As características radiológicas são diversas, predominando o padrão de opacidade em vidro despolido, cistos perivasculares ou “faveolamento” (Figura 11C). Anormalidades reticulares são vistas em cerca de 50% dos pacientes. Nódulos pulmonares também podem estar presentes ⁽³⁵⁾.

Histologicamente a LIP é definida como um infiltrado linfóide intersticial constituído por linfócitos, células plasmáticas e histiócitos, associados à hiperplasia de pneumócitos tipo II e moderado aumento de macrófagos alveolares (Figura 11D). Septos alveolares podem exibir folículos linfóides com centros germinativos ativos de distribuição perilinfática, desarranjo arquitetural e granulomas não necrotizantes ^(14,73). Estes achados são chamados de componentes maiores do quadro histológico. Macrófagos alveolares e organização intra-alveolar de tecido de granulação algumas vezes podem estar presentes como um dos componentes menores deste padrão ^(14,73).

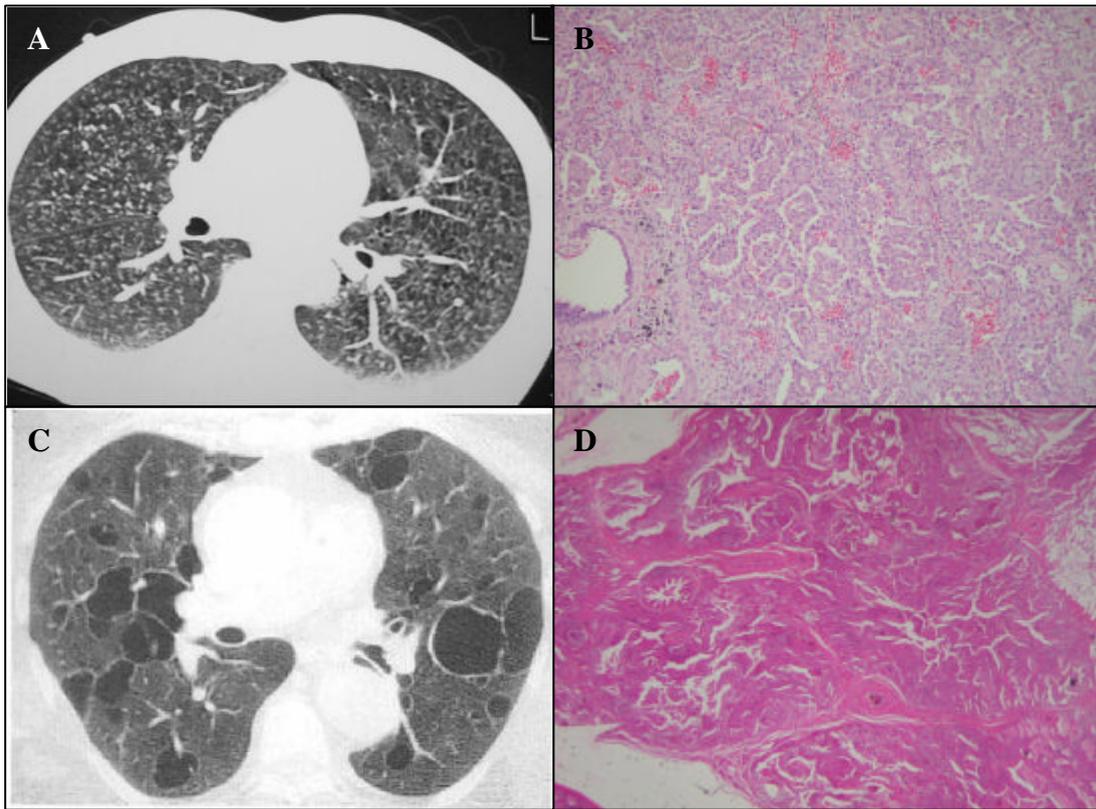


Figura 11. Mostrando os padrões tomográficos e histológicos da pneumonia intersticial descamativa (DIP) e da pneumonia intersticial linfóide (LIP).

(A) Tomografia computadorizada de alta resolução mostrando o comprometimento uniforme do parênquima pulmonar, caracterizado por um infiltrado do tipo vidro despolido no padrão da DIP; (B) padrão histológico da DIP, no qual se pode observar a presença de espaços alveolares preenchidos por macrófagos pigmentados sem desarranjo da arquitetura pulmonar; (C) tomografia computadorizada de alta resolução mostrando a formação de cistos e o espessamento intersticial difuso característico da LIP; (D) padrão histológico da LIP com intenso espessamento intersticial às custas de linfócitos e plasmócitos. HE – (B) 40X; (D) 10X.

2.4. PARADIGMAS DAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIPÁTICAS

Recentes observações conduziram a novos conceitos sobre a patogênese da fibrose pulmonar progressiva. Estas observações foram baseadas em estudos de paciente com IPF, assim como em modelos experimentais de fibrose pulmonar.

2.4.1. INFLAMAÇÃO

A hipótese que dominou as décadas de 1970 e 1980 e que se difundiu na literatura foi a da inflamação como causa da fibrose pulmonar, baseada principalmente nas observações de lavado bronco-alveolar dos pacientes com IPF, que caracteristicamente apresenta aumento do número de células inflamatórias, principalmente neutrófilos e linfócitos ⁽⁷⁴⁻⁷⁵⁾. A resposta inflamatória seria motivada por um insulto exógeno, que culminaria numa fibrose progressiva.

Atribuindo à resposta inflamatória a origem da fibrose pulmonar, a opinião era de que esta fibrose poderia ser limitada ou impedida de se instalar ao se conter o processo inflamatório. Infelizmente, parece agora que os achados do lavado bronco-alveolar destes pacientes são provavelmente melhor explicados por anormalidades estruturais na arquitetura do pulmão (bronquiectasia de tração) que alteram o tráfego das células inflamatórias ⁽⁷⁶⁾. Isto quer dizer que a inflamação da via aérea é o resultado e não a causa da fibrose.

Em contraposição, estudos recentes em modelos animais mostraram que as células linfocitárias podem, sim, representar um papel importante na iniciação e na evolução da fibrose pulmonar. Estes estudos sugerem que as diferentes subpopulações de linfócitos T CD-4+ ou CD-8+ ou ambas podem contribuir na ativação de citocinas fibrogênicas ⁽⁷⁶⁾.

Os linfócitos CD-3+ são células T que expressam o marcador de superfície CD-3, um componente do complexo receptor da célula T (TCR) utilizado no reconhecimento de antígenos. O receptor CD-3 dos linfócitos T participa do mecanismo de ativação intrínseca do linfócito. As duas maiores subpopulações de células T CD-3+ apresentam os marcadores de superfície CD-4 ou CD-8 (respectivamente células T CD-4+ ou CD-8+) os quais se agrupam com o CD-3 no TCR e servem como co-receptores para antígenos peptídeos apresentados por moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de células apresentadoras de antígenos (APCs) ⁽⁷⁹⁾.

Diferentes padrões de produção de citocinas pelas células inflamatórias estão associados a diferentes padrões de resposta inflamatória. Neste sentido, são descritos dois tipos de resposta: resposta T *helper* 1 (Th1) e T *helper* 2 (Th2) ⁽⁷⁷⁾. Os linfócitos T helper (CD-4+) virgens possuem a capacidade de se diferenciar em Th1 ou Th2, e essa diferenciação é determinada, principalmente, por interleucinas do meio em que se encontram. A resposta Th1 induz a produção de interleucina 2 (IL-2), interferon gama (INF- δ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Células Th2 induzem a produção de interleucinas 4, 5, 6 e 10 (IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10) ⁽⁷⁷⁾.

O balanço entre a resposta Th1 e Th2 é influenciado por diversos fatores, como o perfil de citocinas do meio, dose antigênica, tipo de antígeno, atividade de hormônios presentes no meio (o cortisol direciona para resposta Th2, a dehidroepiandrosterona direciona para uma resposta Th1). Sabe-se que a resposta linfocitária do tipo Th1 promove a citotoxicidade em decorrência da produção de IL-2, o IFN- δ e o TNF- α , enquanto a resposta Th2 gera aumento de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, que são importantes na indução da produção de anticorpos. Células Th1 e Th2 desempenham papéis relevantes em várias condições fisiológicas ou patológicas ⁽⁷⁸⁾. No caso da fibrose pulmonar, o papel dos linfócitos Th1 e 2 na produção da resposta inflamatória e fibrose ainda não está bem esclarecido.

Embora o papel da inflamação como uma das causas da fibrose pulmonar idiopática permaneça controverso, é difícil ignorar até agora a falta da eficácia dos corticosteróides.

2.4.2. APOPTOSE DAS CÉLULAS EPITELIAIS

Um outro conceito que surgiu e tomou grande força nos últimos anos é o conceito da lesão alveolar e apoptose do pneumócito do tipo II como fatores precoces e importantes na patogênese da fibrose pulmonar. Estudos ultra-estruturais têm demonstrado a presença de lesão alveolar e apoptose do pneumócito tipo II em biópsias pulmonares de pacientes com IPF ⁽⁸⁰⁾.

Estudos de Maeyama e colaboradores demonstraram a expressão aumentada de proteínas pró-apoptóticas nas células epiteliais alveolares dos

pacientes com IPF⁽⁸¹⁾. Por outro lado, experiências de injúria e fibrose pulmonar usando o modelo da bleomicina em camundongos sugeriram que a inibição da apoptose da célula epitelial pode diminuir o processo de fibrose. Esta inibição pode ser lograda por uma variedade de caminhos, tais quais a inibição do Fas-Fas-ligande, inibição da produção da angiotensina e bloqueio da ativação da cascata das caspases⁽⁸²⁻⁸³⁾.

O estudo de Wang e colaboradores observaram que fibroblastos na IPF produzem os peptídeos da angiotensina que promovem apoptose das células epiteliais⁽⁸⁴⁾. Mais recentemente, o fator beta de transformação do crescimento foi indicado como outro promotor da apoptose das células epiteliais na fibrose pulmonar⁽⁸⁵⁾.

Um mecanismo adicional proposto para explicar a apoptose da célula epitelial é a produção aumentada de oxidantes⁽⁸⁶⁾. Diversos estudos mostraram aumento excessivo na produção de oxidantes na IPF, assim como deficiências na produção de glutathione⁽⁸⁷⁻⁸⁸⁾, tripeptídeo resultante da combinação dos aminoácidos cisteína, ácido glutâmico e glicina. Glutathione é um potente antioxidante, ou seja, um desativador de radicais livres, como o peróxido de hidrogênio, um oxidante importante presente nos processos de inflamação crônica na superfície das células epiteliais das vias aéreas inferiores⁽⁸⁷⁾. O glutathione esta presente no epitélio do trato respiratório inferior normal e aparentemente tem um importante papel no fornecimento de proteção antioxidante a estas células⁽⁸⁹⁾.

Além dos reguladores potenciais da apoptose da célula epitelial listados acima, o TNF- α foi também apontado como um promotor deste

processo⁽⁸⁹⁾. Experiências em ratos do tipo *knockout* para receptor de TNF- α mostraram que o mesmo são resistentes à fibrose induzida por bleomicina, e o aumento da expressão do receptor de TNF- α nos modelos animais esteve associado com fibrose pulmonar⁽⁹⁰⁾. A expressão do receptor de TNF- α está aumentada nos pneumócitos do tipo II nos pacientes com IPF⁽⁹¹⁾. Estes dados sugerem que o TNF- α possui importante papel na patogênese da fibrose pulmonar e na patogênese da IPF.

Vários pesquisadores concordam que um elemento essencial e inicializador da fibrose pulmonar progressiva na IPF é a perda da integridade da membrana basal sub epitelial^(80,91). A perda da barreira protetora epitelial alveolar poderia conduzir à exposição da membrana basal subjacente e à injúria oxidativa, resultando na degradação da membrana basal. A perda da integridade da membrana basal poderia ser um sinal importante para a regeneração da célula epitelial, que levaria a uma hiperplasia do pneumócito tipo II. característica histológica da UIP⁽⁸⁰⁾.

A lesão contínua da célula epitelial simultânea ao estímulo à regeneração tecidual, resultando em incapacidade de regeneração completa, poderia ser um sinal para o recrutamento de células mesenquimais. Para tal recrutamento de células mesenquimais acontecer, uma variedade de fatores de crescimento teriam que ser acumulados após o ferimento da célula epitelial e da sua proliferação. Estes fatores incluiriam o fator do crescimento de queratinócitos, fator alfa de transformação de crescimento, fator beta de transformação do crescimento, fator-1 de crescimento *insulin-like*, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de

crescimento de fibroblastos e fator de crescimento de hepatócitos⁽⁹²⁻⁹⁷⁾. Muitos destes fatores do crescimento ativam a quinase da tirosina, a qual é capaz de sinalizar os caminhos que promovem a proliferação de fibroblastos e a produção de matriz extracelular. Conseqüentemente, a contínua lesão e estímulo da regeneração da célula epitelial poderiam levar a um maior recrutamento de fibroblastos e de miofibroblastos.

2.4.3. ANGIOGÊNESE

Paralelamente ao avanço do conhecimento do papel da angiogênese no crescimento de lesões neoplásicas e das terapêuticas que almejam combater a angiogênese nos tumores, sugeriu-se a participação da angiogênese também na determinação do remodelamento vascular, que participaria da patogênese da fibrose pulmonar, principalmente da IPF.

Este aspecto tão importante da atividade angiogênica visto na promoção do crescimento tumoral, também foi fortemente apontado por Keane e colaboradores como partícipe da fibrose pulmonar progressiva, tanto em modelos experimentais como em pacientes⁽⁹⁸⁾. Keane e colaboradores encontraram aumento da atividade angiogênica no tecido pulmonar destes casos⁽⁹⁸⁾. Estes achados foram corroborados por outros autores⁽⁹⁹⁻¹⁰⁰⁾.

O aumento da atividade angiogênica foi atribuído a um desequilíbrio de quimiocinas pró-angiogênicas e angiogênicas [interleucina-8 (IL-8)] e quimiocinas anti-angiogênicas [IFN proteína gama inducível (IP-

10)]⁽⁹⁸⁾. O IP-10 é induzido pelo interferon gama (IFN- δ). Diversos estudos, tanto em animais como em seres humanos, sugeriram que o IFN- δ inibe a fibrose pulmonar progressiva⁽¹⁰¹⁻¹⁰²⁾. Entretanto, outras moléculas que inibem a apoptose da célula endotelial, tal qual o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), podem também contribuir para o aumento da angiogênese.

Contrariamente ao conceito do aumento da angiogênese na fibrose pulmonar, relatos recentes indicam que há uma diminuição da expressão de VEGF e dos índices proliferativos das células endoteliais na IPF, como os trabalhos de Gracey e Coalson⁽¹⁰³⁻¹⁰⁴⁾. Neste sentido, sugeriu-se que há uma diminuição da expressão das proteínas pró-angiogênicas e angiogênicas nos focos fibroblásticos da UIP, comparados ao tecido de granulação da OP⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁷⁾. Pode ser que exista angiogênese aumentada nos estágios mais precoces do desenvolvimento da UIP e uma perda de vasos nos estágios mais avançados⁽¹⁰⁸⁾. Apesar desta possibilidade, os dados que dizem respeito à angiogênese nas IIPs até o momento mostram-se contraditórios.

2.4.4. MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR

As moléculas de adesão celulares (*cell adhesion molecules*, CAMs) são proteínas altamente especializadas encontradas na superfície celular^(108,109) que permitem a interação entre as células⁽¹⁰⁹⁾. Estão divididas em famílias. Dentre elas, a família das selectinas, das glicoproteínas

semelhantes à mucina, das integrinas e das imunoglobulinas são as mais importantes na migração leucocitária ⁽¹⁰⁸⁾. Os integrantes da família das caderinas são importantes no reconhecimento e junção de células vizinhas, mantendo-as unidas. São importantes na manutenção da arquitetura tecidual (Wheellock MJ, Johnson KR. Cadherins as modulators of cellular phenotype. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2003;19:207-35).

As selectinas são moléculas transmembrana ^(108, 110) cujo nome deriva do fato de possuírem um domínio de lectina amino-terminal extracelular, o qual tem como ligante formas sialiladas de oligossacarídeos covalentemente ligados em diferentes proteínas, as chamadas glicoproteínas semelhantes à mucina, ⁽¹⁰⁸⁾. Assim, seus ligantes sempre possuem porções de carboidrato ⁽¹⁰⁹⁾.

Existem três integrantes na família das selectinas: a L-selectina (CD-62L), presente em leucócitos, a P-selectina (CD-62P), presente em plaquetas, e a E-selectina (CD-62E), presente em células endoteliais. A L-selectina, expressa constitutivamente na maioria dos leucócitos, liga-se a contra-receptores nas células endoteliais e em plaquetas ⁽¹¹⁰⁾, permitindo a adesão de linfócitos a vênulas de endotélio alto e a linfonodos periféricos ⁽¹¹¹⁾. A P-selectina, encontrada na superfície de células endoteliais ativadas por citocinas e nas plaquetas ⁽¹¹¹⁾, está presente constitutivamente na membrana de grânulos no interior dessas unidades e são rapidamente dirigidas à superfície na vigência de estímulos apropriados, como trombina e histamina ⁽¹¹²⁾. A E-selectina é uma proteína exclusiva das células

endoteliais ativadas e parece ter indutores diferentes daqueles da P-selectina ⁽¹¹²⁾.

As selectinas E e P têm como alvo a ligação a monócitos e neutrófilos. A regulação das selectinas pode ocorrer pela exportação para a superfície celular de receptores pré-formados (P-selectina) e pela perda de receptores da superfície celular após ativação ⁽¹¹¹⁾.

As glicoproteínas semelhantes à mucina são os ligantes das selectinas ⁽¹⁰⁸⁾. Podem conter, nas áreas de ligação, sialil Lewis X (tetrassacarídeo fucosilado) ou Lewis X (trissacarídeo), por exemplo ⁽¹¹⁴⁾. São membros desta família a molécula de adesão celular dependente da glicosilação (*Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1*, GlyCAM-1), glicoproteína ligante de P-selectina 1 (*P-selectin glycoprotein ligand-1*, PSGL-1 ou CD-162), CD-34 entre outros ⁽¹⁰⁸⁾. O CD-34 é expresso nas células endoteliais de pequenos vasos.

As integrinas são glicoproteínas transmembrana heterodiméricas, constituídas de cadeia alfa e beta ⁽¹¹⁰⁾. Existem pelo menos 14 diferentes subunidades alfa, oito subunidades beta e 20 dímeros conhecidos ⁽¹¹⁰⁾, formados pela união não-covalente das moléculas transmembrana alfa e beta ⁽¹⁰⁹⁾. Elas se ligam a proteínas específicas da matriz extracelular ou, quando em leucócitos, a ligantes da família das imunoglobulinas de outros tipos celulares ⁽¹¹⁰⁾. Neste grupo há três sub-famílias principais, de acordo com a subunidade beta: beta1, beta2 e beta3 ⁽¹⁰⁸⁾. As beta1-integrinas permitem a ligação da célula à matriz extracelular ⁽¹⁰⁸⁻¹⁰⁹⁾; as beta2-integrinas (CD-18) podem estar associadas a três subunidades alfa (CD-11a, CD-11b e

CD-11c)⁽¹¹⁴⁾, são exclusivas de células originadas na medula óssea⁽¹¹⁴⁾ e estão envolvidas na adesão dos leucócitos ao endotélio ou a outras células imunes⁽¹⁰⁸⁾; as beta3-integrinas participam da adesão de plaquetas e neutrófilos nos sítios inflamatórios e nos locais de lesão vascular⁽¹⁰⁸⁾.

A molécula de adesão intercelular 1 (*intercellular adhesion molecule-1*, ICAM-1 ou CD-54), molécula de adesão intercelular 2 (*intercellular adhesion molecule-2*, ICAM-2 ou CD-102), molécula de adesão celular vascular 1 (*vascular cell adhesion molecule-1*, VCAM-1 ou CD-106), molécula de adesão celular adressina de mucosas (*mucosal addressin cell adhesion molecule-1*, MAdCAM-1) e a molécula de adesão de células endoteliais e plaquetas 1 (*platelet-endothelial cell adhesion molecule-1*, PECAM-1 ou CD-31) são as cinco CAMs da família das imunoglobulinas. São expressas nas células endoteliais para a adesão firme dos leucócitos⁽¹⁰⁴⁾. A expressão de ICAM-1 pode ser induzida em várias células parenquimatosas⁽¹¹⁰⁾. ICAM-1 participa das junções inter-epiteliais tais como junções aderentes, *tight junctions*, desmossomos e *gap-junctions*⁽¹¹⁰⁾ e é co-estimulante das funções citotóxicas dos linfócitos T⁽¹¹⁰⁾.

As caderinas são glicoproteínas que tipicamente mediam junções homeotípicas (ligações entre moléculas iguais) dependentes de cálcio. São compostas por domínios extracelulares, uma região transmembrana e uma cauda citoplasmática, a qual interage com filamentos de actina do citoesqueleto via cateninas. Esta conexão com o citoesqueleto permite mobilizar maior ou menor número de moléculas de caderina em uma dada região da membrana celular, regulando a força da adesão intercelular.

Membros da família das caderinas compõem junções aderentes, desmossomos, junções entre miócitos cardíacos, entre células endoteliais e junções sinápticas. Além das ligações homeotípicas, importantes na morfogênese e na manutenção da arquitetura tecidual, as caderinas também participam de adesões heterotípicas entre leucócitos e células mesenquimais e epiteliais ⁽¹⁰⁴⁾.

A expressão de CAMs é um dos mecanismos através dos quais as células interagem com o microambiente, mediante três tipos de interações: entre células e a matriz extracelular, entre células de um mesmo tipo e entre leucócitos e outros tipos celulares ⁽¹⁰⁸⁾.

A interação das células com a matriz extracelular, mediada por CAMs, dá mobilidade às células e permite mudanças conformacionais, influenciando na diferenciação celular, tanto através das mudanças conformacionais como pela transdução de sinais da superfície para o núcleo celular ⁽¹⁰⁹⁾.

A interação entre as células do mesmo tipo intervém na função de barreira epitelial e na sinalização entre as células ⁽¹⁰⁹⁾. Com freqüência, envolve ligações homeotípicas, entre uma mesma CAM expressa em células vizinhas. As CAMs de uma célula se ligam às de células adjacentes, mantendo-as unidas ⁽¹⁰⁹⁾, como é visto no epitélio alveolar da barreira alvéolo-capilar.

Por fim, a interação entre leucócitos e outros tipos celulares permite o recrutamento, ativação e função efetora dos leucócitos. Envolve ligações heterotípicas, entre CAMs de uma célula e ligantes distintos de outra célula.

Este tipo de interação ocorre entre leucócitos e células endoteliais e epiteliais e entre linfócitos T e células apresentadoras de antígeno⁽¹⁰⁹⁾.

Recentes estudos chamaram a atenção para a possibilidade destas moléculas estarem envolvidas na patogênese da fibrose pulmonar, talvez recrutando células imunes e inflamatórias durante o processo de fibrose, de reparo aberrante ou durante a injúria inicial⁽¹⁰⁹⁾.

Na tentativa de avaliar a atividade inflamatória nas doenças intersticiais pulmonares, trabalhos foram realizados para estudar as CAMs solúveis no lavado bronco-alveolar. A análise do lavado bronco-alveolar de pacientes com doenças intersticiais pulmonares (sarciodose, IPF e CVD) demonstrou a presença de E-selectina solúvel, relacionada ao excesso de linfócitos. Também se observou positividade para VCAM-1 solúvel em alguns poucos casos, assim como positividade para ICAM-1 solúvel⁽¹⁰⁵⁾.

Outro estudo relatou aumento significativo da concentração de ICAM-1 solúvel no lavado broncoalveolar de pacientes com sarcoidose, mas não verificou variação em relação aos controles saudáveis nos lavados de pacientes com IPF⁽¹⁰⁶⁾. Em contraste, os níveis de ICAM-1 solúvel circulante estavam elevados nos pacientes com IPF, comparados aos controles e aos pacientes com sarcoidose⁽⁸⁾.

Há outros processos relacionados à gênese da fibrose pulmonar nos quais as CAMs devem estar envolvidas. A falha na regeneração das células epiteliais alveolares para restaurar a superfície lesada talvez seja a responsável pela deposição patológica de componentes da matriz extracelular por fibroblastos. Tal falha de regeneração poderia ocorrer devido

à expressão inapropriada de integrinas nas células epiteliais alveolares, resultando em uma inadequada interação destas com os componentes da matriz extracelular, alterações da mobilidade e da capacidade de espraiamento de tais células ⁽¹⁰⁸⁾.

A expressão de caderina epitelial (E-caderina), que participa das *tight-junctions*, as quais unem as células epiteliais alveolares entre si, está alterada na IPF, o que talvez possa resultar em disfunção da barreira epitelial, ⁽¹⁰⁸⁾ com conseqüente lesão da membrana basal e estímulo pró-fibrogênico.

Na IPF, a função, proliferação e migração de fibroblastos específicos, ações dependentes da interação de suas integrinas com componentes da matriz extracelular, estão alteradas, talvez em decorrência da expressão anômala de integrinas nos mesmos ⁽¹⁰⁸⁾.

O papel das células inflamatórias, em particular dos neutrófilos, na indução da fibrose pulmonar ainda não foi elucidado. Eles talvez sejam responsáveis pela secreção de proteases que causariam a lesão inicial desencadeante do processo de fibrose, mas também é possível que favoreçam a diminuição da fibrogênese pela promoção da colagenólise e/ou pela diminuição da síntese de colágeno ⁽¹¹⁶⁾.

Neutrófilos raramente são encontrados no interstício e no espaço aéreo de biópsias pulmonares de pacientes com UIP, a não ser nas áreas de extenso remodelamento e faveolamento pulmonar. A expressão de E-selectina restrita às áreas de remodelamento extenso e faveolamento, segundo alguns autores, poderia explicar esta distribuição característica de

neutrófilos na UIP ⁽¹¹⁷⁾. Porém, o papel da E-selectina na migração de neutrófilos no pulmão não é compartilhado por outros autores ⁽¹¹³⁾, que associam a presença de E-selectina solúvel no lavado bronco-alveolar ao aumento percentual não neutrófilos, mas de linfócitos no lavado de pacientes com DILDs ⁽¹¹³⁾.

A pesquisa da expressão de VCAM-1 resultou negativa tanto em biópsias de pacientes com UIP como em controles. A ICAM-1 é encontrada nos pequenos vasos e nas células epiteliais alveolares de pulmões controles, assim como em áreas de pulmão normal, de pneumonite e de faveolamento em biópsias de pacientes com IPF, nas quais há imunexpressão em capilares, macrófagos alveolares e pneumócitos tipo II em regeneração. Sugeriu-se que a ICAM-1 pode participar da migração para o interstício de linfócitos, o leucócito predominante nas áreas de pneumonite, e contribuir para a migração de neutrófilos ⁽¹¹⁵⁾.

Curiosamente, os linfócitos T CD-4+ do lavado bronco-alveolar de pacientes com IPF, sarcoidose e pneumonite de hipersensibilidade apresentam acima de 70% de positividade para alfa-beta7-integrina, contra 11,2% de positividade nos controles ⁽¹¹⁵⁾. Esta integrina se associa com a ativação de linfócitos T e adesão destes às superfícies epiteliais, como ao epitélio brônquico e à parede alveolar no pulmão ⁽¹¹⁷⁾.

Na IPF e na sarcoidose, a liberação espontânea de ânion superóxido por macrófagos alveolares está aumentada, o que provavelmente se deva, em parte, à interação de CD-11/CD-18 (cadeias das integridas) macrofágicos com ICAM-1 alveolar ⁽¹¹⁸⁾ e ao aumento do número de

macrófagos que expressam CD-11a, CD-11b, CD-11c e CD-18, ou seja, que expressam integrinas⁽¹⁰⁸⁾.

Os macrófagos alveolares de pacientes com IPF apresentam padrão morfológico (menor tamanho, pequeno número de grânulos e ausência de vacúolos proeminentes quando comparados aos macrófagos alveolares de controles)⁽¹¹⁹⁾ e perfil de expressão de CD-11a, CD-11b e CD-11c semelhantes aos dos monócitos circulantes, nos quais há maior densidade de CD-11b e CD-11c⁽¹¹⁹⁻²⁰⁰⁾. Estes achados sugerem que ocorre migração de macrófagos imaturos para o espaço alveolar e a não passagem pelo processo de maturação, na qual há redução da expressão de CD-11a e aumento de CD-11c, podendo justificar a função anômala dos macrófagos alveolares e o aumento da liberação espontânea de ânion superóxido na IPF^(113, 114).

Há aumento da expressão de carboidratos na superfície de macrófagos do lavado bronco-alveolar de pacientes com doença intersticial pulmonar, mais evidente nos casos de IPF. A expressão de carboidratos na superfície destes macrófagos é comparável à dos monócitos circulantes, o que também sugere a ocorrência de migração de monócitos imaturos para o espaço alveolar e/ou que este fenótipo seja devido a uma maior atividade pró-inflamatória⁽¹¹⁵⁾.

Todos estes dados, mesmo que alguns sejam controversos, nos permitem pensar na possibilidade de uma participação importante das CAMs na patogênese da IPF e de outras IIPs.

2.4.5. MATRIZ EXTRACELULAR E COLÁGENO V

A excessiva deposição descontrolada de proteínas da matriz extracelular causada pela proliferação e ativação dos fibroblastos chama a atenção, sendo um ponto crucial nos processos de fibrose pulmonar e principalmente no processo de fibrose observado na IPF⁽¹²⁰⁾.

Mudanças arquiteturais severas, resultantes do aumento da espessura das paredes alveolares com perda das unidades alvéolo-capilar, conduzem a insuficiência respiratória, característica destas pneumonias intersticiais⁽¹²¹⁾. O espessamento da parede alveolar tem sido alvo de muitos estudos nos últimos anos⁽¹²²⁾.

As características estruturais e funcionais dos colágenos fibrilares I e III do interstício pulmonar normal e seu acúmulo inapropriado no pulmão fibrótico têm sido arduamente estudados e foram descritos por vários autores previamente⁽¹²³⁻¹²⁶⁾.

Em contraste, as funções e as mudanças morfológicas estruturais fisiológicas de outros colágenos fibrilares pulmonares e suas anormalidades nos processos fibróticos ainda são pouco compreendidas. Em geral, o processo de fibrogênese secundário à lesão do tecido pulmonar é caracterizado por deposição de uma grande quantidade de colágeno na matriz extracelular, e pela desorganização morfológica das fibras do colágeno em tamanho e espessura diferentes⁽¹²⁷⁻¹²⁹⁾. O mecanismo patogênético para esta morfologia anormal ainda não está bem definido e pode ser a chave para o melhor entendimento da fibrose pulmonar. Entre

estes colágenos fibrilares, o colágeno V, nos últimos anos, tem sido implicado em vários processos de remodelamento e rejeição pulmonar (130,131,132).

O colágeno do tipo V foi descrito pela primeira vez por Burgeson e colaboradores em 1976 após sua extração do tecido placentário humano ⁽¹³⁰⁾. Este colágeno é encontrado em proporções menores que os outros colágenos no interstício pulmonar. É uma proteína da matriz extracelular com propriedades estruturais e biossintéticas impressionantes, diferentes daquelas do colágeno tipo I e III ⁽¹³¹⁾. O colágeno do tipo V tem função importante na formação de fibras heterotípicas, no controle da fibrogênese e na regulação do tamanho das fibras de colágeno ^(129,131).

O colágeno do tipo V é essencial não só para regular os diâmetros das fibras de colágeno como também para manter a integridade do tecido conectivo, exibindo funções diferentes, dependendo da distribuição e das isoformas moleculares ⁽¹³¹⁾. As moléculas deste colágeno contribuem para ligar os colágenos à membrana basal, sendo importantes para a adesão celular e para processos de reparo da matriz extracelular ⁽¹³¹⁾.

A associação entre colágenos do tipo I, III e V é importante para a preservação e a integridade do tecido conectivo dos vasos intersticiais ⁽¹³²⁾. Esta interação entre os diferentes tipos de colágeno e a formação conseqüente de fibras heterotípicas tridimensionalmente entrelaçadas pode influenciar fortemente a arquitetura e a função dos tecidos ⁽¹³³⁾.

Relatos recentes de remodelamento vascular e de fibrose intersticial em modelos experimentais de fibrose pulmonar induzida por imunização

com colágeno humano do tipo V apontam para a participação deste colágeno na patogênese da fibrose pulmonar⁽¹³⁴⁾. Curiosamente, este fenômeno fibrótico induzido pela imunização por colágeno V não ocorreu na administração simultânea de outros tipos de colágeno, como o I ou o III, freqüentemente aumentados nos processos de fibrose pulmonar⁽¹²⁹⁾.

É possível que o colágeno I e III, juntamente com o colágeno V, tenham um papel importante no processo fibrótico pulmonar, modulando as propriedades biomecânicas das fibrilas de colágeno e gerando desestruturação de sua formação espacial normal, contribuindo no processo de fibrose.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Os objetivos do presente estudo são:

3.1. OBJETIVOS GERAIS – Impacto dos determinantes anátomo-clínico-radiológicos no prognóstico e sobrevida dos pacientes com IPF, AIP e NSIP.

1. Caracterizar aspectos morfológicos e clínicos e provas de função pulmonar de pacientes com UIP/IPF, DAD/AIP e NSIP/NSIP e correlacioná-los a alterações vasculares.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS – Caracterização do remodelamento vascular na IPF, AIP e NSIP e sua correlação com o prognóstico e sobrevida destes pacientes.

1. Estudar o remodelamento vascular;
2. estudar a possível etiopatogenia do remodelamento vascular na UIP, DAD e NSIP através de marcadores vasculares, inflamatórios e de remodelamento da matriz extracelular;
3. verificar o impacto do remodelamento vascular na sobrevida e no prognóstico dos pacientes com IPF, AIP e NSIP.

4. MÉTODOS

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

O presente estudo (Protocolo de Pesquisa nº 226 02) teve aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), em sessão de 08 de maio de 2002, conforme documentação apresentada no Apêndice A.

4.1. CASUÍSTICA

Este estudo iniciou-se com uma abordagem retrospectiva das doenças intersticiais pulmonares através de uma pesquisa junto ao serviço de arquivo médico do Instituto Central e do Instituto do Coração do HC-FMUSP, de todos os pacientes com DILDs que fizeram acompanhamento ambulatorial ou que estiveram internados e realizaram biópsia pulmonar a céu aberto no período de janeiro de 1979 até dezembro de 2004.

Foi criado um banco de dados com as seguintes informações a respeito de cada paciente cirurgicamente biopsiado: nome, número de registro no HC-FMUSP, número da biópsia, idade do paciente na data da biópsia, sexo, clínica de origem, data da biópsia, diagnóstico sintromico e diagnóstico anatomopatológico dado à ocasião da biópsia.

Após revisão histológica das lâminas recuperadas, cruzada com a análise dos laudos dados à época da realização das biópsias, selecionaram-se 640 biópsias pulmonares a céu aberto que foram caracterizadas como DILDs ⁽¹³⁵⁾. A distribuição de freqüência dos diagnósticos revistos pode ser observada na Figura 12.

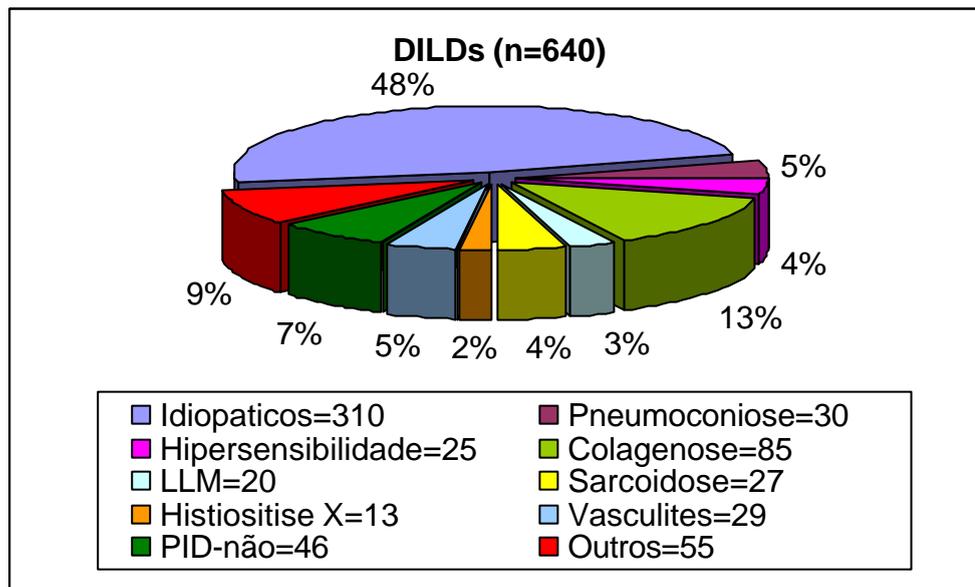


Figura 12. Gráfico da distribuição de freqüência dos diagnósticos das doenças intersticiais pulmonares difusas (DILDs) em biópsias pulmonares a céu aberto realizadas de janeiro de 1979 a dezembro de 2004 no HC-FMUSP.

DILD: *diffuse interstitial lung disease*; LLM: linfangioleiomiomatose; PID-não: pneumonias intersticiais difusas não classificáveis.

4.2. MÉTODOS

Trata-se de um estudo retrospectivo de corte transversal. Diante da cauística de 640 biópsias de DILDs, selecionou-se as 310 IIPs para prosseguir o estudo.

4.2.1. RECLASSIFICAÇÃO DO DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DAS IIPs

De posse das lâminas dos casos classificados como IIPs, procedeu-se sistematicamente a reclassificação histológica destas biópsias, de acordo com os padrões definidos pelo consenso da ATS/ERS ⁽¹⁴⁾. As biópsias cujos padrões histológicos não se enquadraram em nenhuma dos sete padrões do consenso foram chamadas de “inclassificáveis”. Esta reclassificação foi feita pelo pesquisador e dois patologistas experientes da área de patologia pulmonar, conhecedores dos critérios preconizados pelo consenso da ATS/ERS de 2001 ⁽¹⁴⁾ (Profa. Dra. Vera Luiza Capelozzi e Dr. Alexandre Ab’Saber). A reclassificação foi procedida de maneira cega, ou seja, nenhum dos três patologistas conhecia o diagnóstico do padrão histológico de IIP dado previamente.

As lâminas coradas por Hematoxilina-Eosina foram analisadas ao microscópio óptico. Todas as biópsias foram revistas pelos três patologistas separadamente. Em casos de discordância, realizava-se uma análise conjunta, na qual participavam os três revisores, até que se chegasse a um diagnóstico de consenso.

Os diagnósticos histológicos estabelecidos foram, muitas vezes, diferentes dos antigos, por conta das mudanças significativas sofridas pela nomenclatura das IIPs desde a primeira classificação proposta por Liebow e Carrington em 1969 ⁽¹⁷⁾. A reclassificação permitiu homogeneizar a nomenclatura dos padrões histológicos, mediante o uso dos novos critérios da ATS/ERS.

Com a reclassificação de todos os casos, traçou-se o perfil da distribuição de frequência dos padrões histológicos das biópsias previamente classificadas como IIPs ⁽¹³⁶⁾, visto na figura 13.

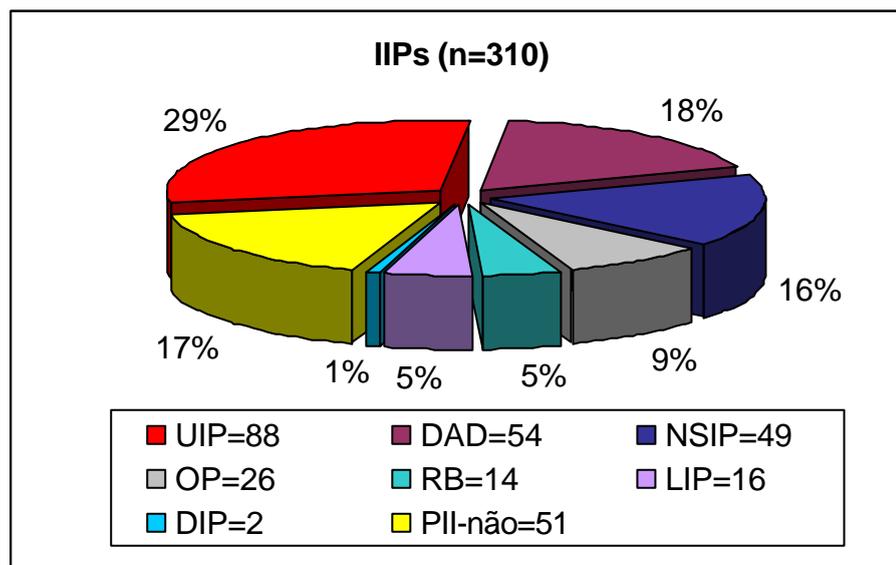


Figura 13. Gráfico da distribuição de frequência dos padrões histológicos das pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs) em biópsias pulmonares a céu aberto realizadas de janeiro de 1979 a dezembro de 2004 no HC-FMUSP.

IIPs: *idiopathic interstitial pneumonias*; PII-não: pneumonia intersticial idiopática não classificável.

4.2.2. LEVANTAMENTO DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS

Os dados dos prontuários foram revisados e avaliados mediante a pesquisa no arquivo médico do HC-FMUSP.

A revisão do prontuário de cada paciente utilizou uma adaptação do protocolo utilizado na avaliação de pacientes com doenças intersticiais pulmonares no Ambulatório de Doenças Intersticiais Pulmonares da Disciplina de Pneumologia do HC-FMUSP. Este protocolo adaptado consta de itens clínicos e exames complementares (identificação do paciente, dados ocupacionais, história da doença, medicamentos utilizados, interrogatório sobre os diversos aparelhos, antecedentes pessoais, exposições ambiental e ocupacional, antecedentes familiares, avaliação de exames radiológicos, exames laboratoriais, gasometrias e provas de função pulmonar). O protocolo adaptado pode ser observado no Apêndice B.

4.2.2.1. LEVANTAMENTO DAS PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR

Provas de função pulmonar, realizadas um ou dois meses antes da biópsia pulmonar a céu aberto, foram revistas para serem incluídas no estudo. Estas provas espirométricas haviam sido realizadas em um espirômetro computadorizado (Collins Plus Pulmonary Function Testing System; Warren E. Collins, Inc., Braintree, Mass.), em concordância com parâmetros estabelecidos pela ATS/ERS^(18,137). Capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório no primeiro segundo (VEF₁) e razão VEF₁/CVF multiplicada por 100 foram levantados dos prontuários.

A porcentagem do predito de volume residual (VR), capacidade pulmonar total (CPT), razão VR/CPT e fator de difusão do monóxido de carbono (DLCO), obtidos previamente pela técnica de diluição do hélio, também foram levantados dos prontuários.

As equações de Morris foram usadas para espirometria, de Goldman, para volumes pulmonares e de Crapo, para a difusão.

4.2.3. ANÁLISE DAS BIÓPSIAS PULMONARES

Após a reclassificação histológica e levantamento de dados de prontuário, foram selecionados um total de 109 casos de AIP/DAD (n=25), NSIP/NSIP (n=22) e IPF/UIP (n=62) para o estudo. Os critérios para seleção dos casos foram presença de morfologia compatível com os padrões histológicos estudados e ausência de dúvidas quanto ao diagnóstico clínico e anatomopatológico.

Selecionados os casos, procedeu-se a avaliação histológica das biópsias, inicialmente pela coloração de Hematoxilina-Eosina (HE), que compreendeu:

4.2.3.1. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE COMPROMETIMENTO PARENQUIMATOSO

Mediante análise semiquantitativa, as 109 biópsias foram subclassificadas em padrões histológicos relacionados ao grau e atividade do remodelamento parenquimatoso. Os casos de DAD foram

subclassificados em dois padrões histológicos: 1) presença de infiltrado inflamatório agudo com depósito de membranas hialinas caracterizou o padrão exudativo do DAD (Figura 14A e B); 2) extensas áreas de tecido de granulação com espessamento do interstício pulmonar e formação de neoseptos caracterizaram o padrão do DAD proliferativo (Figura 14C e D).

A pneumonia intersticial não específica foi subclassificada em dois grandes grupos: 1) espessamento do interstício pulmonar por extenso infiltrado inflamatório crônico, constituído por linfócitos e alguns plasmócitos, com mínima fibrose intersticial caracterizou o padrão de NSIP celular (Figura 15A e B); 2) espessamento septal, caracterizado por fibrose extensa do interstício pulmonar, com mínima quantidade de infiltrado inflamatório crônico caracterizou o padrão de NSIP fibrosante (Figura 15C e D).

As áreas histológicas alternantes de remodelamento na UIP foram subclassificadas nos seguintes padrões histológicos: 1) áreas de colapso alveolar com relativa preservação do parênquima pulmonar, discreto espessamento do interstício septal por fibrose e raros focos de fibroblastos caracterizaram o padrão de UIP-fibrose mínima (atividade fibrótica mínima) (Figura 16A); 2) áreas de colapso alveolar extenso, moderada fibrose mural organizante com moderada quantidade de focos de fibroblastos caracterizaram o padrão de UIP-fibrose moderada (atividade fibrótica moderada) (Figura 16B); e 3) extensas áreas de fibrose mural com zonas de faveolamento parenquimatoso e presença de ativa proliferação de focos de fibroblastos e miofibroblastos caracterizaram o padrão histológico de UIP-fibrose severa (atividade fibrótica severa) (Figura 16C).

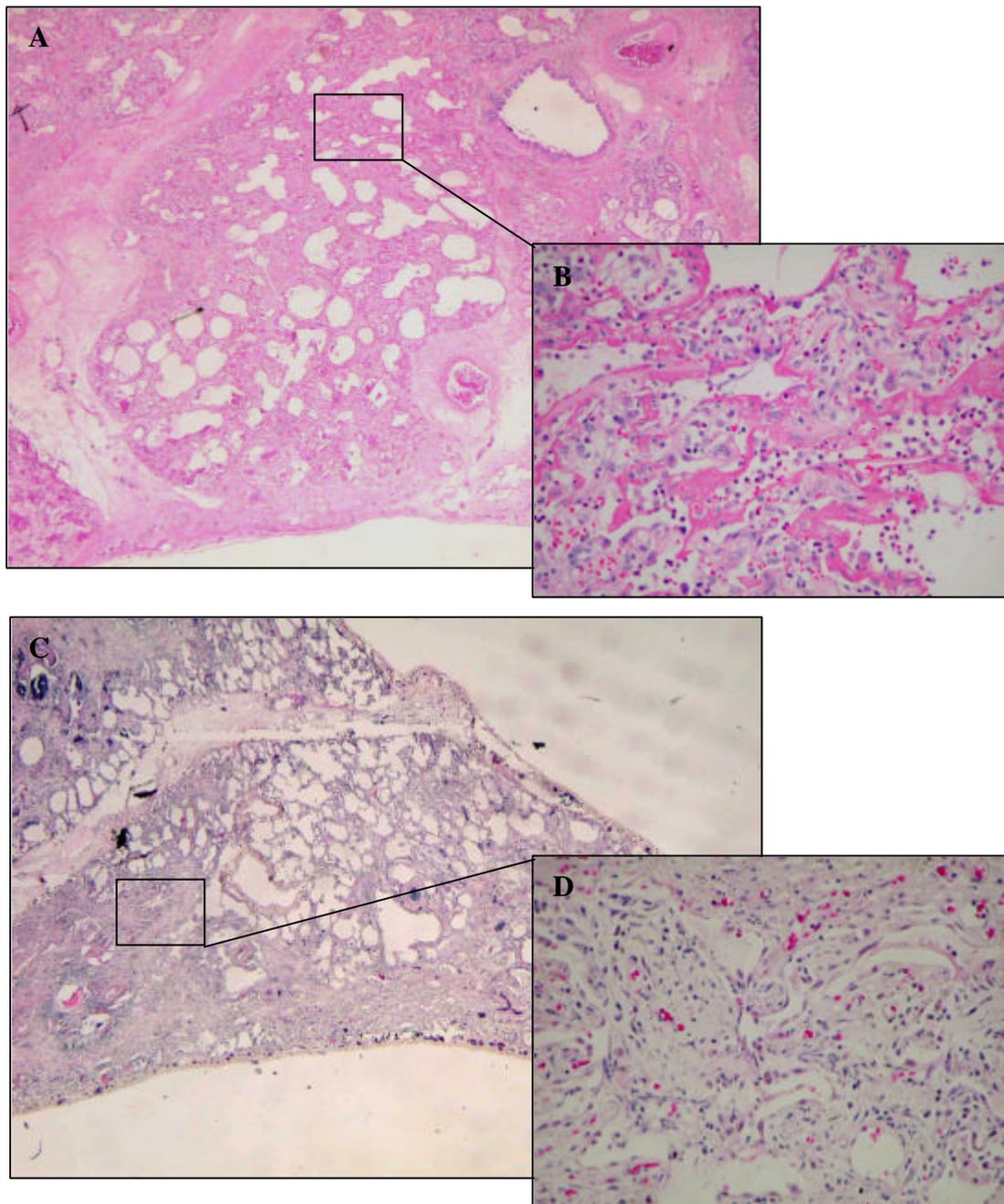


Figura 14. Padrões histológicos do dano alveolar difuso (DAD)

(A) Vista panorâmica do DAD mostrando acometimento pulmonar difuso e extensas áreas de membranas hialinas (B) Detalhe mostrando a presença de infiltrado inflamatório agudo com depósito de membranas hialinas (DAD exudativo); (C) vista panorâmica mostrando acometimento difuso com extensas áreas de tecido de granulação; (D) áreas de tecido de granulação, espessamento intersticial e formação de neoseptos (DAD proliferativo). HE – (A e D) 10X, (B e C) 200X.

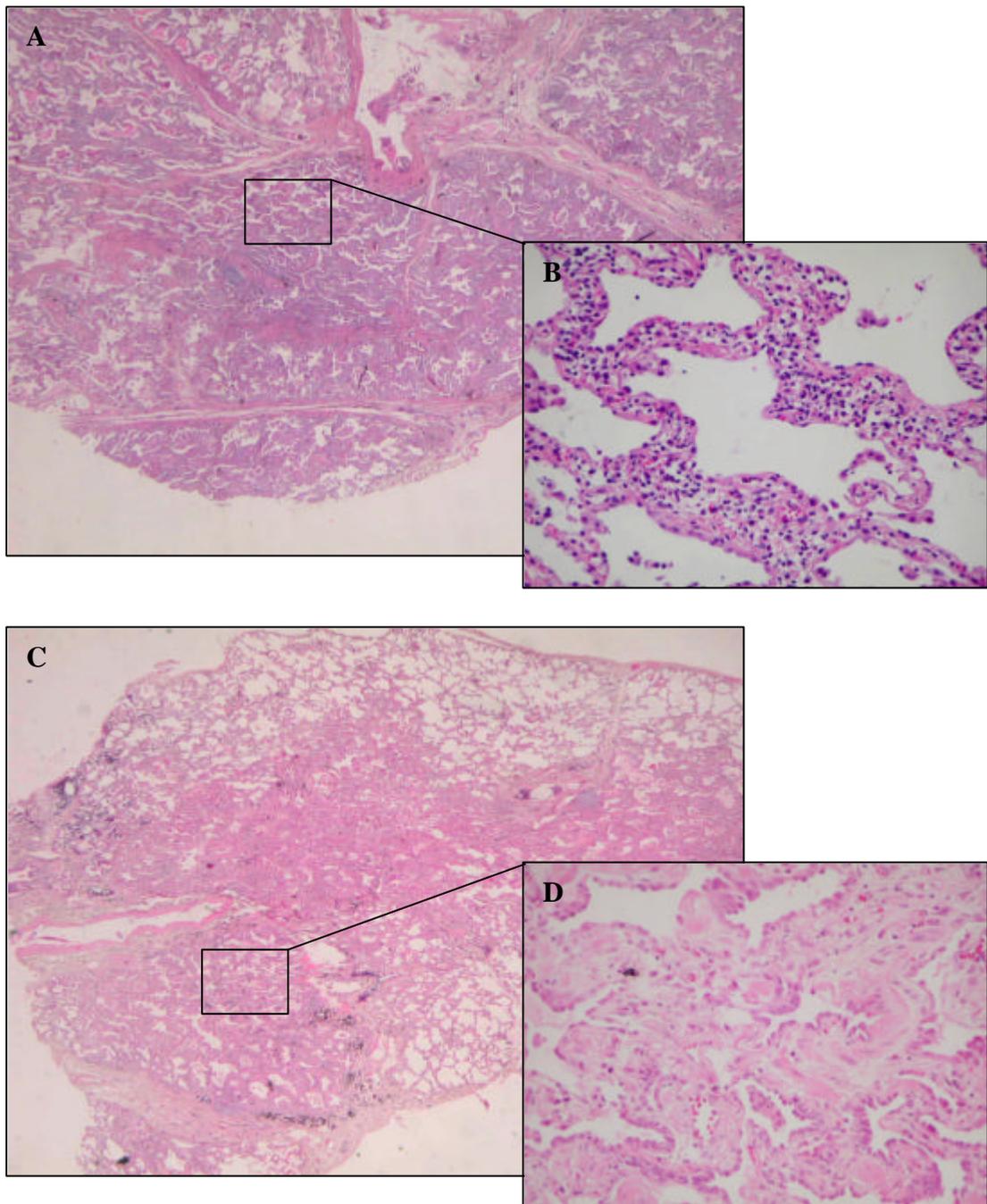


Figura 15. Padrões histológicos da pneumonia intersticial não-específica (NSIP)

(A) vista panorâmica mostrando espessamento intersticial difuso; (B) espessamento do interstício pulmonar por extenso infiltrado inflamatório crônico, constituído por linfócitos e plasmócitos com mínima fibrose (NSIP celular); (C) vista panorâmica mostrando acometimento intersticial difuso com predomínio fibrótico, (D) espessamento septal, caracterizado por fibrose extensa com mínima quantidade de infiltrado inflamatório crônico (NSIP fibrosante). HE – (A e C) 10X, (B e D) 200X.



Figura 16. Padrões de remodelamento ativo da pneumonia intersticial usual (UIP).

(A) Extensas áreas de colapso alveolar com relativa preservação do parênquima pulmonar, mínimo espessamento intersticial fibroso e mínima quantidade de focos de fibroblastos (UIP-fibrose mínima); (B) moderada fibrose mural organizante com moderada quantidade de focos de fibroblastos (UIP-fibrose moderada); (C) fibrose mural organizante severa com zonas de faveolamento e ativa proliferação de fibroblastos e miofibroblastos (UIP-fibrose severa). HE – (A, B, C) 10X.

4.2.3.2. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE OCLUSÃO VASCULAR

Mediante análise semiquantitativa, o grau de oclusão arterial foi mensurado, através do sistema de classificação de Heath Edwards ⁽¹³⁸⁾ para remodelamento vascular, conforme segue:

Grau I – Hipertrofia isolada da camada média arterial

Grau II – lesão intimal proliferativa

Grau III – oclusão total do lume arterial por tecido fibroso

Grau IV – lesão plexiforme

Grau V – lesão aneurismática vascular

Grau VI – necrose fibrinoide da parede vascular

A área e perímetro interno do lumen e espessura da parede das artérias de grande e médio calibre (pré e intra-acinares) foram mensurados. Um número de 4 a 8 artérias por espécime foi analisado. O sistema utilizado para estas mensurações consistiu de uma câmera JVC TK C1380 acoplada a um microscópio Leica, com visualização das imagens num monitor Sony Trinitron ⁽¹³⁹⁾. As imagens foram adquiridas digitalmente (Oculus TCX, Coreco inc; St Laurent, Quebec, Canadá) em um computador Pentium 3 300Mhz, usando o *software* Image Pro-Plus. Para análise quantitativa da extensão do remodelamento vascular foi utilizada uma magnificação de 200X. A área interna e perímetro interno luminal foram determinados por mensuração digital ⁽¹³⁹⁾.

4.2.4. TÉCNICAS DE COLORAÇÃO

Lâminas dos casos foram preparadas para o estudo histoquímico, imuno-histoquímico, de imunofluorescência e de reconstrução tridimensional dos colágenos I, III e V.

Tecidos de pulmões normais de cinco indivíduos com idade média de $60 \pm 3,6$ anos, mortos por causas violentas e não pulmonares, foram usados como controles normais no estudo das fibras de colágeno e elástica vasculares pela coloração de Picrossírius e resorcina, nos estudos imuno-histoquímicos, no estudo de imunofluorescência do colágeno tipo V e na quantificação de plasmócitos em lâminas coradas por HE. Nenhum destes tecidos controles tinha critérios histológicos compatíveis com IIPs. Fragmentos representativos foram obtidos de áreas sem processos patológicos. Os tecidos controles foram submetidos aos procedimentos de coloração junto aos casos do estudo.

As técnicas de coloração empregadas foram as seguintes:

4.2.4.1 TÉCNICA EMPREGADA NA COLORAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENO E FIBRAS ELÁSTICAS

A coloração das fibras colágenas foi efetuada segundo a técnica de Picrossírius sem hematoxilina, permitindo a sua quantificação. Utilizou-se uma solução de Sirius Red 0,2% (Direct Red 80, CI 35780, Wisconsin, USA), dissolvido em conteúdo aquoso saturado por ácido pícrico. A solução é incubada por uma hora à temperatura ambiente. A acentuação da

birrefringência do colágeno promovida pelo método de Picrossírius-polarização é específica para estruturas colágenas composta por agregados de moléculas orientadas.

A coloração para as fibras elásticas foi executada pelo método Weigert Resorcina-Fucsina modificado, com oxidação prévia, que cora os três tipos de fibras do sistema elástico (oxitalânicas, elaunínicas e fibras elásticas completamente desenvolvidas), mas que não permite identificá-las separadamente. Tal coloração segue o seguinte protocolo: primeiramente as lâminas são desparafinadas e hidratadas da maneira convencional, permanecendo 20 minutos em xilol aquecido a 95°C, seguido de três banhos de xilol à temperatura ambiente. Em seguida, o tecido é hidratado, submergindo-se as lâminas em álcool absoluto, álcool 95% e álcool 70%, respectivamente, seguido de lavagem em água corrente e depois em água destilada e deionizada. Sobre os cortes, é depositada uma solução aquosa de Oxona 10% (DuPont, Delaware, USA) por 40 minutos para promover a oxidação. Posteriormente, lava-se em água corrente por cinco minutos e, em seguida, com álcool 70 e 95%, respectivamente. É, então, realizada a coloração pela Resorcina-Fucsina de Weigert por uma hora à temperatura ambiente, seguida por cinco minutos de lavagem em água corrente e de duas trocas de dez minutos em álcool 70%. A coloração de fundo é removida com uma passagem em solução álcool-ácido a 1% (1ml de HCl para 99ml de álcool 70%) e posterior lavagem em água corrente. Finalmente, as lâminas são então desidratadas, diafinizadas e montadas.

4.2.4.2. TÉCNICA IMUNO-HISTOQUÍMICA EMPREGADA NA DETECÇÃO DOS ANTÍGENOS CD-34, VCAM-1, E-SELECTINA, ICAM-1, CD-68, ELASTASE DE NEUTRÓFILOS, CD-20, CD-4, CD-8 E CD-3

Os blocos selecionados foram submetidos a cortes histológicos de 3µm de espessura com o uso de um micrótomo e montados sobre lâminas de microscopia, sem a realização de coloração.

Antes das reações imuno-histoquímicas, as lâminas foram submetidas ao seguinte processo de silanização: primeiramente elas foram mergulhadas em uma cuba com álcool, em duas cubas consecutivas com acetona e depois em mais duas consecutivas com silane (SIGMA A3648), permanecendo por cinco minutos em cada cuba. O processo de silanização termina com mais quatro banhos, sendo dois em cubas com acetona e, em seguida, mais dois em água destilada.

As lâminas silanizadas foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica, conforme o seguinte protocolo: primeiramente estas foram desparafinadas em banho de 20 minutos em xilol aquecido a 95°C, seguido de três banhos de xilol à temperatura ambiente. Em seguida, o tecido foi hidratado submergindo-se as lâminas em álcool absoluto, álcool 95% e álcool 70%, respectivamente, e depois se procedeu a lavagem em água corrente e em água destilada e deionizada.

O próximo passo foi a recuperação antigênica, realizada em panela a vapor, na qual foi colocado o berço com as lâminas em cuba com solução de

citrato 10mM, pH 6,0 à 95-100°C. Após 35 minutos, a cuba com as lâminas foi retirada e permaneceu mais 20 minutos em temperatura ambiente para esfriar. Então, realizou-se a lavagem em tampão fosfato de sódio 0,05M, pH 7,2-7,4 (PBS) por três vezes, três minutos cada.

Na seqüência, procedeu-se o bloqueio das peroxidases endógenas, lavando-se as lâminas em peróxido de hidrogênio 10V (3%), sete vezes por cinco minutos. Então, as lâminas foram lavadas três vezes em água corrente, três vezes em água destilada e mais três vezes em PBS, cada lavagem durando três minutos.

O próximo passo foi o bloqueio de sítios inespecíficos, colocando-se as lâminas em leite desnatado 2% diluído em PBS por 20 minutos em temperatura ambiente. As lâminas foram, em seguida, escorridas e secas ao redor do corte.

Os anticorpos primários, nas seguintes diluições, foram pingados, cada um em uma lâmina pré-processada: CD-34 diluição 1:25 (Novocastra Laboratory, Newcastle, United Kingdom), VCAM-1 diluição 1:80 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), ICAM-1 diluição 1:200 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), CD-68 clone M814 diluição 1:3200 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), elastase de neutrófilos clone M752 diluição 1:800 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), CD-20 diluição 1:600 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), CD-4 diluição 1:400 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), CD-8 diluição 1:100 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark) e CD-3 diluição 1:600 (Dako A/S, Copenhagen, Denmark). As diluições foram feitas em soro albumina bovina (BSA), Sigma. As lâminas foram cobertas com 100µL

dessas soluções e permaneceram incubadas em câmara úmida em geladeira durante 18 horas.

Após este período de incubação, as lâminas foram lavadas em PBS três vezes por três minutos e, em seguida, foram incubadas com o anticorpo secundário LSAB-HRP (*Large Streptavidin-Avidin-Biotin – System Peroxidase*; k-0690; Dako A/S, Copenhagen, Denmark), comercializado já pronto para uso, conforme a seguinte seqüência de utilização: primeiramente foi incubado o anticorpo secundário por uma hora a 37°C, em seguida, as lâminas foram lavadas em PBS e incubadas com estreptoavidina-biotinilada peroxidase por 45 minutos a 37°C.

Após três banhos de três minutos em PBS, procedeu-se a revelação: as lâminas foram colocadas no cromógeno (3-3'-diaminobenzamida – DAB 100mg em 70mL de PBS + 3mL de água oxigenada; Sigma Diagnostics, St. Louis, USA) por cinco minutos, lavadas em água corrente por mais cinco minutos, contracoradas em hematoxilina de Harris (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA) por 30 segundos e novamente lavadas em água corrente por cinco minutos e, para serem desidratadas, foram submergidas por três vezes em álcool 70%, três vezes em álcool 95%, três em álcool absoluto e mais três em solução de xilol.

Para a marcação imuno-histoquímica da E-Selectina os passos descritos são similares. Uma vez realizada a recuperação antigênica e esfriadas as amostras, elas seguiram para digestão enzimática em tripsina por 10 minutos a 37° C. Posteriormente, foram lavadas com PBS por duas a três vezes por três minutos e, após diluído o anticorpo primário E-Selectina

diluição 1:30 (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA), as lâminas foram incubadas com o mesmo em câmara úmida em geladeira por 24 horas. Após a incubação, as lâminas foram lavadas com PBS três vezes por três minutos, incubadas com anticorpo secundário (Kit Dako LSAB+Ap K0689) por 30 minutos a 37°C e lavadas novamente com PBS três vezes por três minutos. As lâminas foram colocadas em solução de cromógeno Fast Red Sigma F4648 e, posteriormente, lavadas em água corrente por uma hora, contracoradas em hematoxilina de Harris (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA) por 1 hora e 30 minutos e lavadas novamente em água corrente por cinco minutos.

Para controles positivos de CD-34, VCAM-1, E-Selectina e ICAM-1 utilizou-se tecido de língua e adenocarcinoma de cólon, sabidamente positivos após titulação, para estes anticorpos primários. Para os marcadores CD-68, elastase de neutrófilos, CD-20, CD-4, CD-8 e CD-3, utilizaram-se como controles tecido linfóide sabidamente positivo para estes marcadores. Todos os controles foram processados simultaneamente aos casos. Para controle negativo, lâminas dos mesmos tecidos controles foram incubadas com BSA.

Todas as lâminas finalmente foram montadas com lamínula e Entelan, rotuladas e mantidas em posição horizontal por 24 horas.

4.2.4.3. TÉCNICA EMPREGADA NA MARCAÇÃO DOS COLÁGENOS TIPOS I, III E V

Cortes transversais das biópsias de pulmão de pacientes com IPF, preparados em lâminas previamente tratadas com 3-aminopropiltriethoxy

silano (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA) pela técnica descrita acima, foram imersos em xilol quente por 20 minutos, a seguir, submetidos a três banhos de xilol frio e hidratados com sucessivas lavagens com álcool etílico, em concentrações decrescentes (100%-75%), água destilada e PBS.

Para a exposição e recuperação dos sítios antigênicos, o material foi digerido com 2 μ g de pepsina de porco (10000U/ml) (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA) dissolvida em 500 μ l de ácido acético 1M e incubadas por 30 minutos a 37°C. Os cortes tratados foram lavados por três vezes, dez minutos cada, com PBS e incubados com o anticorpo de coelho anticolágeno tipos I e V humanos (produzidos pelo Laboratório de Investigação Médica 17 do HC-FMUSP) diluição 1:200 e 1:2000 em PBS, respectivamente, e anticolágeno III monoclonal (Oncogene), diluição 1:100 em PBS, em lâminas diferentes por uma noite.

Após esse período, os cortes foram lavados em PBS com Tween₂₀ 0,05% e incubados por 1 hora e 30 minutos com o anticorpo secundário anti-IgG de coelho e camundongo conjugados com fluoresceína (Dako A/S, Copenhagen, Denmark) diluídos 1:50 em solução de PBS contendo azul de Evans 0,005% e montadas com solução de glicerina tamponada. A reação foi visualizada em microscópio de fluorescência marca Nikon.

4.2.4.4. MARCAÇÃO DOS COLÁGENOS I, III E V PARA RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL

Os blocos selecionados foram submetidos a cortes histológicos de 20 μ m de espessura com o uso de um micrótomo e montados sobre lâminas de

microscopia previamente tratadas com 3-aminopropiltriethoxy silano (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA), sem a realização de coloração. Em seguida, foram imersos em xilol quente por 20 minutos, submetidos a três banhos de xilol frio e hidratados com sucessivas lavagens com álcool etílico, em concentrações decrescentes (100%-75%), água destilada e PBS.

Para a exposição e recuperação dos sítios antigênicos, o material foi digerido com 2µg de pepsina de porco (10000U/ml) (Sigma Diagnostics, St. Louis, USA), dissolvida em 500 µl de ácido acético 1Mm e incubadas por 30 minutos a 37°C. Os cortes tratados foram lavados por três vezes, dez minutos cada, com PBS e incubados conjuntamente com os anticorpos de coelho anticolágeno dos tipos I e V humanos (produzidos pelo Laboratório de Investigação Médica 17 do HC-FMUSP), diluição 1:200 e 1:2000 em PBS, respectivamente, para obtenção de dupla marcação em uma mesma lâmina. Do mesmo modo, os anticorpos de coelho anticolágeno tipo I (produzido pelo Laboratório de Investigação Médica 17 do HC-FMUSP), diluição 1:200 em PBS, e anticolágeno III monoclonal (Oncogene), diluição 1:100 em PBS, foram incubados conjuntamente, para dupla marcação. A incubação levou uma noite.

Após este período, os cortes foram lavados em PBS com Tween₂₀ 0,05%. Os cortes com dupla marcação para colágeno I e V foram incubados por 1 hora e 30 minutos com o anticorpo secundário anti-IgG de coelho conjugado com fluoresceína (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), diluição 1:50 em PBS, para o colágeno do tipo V e anti-IgG de camundongo conjugado com rodamina (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), diluição 1:50

em PBS, para o colágeno I. Os cortes com dupla marcação para colágeno I e III foram incubados por 1 hora e 30 minutos com o anticorpo secundário anti-IgG de coelho conjugado com fluoresceína (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), diluição 1:50 em PBS, para o colágeno do tipo I e anti-IgG de camundongo conjugado com rodamina (Dako A/S, Copenhagen, Denmark), diluição 1:50 em PBS, para o colágeno III ⁽¹⁴⁰⁾. Posteriormente, as lâminas foram montadas com solução de glicerina tamponada.

As reações foram visualizadas no microscópio confocal para reconstrução tridimensional marca Zeiss com fluorescência invertida.

4.2.5. QUANTIFICAÇÃO DAS MARCAÇÕES ENCONTRADAS

Todas as marcações foram quantificadas da seguinte maneira:

4.2.5.1 QUANTIFICAÇÃO DAS FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS

A quantificação das fibras de colágeno e elásticas vasculares das artérias pré e intra-acinares, evidenciadas pela coloração de Picrossírius sem hematoxilina e pela coloração de Weigert Resorcina-Fucsina modificado, foi realizada através de um analisador de imagens acoplado a um microscópio óptico. O sistema utilizado consistiu de uma câmera JVC TK C1380 acoplada a um microscópio Leica, a partir do qual as imagens foram visualizadas no monitor e capturadas. No caso das fibras colágenas, coradas com Picrossírius, foi utilizado um polarizador de luz na captura das imagens, para evidenciar tais fibras.

Através de um sistema digital inserido no computador, as imagens foram processadas pelo *software* Image Pro-Plus. O cálculo da área das fibras, em micrômetros quadrados, foi dado através do reconhecimento das freqüências de luz correspondentes às fibras birrefringentes, no caso do Picrossírius; e das freqüências correspondentes à cor negra, para a resorcina. O mesmo padrão de freqüências foi utilizado para todas as lâminas de cada tipo, evitando qualquer tipo de viés. Além das áreas correspondentes às fibras da parede vascular, também foi calculada, utilizando o mesmo *software*, a área sólida total vascular excluindo o espaço luminal, selecionada com o *mouse*.

O resultado da quantidade de fibras de colágeno ou fibras elásticas dividida pela área total sólida vascular foi expresso em fração de áreas vascular das fibras.

4.2.5.2. DETERMINAÇÃO DOS ÍNDICES IMUNO-HISTOQUÍMICOS

A coloração castanha foi considerada evidência da expressão dos antígenos CD-34, VCAM-1, ICAM-1, CD-68, elastase de neutrófilos, CD-20, CD-4, CD-8 e CD-3 nas células e a coloração vermelha foi considerada evidência da expressão de E-selectina nas células, em lâminas com marcação do correspondente anticorpo.

Para determinar os índices de expressão dos antígenos depois da imuno-histoquímica, foi usada a técnica do *point-counting*, utilizando retículo contendo 100 pontos e cinquenta retas, segundo proposto em 1988 por

Gundersen e colaboradores ⁽¹⁴¹⁾. Ao aumento de 400X, foram examinados dez campos microscópicos aleatórios e não-coincidentes, totalizando 1.000 pontos por lâmina, cobrindo uma área de 62.500 μm^2 nos casos de DAD e NSIP. Nos casos de UIP, pela distribuição heterogênea do processo, foram avaliados dez campos nas áreas normais, dez nas áreas intermediárias (colapso alveolar) e dez campos nas áreas de fibrose mural organizante, caracterizada pela presença de focos de fibroblastos e zonas de faveolamento parenquimatoso, totalizando 30 campos correspondente a 3.000 pontos por lâmina, cobrindo uma área de 187.500 μm^2 . Áreas do eixo broncovascular foram cuidadosamente evitadas durante as medições.

A porcentagem (P) de pontos marcados no compartimento de referência para cada antígeno estudado foi expressa conforme a fórmula:

$$P = (P_i \times 100) / P_t$$

Onde P_i é o número de pontos que incide sobre a positividade dos marcadores imuno-histoquímicos e P_t é o número total de pontos analisados. A porcentagem (P) de cada antígeno será calculada a partir da soma dos resultados de todos os campos analisados para cada paciente ⁽¹³⁹⁾. Nos casos de UIP, além do cálculo de P global, levando-se em conta os 30 campos analisados por caso, calculou-se também o valor de P para as áreas histológicas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante para cada caso.

4.2.5.3. QUANTIFICAÇÃO DAS CÉLULAS PLASMOCITÁRIAS

A determinação dos índices das células plasmocitárias foi realizada nas lâminas coradas com Hematoxilina-Eosina. Da mesma forma que para os marcadores imuno-histoquímicos, para a contagem das células plasmocitárias foi usada a técnica do *point-counting*, como descrita anteriormente, ao aumento de 400X. Também foram examinados dez campos microscópicos aleatórios e não-coincidentes nos casos de DAD e NSIP. Nos casos de UIP, foram avaliados dez campos nas áreas normais, dez nas áreas de colapso alveolar e dez campos nas áreas de fibrose mural organizante, totalizando 30 campos. Áreas do eixo broncovascular foram cuidadosamente evitadas durante as medições.

As porcentagens (P) de pontos coincidentes com células plasmocitárias foram obtidas como descrito anteriormente para marcações imuno-histoquímicas.

4.2.5.4. QUANTIFICAÇÃO DO COLÁGENO V POR IMUNOFLOURESCÊNCIA

A análise quantitativa da imunomarcação do parênquima pulmonar para colágeno tipo V dos casos de UIP foi realizada mediante a utilização de um analisador de imagem acoplado a um microscópio de fluorescência. O sistema utilizado consistiu de uma câmera JVC TK-C1380 acoplada a um microscópio Leica, a partir do qual as imagens foram visualizadas no monitor. Através de um sistema digital inserido num computador (Pentium3 300Mhz), as imagens foram processadas pelo *software* Image Pro-Plus.

Foram selecionados dez campos de interstício nas áreas normais, dez nas áreas de colapso alveolar e dez nas áreas de fibrose mural organizante sob um aumento de 400X. Áreas do eixo broncovascular foram cuidadosamente evitadas durante as medições.

À semelhança do método usado para medição das fibras coradas por Picrossírius e resorcina, o cálculo da área das fibras de colágeno tipo V imunomarcadas, em micrômetros quadrados, foi dado através do reconhecimento das frequências de luz correspondentes às fibras verdes fluorescentes. O mesmo padrão de frequências foi utilizado para todas as lâminas, evitando qualquer tipo de viés.

Na mesma amostra, para cada campo de interstício também foi medido o total de área sólida, correspondente ao tecido pulmonar presente, excluindo-se os espaços aéreos e o seu conteúdo. A seleção das áreas sólidas foi feita através do *mouse*. O resultado da área de fibras de colágeno V dividida pela área sólida intersticial total foi expresso em fração de área destas fibras.

4.2.5.5. RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL DOS COLÁGENOS TIPOS I, III E V

A reconstrução tridimensional das duplas marcações dos colágenos I e III e dos colágenos I e V foi feita com o auxílio do microscópio confocal e avaliou a interação dos colágenos tipo I e III e dos colágenos tipos I e V nos focos de fibroblastos e nas artérias pré e intra-acinares de todos os casos de UIP. As secções foram examinadas sob o microscópio a laser LSCM (LSM

410; Carl Zeiss; Jena, Germany) usando um aumento de 400X. As imagens obtidas do microscópio a laser foram armazenadas num computador (LSM Image Browser Software, versão. 2,50.0929; Carl Zeiss Meditech, Jena, Germany) em formato de TIFF. Séries de 45 a 50 secções ópticas foram obtidas a cada distância de 0.5µm de espessura⁽¹⁴¹⁾. Imagens tridimensionais foram reconstruídas de focos de fibroblastos e de artérias pré e intra-acinares mediante este método.

4.2.6. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos (médias e medidas de dispersão de cada grupo) com a quantificação de todos os marcadores estudados encontram-se dispostos nas tabelas do item Resultados e nas tabelas A1, A2 e A3 dos Anexos. A análise estatística e determinação dos resultados foram baseadas nestes dados.

As variáveis clínicas consideradas foram as seguintes: gênero e idade no momento da biópsia pulmonar a céu aberto e resultados da prova de função pulmonar realizada até dois meses antes da biópsia. Foram consideradas variáveis histopatológicas e biológicas: graus de oclusão vascular, marcações imuno-histoquímicas para CD-34, VCAM-1, E-selectina, ICAM-1, CD-68, elastase de neutrófilos, CD-20, CD-4, CD-8, CD-3, células plasmáticas, as fibras de colágeno e as fibras elásticas. Valores individuais, bem como médias e medidas de dispersão, foram analisados para cada variável e colocados sob forma de tabelas.

4.2.6.1. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram analisados mediante testes estatísticos para comparação, baseados nos tipos de distribuição das mesmas. As distribuições foram consideradas paramétricas, segundo o programa estatístico SPSS versão 10.0 (SPSS Inc; Illinois, USA)⁽¹⁴²⁾.

Os valores obtidos pelo estudo de cada variável contínua foram organizados e descritos pela média e desvio padrão. Para a categorização, utilizaram-se as freqüências absolutas e relativas.

Utilizou-se análise multivariada para a exploração de correlação entre múltiplas variáveis.

Para a comparação entre as médias de duas populações amostrais, utilizou-se o teste “*t*” de Student e, para a comparação entre as médias de três ou mais populações, foi feita análise de variância pelo teste auxiliar de Bonferroni.

Para a verificação de existência de correlação entre duas variáveis, utilizou-se o estudo da correlação de Pearson.

A análise da sobrevivência foi realizada pela curva de Kaplan-Meier.

Para que se considerasse a diferença entre médias, freqüências ou a presença de correlação entre variáveis, utilizou-se o valor de significância estatística menor ou igual a 5% ($p=0,05$).

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em quatro etapas: análise das variáveis clínicas; grau de oclusão vascular, expressão dos marcadores e sobrevida.

5.1. DESCRIÇÃO DA CASUÍSTICA

Os dados clínicos de todos os 109 pacientes incluídos no estudo são apresentados na Tabela A1, A2 e A3-Anexos.

5.1.1. GÊNERO

A distribuição global dos pacientes, de acordo com o gênero, foi de 55,05% (60/109) para o gênero masculino e de 44,95% (49/109) para o feminino, na proporção aproximada de 1:1. Em relação aos grupos estudados, 52,00% dos pacientes (13/25) foram do gênero masculino e 48,00% (12/25) foram do gênero feminino no grupo de AIP, 45,45% (10/22) do sexo masculino e 54,55% (12/22) do sexo feminino no grupo de NSIP e 59,68% (37/62) do sexo masculino e 40,32% (25/62) do sexo feminino do grupo de IPF.

5.1.2. IDADE

A média de idade global foi de 59,29 anos (mínima de 35 anos e máxima de 84 anos), com desvio-padrão de 12,1 anos e mediana de 59 anos. Em relação aos grupos, a média de idade foi de 51 anos (mínima de 35 anos e máxima de 74 anos), com desvio-padrão de 12,5 e mediana de 48 para os casos de AIP; no grupo de NSIP, a média de idade foi de 50 anos (mínima de 39 anos e máxima de 76 anos) com desvio-padrão de 10,2 e mediana de 47 anos e no grupo de IPF, a média de idade foi de 65 anos (mínima de 50 anos e máxima de 84 anos), com desvio-padrão de 8,6 e mediana de 65.

5.2. REMODELAMENTO VASCULAR

O remodelamento vascular nas três entidades estudadas foi dividido em dois grandes grupos, o remodelamento vascular dos vasos pré e intra-acinares e o remodelamento vascular da microcirculação pulmonar.

5.2.1. REMODELAMENTO VASCULAR PRÉ E INTRA ACINAR

O remodelamento do compartimento vascular, avaliado pela quantificação da área da luz, do perímetro interno e da espessura da parede

das artérias pré e intra-acinares, foi relacionado diretamente às mudanças parenquimatosas encontradas no grupo da UIP.

Os três padrões histológicos de atividade fibrótica observados na UIP (mínima, moderada e severa) (Figura 16) foram associados significativamente com os graus de alteração vascular, segundo a classificação de Heath Edwards (Figuras 17): observou-se que quanto maior o grau de atividade fibrótica parenquimatosa, maior o grau de alteração vascular, maior a espessura vascular, menor a área de luz vascular e menor o perímetro interno vascular (Figuras 18 e Tabelas 3). Ressalta-se que a máxima alteração vascular encontrada nos casos estudados foi o grau IV desta classificação.

Casos de UIP com o padrão histológico de atividade fibrótica severa estiveram associados aos graus mais elevados de alteração vascular (graus III e IV da classificação de Heath Edwards), às maiores espessuras de parede vascular, às menores áreas de luz e aos menores perímetros internos vasculares (Figuras 16C, 17C, 17D, 18 e Tabela 3).

Casos de padrões histológicos de atividade fibrótica moderada foram associados a graus intermediários de alterações vasculares (graus II ou III da classificação de Heath Edwards), a aumentos intermediários da espessura da parede vascular, a moderadas diminuições das áreas da luz vascular e a moderadas diminuições dos perímetros internos vasculares (Figuras 16B, 17B, 17C, 18 e Tabela 3).

Os casos restantes, em que a atividade da fibrose parenquimatosa foi categorizada como de grau incipiente, ou seja, atividade fibrótica mínima, estiveram associados às menores espessuras vasculares, às maiores áreas de

luz vascular e aos maiores diâmetros internos vasculares, refletindo um grau mínimo de remodelamento vascular, representado por uma proliferação intimal discreta, ou seja, grau I da classificação de Heath Edwards, com manutenção da arquitetura vascular, ao qual também estiveram associados (Figuras 16A, 17A, 18 e Tabela 3). Todas estas associações foram estatisticamente significativas $p < 0.05$ (Tabela 3).

No padrão histológico de DAD, alterações vasculares foram raras, predominando vasos sem alterações, e não houve associação entre o grau de alteração vascular e a subclassificação dos casos de DAD. No padrão histológico NSIP, da mesma forma que no padrão DAD, predominaram vasos sem alterações. Também não houve associação entre o grau de alteração vascular e a subclassificação dos casos de NSIP, mas vale ressaltar que na subclassificação histológica NSIP fibrosante, alterações vasculares do tipo grau I da classificação de Heath Edwards, foram um pouco mais frequentes que na subclassificação NSIP celular, porém sem significância estatística.

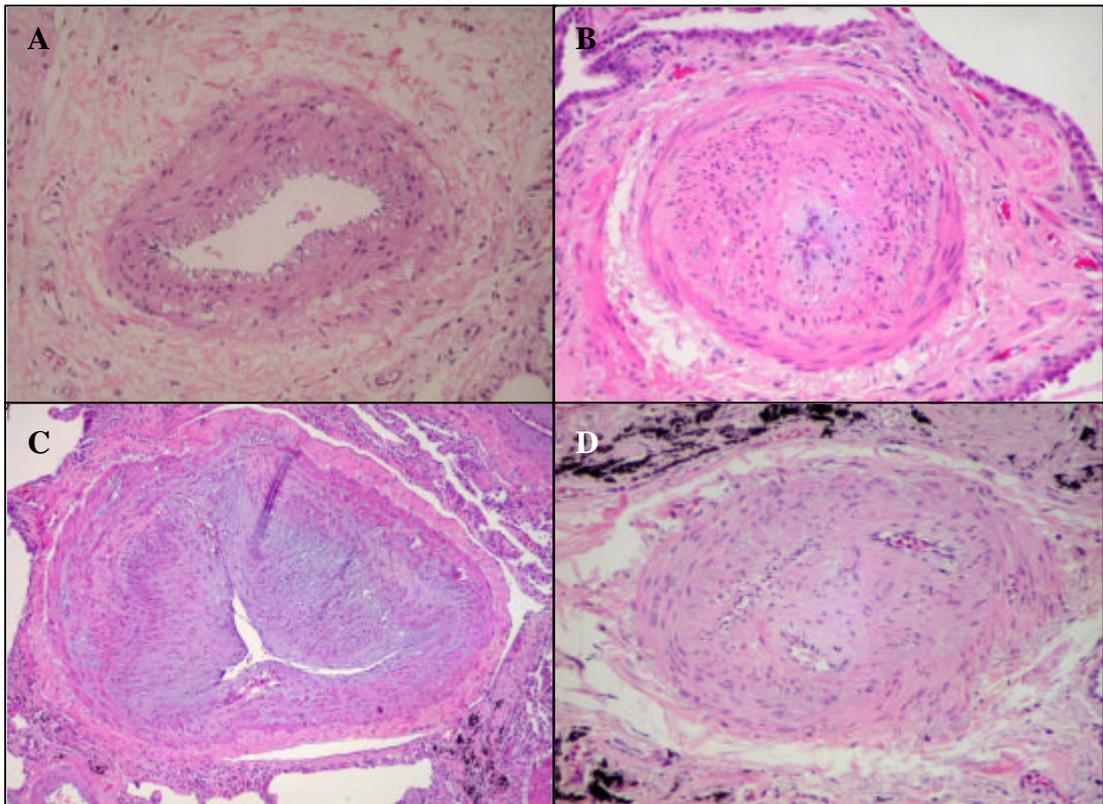


Figura 17. Graus histológicos da classificação de Heath-Edwards encontrados no padrão histológico da pneumonia intersticial usual (UIP).

(A) grau I – hipertrofia isolada da camada média arterial; (B) grau II – lesão proliferativa intimal; (C) grau III – oclusão total do lume arterial por fibrose; (D) grau IV – lesão plexiforme, na qual se observa recanalização da luz (na foto, a artéria possui três luzes na secção transversal, resultantes de recanalização). HE – (A, B, C, D) 400X.

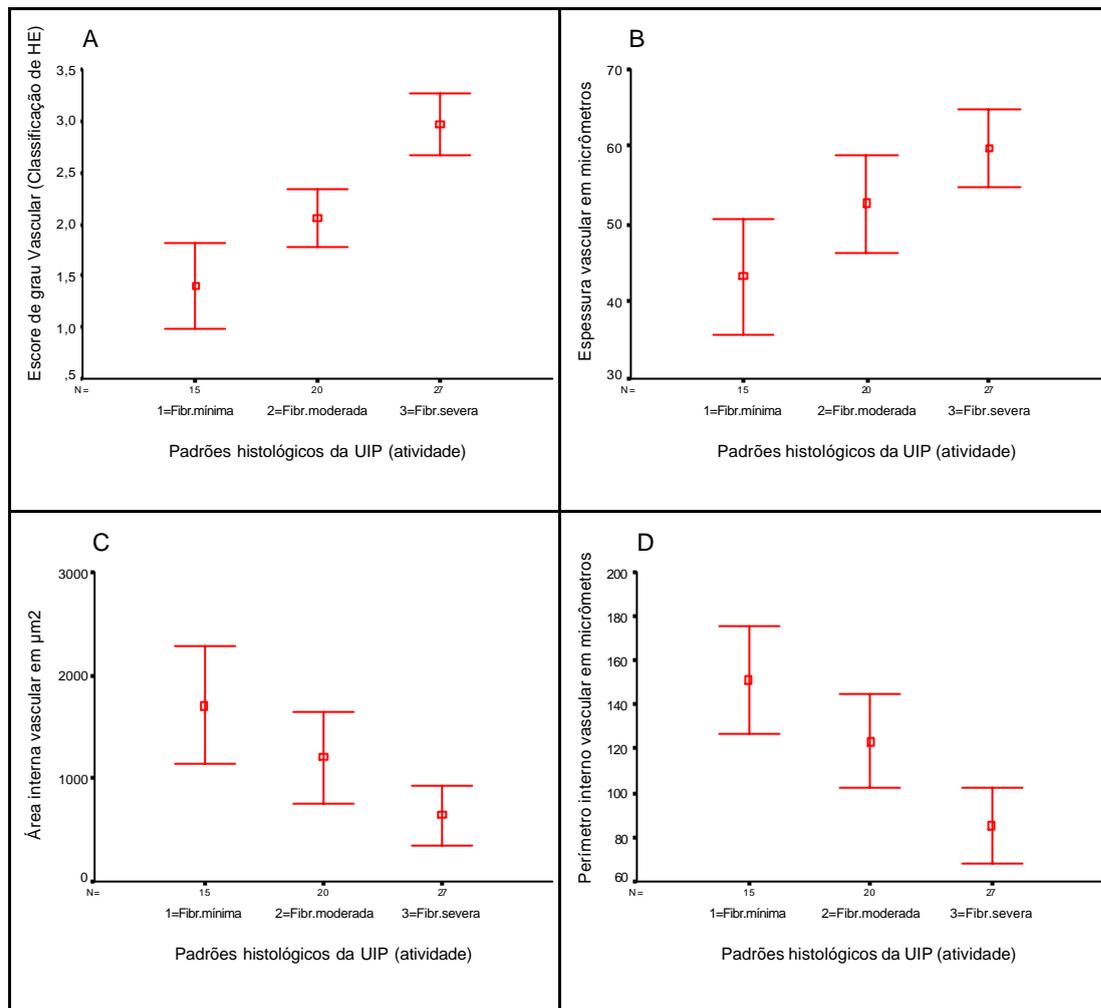


Figura 18. Intervalo de confiança mostrando a associação existente entre as variáveis de alteração vascular na pneumonia intersticial usual (UIP).

Associação entre as subclassificações histológicas UIP e: (A) a classificação de Heath-Edwards (H-E); (B) a espessura vascular; (C) a área da luz vascular e (D) o perímetro interno vascular.

Tabela 3. Médias e valores de dispersão das espessuras dos vasos, áreas internas de luz e perímetros internos da pneumonia intersticial usual, nas três subclassificações histológicas deste grupo. Análise estatística destas associações.

Variáveis	Parâmetros vasculares				
	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
Espessura (μm)^a					
Fibr. mínima	43.16	13.54	3.50	25.21	71.73
Fibr. moderada	52.53	13.56	3.03	29.71	81.82
Fibr. severa	59.69	12.86	2.47	32.42	94.82
Área interna (μm^2)^b					
Fibr. mínima	1704.90	1040.00	268.53	494.27	4070.42
Fibr. moderada	1198.78	966.32	216.08	287.76	4563.27
Fibr. severa	637.63	723.73	139.28	81.16	3589.21
Perímetro interno (μm)^c					
Fibr. mínima	151.09	43.54	11.24	87.07	237.49
Fibr. moderada	123.22	45,17	10.10	59.48	245.82
Fibr. severa	85.07	43,12	8.30	32.63	209.40

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; Fibr. mínima = Fibrose mínima; Fibr. moderada = Fibrose moderada; Fibr. severa = Fibrose severa

^aFibrose mínima X Fibrose moderada X Fibrose severa (ANOVA one-way $p < 0.006$)

^bFibrose severa X Fibrose mínima X Fibrose moderada (ANOVA one-way $p < 0.006$)

^cFibrose mínima X Fibrose moderada X Fibrose Severa (ANOVA One-Way $p = 0.032$)

5.2.2. REMODELAMENTO DO SISTEMA DE FIBRAS DE COLÁGENO E DE FIBRAS ELÁSTICAS VASCULARES PRÉ E INTRA-ACINARES

As figuras 19 e 20 mostram o sistema vascular de fibras de colágeno, coradas por Picrossírius e visualizadas sob luz polarizada, e de fibras elásticas, coradas por resorcina-fucsina de Weigert, nos controles e nos pulmões das IIPs.

Os pulmões controles mostram uma birrefringência vermelho-alaranjada mínima na túnica adventícia do colágeno da parede vascular em concordância com a arquitetura vascular normal (Figura 19A, 19B). Em contraste, no grupo da UIP observou-se distorção da parede vascular e aumento intenso da birrefringência das fibras de colágeno nas camadas média e adventícia da parede vascular (Figura 19K). Na UIP, o aumento do colágeno na parede vascular acompanhou o aumento do grau de alteração vascular da classificação de Heath-Edwards (Figura 20).

Os casos de DAD e NSIP mostraram uma birrefringência vermelho-alaranjada moderada de fibras colágenas nas camadas média e adventícia da parede vascular (Figura 19E e 19H). Este aumento da birrefringência em relação aos controles foi maior nos vasos dos pulmões da NSIP.

Alterações igualmente importantes do sistema de fibras elásticas vasculares foram observadas nestes três padrões histológicos de IIPs. A Figura 19 mostra o grupo controle e as alterações das fibras elásticas encontradas nos vasos dos padrões histológicos de DAD, NSIP e UIP.

Nos controles, pode-se observar a disposição normal das fibras elásticas fazendo parte da lâmina elástica interna e externa dos vasos arteriais (Figura 19C). A Figura 19L mostra o aumento da proliferação das fibras elásticas na parede dos vasos no padrão histológico da UIP. Ainda na UIP, o aumento das fibras elásticas acompanhou o aumento do grau de alteração vascular, segundo a classificação de Heath-Edwards (Figura 20).

Aumentos também importantes das fibras elásticas, porém, menores que nos casos de UIP foram observados nos padrões histológicos de DAD e NSIP (Figura 19F, 19I), sendo o aumento das fibras elásticas vasculares neste último maior que o observado nos casos de DAD.

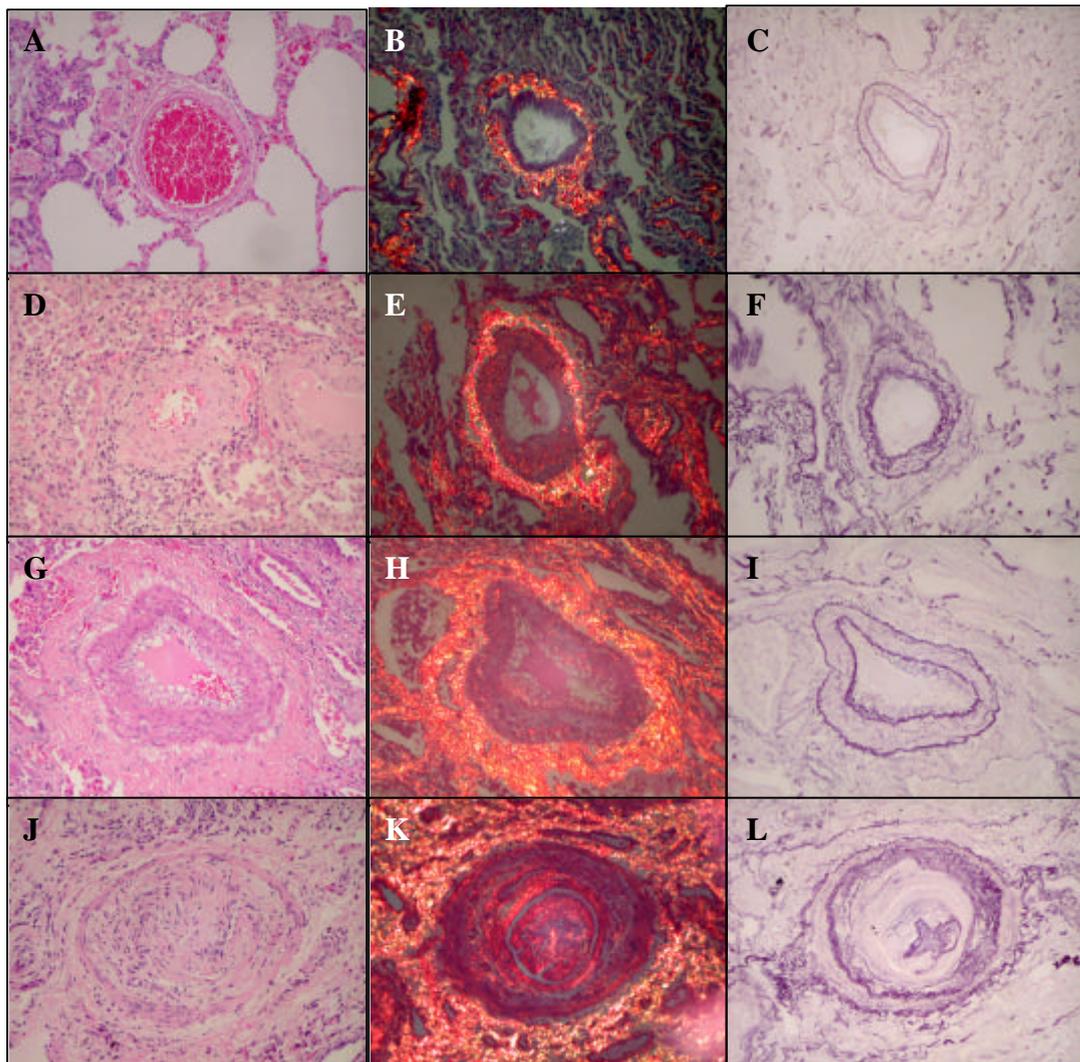


Figura 19. Artérias do bronquíolo terminal de controle e de caso de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) coradas com Hematoxilina-Eosina, com Picrossírius e visualizadas sob luz polarizada para identificação de fibras de colágeno e com resorcina-fucsina de Weigert para identificação de fibras elásticas vasculares.

(A) vaso de aspecto normal; (B) fibras de colágeno com distribuição normal na camada adventicial do vaso normal; (C) disposição normal das fibras elásticas neste vaso; (D) vaso do grupo DAD com arquitetura preservada; (E) aumento mínimo da birrefringência das fibras colágenas no vaso do DAD (F) aumento discreto das fibras elásticas neste vaso; (G) vaso do grupo NSIP com mínimo espessamento da parede; (H) nítido aumento da birrefringência das fibras de colágeno na camada media e adventicial do vaso do grupo NSIP; (I) aumento das fibras elásticas neste vaso; (J) vaso do grupo UIP com lesão plexiforme; (K) dramático aumento de fibras colágenas no vaso de UIP e (L) dramático aumento das fibras elásticas neste vaso. HE – (A,D,G,J) 400X; Picrossírius (B,E,H,K) 400X; Resorcina (C,F,I,L)400X.

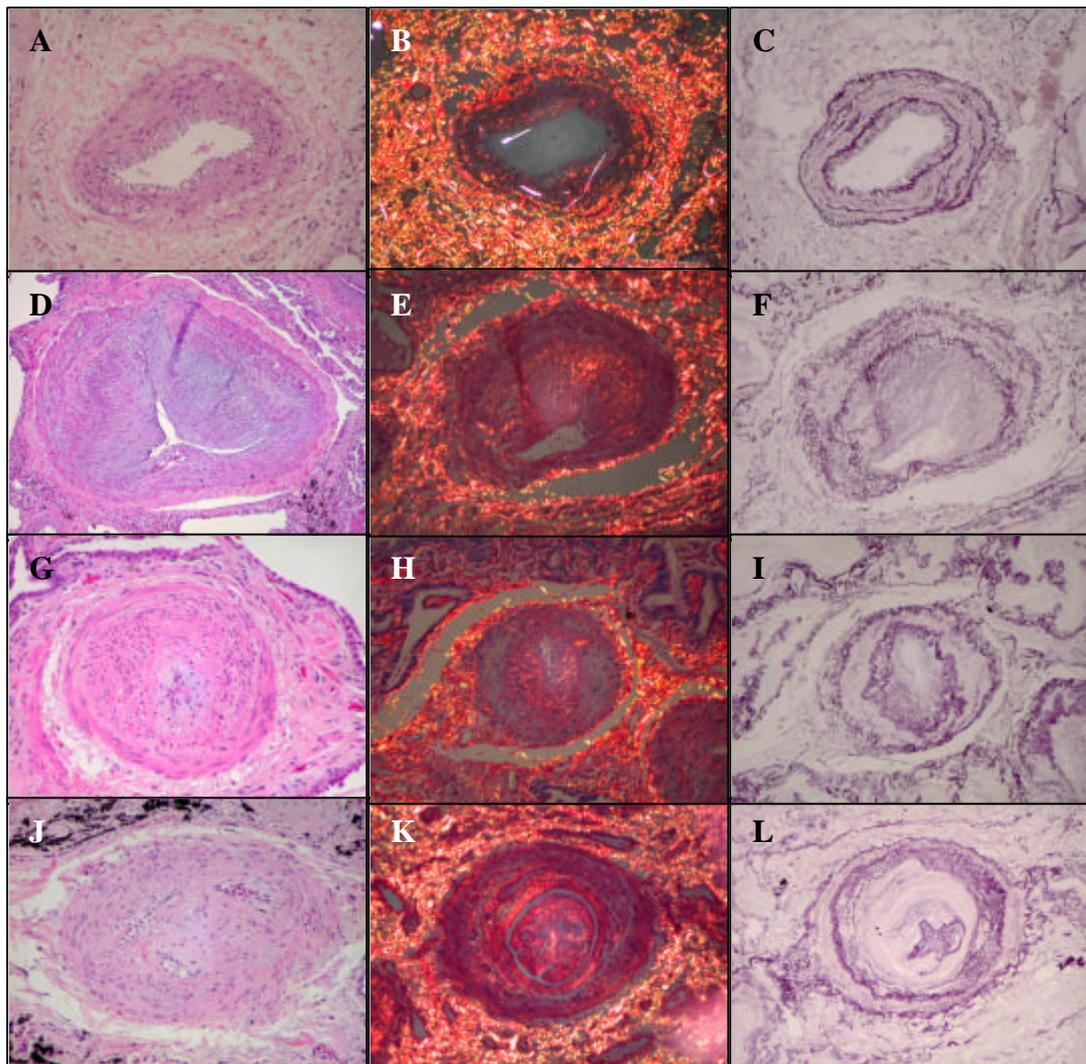


Figura 20. Artérias do bronquíolo terminal com diferentes graus de alteração vascular, segundo a classificação de Heath Edwards, encontradas no padrão histológico da pneumonia intersticial usual, coradas com Hematoxilina-Eosina, com Picrossírius e visualizadas sob luz polarizada para identificação de fibras de colágeno e com resorcina-fucsina de Weigert para identificação de fibras elásticas vasculares.

(A) Grau I: hipertrofia isolada da camada média; (D) grau II: proliferação intimal; (G) grau III: oclusão total da luz por fibrose e (J) grau IV: lesão plexiforme, (B, E, H, K) aumento da birrefringência das fibras de colágeno proporcional aos graus de alteração vascular observados; (C, F, I, L) aumento das fibras elásticas proporcional aos graus de alteração vascular observados. HE – (A,D,G,J) 400X; Picrossírius (B,E,H,K) 400X; Resorcina (C,F,I,L) 400X.

5.2.3. CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS DO SISTEMA DE FIBRAS DE COLÁGENO E DE FIBRAS ELÁSTICAS VASCULARES PRÉ E INTRA-ACINARES

As mudanças qualitativas do sistema de fibras de colágeno e elásticas das paredes vasculares foram acompanhadas de diferenças quantitativas nos quatro grupos estudados (Tabela 4).

A quantificação de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares mostrou valores significativamente mais elevados na parede das artérias pré e intra-acinares dos pulmões com padrão histológico de UIP, quando comparado ao grupo controle, e aos padrões histológicos NSIP e DAD ($p=0.001$).

As paredes vasculares do padrão histológico de UIP apresentaram quantidades maiores de fibras de colágeno, seguidas pelos casos de NSIP, DAD e do grupo controle (Figura 21A). Uma diferença estatisticamente significativa na quantidade de fibras de colágeno foi observada entre todos os grupos ($p=0.001$). As fibras elásticas mostraram um padrão similar, também com significância estatística ($p=0.001$) (Figura 21B).

O remodelamento parenquimatoso observado nos diferentes graus de atividade fibrótica da UIP (mínima, moderada e severa) se correlacionou com o aumento do sistema de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares encontrados nestes casos (Tabela 5). O aumento das fibras vasculares foi diretamente proporcional ao grau de remodelamento parenquimatoso encontrado neste grupo (Figura 21C e 21D): aumento máximo de fibras vasculares estiveram associados aos casos de atividade

fibrótica severa, aumentos intermediários de fibras estiveram associados a casos de atividade fibrótica moderada e aumentos mínimos de fibras se associaram a casos de atividade fibrótica mínima ($p=0.01$) (Tabela 6).

Tabela 4. Médias e valores de dispersão da quantificação de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística da correlação entre estas variáveis (teste “*t*” de Student).

Variáveis	Sistema colágeno/elástica vascular (Fração de área vascular)				
	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
Fibras de colágeno					
Controle	0.01	0.005	0.002	0.01	0.02
DAD	0.14	0.05	0.01	0.02	0.25
NSIP	0.24	0.03	0.008	0.18	0.31
UIP	0.29	0.06	0.008	0.18	0.44
Fibras elásticas					
Controle	0.05	0.02	0.007	0.03	0.07
DAD	0.21	0.03	0.005	0.14	0.28
NSIP	0.25	0.03	0.006	0.16	0.31
UIP	0.32	0.07	0.009	0.20	0.47

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão

Fibras de colágeno

Controle X DAD $p<0.001$; Controle X NSIP $p<0.001$; Controle X UIP $p<0.001$; DADXNSIP $p<0.001$; DAD X UIP $p<0.001$; NSIP X UIP $p=0.009$

Fibras elásticas

Controle X DAD $p<0.001$; Controle X NSIP $p<0.001$; Controle X UIP $p<0.001$; DADXNSIP $p=0.08$; DAD X UIP $p<0.001$; NSIP X UIP $p<0.001$

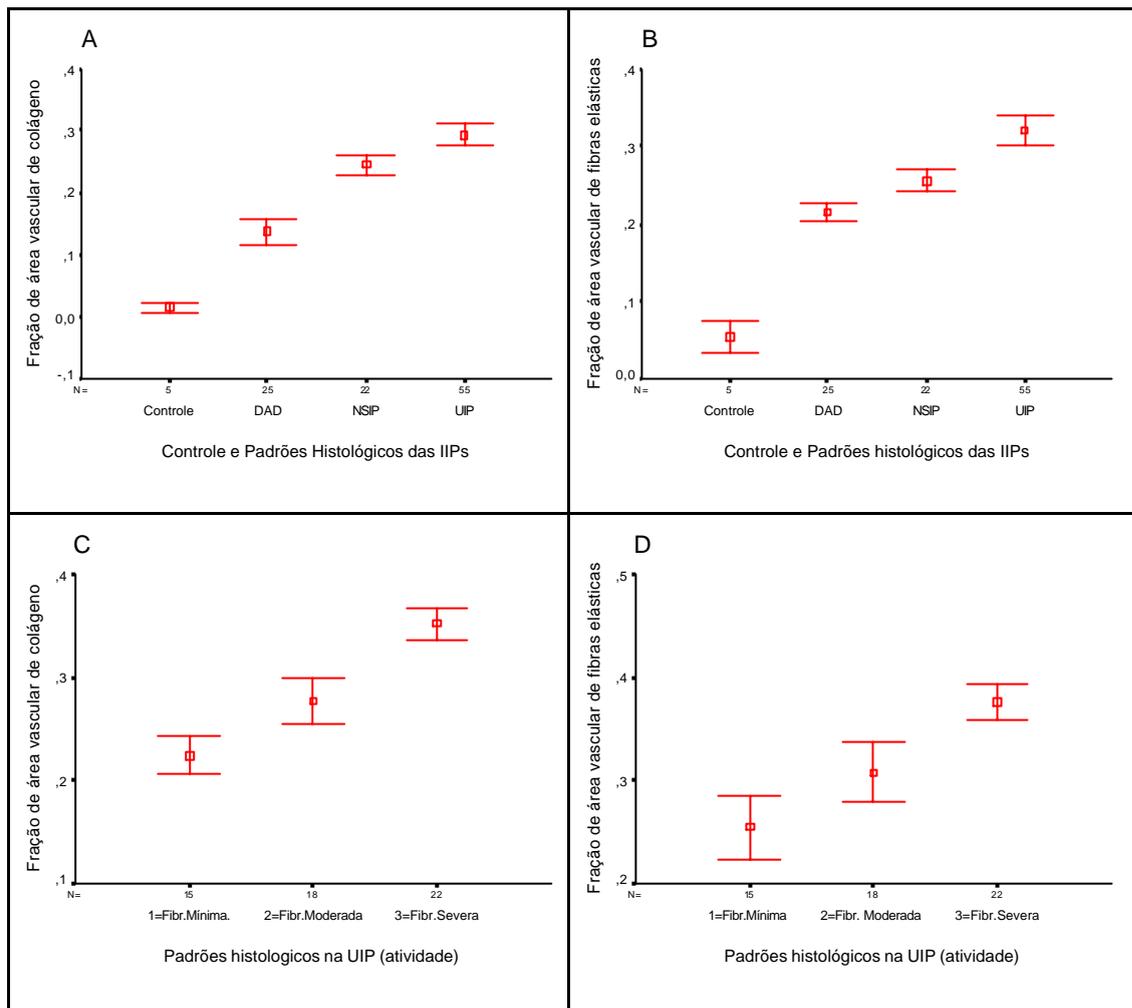


Figura 21. (A,B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a fração de área das fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares no grupo controle e nos casos de pneumonias intersticiais idiopáticas (IIPs): dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). (C,D) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a fração de área das fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares nas três subclassificações de UIP, de acordo com o grau de atividade fibrótica.

Tabela 5. Médias e valores de dispersão da quantificação de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares nas três subclassificações padrões de pneumonia intersticial usual (UIP), de acordo com o grau de atividade fibrótica. Análise estatística da correlação entre estas variáveis (teste “t” de Student).

Variáveis	Sistema colágeno/elástica vascular (Fração de área vascular)				
	Média	DP	ER	Mínimo	Máximo
Fibras de colágeno					
Fibr. mínima	0.22	0.03	0.008	0.18	0.29
Fibr. moderada	0.28	0.04	0.01	0.23	0.37
Fibr. severa	0.35	0.04	0.007	0.31	0.44
Fibras elásticas					
Fibr. mínima	0.25	0.05	0.01	0.20	0.37
Fibr. moderada	0.31	0.06	0.01	0.21	0.43
Fibr. severa	0.37	0.04	0.09	0.31	0.47

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; Fibr. mínima = atividade fibrótica mínima; Fibr. moderada = atividade fibrótica moderada; Fibr. severa = atividade fibrótica severa.

Fibras de colágeno

Fibr. mínima X Fibr. moderada $p=0.001$; Fibr. mínima X Fibr. severa $p<0.001$; Fibr. moderada X Fibr. severa $p<0.001$

Fibras elásticas

Fibr. mínima X Fibr. moderada $p=0.01$; Fibr. mínima X Fibr. severa $p<0.001$; Fibr. moderada X Fibr. severa $p<0.001$.

5.2.4. AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO REMODELAMENTO DA MICROCIRCULAÇÃO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

A positividade das células endoteliais para CD-34, VCAM-1 e E-selectina foram usadas para determinar a densidade e a atividade destas células nas IIPs estudadas.

As Figuras 22, 23, 24 e 25 mostram a imunolocalização do CD-34, do VCAM-1 e da E-selectina nos controles e nos padrões histológicos de NSIP, DAD, e UIP.

No grupo controle, observou-se uma distribuição uniforme e homogênea das células endoteliais dos capilares alveolares, marcados por CD-34 (Figura 22B), que coincidiu com a manutenção da arquitetura pulmonar vista na coloração de HE (Figura 22A).

Em contraste, o grupo da UIP mostrou uma imunolocalização heterogênea das células endoteliais (Figura 22K). A heterogeneidade da imunomarcacão seguiu o grau de distorção arquitetural parenquimatosa, maior nas áreas de fibrose mural organizante (distorção arquitetural severa) que nas de colapso alveolar (distorção arquitetural moderada). Por outro lado, a distribuição da imunomarcacão foi homogênea nas áreas normais (sem distorção arquitetural) de UIP. (Figura 23).

Os casos de NSIP e de DAD mostraram distribuição homogênea da imunomarcacão por CD-34 (Figuras 22E, 22H), apesar do espessamento inflamatório do septo alveolar no padrão da NSIP (Figura 22D) e da

formação de neoseptos e fibrose em organização no padrão DAD (Figura 22G).

Alterações igualmente importantes da atividade vascular, reveladas pela imunomarcação do VCAM-1 e da E-selectina são vistas nas figuras 22, 23, 24 e 25.

Em contraste às paredes alveolares normais dos pulmões controle, onde a atividade endotelial é mínima (imunomarcação rara por VCAM-1 e praticamente ausente por E-selectina) (Figuras 22C, 24B), as células endoteliais dos capilares do padrão histológico da UIP se mostraram bastante ativas (imunomarcação de células endoteliais bastante freqüente por VCAM-1 e E-selectina), tanto nas áreas normais, como nas de colapso alveolar e fibrose mural organizante (Figuras 23, 25).

Um grau mais uniforme de atividade endotelial, com imunomarcação de células endoteliais por VCAM-1 e E-selectina, foi observado nos grupos NSIP e DAD (Figuras 22, 24).

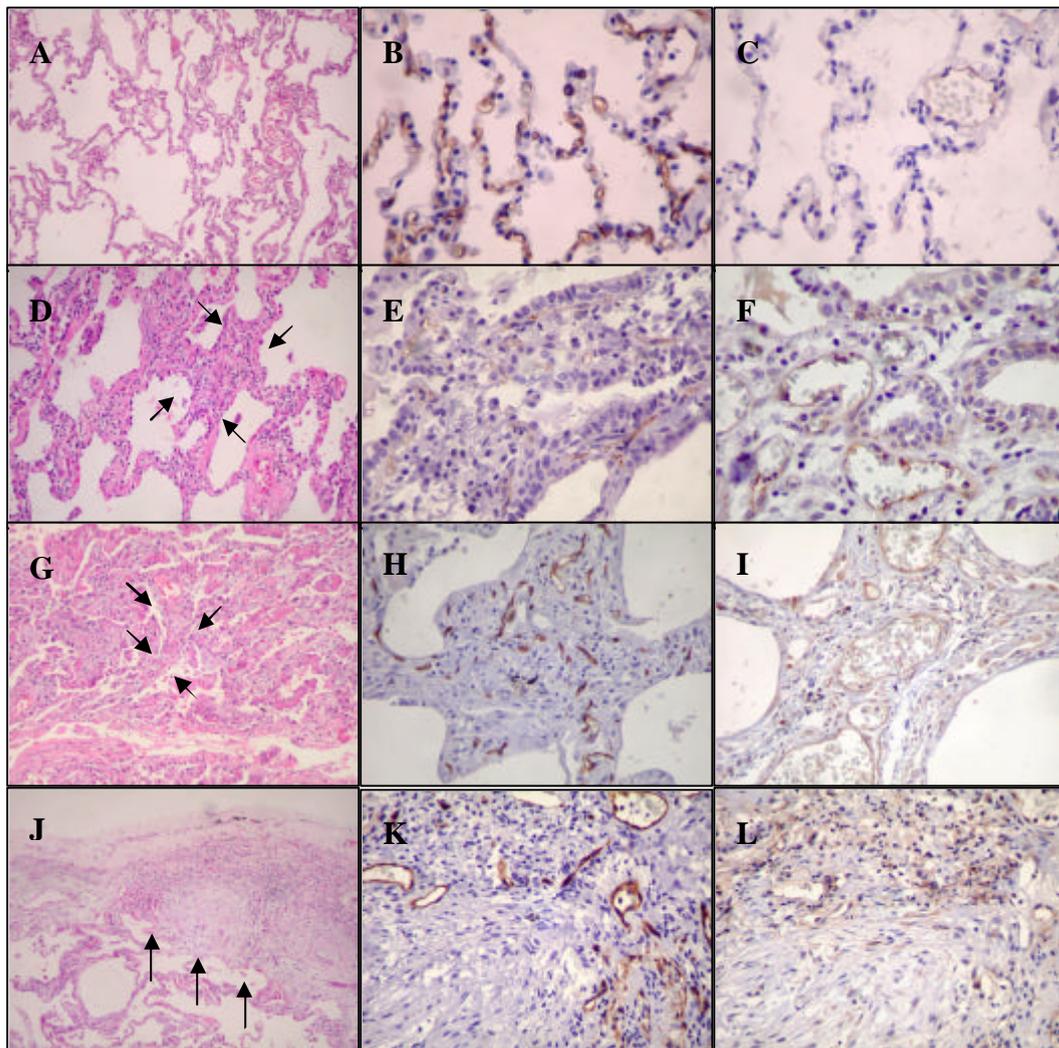


Figura 22. Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção endotelial por CD-34 e VCAM-1.

(A) Pulmão controle mostrando arquitetura pulmonar preservada; (B) uniformidade da imunomarcção com CD-34 e (C) mínima marcação com VCAM-1. (D) Padrão NSIP mostrando homogeneidade temporal e espessamento septal inflamatório (*setas*); (E) diminuição difusa da marcação endotelial por CD-34 e (F) aumento da marcação endotelial por VCAM-1 em relação ao controle. (G) Padrão DAD mostrando envolvimento difuso do processo de fibrose obliterativa e formação de neoseptos (*setas*); (H) difusa e homogênea diminuição da marcação endotelial por CD-34 e (I) aumento da marcação endotelial por VCAM-1. (J) Padrão UIP mostrando heterogeneidade temporal da doença, caracterizada por focos de fibroblastos (*setas*); (K) observa-se diminuição importante da marcação endotelial por CD-34, principalmente nas áreas de fibrose mural organizante e (L) aumento da marcação endotelial por VCAM-1 nestas áreas (L). HE – (A,D,G,J) 200X; CD-34 (B,E,G,K) 400X; VCAM-1 (C,F,I,L) 400X.

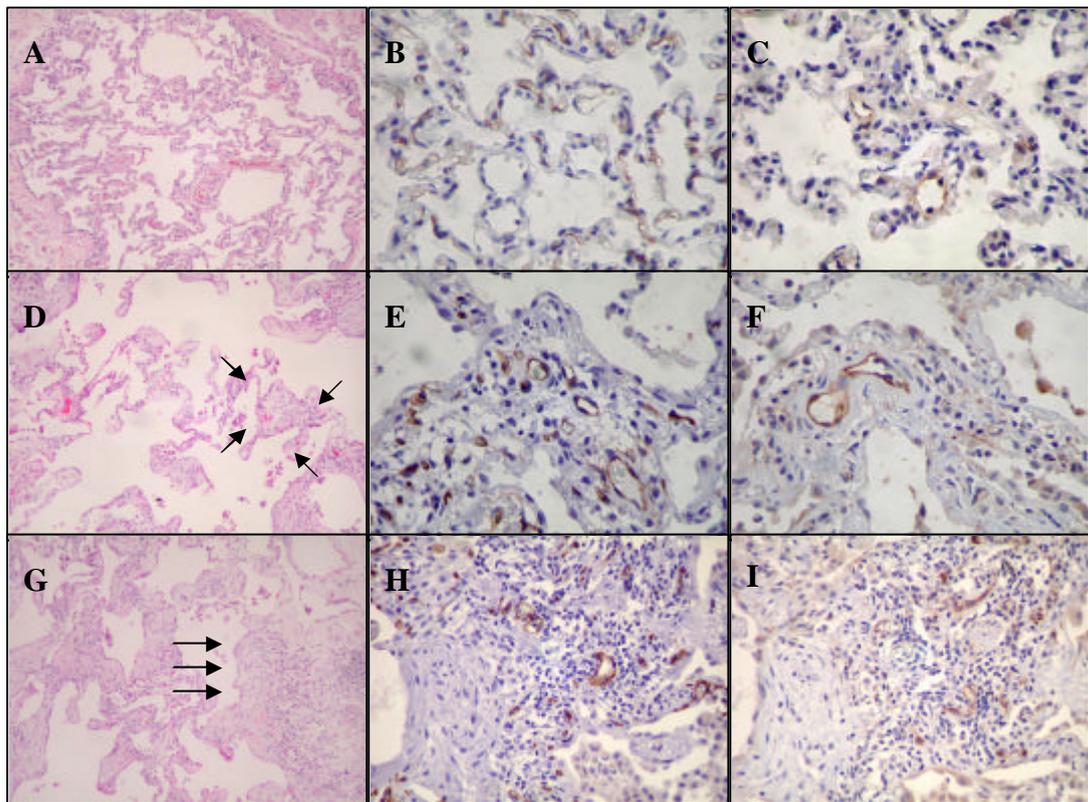


Figura 23. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção por CD-34 e por VCAM-1.

(A) área normal, (D) área de colapso alveolar (*setas*); (G) área de fibrose mural organizante, com presença de focos de fibroblastos (*setas*); (B,E,H) marcação heterogênea por CD-34, que diminui à medida que aumenta a intensidade do remodelamento arquitetural; (C,F,I) marcação heterogênea por VCAM-1, que aumenta à medida que o remodelamento arquitetural se intensifica. HE – (A,D,G) 200X; CD-34 (B,E,H) 400X; VCAM-1 (C,F,I) 400X

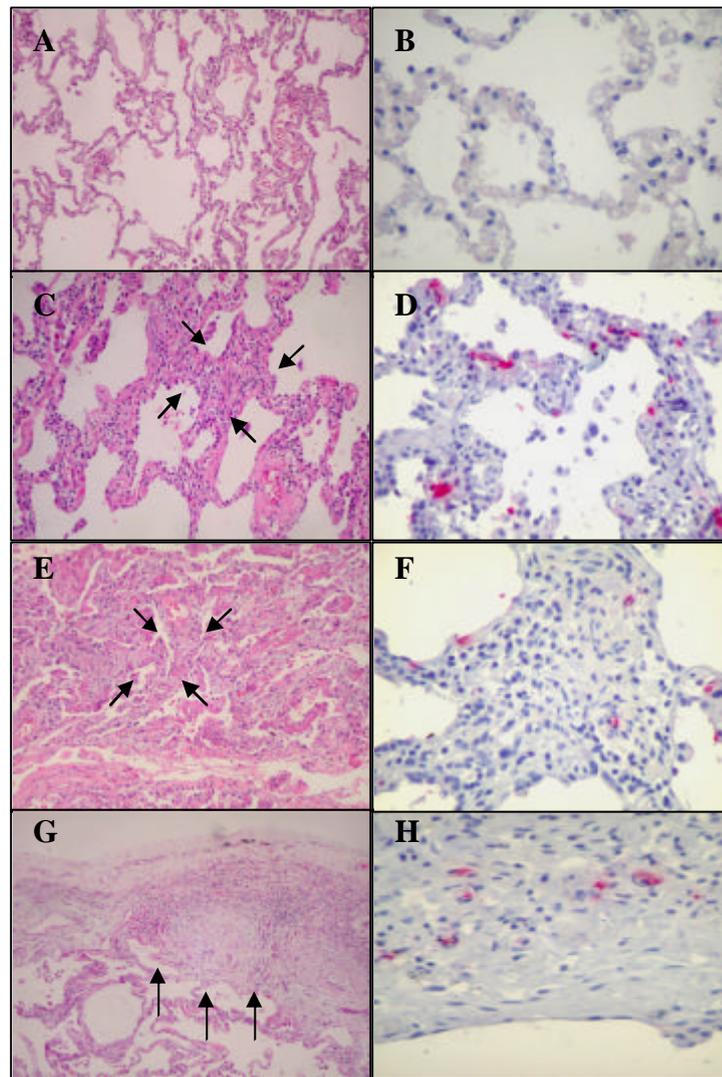


Figura 24. Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção endotelial por E-Selectina.

(A) Pulmão controle mostrando arquitetura pulmonar preservada, (B) ausência da marcação por E-selectina neste grupo controle. (C) Padrão NSIP mostrando homogeneidade temporal e espessamento septal inflamatório (*setas*); (D) aumento difuso da marcação endotelial por E-selectina em comparação ao grupo controle. (E) Padrão DAD mostrando envolvimento difuso por fibrose obliterativa e formação de neoseptos (*setas*); (G) aumento difuso e homogêneo da marcação endotelial por E-selectina. (H) Padrão UIP mostrando a heterogeneidade temporal, caracterizada por fibrose mural organizante e presença de focos de fibroblastos (*setas*); (I) aumento da marcação endotelial por E-selectina. HE – (A,C,E,G) 200X; E-selectina (B,D,F,G) 400X

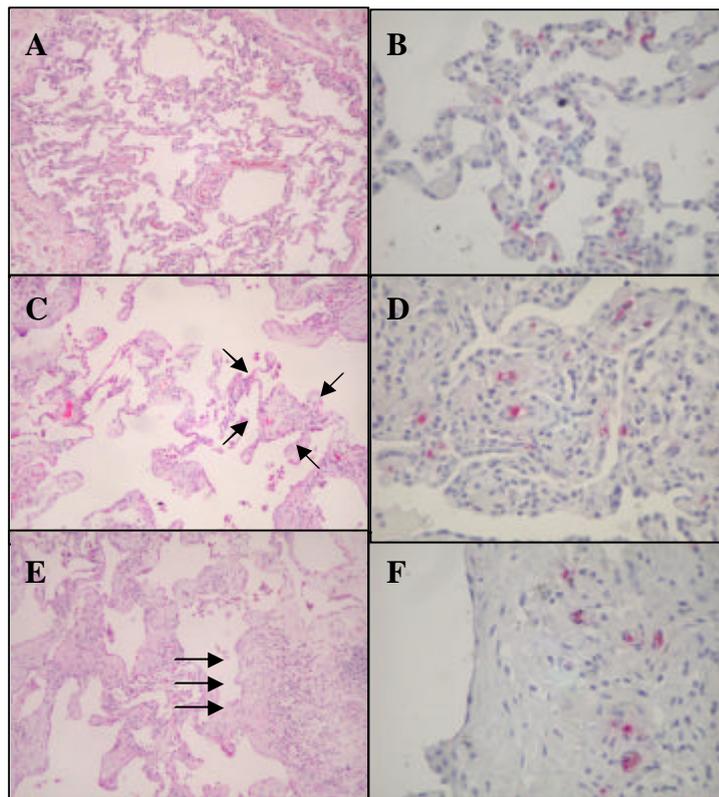


Figura 25. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção por E-selectina.

(A) Áreas normais; (C) áreas intermediárias de colapso alveolar (*setas*) e (E) áreas de fibrose mural organizante com presença de focos de fibroblastos (*setas*). (B,D,F) Observa-se o importante aumento da marcação endotelial por E-selectina nas três diferentes áreas deste padrão histológico. HE – (A,B,C) 200X; E-selectina (B, D, F) 400X.

5.2.5. AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA MICROCIRCULAÇÃO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

Para avaliar a densidade de capilar não homogêneo e atividade das células endoteliais nas paredes alveolares, a expressão de CD-34, VCAM-1 e E-selectina foram quantificadas nos controles e nos casos de NSIP, DAD e UIP em análise morfométrica quantitativa. A comparação entre a densidade vascular no grupo controle e nos padrões histológicos da NSIP, DAD e UIP, são mostrados na Figura 26 e na Tabela 6.

A densidade vascular, medida pela porcentagem de positividade para CD-34, diminuiu progressivamente da NSIP, passando pelo DAD, até a UIP. No padrão NSIP a porcentagem de pontos positivos foi de $11.69 \pm 1.46\%$, contra $8.64 \pm 1.89\%$ no DAD e $6.51 \pm 2.07\%$ na UIP. Assim, quanto maior o comprometimento fibrótico parenquimatoso, menor a densidade vascular da microcirculação. Em todos os grupos de IIPs, a densidade vascular foi menor que no grupo controle ($15.56 \pm 1.05\%$). A comparação entre todos os grupos teve $p < 0.001$ (Figura 26A e Tabela 6).

Em relação à subclassificação histológica da UIP, a densidade vascular diminuiu conforme aumentou o grau de atividade fibrótica, desde a atividade fibrótica mínima passando pela atividade fibrótica moderada à severa (Figura 26C e Tabela 7).

Ainda na UIP, as três áreas histológicas, representantes da heterogeneidade temporal, mostraram uma chamativa diminuição da densidade vascular conforme aumentou o comprometimento arquitetural parenquimatoso (Figura 26E). A porcentagem de positividade para CD-34

passa de $9.04 \pm 3.25\%$ nas áreas normais de UIP, para $6.17 \pm 2.17\%$ nas áreas de colapso alveolar, chegando a $4.31 \pm 1.43\%$ nas áreas de fibrose mural organizante (Tabela 8). Ressalta-se que, mesmo nas áreas normais dos casos de UIP, a porcentagem de pontos positivos para CD-34 esteve diminuída em relação ao grupo controle.

Em relação à atividade endotelial, de forma inversa ao que ocorreu com o CD-34, as marcações imuno-histoquímicas por VCAM-1 e E-selectina aumentaram conforme cresceu o grau de comprometimento arquitetural. A maior atividade endotelial foi de $1.12 \pm 0.37\%$ para a marcação com o anticorpo VCAM-1 e de $0.72 \pm 0.49\%$ para a marcação com o anticorpo E-selectina no grupo de UIP. Esta atividade foi diminuindo para ambos os marcadores no grupo DAD (VCAM-1 com positividade de $0.92 \pm 0.17\%$ e E-selectina com positividade de $0.79 \pm 0.46\%$) e ainda mais no grupo NSIP (VCAM-1 com positividade de $0.69 \pm 0.10\%$ e E-selectina com positividade de $0.31 \pm 0.18\%$). No controle, a atividade endotelial pela marcação de VCAM-1 foi de $0.24 \pm 0.05\%$ e ausente para o marcador da E-selectina, os menores valores obtidos. A maior parte das comparações entre os grupos teve $p < 0.05$ (Figura 26B, 27A e Tabela 6).

Em relação à subclassificação histológica da UIP, a atividade vascular não apresentou significância estatística na comparação entre os casos de atividade fibrótica mínima, moderada e severa, como mostram as Figuras 26D e 27B e a Tabela 7.

Ainda na UIP, as três áreas histológicas de heterogeneidade temporal mostraram um chamativo aumento da atividade vascular conforme aumenta

o comprometimento arquitetural parenquimatoso (Figura 26F, 27B). A porcentagem de positividade para VCAM-1 e E-selectina passa de $0.39 \pm 0.34\%$ e $0.28 \pm 0.32\%$, respectivamente, nas áreas normais de UIP, para $0.71 \pm 0.38\%$ e $0.61 \pm 0.53\%$, respectivamente, nas áreas de colapso alveolar, chegando a $1.40 \pm 0.62\%$ para VCAM-1 e $1.28 \pm 0.82\%$ para E-selectina nas áreas de fibrose mural organizante (Tabela 7). Na comparação entre as três áreas, para os dois marcadores, p foi menor ou igual a 0.01.

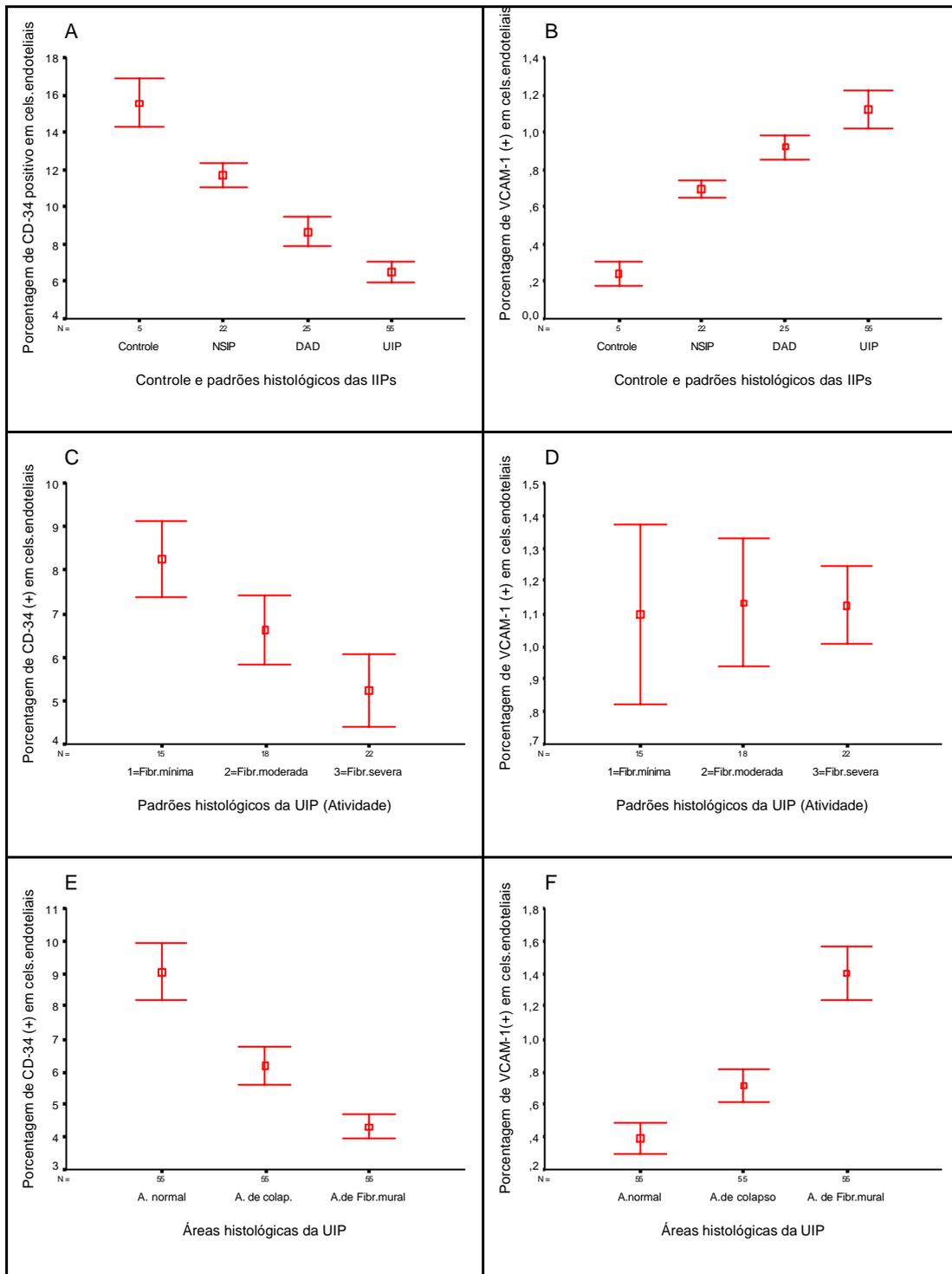


Figura 26. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (A) CD-34 e (B) VCAM-1 no grupo controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (C) CD-34 e (D) VCAM-1 nas três subclassificações da atividade fibrótica da UIP. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (E) CD-34 e (F) VCAM-1 nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP.

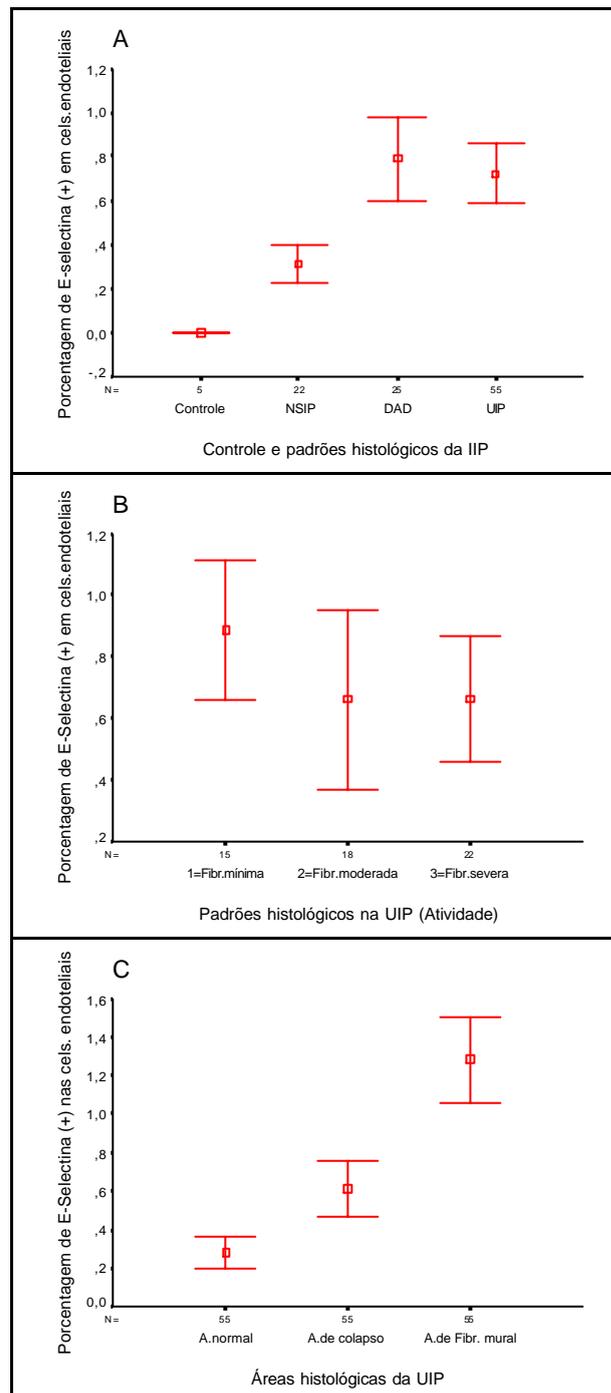


Figura 27. (A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina nas três subclassificações da atividade fibrótica da UIP. (C) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de E-selectina nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.

Tabela 6. Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.

Variáveis	Estudo da densidade e atividade endotelial (Porcentagem de pontos positivos)				
	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
CD-34					
Controle	15.56	1.05	0.47	14.60	17.10
NSIP	11.69	1.46	0.31	9.30	14.50
DAD	8.64	1.89	0.39	5.60	11.90
UIP	6.51	2.07	0.28	2.73	10.07
VCAM-1					
Controle	0.24	0.05	0.02	0.20	0.30
NSIP	0.69	0.10	0.02	0.60	0.90
DAD	0.92	0.17	0.03	0.50	1.20
UIP	1.12	0.37	0.05	0.43	1.87
E-Selectina					
Controle	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NSIP	0.31	0.18	0.04	0.10	0.70
DAD	0.79	0.46	0.09	0.10	1.90
UIP	0.72	0.49	0.06	0.00	2.00

DP= Desvio Padrão; EP = Erro Padrão

CD-34

Controle X NSIP $p < 0.001$; Controle X DAD $p < 0.001$; Controle X UIP $p < 0.001$; NSIP X DAD $p < 0.001$; NSIP X UIP $p < 0.001$; DAD X UIP $p < 0.001$

VCAM-1

Controle X NSIP $p = 0.009$; Controle X DAD $p < 0.001$; Controle X UIP $p < 0.001$; NSIP X DAD $p = 0.04$; NSIP X UIP $p < 0.001$; DAD X UIP $p = 0.02$

E-Selectina

Controle X NSIP $p > 0.05$; Controle X DAD $p = 0.002$; Controle X UIP $p = 0.003$; NSIP X DAD $p = 0.001$; NSIP X UIP $p = 0.002$; DAD X UIP $p > 0.05$

Tabela 7. Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina nos três nas três subclassificações padrões de pneumonia intersticial usual (UIP), de acordo com o grau de atividade fibrótica. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.

Estudo da densidade e atividade endotelial (Porcentagem de pontos positivos)					
Variáveis	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
CD-34					
Fibr. mínima	8.25	1.60	0.41	4.67	10.07
Fibr. moderada	6.63	1.58	0.37	3.57	10.07
Fibr. severa	5.22	1.85	0.39	2.73	8.47
VCAM-1					
Fibr. mínima	1.09	0.49	0.12	0.43	1.87
Fibr. moderada	1.13	0.39	0.09	0.57	1.80
Fibr. severa	1.12	0.26	0.05	0.67	1.57
E-Selectina					
Fibr. mínima	0.88	0.40	0.10	0.43	1.83
Fibr. moderada	0.66	0.58	0.13	0.00	2.00
Fibr. severa	0.66	0.45	0.09	0.03	1.97

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; Fibr. mínima = atividade fibrótica mínima; Fibr. moderada = atividade fibrótica moderada; Fibr. severa = atividade fibrótica severa.

CD-34

Fibr. mínima X Fibr. moderada $p=0.02$; Fibr. mínima X Fibr. severa $p<0.001$; Fibr. moderada X Fibr. severa $p=0.03$

VCAM-1

Fibr. mínima X Fibr. moderada $p>0.05$; Fibr. mínima X Fibr. severa $p>0.05$; Fibr. moderada X Fibr. severa $p>0.05$.

E-Selectina

Fibr. mínima X Fibr. moderada $p>0.05$; Fibr. mínima X Fibr. severa $p>0.05$; Fibr. moderada X Fibr. severa $p>0.05$

Tabela 8. Médias e valores de dispersão das porcentagens de CD-34, VCAM-1 e E-selectina nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da pneumonia intersticial usual (JIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.

Estudo da densidade e atividade endotelial (Porcentagem de pontos positivos)					
Variáveis	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
CD-34					
A. normal	9.04	3.25	0.44	2.70	14.90
A. de colap.	6.17	2.17	0.29	2.40	9.90
A. de fibr. mural	4.31	1.43	0.19	1.40	7.70
VCAM-1					
A. normal	0.39	0.34	0.04	0.00	1.80
A. de colap.	0.71	0.38	0.05	0.20	2.30
A. de fibr. mural	1.40	0.62	0.08	0.60	2.70
E-Selectina					
A. normal	0.28	0.32	0.04	0,00	1,40
A. de colap.	0.61	0.53	0.07	0.00	2,30
A. de fibr. mural	1,28	0.82	0.11	0.00	3,40

DP= Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; A. normal = Área normal; A. de colap. = Área de colapso alveolar; A. de fibr. mural = Área de fibrose mural organizante.

CD-34

A. normal X A de colapso $p < 0.001$; A. normal X A. de fibr. mural $p < 0.001$; A. de colapso X A de fibr. mural $p < 0.001$.

VCAM-1

normal X A de colapso $p < 0.001$; A. normal X A. de fibr. mural $p < 0.001$; A. de colapso X A de fibr. mural $p < 0.001$.

E-Selectina

A. normal X A de colapso $p = 0.01$; A. normal X A. de fibr. mural $p < 0.001$; A. de colapso X A de fibr. mural $p < 0.001$.

5.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE EPITELIAL NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAS IDIOPÁTICAS

A atividade das células epiteliais foi avaliada mediante a marcação da molécula de adesão intercelular (ICAM-1), como é mostrado nas figuras 28, 29 e 30 nos diferentes padrões histológicos de IIPs analisados e dentro das áreas histológicas de heterogeneidade temporal da UIP.

A atividade epitelial da NSIP foi a menor dentre os padrões histológicos das IIPs, com $0.03 \pm 0.21\%$ de pontos positivos. A comparação dos resultados da NSIP com os padrões histológicos DAD e UIP teve $p < 0.05$ (Figura 28, 30A).

No padrão histológico DAD, a porcentagem de pontos sobre epitélio ativo foi de $0.48 \pm 0.17\%$, bem maior que a da NSIP ($p = 0.007$). DAD também teve uma porcentagem de marcação epitelial maior que a do grupo UIP, que foi de $0.44 \pm 0.11\%$, mas a comparação entre DAD e UIP não teve significância estatística (Figura 28, 30A e Tabela 8). No controle, a atividade epitelial pela marcação de ICAM-1 foi de $0.02 \pm 0.01\%$, o menor valor obtido dos quatro grupos estudados.

Em relação à subclassificação histológica da UIP, a comparação da porcentagem de marcação epitelial entre os grupos de atividade fibrótica mínima, moderada e severa não apresentou diferença com significância estatística.

Ainda na UIP, as três áreas histológicas de heterogeneidade temporal mostraram um chamativo aumento da atividade endotelial conforme

aumenta o comprometimento arquitetural parenquimatoso (Figura 29, 30B). A porcentagem de positividade para ICAM-1 passou de $0.13 \pm 0.14\%$, nas áreas normais de UIP, para $0.38 \pm 0.28\%$, nas áreas de colapso alveolar, chegando a $0.83 \pm 0.23\%$ para ICAM-1 nas áreas de fibrose mural organizante, maior valor de positividade encontrado (Tabela 8). Na comparação entre as três áreas citadas para este marcador, o p foi menor que 0.001 (Tabela 8).

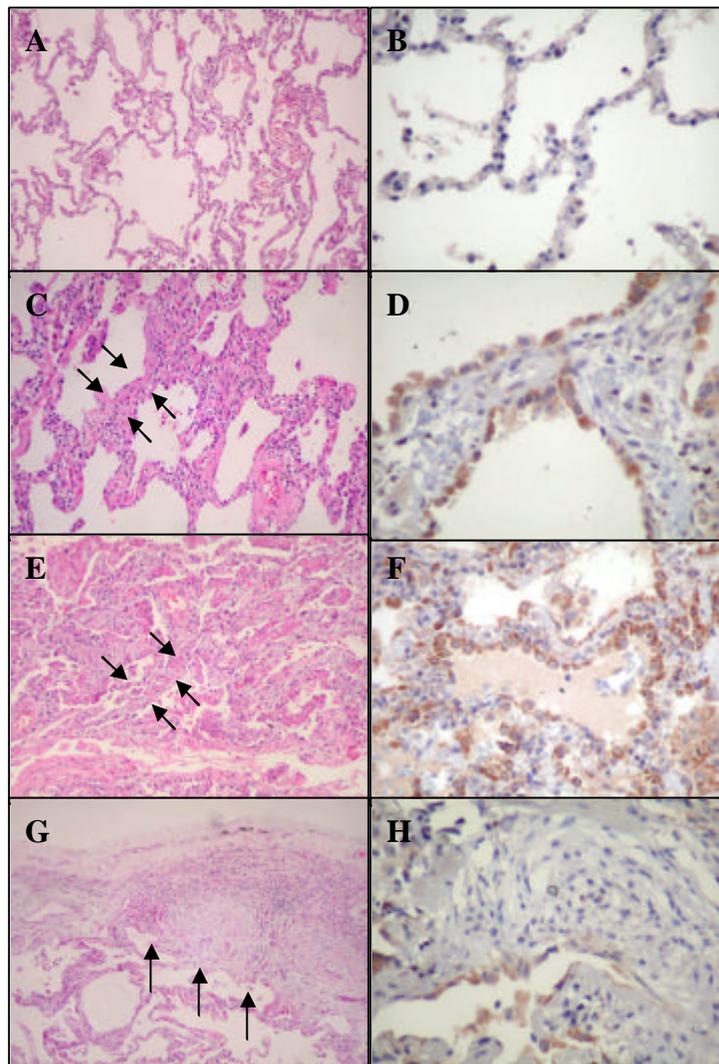


Figura 28 Controle e casos de dano alveolar difuso (DAD), de pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e de pneumonia intersticial usual (UIP) em Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção epitelial por ICAM-1.

(A) Pulmão controle mostrando arquitetura pulmonar preservada, (B) mínima marcação epitelial por ICAM-1 neste grupo controle. (C) Padrão NSIP mostrando homogeneidade temporal e espessamento septal inflamatório (*setas*); (D) aumento difuso da marcação epitelial por ICAM-1. (E) Padrão DAD mostrando envolvimento difuso por fibrose obliterativa e formação de neoseptos (*setas*); (G) aumento difuso e homogêneo da marcação epitelial por ICAM-1. (H) Padrão UIP mostrando a heterogeneidade temporal, caracterizada por fibrose mural organizante e presença de focos de fibroblastos (*setas*); (I) aumento da marcação epitelial por ICAM-1. HE – (A,C,E,G) 200X; ICAM-1 (B,D,F,G) 400X

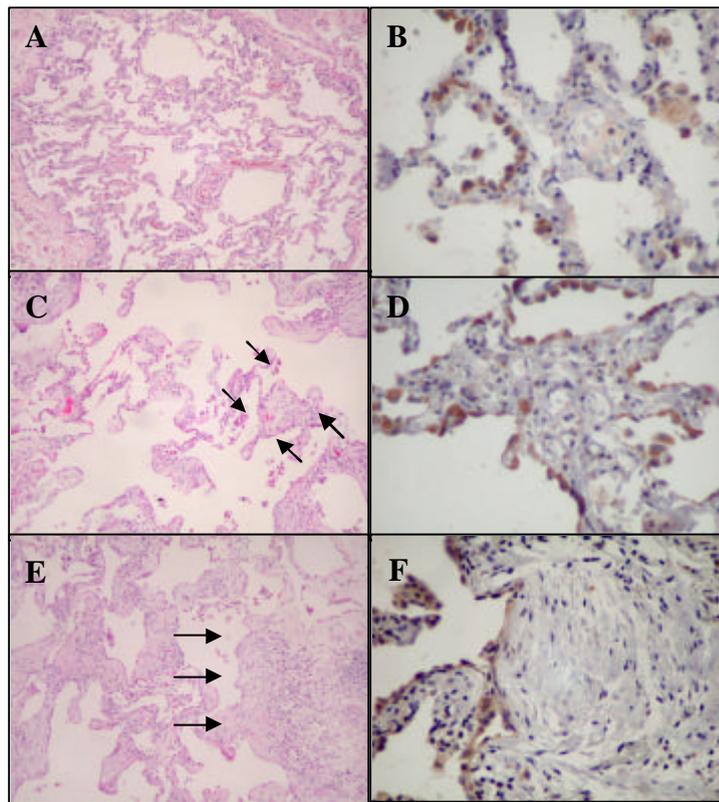


Figura 29 Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção epitelial por ICAM-1.

(A) Áreas normais; (C) áreas intermediárias de colapso alveolar (*setas*) e (E) áreas de fibrose mural organizante com presença de focos de fibroblastos (*setas*). (B,D,F) Observa-se o importante aumento da marcação epitelial por ICAM-1 nas três diferentes áreas deste padrão histológico. HE – (A,B,C) 200X; ICAM-1 (B, D, F) 400X.

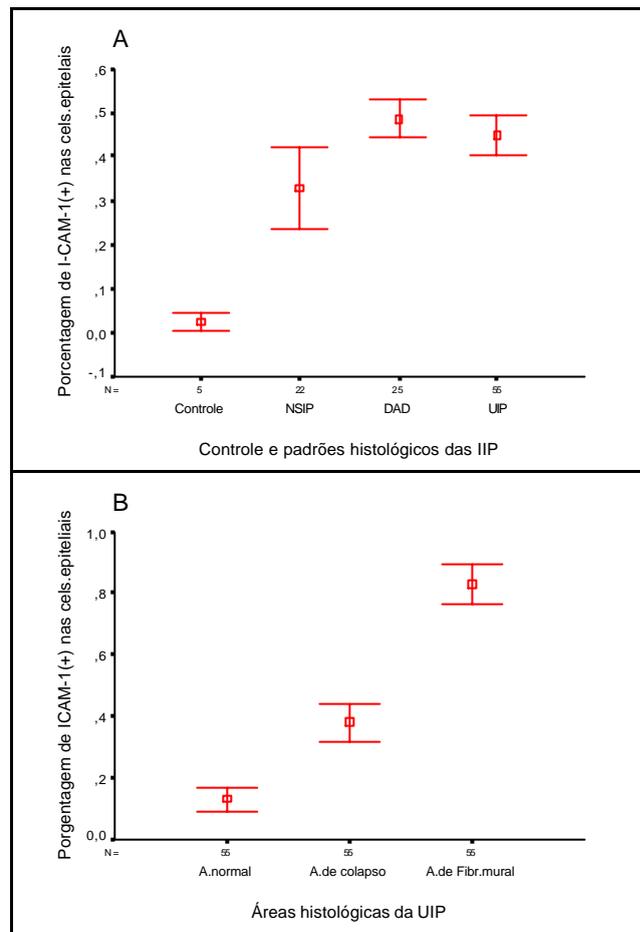


Figura 30. (A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a percentagem de ICAM-1 no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a percentagem de ICAM-1 nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.

Tabela 9. Médias e valores de dispersão das porcentagens de ICAM-1 no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP), pneumonia intersticial usual (UIP) e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas e utilizando o teste “t” de Student para análise de duas variáveis.

Variáveis	Estudo da atividade epitelial (Porcentagem de pontos positivos)				
	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
ICAM-1					
Controle	0.02	0.01	0.006	0.01	0.05
NSIP	0.33	0.21	0.04	0.02	0.74
DAD	0.48	0.11	0.02	0.31	0.73
UIP	0.44	0.17	0.02	0.03	0.75
A. normal	0.13	0.14	0.01	0.00	0.57
A. de colap.	0.38	0.23	0.03	0.02	0.84
A. de fibr. mural	0.83	0.23	0.03	0.07	1,00

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; A. normal = área normal; A de colap. = área de colapso alveolar; A de fibr. Mural = área de fibrose mural organizante.

ICAM-1

Controle X NSIP $p=0.002$; Controle X DAD $p<0.001$; Controle X UIP $p<0.001$; NSIP X DAD $p=0.007$; NSIP X UIP $p=0.02$; DAD X UIP $p>0.05$

A. normal X A de colapso $p<0.001$; A. normal X A. de fibr. mural $p<0.001$; A. de colapso X A de fibr. mural $p<0.001$.

5.4. MAPEAMENTO DO SISTEMA INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL

O sistema inflamatório foi avaliado no interstício do parênquima pulmonar em 20 casos de cada uma das três entidades estudadas.

5.4.1. AVALIAÇÃO QUALITATIVA DO ESPECTRO INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

As figuras 31 e 32 mostram a distribuição das células inflamatórias no interstício pulmonar dos compartimentos axial, septal e periférico do DAD, NSIP e UIP. A observação das lâminas coradas por HE e imunomarcadas por CD-4, CD-8, CD-3, CD-20, elastase de neutrófilos e CD-68 permitiu as seguintes conclusões:

As subpopulações das células linfocitárias CD-4, CD-8 e CD-3 e as células plasmocitárias apareceram como as células mais numerosas presentes no interstício septal modificado por fibrose obliterativa e formação de neoseptos nos pulmões dos casos do DAD (Figura 31).

As células plasmocitárias, neutrófilos e a subpopulação de linfócitos CD-4, CD-8 e CD-3 foram as células inflamatórias predominantes nos casos de NSIP, distribuídas difusamente ao longo do interstício septal (Figura 31).

As células linfóides CD-20 foram o tipo celular predominante nos agregados foliculares do interstício septal.

Os linfócitos T CD-4, CD-8 e CD-3 e as células plasmocitárias foram as células inflamatórias mais numerosas encontradas no interstício septal modificado por fibrose mural organizante e por faveolamento pulmonar nos

casos de UIP (Figura 32). Foram encontrados agregados pequenos, difusamente distribuídos no interstício ou em torno dos focos de fibroblasto de CD-20. Os neutrófilos foram principalmente observados no epitélio da superfície alveolar e dentro das paredes alveolares (Figura 32).

Um número muito pequeno de células inflamatórias foi encontrado no interstício das áreas de colapso alveolar e das áreas de parênquima normal dos casos de UIP .

Em todos os três padrões histológicos, os macrófagos (células CD-68 positivas) distribuíram-se preferencialmente na lâmina própria das vias aéreas.

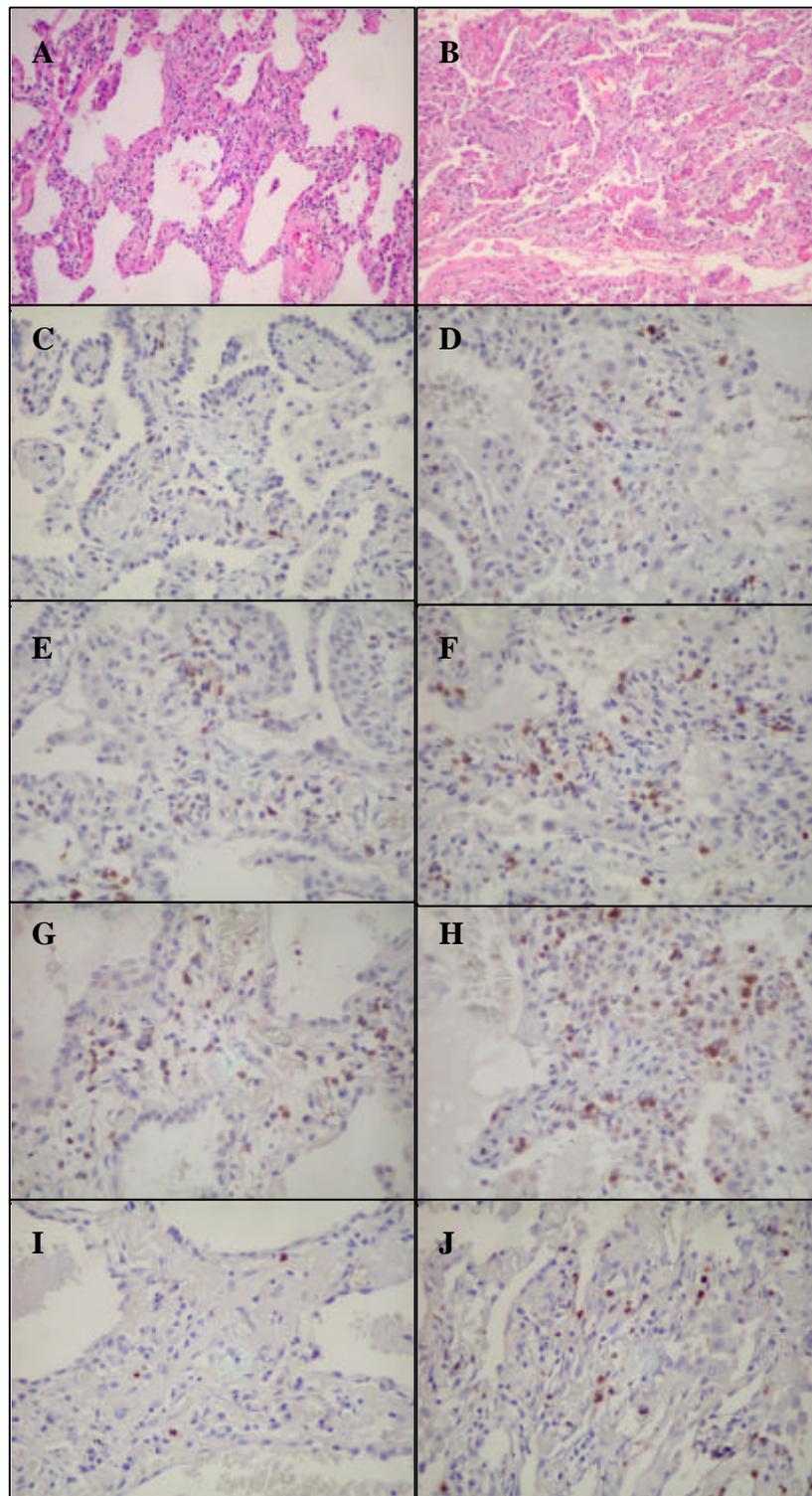


Figura 31. Mapeamento do infiltrado inflamatório intersticial na pneumonia intersticial não-específica (NSIP) e no dano alveolar difuso (DAD).

(A) Padrão NSIP com infiltrado inflamatório septal; (B) Padrão DAD com formação de neoseptos. Imunomarcagem com (C,D) CD-4; (E,F) CD-8; (G,H) CD-3 e (I,J) elastase de neutrófilos em casos de NSIP e DAD, respectivamente. HE – (A,B) 200X, CD-4 (C,D) 400X, CD-8 (E,F) 400X, CD-3 (G,H) 400X, elastase de neutrófilos (I,J) 400X.

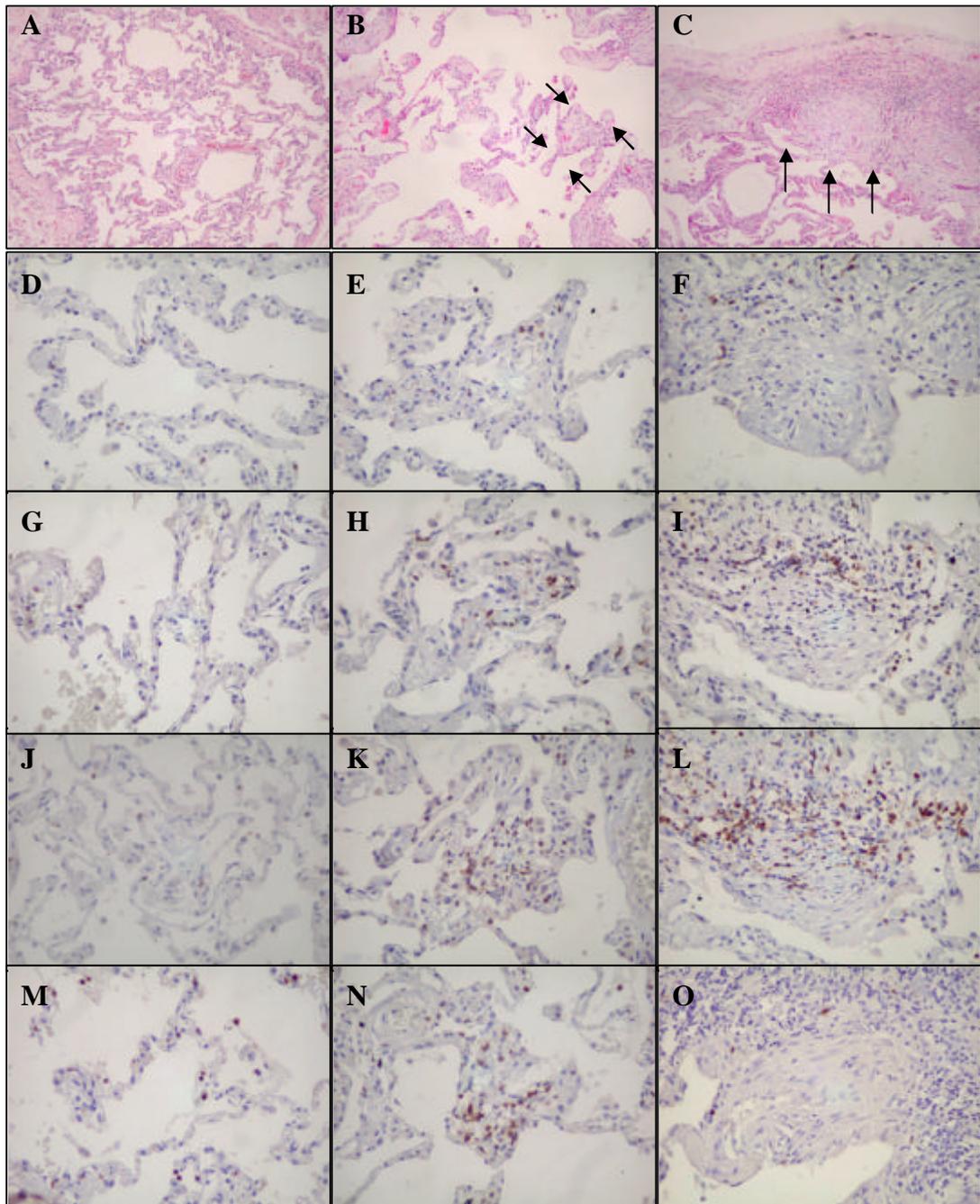


Figura 32. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunomarcção do infiltrado inflamatório intersticial.

(A) área normal; (B) de colapso alveolar (*setas*); (C) e de fibrose mural organizante com presença de focos de fibroblastos (*setas*); (D,E,F) imunomarcção com CD-4; (G,H,I) CD-8; (J,K,L) CD-3 e (M,N,O) elastase de neutrófilos nas áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante, respectivamente. HE – (A,B,C) 200X, CD-4 (D,E,F) 400X, CD-8 (G,H,I) 400X CD-3 (J,K,L) 400X, elastase de neutrófilos (M,N,O) X400.

5.4.2. AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DO ESPECTRO INFLAMATÓRIO NAS PNEUMONIAS INTERSTICIAIS IDIOPÁTICAS

Associações, médias e valores de dispersão das porcentagens das células inflamatórias nos padrões histológicos de DAD, NSIP e UIP são apresentados nas Figuras 33 e 34 e na Tabela 9.

Os achados quantitativos das células inflamatórias ao longo do interstício pulmonar coincidiram com as análises qualitativas encontradas. A densidade total de células inflamatórias (somatório de porcentagens de positividade para CD-4, CD-8, CD-3, CD-20, elastase de neutrófilos, CD-68 e plasmócitos) foi significativamente maior no DAD e na NSIP que na UIP ($4.31 \pm 2.18\%$ no DAD vs $4.36 \pm 1.84\%$ na NSIP vs $2.71 \pm 0.68\%$ na UIP, com $p < 0.05$ para todas as comparações).

A densidade de células linfocitárias (porcentagens de positividade para CD-4, CD-8, CD-3 e CD-20 somadas) também foi maior no DAD e na NSIP quando comparadas aos pulmões dos casos de UIP ($2.38 \pm 1.36\%$ vs $1.31 \pm 0.40\%$ vs $2.33 \pm 1.23\%$, respectivamente, com $p < 0.05$ para todas as comparações).

Significado estatístico foi encontrado também no aumento da densidade do número de células plasmocitárias na NSIP ($1.37 \pm 0.75\%$) e na UIP ($1.16 \pm 0.45\%$) quando comparados aos pulmões de DAD ($0.91 \pm 0.58\%$).

Observou-se um aumento de macrófagos intersticiais CD-68+ nos casos de DAD e NSIP quando comparados aos casos de UIP ($0.36 \pm 0.21\%$ vs $0.13 \pm 0.12\%$ vs $0.04 \pm 0.04\%$, respectivamente, com $p < 0.05$ para todas as comparações). A elastase de neutrófilos, indicando a marcação de

neutrófilos, da mesma forma que o CD-68, teve maior positividade nos casos de DAD ($0.62 \pm 0.24\%$), seguida por NSIP ($0.50 \pm 0.24\%$) e UIP ($0.16 \pm 0.11\%$), com $p < 0.05$ para todas as comparações.

A imunomarcção por CD-20 resultou em baixa porcentagem de positividade em todos os grupos estudados. As diferenças encontradas para a subpopulação de linfócitos T CD-4, CD-8 e CD-3 na NSIP ($0.31\% \pm 0.24$, $0.55\% \pm 0.29$, $1.46 \pm 0.46\%$), no DAD ($1.20 \pm 1.02\%$, $0.54 \pm 0.52\%$, $0.63 \pm 0.44\%$) e na UIP ($0.61 \pm 0.27\%$, $0.16 \pm 0.09\%$, $0.54 \pm 0.21\%$) não tiveram significância estatística na comparação entre os padrões histológicos.

No controle, as estimativas do infiltrado inflamatório total, das subpopulação de linfócitos T (CD-4, CD-8 e CD-3), linfócitos B (CD-20), de neutrófilos e de plasmócitos tiveram os menores valores obtidos dos quatro grupos estudados.

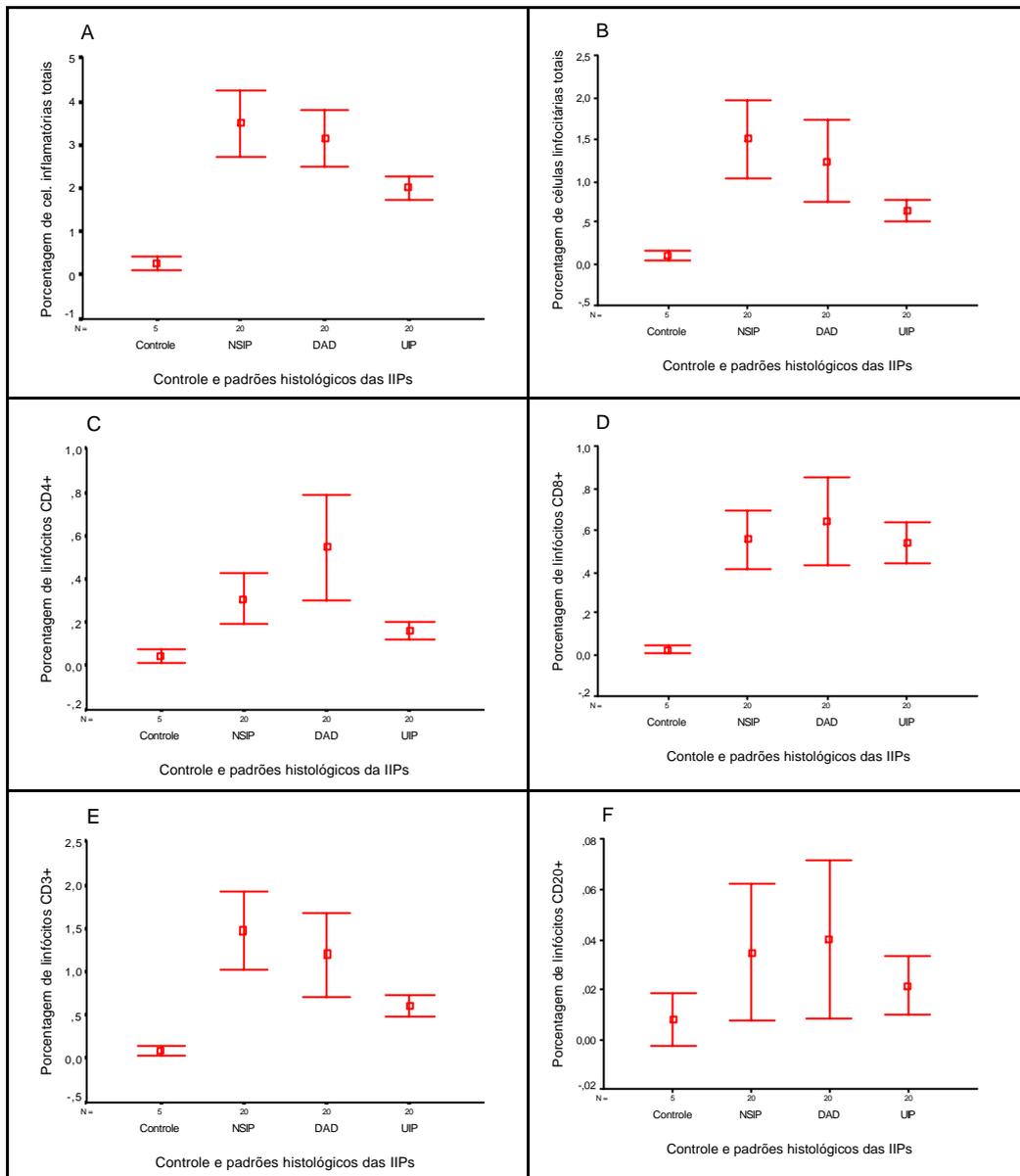


Figura 33. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de (A) células inflamatórias totais, (B) linfócitos totais, subpopulações de linfócitos T (C) CD-4, (D) CD-8 e (E) CD-3 e (F) linfócitos B (CD-20) no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP).

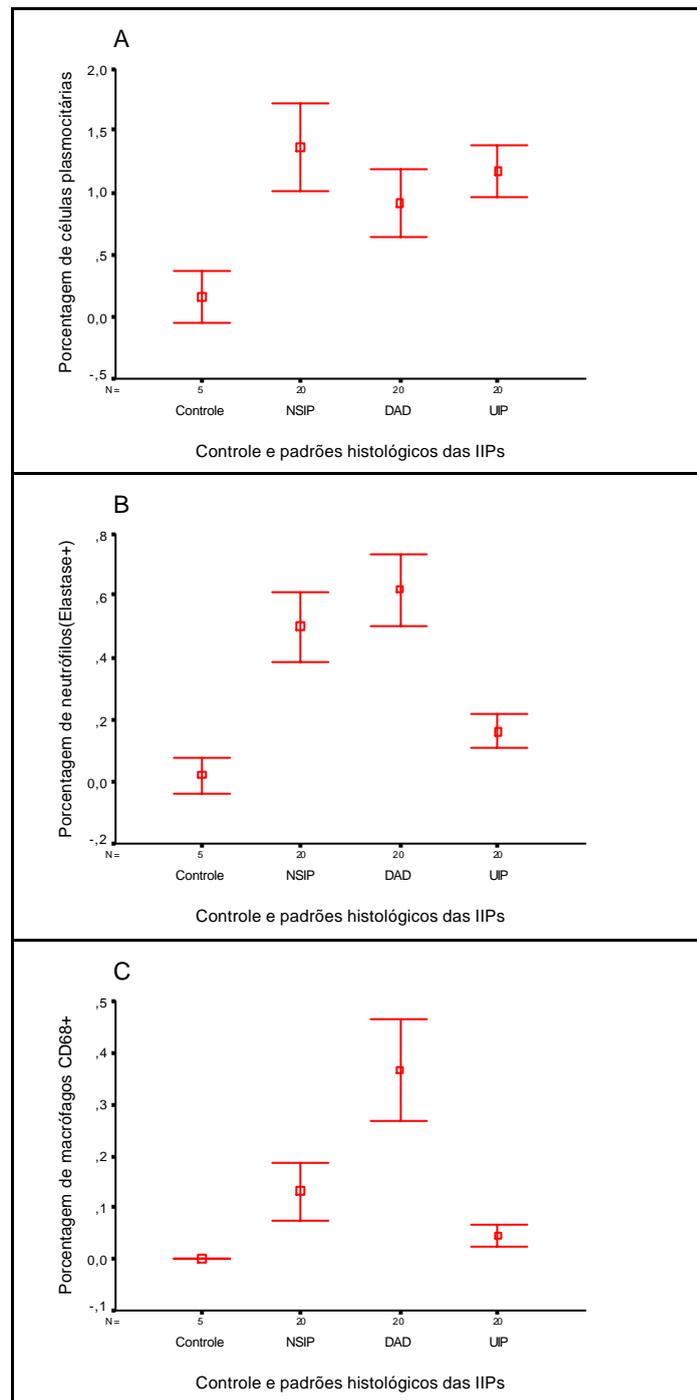


Figura 34. Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre a (A) porcentagem de células inflamatórias plasmocitárias, (B) elastase de neutrófilos positiva e (C) macrófagos (CD-68) no grupo controle e nos casos de pneumonia intersticial não-específica (NSIP), dano alveolar difuso (DAD) e pneumonia intersticial usual (UIP).

Tabela 10. Médias e valores de dispersão das porcentagens de células inflamatórias intersticiais no grupo controle e nos casos de dano alveolar difuso (DAD), pneumonia intersticial não-específica (NSIP), pneumonia intersticial usual (UIP). Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis.

Estudo do infiltrado inflamatório intersticial (Porcentagem de pontos positivos)					
Variáveis	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
Células inflamatórias totais					
Controle	2.8	1.2	0.5	1.7	4.9
NSIP	35.0	16.1	3.6	17.0	68.0
DAD	31.3	13.8	3.1	19.0	77.0
UIP	20.1	6.1	1.3	10.7	37.0
Linfócitos CD4+					
Controle	0.20	0.1	0.6	0.2	0.5
NSIP	3.10	2.4	0.5	0.0	8.0
DAD	5.50	5.3	1.2	1.0	2.30
UIP	1.60	0.9	0.2	0.3	3.7
Linfócitos CD8+					
Controle	0.20	0.008	0.03	0.1	0.3
NSIP	5.50	0.30	0.6	1.0	12.0
DAD	6.40	0.45	1.0	1.0	18.0
UIP	5.40	0.21	0.4	1.3	10.4
Linfócitos CD3+					
Controle	0.80	0.02	0.4	0.5	0.11
NSIP	14.7	0.96	2.2	3.0	37.0
DAD	12.0	1.03	2.3	3.0	36.0
UIP	6.10	0.28	0.6	1.7	10.7
Linfócitos CD20+					
Controle	0.08	0.008	0.8	0.0	0.2
NSIP	0.30	0.05	0.1	0.0	0.2
DAD	0.40	0.07	0.1	0.0	0.2
UIP	0.20	0.02	0.05	0.0	0.7
Linfócitos totais					
Controle	1.00	0.04	0.2	0.6	1.7
NSIP	15.0	0.98	2.1	3.0	37.0
DAD	12.4	1.04	2.3	3.0	36.0
UIP	6.30	0.28	0.6	1.7	11.0
Células plasmocitárias					
Controle	1.60	0.16	0.7	0.0	04.0
NSIP	13.7	0.75	1.7	3.0	29.0
DAD	9.10	0.59	1.3	2.0	22.0
UIP	11.7	0.45	1.0	4.0	23.3
Neutrófilos (Elastase+)					
Controle	0.20	0.04	0.2	0.0	1.0
NSIP	5.0	0.24	0.5	2.0	11.0
DAD	6.2	0.24	0.5	2.0	11.0
UIP	1.6	0.11	0.2	0.3	4.3
Macrófagos CD-68					
Controle	0.00	0.00	0.0	0.0	0.00
NSIP	1.3	0.12	0.2	0.0	5.0
DAD	3.6	0.21	0.4	1.0	8.0
UIP	0.4	0.04	0.1	0.0	1.7

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão.

Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas.

Células inflamatórias totais

Controle x NSIP $p < 0.001$; controle x DAD $p < 0.001$; controle x UIP $p = 0.04$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p = 0.02$; DAD x UIP $p = 0.03$

Linfócitos CD-4

Controle x NSIP $p > 0.05$; controle x DAD $p = 0.02$; controle x UIP $p > 0.05$;
NSIP x DAD $p = 0.09$; NSIP x UIP $p > 0.05$; DAD x UIP $p = 0.02$

Linfócitos CD-8

Controle x NSIP $p = 0.01$; controle x DAD $p = 0.002$; controle x UIP $p < 0.01$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p > 0.05$; DAD x UIP $p > 0.05$

Linfócitos CD-3

Controle x NSIP $p = 0.006$; controle x DAD $p = 0.001$; controle x UIP $p = 0.05$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p = 0.006$; DAD x UIP $p = 0.08$

Linfócitos CD-20

Controle x NSIP $p > 0.05$; controle x DAD $p > 0.05$; controle x UIP $p > 0.05$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p > 0.05$; DAD x UIP $p > 0.05$

Linfócitos totais

Controle x NSIP $p = 0.006$; controle x DAD $p = 0.04$; controle x UIP $p > 0.05$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p = 0.008$; DAD x UIP $p > 0.05$

Células plasmáticas

Controle x NSIP $p = 0.001$; Controle x DAD $p = 0.08$; controle x UIP $p = 0.007$;
NSIP x DAD $p = 0.06$; NSIP x UIP $p > 0.05$; DAD x UIP $p > 0.05$

Neutrófilos (Elastase+)

Controle x NSIP $p < 0.001$; controle x DAD $p < 0.001$; controle x UIP $p > 0.05$;
NSIP x DAD $p > 0.05$; NSIP x UIP $p < 0.001$; DAD x UIP $p < 0.001$

Macrófagos CD-68

Controle x NSIP $p > 0.05$; controle x DAD $p = 0.001$; controle x UIP $p < 0.05$;
NSIP x DAD $p < 0.001$; NSIP x UIP $p > 0.05$; DAD x UIP $p < 0.001$

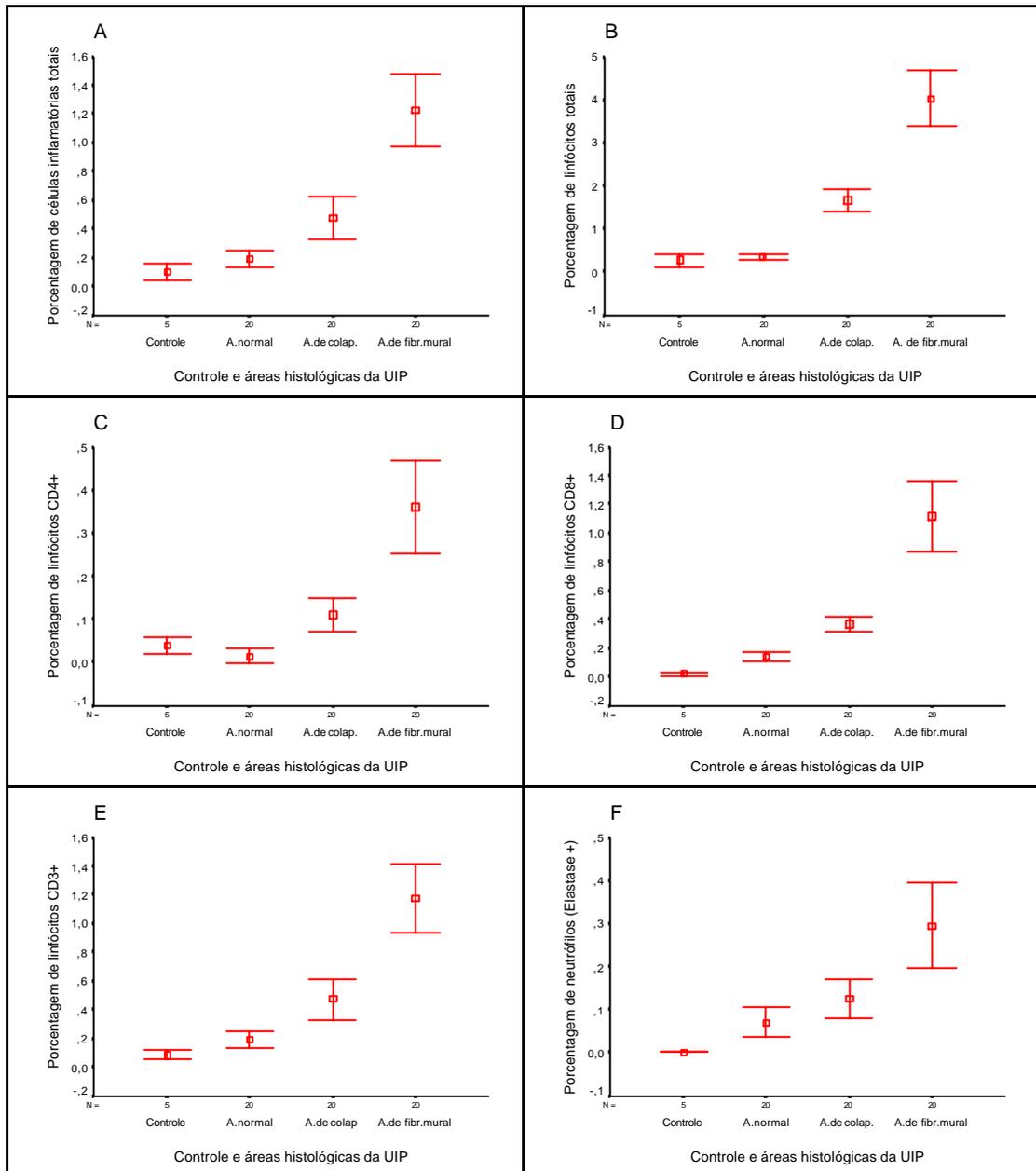


Figura 35. Intervalos de confiança mostrando as diferenças existentes entre a porcentagem de células inflamatórias no grupo controle e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante.

Tabela 11. Médias e valores de dispersão das porcentagens de células inflamatórias intersticiais no grupo controle e nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP: áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis.

Estudo do infiltrado inflamatório intersticial (Porcentagem de pontos positivos)					
Variáveis	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
Células inflamatórias totais					
Controle	2.8	1.2	0.5	1.7	4.9
A. normal	3.4	1.4	0.3	1.0	6.0
A. de colap.	16.6	5.5	1.2	7.0	28.0
A. de fibr. mural	40.2	13.9	3.1	20.0	85.0
Linfócitos CD-4					
Controle	0.2	0.1	0.06	0.2	0.5
A. normal	0.1	0.3	0.08	0.0	1.0
A. de colap.	1.1	0.7	0.01	0.0	3.0
A. de fibr. mural	3.6	2.3	0.5	0.0	9.0
Linfócitos CD-8					
Controle	0.2	0.08	0.03	0.1	0.3
A. normal	1.4	0.7	0.1	0.0	3.3
A. de colap.	3.6	1.2	0.2	1.0	6.0
A. de fibr. mural	11.5	5.2	1.2	3.0	23.0
Linfócitos CD-3					
Controle	0.8	0.2	0.4	0.5	0.11
A. normal	1.9	1.3	0.2	0.0	5.0
A. de colap.	4.7	3.0	0.6	1.0	12.0
A. de fibr. mural	11.7	5.1	1.1	3.0	23.0
Linfócitos CD-20					
Controle	0.08	0.08	0.08	0.0	0.2
A. normal	0.05	0.2	0.05	0.0	1.0
A. de colap.	0.1	0.3	0.06	0.0	1.0
A. de fibr. mural	0.5	0.5	0.1	0.0	1.0
Linfócitos totais					
Controle	1.0	0.4	0.2	0.6	1.7
A. normal	1.9	1.2	0.2	0.0	5.0
A. de colap.	4.8	3.1	0.6	1.0	12.0
A. de fibr. mural	12.2	5.2	1.1	3.0	24.0
Células plasmáticas					
Controle	1.6	1.6	0.7	0.0	4.0
A. normal	0.8	0.6	0.1	0.0	2.0
A. de colap.	10.4	4.2	0.9	3.0	17.0
A. de fibr. mural	28.5	10.9	2.4	7.0	56.0
Neutrófilos (Elastase+)					
Controle	0.2	0.4	0.2	0.0	1.0
A. normal	0.7	0.7	0.1	0.0	2.0
A. de colap.	1.2	0.9	0.2	0.0	3.0
A. de fibr. mural	2.9	2.1	0.4	1.0	8.0
Macrófagos CD-68					
Controle	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
A. normal	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
A. de colap.	0.1	0.4	0.09	0.0	1.1
A. de fibr. mural	1.6	1.1	0.2	0.0	4.0

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão.

Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas: controle e áreas histológicas da UIP.

Células inflamatórias totais

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p<0.001$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Linfócitos CD-4

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Linfócitos CD-8

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Linfócitos CD-3

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Linfócitos CD-20

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=0.05$

Linfócitos totais

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p<0.001$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Células plasmáticas

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p=<0.001$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

Neutrófilos (Elastase+)

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=0.001$

Macrófagos CD-68

Controle x A. normal da UIP $p>0.05$; A. normal da UIP x A. de colap. $p>0.05$; A. de colap. x A. de fibr. mural $p=<0.001$

5.5. AVALIAÇÃO DO COLÁGENO V

A distribuição e interação do colágeno V com outros tipos de colágeno foram avaliadas em 25 casos de UIP.

5.5.1. CARACTERIZAÇÃO DO COLAGENO V NA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL

Sob a coloração histoquímica de HE, os pulmões do padrão histológico de UIP foram caracterizados pela presença simultânea de três graus de remodelamento arquitetural, representados por: áreas normais (Figura 36A), de colapso alveolar (Figura 36B) e de fibrose mural organizante, esta última contendo focos de fibroblastos e zonas de faveolamento pulmonar (Figura 36C). Em contraste ao padrão da UIP, os pulmões normais usados como controle mostraram uma arquitetura preservada com presença de septos alveolares delicados.

A Figura 36 mostra a imunofluorescência para os colágenos I, III e V nas diferentes áreas de remodelamento arquitetural sob o microscópio de fluorescência.

Nos controles e nas áreas normais da UIP foi observada uma forte birrefringência esverdeada dos colágenos tipo I e III nas paredes dos septos alveolares e do colágeno tipo V na membrana basal dos capilares alveolares (Figura 36D, 36G, 36J), coincidindo com a manutenção da arquitetura pulmonar destas regiões. Em contraste, nas áreas de colapso alveolar, que

mostram alteração arquitetural moderada, observou-se um aumento difuso da birrefringência dos colágenos I, III e o colágeno V, além de contornar os capilares alveolares, aparece também no interstício da parede septal (Figura 36E, 36H, 36K).

Nas diversas áreas da fibrose mural organizante e principalmente na região dos focos de fibroblastos, os colágenos do tipo I, III e V tiveram a maior birrefringência encontrada (Figura 36F, 36I, 36L).

Nestas áreas, os focos de fibroblastos (Figura 37A) mostraram uma birrefringência esverdeada reticular fino do colágeno tipo I (Figura 37D), que contrastou com o padrão reticular grosseira do colágeno tipo III (Figura 37G) e com o padrão puntiforme do colágeno tipo V ainda nos focos de fibroblastos (Figura 37J).

Alterações igualmente importantes destas fibras de colágeno foram observadas nos bronquíolos terminais e nas artérias pré-acinares (Figura 37B, 37C) dentro das áreas de fibrose mural organizante. Os colágeno I e III foram expressos em grande quantidade na adventícia dos bronquíolos terminais (Figuras 37E, 37H) e, em menor grau, na camada média e adventícia das artérias pré-acinares (Figuras 37F, 37I).

A expressão aumentada dos colágenos tipo I e III coincidiu também com o aumento de colágeno tipo V na membrana basal do bronquíolo terminal (Figura 37K) e na parede das artérias pré-acinares (Figura 37L).

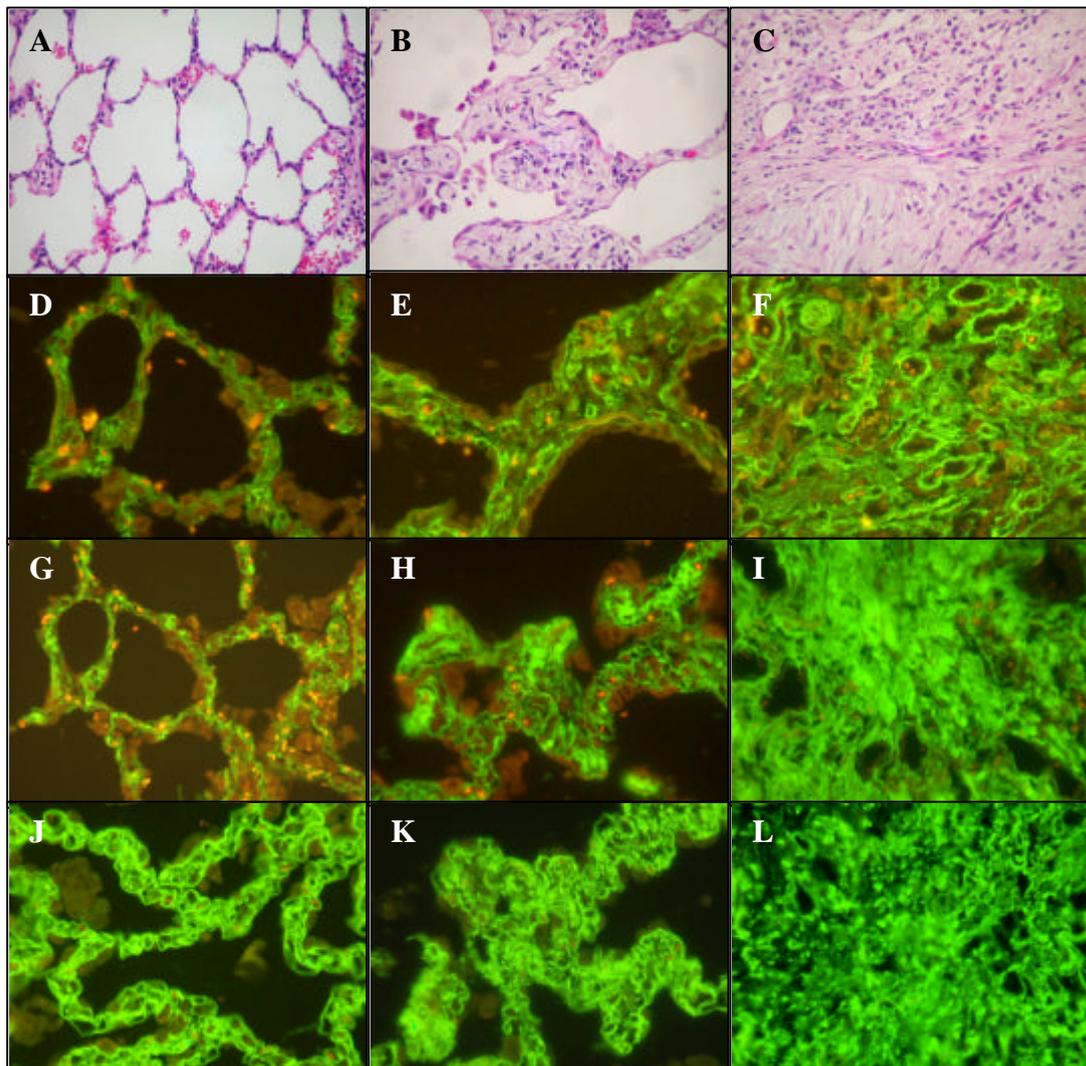


Figura 36. Pneumonia intersticial usual (UIP): áreas normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante coradas com Hematoxilina-Eosina e com imunofluorescência para colágenos I, II e V.

(A) Área normal; (B) de colapso alveolar; (C) e de fibrose mural organizante. (D) Colágeno I e (G) colágeno III ambos distribuídos nas paredes dos septos nas áreas normais da UIP. (J) colágeno V distribuído na membrana basal dos capilares alveolares das áreas normais. (E) Colágeno I e (H) colágeno III com aumento difuso da sua expressão nas áreas de colapso alveolar. (K) O colágeno V, além de contornar os capilares alveolares, aparece também no interstício da parede septal das áreas de colapso alveolar. (F) Colágeno I, (I) colágeno III e (L) colágeno V aumento da expressão nas áreas de fibrose mural organizante, ainda nestas áreas o colágeno V apresenta uma característica puntiforme contrastando com os padrões reticular fino e grosseiro dos colágenos I e II respectivamente das áreas de fibrose mural organizante. HE – (A,B,C) X200; imunofluorescência para colágeno I (D,E,F) 400X; imunofluorescência para colágeno III (G,H,I) 400X; imunofluorescência para colágeno V (J,K,L) 400X.

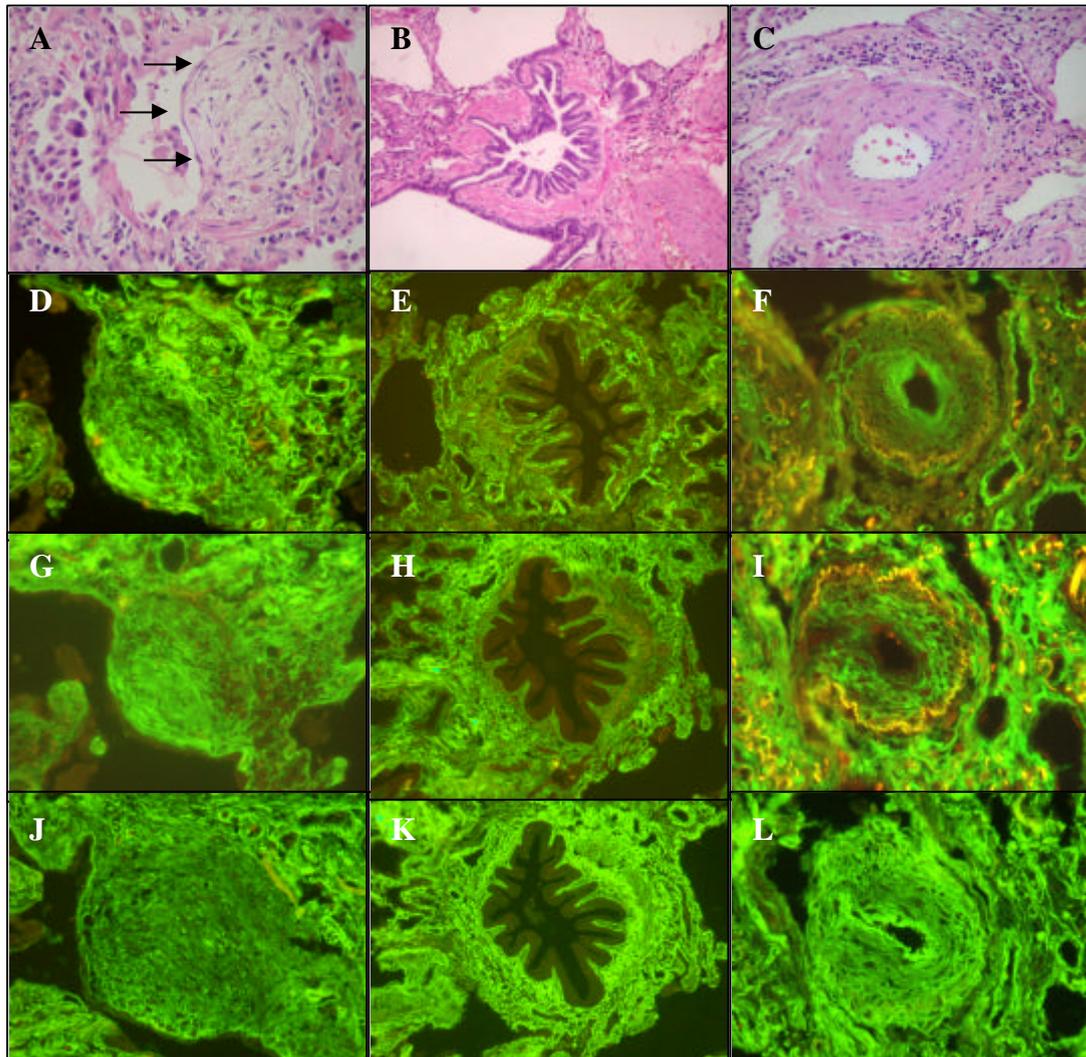


Figura 37. Pneumonia intersticial usual (UIP): foco de fibroblastos, bronquíolo terminal e artéria pré-acinar corados com Hematoxilina-Eosina e com imunofluorescência para colágenos I, II e V.

(A) Foco de fibroblasto (*setas*), (B) bronquíolo terminal; (C) artéria pré-acinar. (D) Mostrando uma birrefringência esverdeada reticular fina do colágeno I (G) contrastando com o padrão reticular grosseiro do colágeno III (J) e com o padrão puntiforme do colágeno V no foco de fibroblasto. (E) Bronquíolo terminal mostrando o aumento da expressão do colágeno I (H) do colágeno III e (K) do colágeno V na membrana basal dos bronquíolos. (F) Artéria pré-acinar mostrando o aumento da birrefringência esverdeada do colágeno I, (I) do colágeno III e (L) do colágeno V na parede das artérias. HE – (A,B,C) X200; imunofluorescência para colágeno I (D,E,F) 400X; imunofluorescência para colágeno III (G,H,I) 400X; imunofluorescência para colágeno V (J,K,L) 400X.

5.5.2. COMPORTAMENTO DO COLÁGENO V NA ATIVIDADE FIBRÓTICA DA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL

A Figura 38A e a Tabela 11 nos mostram os aumentos progressivos, graduais e significativos ($p>0.05$) da densidade do colágeno do tipo V relacionado diretamente com os graus de atividade fibrótica mínima, moderada, e severa da UIP.

Estas correlações mostraram que valores elevados do colágeno do tipo V associaram-se ao padrão de atividade fibrótica severa (0.22 ± 0.02), graus intermediários a fibrose moderada ativa (0.16 ± 0.01) e graus mínimos a padrões histológicos de atividade fibrótica mínima (0.14 ± 0.05).

5.5.3. COLÁGENO V NO REMODELAMENTO ARQUITETURAL HETEROGÊNEO DA PNEUMONIA INTERSTICIAL USUAL

Associações das medidas do colágeno V nas três áreas de remodelamento arquitetural heterogêneo estudadas na UIP são apresentadas na figura 34B e na tabela 11.

As mudanças morfológicas das fibras do colágeno do tipo V mostraram diferenças significativas nas três áreas: normais, de colapso alveolar e de fibrose mural organizante, estudadas na UIP, quando comparadas aos valores dos controles ($p>0.05$). Em ordem decrescente, a fibrose mural organizante ($0.20 \pm 0.03\%$) foi uma das que apresentou quantidades maiores de fibras de colágeno tipo V, seguidas pelas áreas de

colapso alveolar ($0.17 \pm 0.03\%$), pelas áreas normais da UIP ($0.13 \pm 0.04\%$) e pelos controles ($0.10 \pm 0.01\%$) (Figura 38 e Tabela 12).

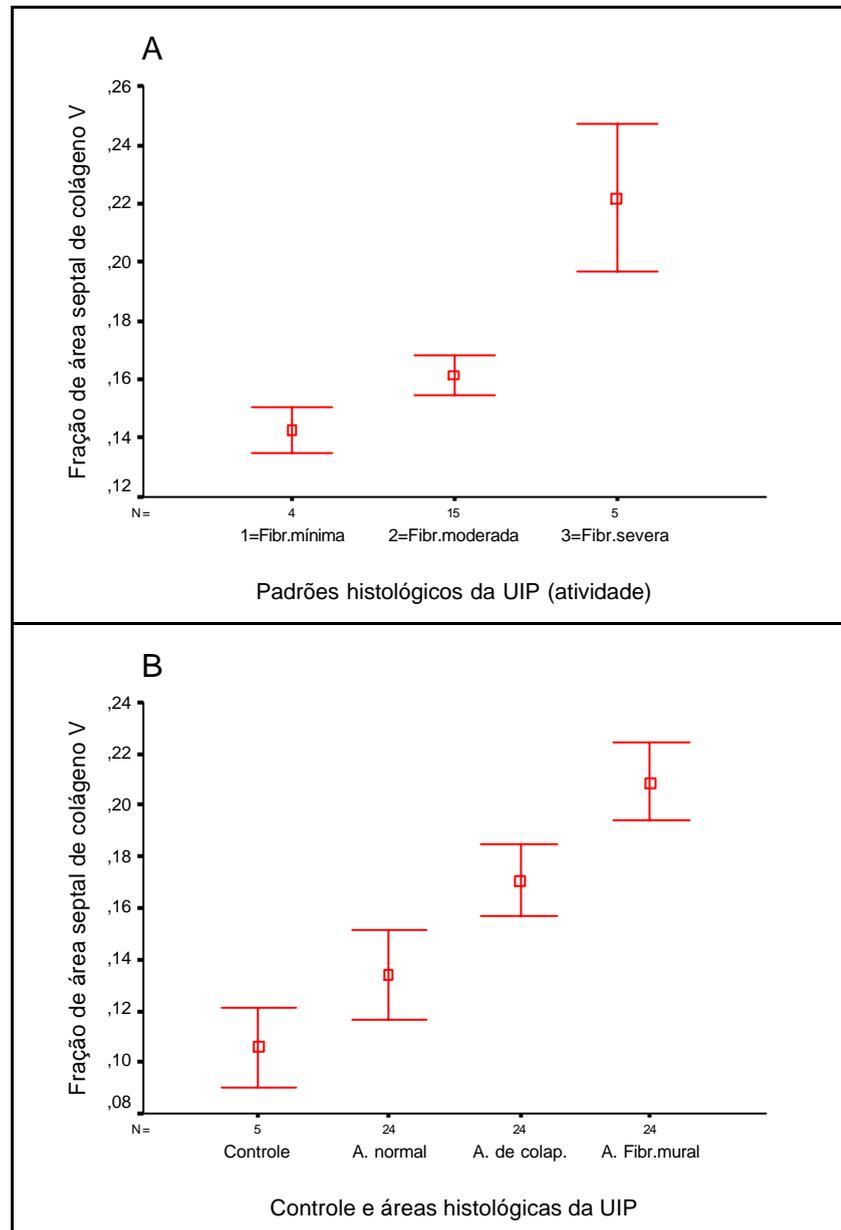


Figura 38. (A) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre o colágeno V nas três subclassificações da atividade fibrótica da pneumonia intersticial usual (UIP). (B) Intervalo de confiança mostrando as diferenças existentes entre o colágeno V nas três áreas histológicas do remodelamento arquitetural da UIP.

Tabela 12. Valores médios e de dispersão do colágeno do tipo V em relação ao grupo controle, padrões histológicos e áreas histológicas da pneumonia intersticial usual. Análise estatística utilizando análise de variância ANOVA one-way pelo teste auxiliar de Bonferroni para a correlação das diferentes variáveis estudadas.

Variáveis	Quantificação do colágeno tipo V (Fração de área parenquimatosa)				
	Média	DP	EP	Mínimo	Máximo
Controle	0.10	0.01	0.005	0.09	0.11
Padrões histológicos					
Fibr. mínima	0.14	0.005	0.002	0.14	0.15
Fibr. moderada	0.16	0.01	0.003	0.15	0.19
Fibr. severa	0.22	0.02	0.009	0.19	0.24
Áreas histológicas					
A. normal	0.13	0.04	0.008	0.09	0.23
A. de colap.	0.17	0.03	0.006	0.13	0.25
A. de fibr. mural	0.21	0.03	0.007	0.15	0.29

DP = Desvio Padrão; EP = Erro Padrão; Fibr. mínima = Fibrose mínima; Fibr. moderada = Fibrose moderada; Fibr. severa = Fibrose severa; A. normal = Áreas normais; A. de colap. = Áreas de colapso alveolar; A. de fibr. mural = Áreas de fibrose mural organizante.

Padrões histológicos da UIP

Fibrose mínima X Fibrose moderada $p=0.002$; Fibrose mínima X Fibrose severa $p=0.001$; Fibrose moderada X Fibrose severa $p=0.005$

Áreas histológicas da UIP

Controle X A. normal $p=0.05$; controle X A de colapso $p<0.001$; controle A. de fibr. mural $p<0.001$; A. normal X A. de colapso $p=0.009$; A. de colapso X A. de fibr. mural $p=0.002$.

5.5.4. RECONSTRUÇÃO TRIDIMENCIONAL DOS COLÁGENOS I, III E V NA PNUMONIA INTERSTICIAL USUAL

As mudanças heterogêneas do remodelamento arquitetural da UIP foram caracterizadas pela desorganização morfológica dos colágenos fibrilares, com espessura e desarranjo diferentes, principalmente do colágeno V e evidenciado pelo método de reconstrução tridimensional destes colágenos nos focos de fibroblastos e nas artérias pré-acinares das áreas de fibrose mural organizante.

O resultado da birrefringência da combinação do colágeno I em verde e do colágeno tipo III em vermelho mostrou a interação destes colágenos fibrilares nos focos de fibroblastos e nas artérias pré-acinares.

Nos focos de fibroblastos o colágeno I e o colágeno III foram caracterizados pelo aumento importante da espessura de suas fibras. Ainda nos focos de fibroblasto a reconstrução tridimensional mostrou, abundante expressão destes colágenos com desarranjo fibrilar. Uma característica similar de com aumento da espessura das fibras foi observada na membrana basal das artérias pré-acinar (Figuras 35A, 35B).

Além, da interação dos colágenos I e III, a imunomarcação do colágeno V a marcação em verde mostrou mediante à reconstrução tridimensional um importante aumento da espessura e desorganização das suas fibras quando comparado com o colágeno do tipo I imunomarcado em vermelho na dupla marcação. Ambos tipos de colágeno apresentaram-se interligados substancialmente nos focos de fibroblastos e nas paredes das

artérias pré-acinares, neste último com importante aumento da birrefringência do colágeno V na parede (Figura 35C, 35D). Estas características foram similares em todos os casos independente do grau de atividade fibrótica da UIP.

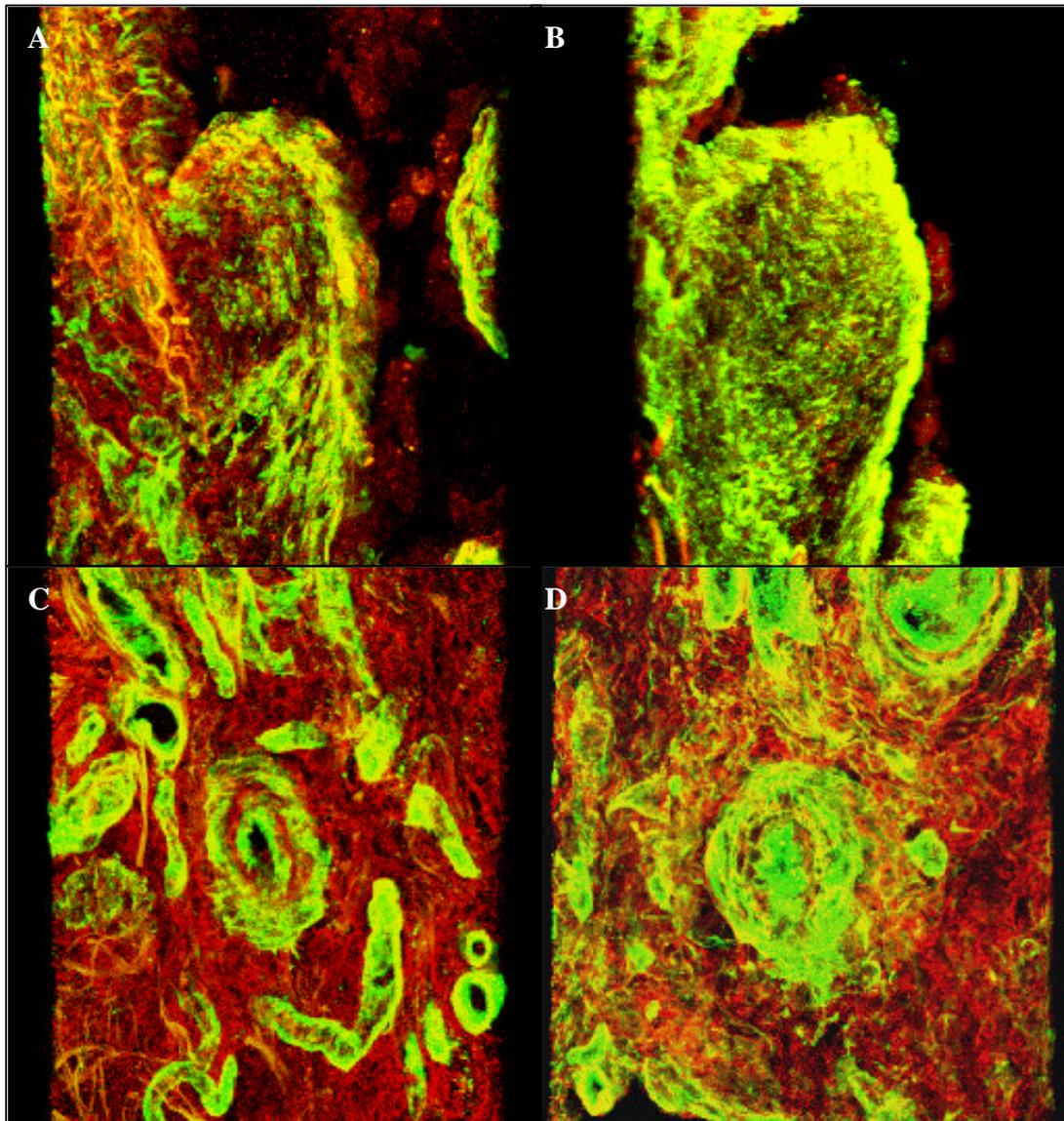


Figura 39. Reconstrução tridimensional das associações entre colágenos I e III e I e V no foco de fibroblasto e na artéria do bronquíolo terminal.

Mostra a dupla marcação em verde do colágeno I e em vermelho do colágeno III no foco de fibroblasto (A) e na artéria do bronquíolo terminal (C). Marcação em verde do colágeno V e em vermelho do colágeno I no foco de fibroblasto (B) e na artéria do bronquíolo terminal (D). No foco de fibroblasto podemos observar que existe um maior aumento do colágeno do tipo I em relação ao III, da mesma forma acontece na artéria do bronquíolo terminal, já entre os colágenos I e V a predominância é dada pelo colágeno do tipo V que se dispõe entre as fibras do colágeno do tipo I tanto no foco de fibroblasto como na artéria do bronquíolo terminal. Dupla marcação para imunofluorescência indireta – (A,B,C,D) X400.

5.6. PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR E PROGNÓSTICO

5.6.1. AVALIAÇÃO DAS PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR

Os pacientes com pneumonia intersticial aguda apresentaram os mais severos graus de dispnéia com uma média no escore de 2.55. Todos os pacientes estudados apresentaram padrão restritivo nas provas de função pulmonar caracterizadas pela diminuição da capacidade pulmonar total (CPT), os valores médios foram de 57% na AIP, 63% na NSIP e 79% na IPF do predito respectivamente e um aumento na VEF_1/CVF razão $\times 100$ (valores médios 97%, 104%, e 80% do predito respectivamente). Os valores médios do predito da *DLCO* diminuíram nos pacientes com AIP (46%), NSIP (43%), e na IPF (60%) (Tabela 12).

Provas de função pulmonar na pneumonia intersticial usual/fibrose pulmonar idiopática associaram-se significativamente aos graus de oclusão vascular e à densidade celular do infiltrado inflamatório. Neste sentido observou-se uma associação positiva do VEF_1 e uma associação negativa em relação ao *CVF* e *VR* ($r_s = 0.48$, $p = 0.05$) com áreas e perímetros internos vasculares reduzidos. A densidade do infiltrado inflamatório teve uma relação positiva entre os linfócitos T CD-3+ e a razão da relação $VEF_1/CVF \times 100$ ($r_s = 0.43$; $p = 0.05$). Igualmente significativa foi a associação negativa entre os linfócitos T CD-4+ com a CPT ($r_s = -0.50$; $p = 0.05$) e com o *VR* ($r_s = -0.51$; $p = 0.04$). As células CD-68+ apresentaram uma associação positiva com o VEF_1 ($r_s = 0.46$; $p = 0.04$) assim como os neutrófilos (Elastase +) apresentaram uma associação com o *VR* ($r_s = 0.59$; $p = 0.02$); *VR/CPT* ($r_s = 0.52$; $p = 0.04$), e a *DLCO* ($r_s = 0.60$; $p = 0.03$).

Tabela 13. Valores das provas de função nos três grupos de análise.

Variáveis	Valores (provas de função pulmonar)		
	AIP	NSIP	IPF
VEF ₁ (%pr)	60±3	58±6	81±3
CVF (%pr)	51±3	54±5	69±3
VEF ₁ /CVF	97±81	104±7	76±5
CPT (%pr)	57±8	63±5	77±4
VR (%pr)	64±15	94±17	90±9
VR/CPT (%pr)	93±23	155±16	42±2
DLCO (%pr)	46±9	43±14	53±4
DLCO/VA(%pr)	83±5	97±2	57±7
PaO ₂ (mmHg)	78±18	64±6	55±3
PaCO ₂ (mmHg)	49±5	35±1	36±1

Valores representados pela mediana±SEM; pr: predito; AIP = Pneumonia Intersticial Aguda; NSIP = Pneumonia Intersticial Não-específica; IPF = Fibrose pulmonar Idiopática.

5.6.2. PROGNÓSTICO

No transcurso do estudo dos 109 pacientes estudados morreram 47 e o diagnóstico clínico foi AIP (10 pacientes), NSIP (5 pacientes) e IPF (32 pacientes). As curvas de sobrevida clínica (Figura 36), funcional e os parâmetros morfológicos na AIP, NSIP e IPF foram analisados. O mais importante preditor para a sobrevida nos pacientes com IPF foi a subpopulação de linfócitos CD-3+ (log rank 3.84; $p=0.05$; Figura 37).

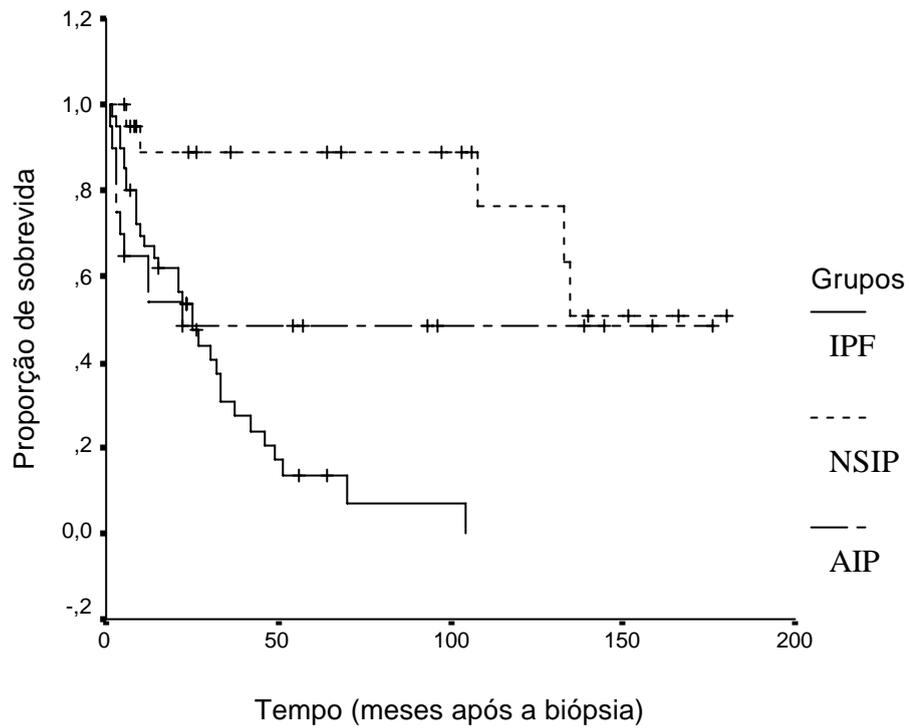


Figura 40. Kaplan-Maier mostrando o tempo de sobrevivida dos pacientes com: Fibrose Pulmonar Idiopática (IPF), Pneumonia Intersticial Não Específica (NSIP) e Pneumonia Intersticial Aguda (AIP).

Pode-se observar a maior mortalidade que apresentam os pacientes com fibrose pulmonar idiopática.

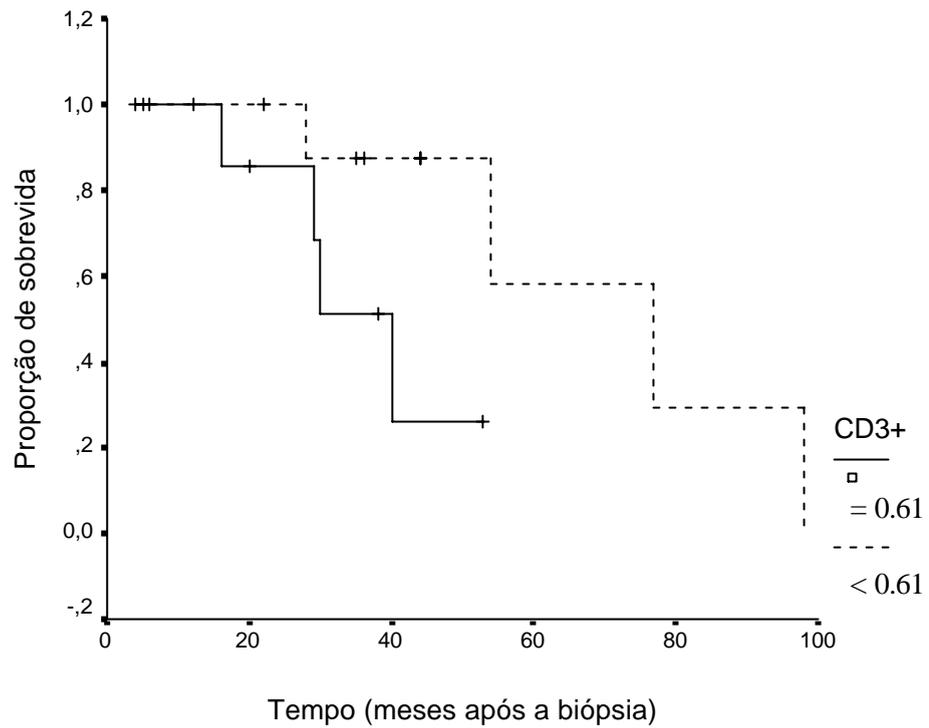


Figura 41 Kaplan-Maier mostrando a relação existente entre a densidade de linfócitos CD-3+ e a sobrevivida dos pacientes com fibrose pulmonar idiopática.

Aumentos de = a 0.61 de linfócitos CD-3+ se correlacionam com menor tempo de sobrevivida $p=0.05$.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A discussão será alavancada em três tópicos importantes. O primeiro discorrerá sobre as limitações do trabalho, o segundo sobre fatores relacionados ao remodelamento (vascular, epitelial, do colágeno V) e mapeamento da inflamação nas doenças intersticiais pulmonares. O terceiro e último tópico discorrerá sobre a correlação dos fatores anteriores com as provas de função pulmonar e sobrevida.

6.1. LIMITAÇÕES DO TRABALHO

Para que se possa iniciar qualquer discussão sobre os resultados, é imperativo determinar as limitações do trabalho, para evitar análise de dados que não representem a realidade. Nesta parte discutir-se-á: critérios de inclusão, desenho epidemiológico retrospectivo e óbitos por causas não correlacionadas com as doenças estudadas.

6.1.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes diagnosticados como portadores de doença intersticial pulmonar com a biópsia a céu aberto, porém sem cortejo clínico para pneumonia intersticial idiopática foram excluídos do trabalho.

6.1.2. DESENHO EPIDEMIOLÓGICO DO ESTUDO

Considerando-se a casuística estudada, a primeira limitação que deve ser levada em conta é a referente ao desenho epidemiológico do estudo: retrospectivo de corte transversal. A aquisição de informações referentes a fenômenos ocorridos desde 1979 não possibilita a uniformidade da descrição de dados clínicos e radiológicos. Além do mais, o estudo de corte transversal agregou doentes tratados de forma não uniforme no que se refere ao tratamento medicamentoso e provas de função pulmonar, fato que não ocorre em estudos prospectivos controlados.

6.1.3. ÓBITOS NÃO RELACIONADOS

Além da limitação do desenho do estudo, houve perdas de seguimento pós-biópsia pulmonar a céu aberto e óbitos não correlacionados à doença intersticial pulmonar, razão pela qual tais pacientes foram também excluídos do estudo.

6.2. REMODELAMENTO VASCULAR

O remodelamento vascular foi dividido em dois grandes grupos o remodelamento das artérias pulmonares pré e intra acinares e o remodelamento da microcirculação.

6.2.1. REMODELAMENTO VASCULAR DAS ARTÉRIAS PRÉ E INTRA ACINARES

Neste estudo, encontramos evidências de remodelamento vascular em especial nas biopsias pulmonares a céu aberto com padrão histológico de UIP de pacientes com diagnóstico de IPF ⁽¹⁴³⁻¹⁴⁴⁾. Mais especificamente, encontramos nestes casos uma relação direta entre a regressão vascular pulmonar pré e intra acinar (redução progressiva da área, do perímetro interno e do aumento da espessura da parede vascular) com o remodelamento parenquimatoso ativo. Esse remodelamento vascular está em concordância com os achados de ablação vascular encontrados nas zonas de faveolamento pulmonar da IPF ^(100,145).

Paralelamente foi observada a existência de uma regressão vascular progressiva congruente com o comprometimento das diferentes áreas histológicas alternantes encontradas no padrão histológico da UIP.

É interessante assinalar, que o grau de regressão vascular das artérias diferiu em intensidade entre as diferentes áreas histológicas analisadas na UIP: áreas alveolares normais, intermediárias de colapso

alveolar e áreas de fibrose mural organizante severa caracterizadas por focos de fibroblastos e zonas de faveolamento. Onde o grau de remodelamento vascular principalmente nessa última foi mais intenso que nas outras áreas sinaladas ⁽¹⁴⁶⁻¹⁴⁸⁾.

Por outro lado a presença dos focos fibroblasto podem sugerir a existência de um remodelamento vascular ou regressão vascular particularmente mais ativo destas áreas. Estas evidências conduziram provavelmente a redução do fluxo sanguíneo, isquemia parenquimatosa, fibroproliferação e deposição de maior matriz extracelular, culminando na resposta cicatricial da ferida.

O colapso alveolar, característica histológica predominante da UIP ⁽⁹¹⁾, pode promover um processo de reparo que altere permanentemente a arquitetura do parênquima pulmonar. A hipoxemia conseqüente pode aumentar a resistência vascular, diminuindo a perfusão das regiões envolvidas no processo ⁽¹⁴⁹⁾. A resistência vascular aumentada também pode conduzir a uma isquemia crônica, perpetuando assim o estímulo dos fibroblastos à proliferação, o infiltrado inflamatório e a deposição de matriz extracelular.

A redução do lúmen vascular com o aumento contínuo do tecido conectivo sem neovascularização subseqüente é um outro mecanismo potencial de hipóxia ⁽¹⁴⁹⁾.

Contrastando com o lúmen vascular preservado (atividade fibrótica mínima) nas áreas com predomínio de septos alveolares preservados e

colabados, foi a presença dos lumens vasculares diminuídos nas áreas de fibrose mural organizante. Nossos dados indicam que existe uma obliteração substancial dos vasos perto dos espaços alveolares na fibrose pulmonar extensa, existindo uma perda ou regressão de grandes vasos nas áreas de troca gasosa. Esta regressão vascular e o aumento concomitante do remodelamento parenquimatoso aumentam a distância para o curso do oxigênio, gerando hipoxemia nestes pacientes.

Dado as características acima descritas, postulamos que na UIP/IPF, após o colapso alveolar, o processo de reparo com a formação completa da cicatriz fibrótica e o remodelamento vascular intenso é o sinal que indica o fim do processo de cicatrização epitelial. A ausência de remodelamento vascular poderia apontar a um processo inespecífico, como é observado no granuloma telangiectásico da pele, onde a rede vascular diminui progressivamente à medida que há diminuição do processo, fato que não ocorre na fibrose pulmonar idiopática. É demonstrado que a fonte vascular é um requisito sine-qua-non para a viabilidade de um tecido recentemente formado (por exemplo, endométrio na fase proliferativa, tecido neoplásico, e outros), e sua ausência é um sinônimo de atrofia tecidual.

Podemos concluir que a UIP é caracterizada por um remodelamento vascular substancial, com deslocamento dos vasos intersticiais das vias aéreas. Tal remodelamento vascular correlacionou-se com o grau de atividade parenquimatosa e com o padrão heterogêneo a UIP apresenta, diferindo, portanto das outras duas entidades estudadas onde não foram observadas tais alterações nos vasos pulmonares.

6.2.2. SISTEMA COLÁGENO/ELÁSTICA VASCULAR PRÉ E INTRA ACINAR

Certamente, uma razão importante para que os pacientes com IIPs apresentem uma evolução diferente é a fibrose progressiva presente principalmente nos pacientes com IPF. Neste sentido é importante obter maior informação sobre o remodelamento parenquimatoso e em especial sobre o remodelamento da matriz vascular extracelular. Tal informação permitirá também melhor entendimento da participação deste componente no processo de remodelamento vascular e na evolução das doenças intersticiais.

O processo de remodelamento ativo compreende normalmente uma série complexa e seqüencial de etapas. É um processo importante que culmina na formação da cicatriz, caracterizada por neovascularização, migração de miofibroblastos e deposição de fibras de colágeno e de fibras elásticas. Este processo ocorre de forma descontrolada, causando uma fibrose excessiva com progressivo remodelamento histoarquitetural e vascular nos casos de IPF ^(91,150-154).

O processo de remodelamento da matriz vascular extracelular ocorre de forma semelhante à resposta vascular a algum tipo de lesão, envolvendo as estruturas vasculares em uma reação em cascata. Este processo é dinâmico e envolve degradação e síntese de moléculas de fibras de colágeno, normalmente distribuídas nas camadas média e adventicial da parede vascular. São estabilizadas por fibroblastos, miofibroblastos e células

de músculo liso conferindo rigidez à parede.

O aumento do colágeno nas paredes das artérias pulmonares é influenciado diretamente pelo processo de desenvolvimento da hipertensão pulmonar como é visto durante a hipóxia em ratos ⁽¹⁵⁵⁾.

Um outro componente importante das paredes vasculares são as fibras elásticas, compostas por um componente amorfo chamado de elastina, estrutura miofibrilar não distensível ⁽¹⁵⁶⁾. Nas artérias elásticas normais, as lâminas elástica interna e externa são compostas por fibras elásticas maduras que conferem elevada elasticidade ao tecido vascular em situações normais ⁽¹⁵⁶⁾. Devido a suas propriedades mecânicas, as fibras elásticas conferem elasticidade à parede vascular para um bom desempenho da sua função ⁽¹⁵⁶⁾.

O aumento da destruição das fibras elásticas em certas situações patológicas pode ser devido à ativação de poderosas proteasas elastolíticas e células inflamatórias ⁽¹⁵⁷⁾. A reativação da síntese de elastina nestes casos é observada em resposta ao aumento da sua destruição ⁽¹⁵⁸⁾, em forma desorganizada com deterioração conseqüente das propriedades mecânicas vasculares.

A elastólise vascular foi arduamente estudada na hipóxia pulmonar onde se demonstrou recentemente a existência do aumento do gene de expressão de elastina nos modelos animais após o ferimento vascular ⁽¹⁵⁹⁾.

É por esta razão que o estudo do sistema de fibras de colágeno e de fibras elásticas fornece informações importantes sobre o remodelamento vascular ativo nas IIPs e nossos resultados confirmam a importância deste

sistema na possível patogênese destas doenças.

Estudos prévios em modelos de hipóxia pulmonar e hipertensão pulmonar têm relacionado significativamente as mudanças do sistema de fibras de colágeno e de fibras elásticas nas IIPs ⁽¹⁵⁹⁻¹⁶²⁾. Nossos resultados sugerem a existência de um aumento destas fibras nas artérias pulmonares ⁽¹⁶³⁾ provavelmente levando a uma maior contratatura e redução da distensibilidade vascular, hipóxia crônica parenquimatosa e resultando aumento da extensão da lesão pulmonar. Além disso, o padrão histológico da UIP mostrou-se como um protótipo desta alteração da parede vascular com justaposição das fibras de colágeno e das fibras elásticas.

Nossos resultados também mostram que existe uma importante correlação entre o remodelamento vascular ativo não só com diminuição dos diâmetros internos vasculares mas também com aumento da deposição de fibras colágenas e fibras elásticas nas paredes destes vasos, embora sejamos incapazes de determinar se este remodelamento vascular é um evento preliminar ou secundário à fibrose intersticial.

O aumento do sistema de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares junto com as alterações vasculares encontradas nos fornece um guia potencial da evolução da fibrose nestes pacientes. É também importante mencionar que o remodelamento do sistema de fibras de colágeno e de fibras elásticas vasculares está associado às diferentes formas de remodelamento parenquimatoso na NSIP e no DAD.

Em nosso estudo o sistema de fibras de colágeno esteve relacionado significativamente com os padrões histológicos na NSIP e no DAD, e sua

quantificação nos forneceu maior informação sobre o estágio de remodelamento nestas doenças. A quantificação dessas fibras esteve relacionada significativamente a uma resposta evolucionária adaptativa do remodelamento da matriz vascular extracelular dependendo em grande parte da extensão da destruição do parênquima pulmonar como ocorre na NSIP e no DAD.

Ainda mais interessante de enfatizar foi o aumento progressivo da quantidade de fibras de colágeno e elástica da parede vascular nos padrões histológicos do DAD, NSIP e UIP em forma gradativa. O aumento progressivo deste sistema de fibras nesses processos enfatizou um aumento temporal das mesmas, onde a deposição dessas fibras e a atividade parenquimatosa na NSIP podem considerar-se como intermediárias em relação aos padrões da UIP e do DAD.

Uma associação entre o remodelamento vascular e as IIPs foi descrita recentemente ⁽¹⁶⁴⁾. Não só o aumento das fibras de colágeno e elástica na parede vascular determinou a redução da distensibilidade dos vasos nas IIPs, mas em conjunto com a hipóxia crônica, aumentou a extensão da lesão parenquimatosa. Especificamente falando, encontramos uma relação direta entre o remodelamento vascular do sistema de fibras colágenas e elásticas e o grau de fibrose mural organizante dessas doenças.

Peao e colaboradores ⁽¹⁴⁵⁾, também demonstraram a presença de remodelamento vascular em ratos com fibrose pulmonar induzida por bleomicina. Em 1963, Turner-Warwick ⁽¹⁰⁰⁾ demonstrou anastomose pré-capilar sistêmica pulmonar como parte do remodelamento vascular. Essas

mesmas características estão em concordância com a ablação vascular encontrada em zonas de faveolamento pulmonar nos casos de fibrose pulmonar⁽¹⁰⁰⁾.

Encontramos no padrão da UIP uma forte correlação entre o remodelamento vascular e o nível de deposição de fibras de colágeno e elásticas, facilitando a destruição do parênquima e o aumento da fibroelastose da matriz extracelular.

Podemos finalizar dizendo que o remodelamento vascular presente nas IIPs em termos de conteúdo de fibras de colágeno e elásticas caracterizam uma fibroelastose vascular com diferentes graus de conteúdo. Tais evidências, sugerem que esse remodelamento nas IIPs corre em paralelo com as respostas adaptativas após a lesão, dependendo em parte do aumento da deposição destas fibras.

6.2.3. REMODELAMENTO DA MICROCIRCULAÇÃO

A microcirculação pulmonar apresenta um papel importante nos processos de reparo e remodelamento parenquimatoso. Nosso estudo mostrou uma correlação inversa entre a densidade capilar alveolar CD-34+ e a atividade das células endoteliais VCAM-1+ e E-Selectina+ com os graus de fibrose mural organizante no pulmão.

Constatamos uma tendência de aumento da atividade endotelial com baixa densidade vascular na fibrose mínima e uma baixa densidade vascular com elevada atividade endotelial nas lesões de fibrose pulmonar severas.

A natureza das lesões vasculares na fibrose pulmonar foi notada primariamente por Bronk em 1953⁽¹⁶⁵⁾. Foi observada também a derivação da circulação vascular através da anastomose sistêmica pulmonar na vizinhança das proliferações vasculares⁽¹⁰⁰⁾. Renzoni e colaboradores encontraram aumento vascular intersticial na fibrose pulmonar⁽¹⁰⁵⁾. Uma expressão idêntica de ELAM-1, VCAM-1, e de ICAM-1 foi encontrada por Camionete Dinther-Janssen⁽¹⁶⁶⁾ na sarcoidose e na pneumonia intersticial usual. Entretanto, poucos estudos analisaram com clareza o comprometimento vascular nos pulmões dos pacientes com IIPs e principalmente com IPF.

Em nosso trabalho, constatamos uma diminuição da densidade dos capilares alveolar CD-34+ e um aumento da atividade endotelial VCAM-1+ e E-Selectina+ em relação ao grau de colapso alveolar e da fibrose mural organizante do parênquima⁽¹⁶⁷⁻¹⁶⁹⁾.

Como demonstrado previamente por Katzenstein e colaboradores^(51,80), o colapso alveolar é uma característica proeminente do DAD e da UIP. A lesão das paredes da unidade alvéolo-capilar, por um mecanismo que possa causar perda importante da camada epitelial pode iniciar o processo do colapso alveolar^(51, 80). A reconstituição incompleta da integridade da unidade alveolo-capilar provavelmente promove a formação de um processo de reparo de grande extensão. Com a alteração arquitetural permanente do parênquima pulmonar ocorre a perda da área de troca gasosa.

Nessas áreas, onde a ventilação é inexistente, a hipoxemia ativaria o mecanismo de autoregulação vascular pulmonar que por sua vez aumentaria a resistência vascular, para diminuir a perfusão das regiões de derivação⁽¹⁴⁹⁾.

A resistência vascular aumentada pode conduzir a um regime crônico de isquemia tal que perpetue e estimule a inflamação e a expressão de CAMs pelo endotélio ativando por sua vez a proliferação de fibroblastos e conseqüentemente a deposição de matriz extracelular.

A redução da densidade vascular e o aumento contínuo do tecido conectivo sem neovascularização pode ser um outro mecanismo de hipóxia envolvido nestes processos. Contrastando com o aumento dos capilares (fibrose não organizante) em áreas alveolares normais e de colapso alveolar, observamos uma diminuição da densidade vascular capilar CD-34+ na fibrose mural organizante da UIP, principalmente nas áreas dos focos de fibroblastos, e na fibrose obliterativa das lesões do DAD.

Gracey e colaboradores ⁽¹⁰³⁾ assinalaram uma característica impressionante revelada pela microscopia que foi a diminuição do número de capilares dentro dos septos alveolares e a ausência total dos mesmos nas áreas de fibrose de pulmões de pacientes com fibrose pulmonar. A diminuição de tamanho do lúmen dos vasos dentro das paredes alveolares remodeladas foi também mostrada em biópsias de espécimes de fibrose pulmonar ⁽¹⁰⁴⁾. Paralelamente foi relatada na IPF a densidade diminuída de vasos ⁽¹⁰⁵⁾. Dado a falta de vascularização nos focos de fibroblasto, o processo de fibrose parece não requerer neovascularização. O desenvolvimento de tecido fibroso com diminuição dos capilares sugere que estes tecidos são lesões avançadas da UIP.

Considerando essas evidências, a diminuição da densidade dos capilares alveolares nas áreas normais e de colapso alveolar não organizante

podem ser consideradas como mudanças secundárias que cursam para um processo fibrótico mais extenso. As características acima mencionadas sugerem que na UIP e no DAD, após o desmoronamento dos septos alveolares e do processo de reparo, a recuperação completa é provavelmente um sinal que indica o fim do processo da cicatrização epitelial. Sua ausência, por outro lado, poderia apontar um processo inespecífico, como no granuloma telangiectásico da pele, onde a rede capilar diminui progressivamente nas fases tardias quando a fibrose é incorporada; o oposto ocorre na IPF. De fato, está demonstrado que a fonte vascular é um requisito “sine-qua-non” para todo tecido viável recentemente formado (por exemplo, endométrio na fase proliferativa, tecido neoplásico e outros), e sua ausência é sinônimo de atrofia.

Nenhum colapso alveolar ocorre na NSIP. Entretanto, as quantidades muito pequenas de fibrose organizante e a presença exclusiva da inflamação septal não parecem ser a única causa do remodelamento estrutural. Isso ocorre coincidentemente com a diminuição do CD-34+ e o aumento da atividade das células endoteliais VCAM-1+ e E-Selectina+. Nas áreas alveolares próximas destes capilares CD-34+, VCAM-1+ e E-Selectina+ as células epiteliais tipo II mais ativas podem produzir fatores angiogênicos potentes ^(98, 170). Estes fatores angiogênicos podem ser também detectados nas células endoteliais de acordo com o grau de fibrose organizante presente nestas áreas ^(98; 170). Este achado é potencializado pela observação nas áreas de fibrose mural organizante onde os capilares CD-34+ assim como as células endoteliais VCAM-1+ e a E-Selectina+ foram distribuídas somente nas bordas e nas áreas alveolares normais em coincidência com os pneumócitos tipo II.

Nenhum capilar foi observado nas áreas de fibrose mural organizante sem a presença de células epiteliais alveolares. A presença dos capilares para manter a estrutura alveolar ⁽¹⁰⁰⁾ justificaria a presença de CD-34+ nas células endoteliais alveolares nas áreas normais. Neste contexto, os capilares aumentados CD-34+ podem contribuir à regeneração das paredes alveolar lesadas como nos casos da NSIP.

Concluimos que uma vascularização substancial não homogênea, com diminuição progressiva do CD-34+ e aumento da expressão de VCAM-1 e de E-selectina ocorre de acordo com o grau de fibrose nos padrões histológicos do DAD, NSIP e UIP (169).

6.3. ATIVIDADE DAS CÉLULAS EPITELIAIS

A molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), é um membro da família das imunoglobulinas com uma estrutura de cinco domínios e com um papel importante nos processos inflamatórios ⁽¹⁷¹⁾. Ela foi implicada no recrutamento de leucócitos incluindo principalmente linfócitos e neutrófilos ⁽¹⁷¹⁾ mais sua participação na patogênese da IPF ainda é controversa. Em nosso estudo, constatamos uma forte expressão do ICAM-1 nas células epiteliais dos casos estudados em concordância com achados de outros trabalhos ⁽¹⁶⁶⁾.

Observações anteriores mostram que o ICAM-1 tem um papel importante na apresentação de antígenos ⁽¹⁷²⁾ ao promover um sinal co-estimulador para a ativação de células linfocitárias T ⁽¹⁷²⁾. É também relatado

sua forte correlação com a expressão de complexos antigênicos de histocompatibilidade do tipo II nas células epiteliais tipo II pulmonares regeneradas e nos macrófagos alveolares dos pacientes com IPF sugerindo uma possível participação tanto destas células como desta molécula na IPF⁽¹⁷²⁾.

Nosso estudo mostrou a forte expressão deste marcador nas células epiteliais correlacionando-se principalmente com o grau de atividade da doença presente nos casos de NSIP, DAD e UIP. Tal resultado valida a importância da participação desta molécula na manutenção do processo nestes casos. A existência de uma atividade contínua das células epiteliais pode indicar atividade da doença, e seria mais um mecanismo para contribuir com o recrutamento de maior quantidade de células inflamatórias e fibroblastos e por conseguinte maior deposição de matriz extracelular interferindo na resolução do processo fibrótico.

É importante sinalar que na UIP a presença de atividade epitelial foi aumentando gradativamente conforme o comprometimento parenquimatoso: das áreas normais, passando pelas áreas de colapso alveolar até a fibrose mural organizante onde praticamente todas as células epiteliais tiveram uma imunomarcagem positiva. Demostramos também que todas as células nas proximidades dos focos de fibroblastos encontraram-se ativas o que indica maior atividade epitelial nestas regiões.

Este aumento da atividade epitelial pode ser um sinal para a produção de maior quantidade de fatores de ativação de fibroblastos, maior depósito

de matriz extracelular e no recrutamento de maior quantidade de células inflamatórias nestas regiões.

6.4. ESPECTRO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO INTERSTICIAL

O papel da inflamação na patogênese da fibrose pulmonar permanece controverso. Embora o número de infiltrado leucocitário encontrado nos pacientes com UIP seja baixo, há evidências tanto em seres humanos como em modelos animais que as citocinas inflamatórias estão envolvidas no desenvolvimento da fibrose⁽⁷⁸⁾.

De fato, nosso estudo mostrou que o tipo de célula inflamatória presente no interstício pulmonar nos pacientes com UIP/IPF foi predominantemente mononuclear, e entre as subpopulações de linfócitos T, os linfócitos CD-4+ e CD-3+. As células CD-68+ e os neutrófilos (Elastase +) correlacionaram-se significativamente com provas de função pulmonar (FEV₁/FVC ratio ×100, TLC, FVC, RV, RV/TLC, TLC, DLCO), assim como a densidade de células linfocitárias CD-3+ correlacionou-se com a sobrevida.

Estudos recentes mostraram que o processo inflamatório intersticial crônico coexiste com a deposição anormal de matriz extracelular, focos de fibroblastos e colapso alveolar nos pacientes com IPF⁽¹⁷³⁻¹⁷⁶⁾. Este componente inflamatório do tecido intersticial aparentemente é constituído por células mononucleares (macrófagos, linfócitos e células plasmáticas). Já outras células inflamatórias tais como neutrófilos e eosinófilos parecem bem menos numerosas⁽¹⁷⁵⁻¹⁷⁷⁾.

Estudos prévios com imunohistoquímica nos tecidos pulmonares de pacientes com IPF ⁽¹⁷⁸⁻¹⁷⁹⁾ e outras pneumonias intersticiais ⁽¹⁸⁰⁾ mostraram que o processo inflamatório é principalmente mononuclear, e que as subpopulações de linfócitos T CD-4+ e CD-8+ estão presentes com distribuição difusa no interstício pulmonar, com um componente adicional de CD-4+ nos folículos linfóides.

Nosso estudo contrastou com estes achados, mostrando um aumento importante da subpopulação de linfócitos T CD-3+ indicando um possível mecanismo de ativação intrínseca destes linfócitos. Por outro lado este componente inflamatório predominio de células linfocitárias foi correlacionado com os aumentos chamativos das moléculas de adesão encontradas nestes casos e como demonstrado em nosso estudo.

As células inflamatórias incluindo as subpopulações de linfócitos T foram alvo de vários estudos em lavado bronco-alveolar de pacientes com fibrose pulmonar e principalmente com IPF ⁽¹⁷⁷⁾. Em tais estudos, muitas das conclusões a respeito do papel da inflamação nas doenças pulmonares intersticiais permanecerem obscuros.

O possível papel das células inflamatórias na patogênese da IPF recebeu tradicionalmente pouca investigação sobre tudo pelo aumento incomum destas células no lavado broncoalveolar. Em que pese uma relação causa efeito de não implicação de correlações significativamente positivas no grupo da UIP dos pacientes com IPF entre os linfócitos CD-3+ e índices funcionais das provas de função pulmonar e entre a densidade dessas células e a sobrevida; a correlação das células CD-68+ com o VEF₁;

dos neutrófilos (Elastase +) com o VR e o DLCO podem sugerir uma relevância fisiopatológica potencial entre as células mononucleares e em especial a densidade de linfócitos CD-3+ na patogênese da fibrose pulmonar e ser possivelmente um indicador da atividade da doença.

Entretanto, os mecanismos relacionados a estas correlações e ao relacionamento dos parâmetros inflamatórios e imunes, as mudanças estruturais no parênquima pulmonar permanecem ainda desconhecidos e serão necessários estudos adicionais para um esclarecimento do verdadeiro papel destas células na fibrose pulmonar.

6.5. REMODELAMENTO DO COLÁGENO DO TIPO V

A avaliação do colágeno tipo V e sua exploração quantitativa na UIP/IPF forneceu importantes características destas fibras. Pudemos observar e estabelecer que nos diferentes estágios temporais da UIP, as fibras do colágeno tipo V estão aumentadas, dispostas de forma desarranjada e combinando-se com outros tipos de fibras para desta forma criar uma organização e uma expressão espacial anormal destes colágenos⁽¹⁸¹⁻¹⁸²⁾.

As fibras do colágeno são o constituinte principal da matriz extracelular e talvez a molécula mais importante na estabilização da estrutura, do crescimento, e do reparo dos tecidos⁽¹⁸³⁾.

O colágeno do tipo V está presente nas paredes dos brônquios, bronquíolos e paredes dos vasos pulmonares. Esta característica coincide

com a produção deste tipo de colágeno pelo músculo liso e pelas células endoteliais e sua presença na membrana basal das paredes dos capilares e artérias⁽¹⁸⁴⁾.

Estudos de imunofluorescência precedentes do polimorfismo do colágeno na fibrose pulmonar sugerem que a deposição do colágeno III é um acontecimento observado nos estágios avançados da fibrose, visto que o colágeno do tipo I é o colágeno predominantemente depositado nos estágios mais recentes^(125,185).

O remodelamento pulmonar ativo na UIP/IPF dependente principalmente da fibrose mural organizante definido histologicamente como a proliferação de fibroblastos numa matriz extracelular edematosa com depósito de fibras de colágeno onde os focos de fibroblastos, representam a heterogeneidade temporal da doença ou seja, a atividade da mesma⁽¹⁸⁶⁻¹⁸⁷⁾. Ainda que o papel dos colágenos fibrilares I e III como proteínas de sustentação no remodelamento são bem conhecidos, levanta-se questões ao respeito da expressão do colágeno tipo V na fibrogênese.

O aumento do colágeno V e a desorganização morfológica das suas fibras com tamanhos e espessuras diferentes indicam um evento diferente de remodelamento ou um tipo diferente de fibrose? A associação do colágeno I com o colágeno V é de muita importância já que esta associação conduz a formação de fibras heterotípicas que controlam os diâmetros das fibras, influenciando as características funcionais de um tecido⁽¹⁸⁸⁻¹⁹⁰⁾. Alterações genéticas das moléculas do colágeno V podem danificar o controle da matriz extracelular alterando ou causando um processo de

remodelamento. Tal processo culmina na fibrose pulmonar principalmente nas doenças do tecido conectivo ^(134,191).

Evidências recentes sugerem que as mutações nas cadeias $\alpha 1(V)$ e na $\alpha 2(V)$ do colágeno do tipo V na síndrome de Ehlers-Danlos conduzem a mudanças morfológica nos tecidos ⁽¹⁹²⁻¹⁹³⁾ através de mudanças nas estruturas fibrilares dos colágenos. Estes resultados sugerem que uma falha na regulação e desorganização morfológica das fibrilas do colágeno V com tamanhos e espessura diferentes poderiam ter um papel importante e significativo nos mecanismos complexos de deposição das proteínas da matriz extracelular conduzindo à fibrose pulmonar ⁽¹⁹⁴⁾.

6.6. PROVAS DE FUNÇÃO PULMONAR E SOBREVIDA GLOBAL

De acordo com o revisto na literatura médica, o tempo de sobrevivência para um paciente com IPF tende a ser curto em média após o diagnóstico varia de 2.5 a 3.5 anos ⁽³³⁻³⁴⁾. A maioria das vezes, só o transplante pulmonar pode alterar a história natural da doença. Na pneumonia intersticial aguda a mortalidade pode chegar a até 50% ou mais, fazendo-se presente um a dois meses apesar do tratamento. Os sobreviventes da AIP podem experimentar recuperação ou cronicidade com doença intersticial pulmonar ^(49,53). A pneumonia intersticial não específica encontra-se numa posição intermediária entre as outras duas tendo um prognóstico favorável na expectativa de vida.

Em nosso estudo a taxa de sobrevivência global dos pacientes com AIP foi de 40%, os com NSIP de 77.27% e os com IPF de 35.48%.

Dada a heterogeneidade do remodelamento parenquimatoso e vascular encontrada nos casos da UIP, não foi de surpreender que exista uma relação estreita porém significativa com as provas de função pulmonar ($r_s = 0.48$) nestes grupos, no qual as alterações de remodelamento vascular pulmonares foram as mais severas.

Podemos dizer que a UIP é caracterizada por um remodelamento vascular substancial e importante, com deslocamento dos vasos intersticiais das vias aéreas.

Da mesma forma é importante ressaltar a associação existente entre as células do infiltrado inflamatório e as provas de função pulmonar encontradas (FEV₁/FVC ratio ×100, TLC, FVC, RV, RV/TLC, TLC, DLCO) neste grupo.

Ao mesmo tempo houve uma importante correlação com a sobrevida e a densidade de linfócitos da subpopulação T CD-3+, relacionando-se com uma maior sobrevida para aqueles pacientes com níveis mais baixos da densidade de linfócitos CD-3+ nos pacientes com fibrose pulmonar idiopática, estas correlações presentes tanto de remodelamento vascular como do tipo do infiltrado inflamatório nos fazem pensar que estas alterações possam contribuir de alguma forma no início, na perpetuação ou na extensão da injúria parenquimatosa. Apesar de que nossas correlações não impliquem relacionamentos diretos entre causa-efeito, pensamos que estas correlações significativamente positivas no grupo da UIP dos pacientes

com IPF entre o remodelamento vascular e a densidade do tipo de infiltrado inflamatório possam sugerir uma relevância fisiopatológica potencial entre estas alterações e a patogênese da fibrose pulmonar o serem possivelmente indicadores potenciais da atividade parenquimatosa da doença.

6.7. PERSPECTIVAS

O ambulatório especializado para o seguimento de pacientes com doenças pulmonares intersticiais está em pleno funcionamento, e melhor estruturado, incorporando novos casos com exames e seguimento padronizados.

Profissionais de diversas áreas, como clínicos, radiologistas, patologistas e pesquisadores desenvolvem atividades de assistência e pesquisa, juntamente com acadêmicos.

O laboratório de patologia da FMUSP desenvolve pesquisas ligadas a estes grupos de doenças. Nos últimos anos, muitos trabalhos foram realizados, aceitos e discutidos em congressos nacionais e internacionais. Vários projetos de iniciação científica foram concluídos e há ainda muitos em desenvolvimento.

Continuara-se o estudo destas doenças com a supervisão da professora Luiza Vera Capelozzi e sob duas linhas de pesquisa que envolveram estudo genético e experimental. Pretendemos estudar cultura celular e material genético destes pacientes, assim como desenvolver

experimentalmente modelos que redroduzam as características histológicas destas doenças e por conseguinte o melhor entendimento das mesmas.

Estes trabalhos estão em diferentes fases de desenvolvimento e outros como aqueles que tentão reproduzir o verdadeiro padrão histológico de IPF a cargo do Professor Dr João Valente Barbas-Filho quasi em fase de conclusão. Enfim, todos os componentes para uma pesquisa mais ampla estão prontos para que possa se compreender melhor as características destas lesões histológicas. É uma árdua tarefa que trairá muitas dúvidas e a esperança de respostas que melhorem os diagnósticos e tratamento dos pacientes.

Em um futuro próximo, esta tese servirá como uma singela referência histórica ante as promissoras respostas, que com certeza virão num futuro próximo; e será motivo para uma agradável conversa, do tempo em que estas doenças eram chamavas de “pneumonias intersticiais idiopáticas”.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

De acordo com o exposto, conclui-se:

7.1. CONCLUSÕES GERAIS

A partir de dados morfológicos, clínicos e provas de função pulmonar pudemos constatar a existencia de correlação etiopatogênica das alterações vasculares em relação ao progóstico e sobrevida.

7.2. CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

1. Existe uma relação direta entre a regressão vascular pré-acinar, intra-acinar e capilar e o remodelamento parenquimatoso, mais evidente na UIP pela qual a consideramos um protótipo de alteração vascular.
2. O remodelamento da vasculatura pré e intra-acinar e caracterizado pelo aumento de fibras de colágeno e as fibras elásticas levando a uma fibroelastose vascular a qual é diretamente proporcional ao grau de atividade fibrótica parenquimatosa.

3. O remodelamento vascular é particularmente ativo nas áreas de maior remodelamento parenquimatoso ativo, aumentando a possibilidade de isquemia, aumentando a fibroproliferação, aumentando a deposição de matriz extracelular e aumentando a resposta cicatricial à ferida.
4. Por outro lado o remodelamento vascular levaria a uma hipóxia crônica por diminuição do lume vascular pré e intra-acinar, aumento da matriz vascular extracelular com perda da distensibilidade dos vasos, aumento da matriz parenquimatosa sem neovascularização e aumento da injúria parenquimatosa e perpetuação da fibrose.
5. A densidade do infiltrado inflamatório foi maior em relação às células mononucleares, com índices maiores na subpopulação de linfócitos T CD-3+ indicando um mecanismo de ativação intrínseco destas células inflamatórias talvez, ativados e recrutados por moléculas de adesão vasculares e epiteliais contribuindo desta forma ainda mais no processo de injúria ao parênquima.
6. O aumento da expressão do colágeno do tipo V e a sua desestruturação podem indicar um mecanismo diferente de remodelamento e estar fortemente relacionado ao espectro histológico da doença e à presença de lesão da membrana basal tanto epitelial como endotelial representando injúria destas estruturas.

7. O remodelamento vascular e a densidade de células inflamatórias por se próprias ou por alteração do parênquima pulmonar contribuiria a alteração das provas de função pulmonar, principalmente no grupo de maior fibrose como é o caso da IPF, possibilitando uma possível participação do componente vascular e da inflamação na gênese ou na perpetuação desta doença.

8. Se o remodelamento vascular o aumento da densidade inflamatória intersticial e as mudanças observadas do colágeno V são eventos preliminares ou secundários à fibrose intersticial, não temos ainda uma resposta, mais este fato nos incentiva para futuras investigações.

8. ANEXOS

ANEXO A

Tabela A 1. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Pneumonia Intersticial Não Específica (N=22)

Caso	Idade	sexo	P. histológico	Febre	Tosse	Dispnéia	Status
1	55	F	NSIP-celular	+	+	Leve	V
2	44	F	NSIP-fibrosante	-	-	Leve	V
3	40	M	NSIP-celular	-	-	Leve	V
4	46	F	NSIP-celular	-	-	Leve	V
5	47	M	NSIP-celular	+	-	Leve	V
6	45	M	NSIP-celular	+	-	Moderada	O
7	39	F	NSIP-celular	-	-	Leve	O
8	73	F	NSIP-celular	-	-	Leve	O
9	55	M	NSIP-celular	-	-	Leve	V
10	57	F	NSIP-fibrosante	-	-	Leve	O
11	43	M	NSIP-celular	-	+	Moderada	O
12	48	M	NSIP-fibrosante	-	+	Ausente	V
13	42	F	NSIP-celular	-	+	Leve	V
14	49	F	NSIP-celular	-	+	Ausente	V
15	67	M	NSIP-celular	-	-	Ausente	V
16	49	F	NSIP-fibrosante	-	+	Leve	V
17	41	M	NSIP-celular	-	-	Leve	V
18	45	F	NSIP-celular	+	-	Leve	V
19	54	M	NSIP-fibrosante	-	-	Leve	V
20	46	F	NSIP-celular	+	-	Leve	V
21	76	F	NSIP-celular	-	+	Leve	V
22	57	M	NSIP-celular	+	+	Ausente	V

F = Feminino; M = Masculino; P. histológico = Padrão histológico; + = positivo; - = negativo; V = vivo; O = óbito.

Tabela A 2. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Pneumonia Intersticial Aguda (N=25)

Caso	Idade	Sexo	P.Histológico	Febre	Tosse	Dispnéia	Status
1	66	M	DAD-exudativo	+	+	Severa	O
2	48	M	DAD-proliferativo	+	+	Severa	O
3	47	M	DAD-proliferativo	-	+	Severa	V
4	39	F	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	O
5	52	M	DAD-exudativo	+	-	Severa	O
6	51	F	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	V
7	45	M	DAD-proliferativo	-	-	Moderada	O
8	55	M	DAD-proliferativo	-	-	Moderada	V
9	40	M	DAD-exudativo	+	-	Moderada	V
10	40	F	DAD-proliferativo	+	+	Severa	O
11	71	F	DAD-exudativo	+	+	Moderada	V
12	39	M	DAD-proliferativo	+	+	Severa	V
13	42	F	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	O
14	72	F	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	V
15	55	M	DAD-proliferativo	+	-	Severa	O
16	63	F	DAD-proliferativo	-	-	Leve	O
17	73	F	DAD-proliferativo	+	-	Severa	I
18	66	M	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	I
19	44	M	DAD-proliferativo	+	-	Severa	V
20	43	F	DAD-proliferativo	+	+	Severa	O
21	35	M	DAD-proliferativo	-	+	Severa	V
22	41	F	DAD-proliferativo	-	+	Moderada	V
23	54	M	DAD-proliferativo	+	+	Moderada	I
24	38	F	DAD-proliferativo	-	-	Moderada	I
25	74	F	DAD-proliferativo	+	-	Moderada	I

F = Feminino; M = Masculino; P. histológico = Padrão histológico; + = positivo; - = negativo; V = vivo; O = óbito; I = Indeterminado.

Tabela A 3. Dados clínicos e histo-patológicos dos pacientes com Fibrose Pulmonar Idiopática (N=62)

Caso	Idade	Sexo	P.Histológico	Febre	Tosse	Dispnéia	Status
1	80	M	UIP-F.moderada	-	+	Moderada	O
2	54	M	UIP-F.mínima	-	-	Leve	V
3	66	M	UIP-F.severa	-	-	Severa	O
4	60	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
5	58	F	UIP-F.moderada	-	-	Severa	O
6	73	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	I
7	73	M	UIP-F.mínima	-	-	Severa	O
8	71	F	UIP-F.severa	-	-	Leve	V
9	84	F	UIP-F.mínima	-	-	Moderada	I
10	74	M	UIP-F.severa	-	-	Severa	O
11	74	M	UIP-F.moderada	-	-	Severa	O
12	74	F	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
13	67	M	UIP-F.moderada	-	+	Moderada	V
14	54	F	UIP-F.moderada	-	+	Moderada	V
15	58	M	UIP-F.moderada	-	-	Moderada	O
16	64	F	UIP-F.moderada	-	+	Severa	O
17	67	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
18	71	F	UIP-F.mínima	+	-	Moderada	O
19	54	F	UIP-F.mínima	-	-	Severa	O
20	65	M	UIP-F.mínima	-	-	Leve	I
21	70	M	UIP-F.moderada	-	-	Moderada	V
22	73	F	UIP-F.moderada	-	-	Severa	O
23	55	M	UIP-F.moderada	-	-	Leve	V
24	72	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
25	67	F	UIP-F.mínima	-	-	Moderada	I
26	75	F	UIP-F.severa	-	-	Severa	O
27	51	M	UIP-F.moderada	-	-	Leve	V
28	64	F	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
29	74	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	V
30	57	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	V
31	56	F	UIP-F.severa	-	-	Moderada	V
32	69	M	UIP-F.severa	-	-	Leve	O

33	61	M	UIP-F.moderada	+	-	Severa	V
34	66	M	UIP-F.mínima	-	-	Severa	V
35	66	F	UIP-F.mínima	-	-	Leve	V
36	77	F	UIP-F.moderada	-	-	Leve	O
37	62	F	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
38	65	M	UIP-F.mínima	-	-	Leve	V
39	77	M	UIP-F.severa	-	-	Leve	V
40	59	F	UIP-F.severa	-	-	Severa	V
41	64	F	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
42	78	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
43	50	F	UIP-F.moderada	-	-	Moderada	O
44	60	M	UIP-F.moderada	-	-	Moderada	O
45	55	M	UIP-F.moderada	-	-	Severa	O
46	61	F	UIP-F.mínima	-	-	Moderada	V
47	51	F	UIP-F.mínima	-	-	Leve	O
48	58	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
49	54	M	UIP-F.severa	-	-	Severa	O
50	68	M	UIP-F.moderada	-	-	Moderada	V
51	76	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	O
52	52	M	UIP-F.mínima	-	+	Severa	O
53	82	F	UIP-F.severa	-	-	Leve	I
54	57	M	UIP-F.moderada	-	-	Leve	V
55	55	F	UIP-F.mínima	-	-	Severa	O
56	76	F	UIP-F.severa	-	-	Severa	O
57	62	F	UIP-F.severa	-	-	Severa	V
58	70	M	UIP-F.moderada	-	-	Leve	V
59	76	M	UIP-F.moderada	-	-	Leve	I
60	65	F	UIP-F.mínima	-	-	Leve	I
61	65	M	UIP-F.severa	-	-	Leve	V
62	60	M	UIP-F.severa	-	-	Moderada	I

F = Feminino; M = Masculino; P. histológico = Padrão histológico; + = positivo; - = negativo; V = vivo; O = óbito; I = Indeterminado.

9. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cotran RS, Kumar V, Collins T. ed. Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia, WB. Saunders Company, 1999; 123-143.
2. Filho GB. Bogliolo Patologia. Sexta Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A. 2000; 298-302.
3. Haefleli-bleuer B, Weibel E. Morphometry of the Human Pulmonary Acinus. Anat Record 1988; 220: 401-14.
4. Thurlbeck WM. Quantitative Anatomy of the Lung. in: Thurlbeck WM, Churg Am, Ed. Pathology of the Lung, 2nd Ed. New York: Thieme; 1995: 89-98.
5. Horsfield K, Cumming G. Morphology of the bronchial tree in man. J Appl Physiol 1968; 24: 373-383.
6. Keith L. Moore. Anatomia orientada para clínica. Terceira ed. 1994; 29-112.

7. Crapo JD, Barry BE, Gehr P, Bachofen M, Weibel ER. Cell number and cell characteristics of the normal human lung. *Am Rev Respir Dis*. 1982 Aug;126 (2): 332-337.
8. Simionescu M. Ultrastructural organization of the alveolar-capillary unit. *Ciba Found Symp*. 1980;78:11-36.
9. Castranova V, Rabovsky J, Tucker JH, Miles PR. The alveolar type II epithelial cell: a multifunctional pneumocyte. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1988 May;93(3):472-483.
10. Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM. *Pulmonary Diseases and Disorders*. Third ed. New York, Mc Graw-Hill 1998; vol 1: 122-61.
11. Colby T, Yousem SA. Lungs. In Sternberg SS, editor. *Histology for Pathologists*. Philadelphia: Lippincott-Reven, 1997: 433-460.
12. Sobin SS, Fung YC, Tremmer HM. Collagen and elastic fibers in human pulmonary alveolar walls. *J Appl Physiol* 1988; 64 (4): 1659-1675.
13. Carrington CB, Gaensler EA. Clinical-Pathologic Approach to Diffuse Infiltrative Lung Disease. In: Thurlbeck Wm, Abell Mr, Eds. *The Lung*:

Structure, Function And Disease. Baltimore: Williams And Wilkins; 1978:58-87.

14. Travis WD, King TE, Bateman ED, et al. ATS/ERS International Multidisciplinary Consensus Classification of Idiopathic Interstitial Pneumonia: general principles and recommendations. *Am.J.Respir.Crit.Care Med* 2002;165:277-304.

15. Travis WD, Colby TV, Koss MN, et al. Non-neoplastic Disorders of the Lower Respiratory Tract. Washington DC: American Registry of Pathology, 2002.

16. **Hansen JE, Wasserman K.** Pathophysiology of activity limitation in patients with interstitial lung disease. *Chest* 1996; 109: 1566-76.

17. Liebow AA and Carrington CB. The interstitial pneumonias. In *Frontiers of Pulmonary Radiology*. M. Simon, E. J. Potchen, and M. LeMay, editors. Grune and Stratton Inc, New York 1969;102-141.

18. Katzenstein AL and Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1998; 157: 1301-1315.

-
19. Muller NL, Colby TV. Idiopathic interstitial pneumonias: high-resolution CT and histologic finding. *Radiographics* 1997; 17: 10016-1022.
19. Akira M, Sakatani M and Ueda E. Idiopathic pulmonary fibrosis: progression of honeycombing at thin-section CT. *Radiology* 1993; 189: 687-691.
20. Kazerooni EA, Martinez FJ, Flint A, Jamadar DA, Gross BH, Spizarny DL, Cascade PN, Whyte RI, Lynch JP, Toews G. Thin-section CT obtained at 10-mm increments versus limited three-level thin-section CT for idiopathic pulmonary fibrosis: correlation with pathologic scoring. *Am. J. Roentgenol* 1997; 169: 977-983.
21. Kim TS, Lee KS, Chung MP, Han J, Park JS, Hwang JH, Kwon OJ, Rhee CH. Nonspecific interstitial pneumonia with fibrosis: high-resolution CT and pathologic findings. *Am. J. Roentgenol* 171; 1645-1650. in transbronchial biopsies. *Histopathology* 1998; 23: 541-545.
22. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 967-72.
23. Baumgartner KB, Samet J, Stidley CA, Colby TV, Waldron JA. Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. Collaborating Centers. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 242-248.

-
24. Scott J, Johnston I, Britton J. What causes cryptogenic fibrosing alveolitis? A case-control study of environmental exposure to dust. *Br Med J* 1990; 301: 1015-1017.
25. Billing CG, Howard P. Hypothesis: exposure to solvents may cause fibrosing alveolitis. *Eur Respir J* 1994; 7: 1172-1176.
26. Jakab GJ. Sequential virus infections, bacterial superinfections, and fibrogenesis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:374-179.
27. Meliconi R, Andreone P, Fasano L, Galli S, Pacilli A, Minieiro R. Incidence of hepatitis C virus infection in Italian patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 1996; 51: 315-317.
28. Ellis RH. Familial incidence of diffuse interstitial fibrosis. *Postgrad Med J* 1965; 41: 150-152.
29. Marshall RP, Puddicombe A, Cookson WO, Laurent GJ. Adult Familial cryptogenic fibrosing alveolitis in the United Kingdom. *Thorax* 2000; 55: 143-146.
30. Turner-Warwick M, Burrows B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis: Clinical features and their influence on survival. *Thorax* 1980; 35: 171-180.

-
31. King TE Jr, Costabel U, Cordier J-F, do Rico GA, du Bouis RM, Lynch D, Lynch JP III, Myers JL, Panos RJ, Raghu G. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 646-664.
32. LoK SS. Interstitial lung disease clinics for the management of idiopathic pulmonary fibrosis: a potential advantage to patients. Greater Manchester Lung Fibrosis Consortium. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18 (9):884-890.
33. Nagai S, Kitaichi M, Hamada K, Nagao T, Hoshino Y, Miki H, Izumi T. Hospital-based historical cohort study of 234 histologically proven Japanese patients with IPF. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1999; 16: 209-214.
34. Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 2001; 134: 136-151.
35. Lynch DA, Travis WD, Muller NL, Galvin JR, Hansell DM, Grenier PA, King TE Jr. Idiopathic interstitial pneumonias: CT features. *Radiology* 2005; 236 (1): 10-21. Review.
36. Desai SR, Veeraraghavan S, Hansell DM, Nikolakopoulou A, Goh NS, Nicholson AG, Colby TV, Denton CP, Black CM, du Bois RM, Wells AU. CT features of lung disease in patients with systemic sclerosis: comparison with

idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia. *Radiology* 2004; 232 (2): 560-567.

37. Nagao T, Nagai S, Kitaichi M, Hayashi M, Shigematsu M, Tsutsumi T, Satake N, Izumi T. Usual interstitial pneumonia: idiopathic pulmonary fibrosis versus collagen vascular diseases. *Respiration* 2001; 68 (2): 151-159.

38. Travis WD, Matsui K, Moss JE, Ferrans VJ. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: prognostic significance of cellular and fibrosing patterns. Survival comparison with usual interstitial pneumonia and desquamative interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 444-449.

39. Kanmatsu T, Kitaichi M, Nagai S, Izumi T. Clubbing of fingers and smooth-muscle proliferation in fibrotic changes in the lung in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1994; 105: 339-342.

40. Katzenstein AL, Fireolli RF. Nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis. Histologic features and clinical significance. *Am J Surg Pathol* 1994; 18: 136-147.

41. Griffiths MH, Miller RF, Semple SJ. Interstitial pneumonitis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Thorax*. 1995; 50: 1141-1146.

42. Fujita J, Yamadori I, Suemitsu I, Yoshinouchi T, Ohtsuki Y, Yamaji Y, Kamei T, Kobayashi M, Nakamura Y, Takahara J. Clinical features of non-specific interstitial pneumonia. *Respir Med* 1999; 93 (2): 113-118.
43. Cottin V, Donsbeck AV, Revel D, Oire R, Cordier JF. Nonspecific interstitial pneumonia. Individualization of a clinicopathologic entity in a series of 12 patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1286-1290.
44. Nishiyama O, Kondoh Y, Taniguchi H, Yamaki K, Suzuki R, Yokoi T, Takagi K. Serial high resolution CT findings in nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis. *J Comput Assist Tomogr.* 2000; 24 (1): 41-46.
45. Hartman TE, Swensen SJ, Hansell DM, Colby TV, Myers JL, Tazelaar HD, Nicholson AG, Wells AU, Ryu JH, Midthun DE, du Bois RM, Muller NL. Nonspecific interstitial pneumonia: variable appearance at high-resolution chest CT. *Radiology* 2000; 217 (3): 701-705. Erratum in: *Radiology* 2001; 218 (2): 606.
46. Naai S, Kitaichi M, Ito H, Nisshimura K, Izumi T, Colby TV. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis: comparison with idiopathic pulmonary fibrosis and BOOP. *Eur Respir J* 1999; 13: 171.
47. William D, Travis WD, Matsui K, Moss J, Ferrans VJ. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: prognostic significance of cellular and

fibrosing patterns: survival comparison with usual interstitial pneumonia and desquamative interstitial pneumonia. *Am J Surg Pathol* 2000; 24 (1): 19-33.

48. Hamman L, Rich AR. Acute diffuse interstitial fibrosis of the lung. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1944; 74: 177.

49. Bouros D, Nicholson AC, Polychronopoulos V, du Bois RM. Acute interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2000; vol 15(2): pp 412-8

50. Askin FB. Back to the future: the Hamman-Rich syndrome and acute interstitial pneumonia (editorial). *Mayo Clin Proc* 1990; 65: 1624-1626.

51. Kazenstein AL, Myers JL, Mazur MT. Acute interstitial pneumonia. A clinicopathologic, ultrastructural, and cell kinetic study. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 256-267.

52. Olson J, Colby TV, Elliott CG. Hamman-Rich syndrome revisited. *Mayo Clin Proc* 1990; 65: 1538-1548.

53. Vourlekis JS, Brown KK, Cool CD, Yung Da, Cherniack RM, King TE Jr, Schwarz MI. Acute Interstitial Pneumonitis. Case series and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79: 69-378.

54. Nagai S, Kitaichi M, Izumi T. Classification and recent advances in

idiopathic interstitial pneumonia. *Curr Opin Pulm Med* 1998; 4: 256-260.

55. Primack SL, Hartman TE, Ikezoe J, Akira M, Sakatani M, Mulher NL. Acute interstitial pneumonia: radiographic and TC findings in nine patients. *Radiology* 1993; 188: 817-820.

56. Nagai S, Izumi T. Bronchiolitis obliterans whit organizing pneumonia. *Curr opin Pulm Med* 1996; 2 (5): 419-423.

57. Davinson AG, Heard BE, McAllister WAC, Turner-Warwick ME. Cryptogenic organizing pneumonitis. *Q J Med* 1983; 207: 382-394.

57. Kitaichi M. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (BOOP). In: Takishima T, ed. Basic and clinical aspects of pulmonary fibrosis. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994: pp 463-88.

58. King TE Jr, Mortenson RL. Criptogenic organizing pneumonitis. The North Aerican experience. *Chest* 1992; 102: 8S-13S.

59. Colby TV. Pathologic aspects of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Chest* 1992; 102; 38S-43S.

60. Epler GR. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Semin Respir Infect* 1995; 10 (2): 65-77.

-
61. Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974; 291: 755-758.
61. Myers JL, Veal CF Jr, Shin MS, Katzenstein AL. Respiratory bronchiolitis causing interstitial lung disease. A clinicopathologic study of six cases. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 880-884.
62. Heyneman LE, Ward S, Lynch DA, Remy-Jardin M, Johkoh T, Muller NL. Respiratory bronchiolitis, respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease, and desquamate interstitial pneumonia: different entities or part of the spectrum of the same disease process? *Am J Roentgenol* 1999; 173: 1617-1622.
63. Gruden JF, Webb WR. CT findings in a proved case of respiratory bronchiolitis. *Am J Roentgenol* 1993; 161: 44-46.
64. Caron F, Meurice JC, Bouchind'Homme B, Dumont P, Roblot P, Patte F. Desquamate interstitial pneumopathy: a rare form of diffuse interstitial pneumopathy. *Rev Mal Respir* 1998; 15 (2); 196-198.
65. Tubs RR, Benjain SP, Reich NE, MacCormack LJ, Van Ordstrand HS. Desquamate interstitial pneumonitis. Cellular phase of fibrosing alveolitis. *Chest* 1977; 72: 159-165.

-
66. Carrington CB, Gaensler EA, Coutu RE, FitzGerald Mx, Grupta RG. Natural history and treated course of usual and desquamative interstitial pneumonia. *N Engl J Med* 1978; 298: 801-809.
67. Yousem SA, Colby TV, Carrington CB. Lung biopsy in rheumatoid arthritis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 770-777.
68. King TE Jr. Respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease. *Clin Chest Med* 1993; 14: 693-698.
69. Nagai S, Kitaichi M, Izumi T. Classification and recent advances in idiopathic interstitial pneumonia. *Curr Opin Pulm Med* 1998; 4: 256-260
70. Yousem SA, Colby TV, Genles EA. Respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease and its relationship to desquamative interstitial pneumonia. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 1373-1380.
71. Nicholson AG. Lymphocytic interstitial pneumonia and other lymphoproliferative disorders in the lung. *Semin Respir Crit Care Med* 2001; 22 (4): 409-422.
72. Pitt J. Lymphocytic interstitial pneumonia. *Pediatr Clin North Am* 1991; 38 (1): 89-95.

-
73. Teirstein As, Rosen MJ. Lymphocytic interstitial pneumonia. *Clin Chest Med* 1988; 9 (3): 467-471.
74. Merrill, W. W., and H. Y. Reynolds. Bronchial lavage in inflammatory lung disease. *Clin. Chest Med* 1983; 4:71-84.
75. Reynolds HY. Idiopathic interstitial pulmonary fibrosis. Contribution of bronchoalveolar lavage analysis. *Chest* 1986; 89 (3 Suppl): 139S-144S.
76. Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights in its pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34 (12): 1534-1538.
76. Hu H, Stein-Streilein J. Hapten-immune pulmonary interstitial fibrosis (HIPIF) in mice requires both CD4+ and CD8+ T lymphocytes. *J Leukoc Biol* 1993; 54 (5): 414-422.
77. Mosmann TR, Subash S. The expanding universe of Tcell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-147.
78. Sleijfer S. Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120: 617-624.
79. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby J, 2003. *Immunology* (5th ed.). W. H. Freeman and Company, New York, USA

80. Katzenstein AL. Pathogenesis of "fibrosis" in interstitial pneumonia: an electron microscopic study. *Hum. Pathol* 1985; 16: 1015-1024.
81. Maeyama, T., K. Kuwano, M. Kawasaki, R. Kunitake, N. Hagimoto, T. Matsuba, M. Yoshimi, I. Inoshima, K. Yoshida, and N. Hara. Upregulation of Fas-signalling molecules in lung epithelial cells from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir J* 2001; 17:180-189.
82. Kuwano K, Hagimoto N, Kawasaki M, Yatomi T, Nakamura N, Nagata S, Suda T, Kunitake R, Maeyama T, Miyazaki H, Hara N. Essential roles of the Fas-Fas ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.* 1999; 104: 13-19.
83. Li X, Zhang H, Soledad-Conrad V, Zhuang J, Uhal BD. Bleomycin-induced apoptosis of alveolar epithelial cells requires angiotensin synthesis de novo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284 (3): L501-L507.
84. Wang, R., O. Ibarra-Sunga, L. Verlinski, R. Pick, and B. D. Uhal. Abrogation of bleomycin-induced epithelial apoptosis and lung fibrosis by captopril or by a caspase inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: L143-L151.
85. Kuwano K, Kunitake R, Maeyama T, Hagimoto N, Kawasaki M, Matsuba T, Yoshimi M, Inoshima I, Yoshida K, Hara N. Attenuation of bleomycin-

induced pneumopathy in mice by a caspase inhibitor. *Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L316–L325.

86. Hagimoto N, Kuwano K, Inoshima I, Yoshimi M, Nakamura N, Fujita M, Maeyama T, Hara N. TGF- β 1 as an enhancer of Fas-mediated apoptosis of lung epithelial cells. *J. Immunol* 2002; 168: 6470-6478.

87. Cantin AM, Hubbard RC, and Crystal RG. Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis* 1989; 139:370-372.

88. Crystal RG. Oxidants and respiratory tract epithelial injury: pathogenesis and strategies for therapeutic intervention. *Am. J. Med* 1991; 91: 39S-44S.

89. Cantin AM, North SL, Hubbard RC, Crystal RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* 1987; 63 (1): 152-157.

89. Wang R, Alam G, Zagariya A, Gidea C, Pinillos H, Lalude O, Choudhary G, Oezatalay D, Uhal BD. Apoptosis of lung epithelial cells in response to TNF- α requires angiotensin II generation de novo. *J Cell Physiol* 2000; 185: 253-259.

-
90. Ortiz LA, Lasky J, Hamilton RF, Holian A, Hoyle GW, Banks W, Peschon JJ, Brody AR, Lungarella G, Friedman M. Expression of TNF and the necessity of TNF receptors in bleomycin-induced lung injury in mice. *Exp Cell Res* 1998; 24: 721-743.
91. Ziegenhagen MW, Schrum S, Zissel G, Zipfel PF, Schlaak M, Muller-Quernheim J. Increased expression of proinflammatory chemokines in bronchoalveolar lavage cells of patients with progressing idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis. *J Investig Med* 1998; 46 (5): 223-231.
91. Barbas-Filho JV, Ferreira MA, Sesso A, Kairalla RA, Carvalho CR, Capelozzi VL. Evidence of type II pneumocyte apoptosis in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis (IFP)/usual interstitial pneumonia (UIP). *J Clin Pathol* 2001; 54 (2): 132-138.
92. Young L, Adamson IY. Epithelial-fibroblast interactions in bleomycin-induced lung injury and repair. *Environ Health Perspect* 1993; 2201(1): 56-61.
93. Adamson IYR, Hedgecock C, Bowden DH: Epithelial cell-fibroblast interactions in lung injury and repair. *Am J Pathol* 1990; 137: 385-392.
94. Panos RJ, Rubin JS, Aaronson SA, Mason RJ: Keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor are heparin-binding growth

factors for alveolar Type II cells in fibroblast conditioned medium. *J Clin Invest* 1993; 92: 969-977.

95. Ulich TR, Yi ES, Longmuir K, Yin S, Blitz R, Morris CF, Housley RM, Pierce GF: Keratinocyte growth factor is a growth factor for Type II pneumocytes in vivo. *J Clin Invest* 1994; 93: 1298-1306.

96. Rubin JS, Chan AM, Bottaro DP, Burgess WH, Taylor WG, Cech AC, Hirschfield DW, Wong J, Miki T, Finch PW, Aaronson SA: A broad spectrum human lung fibroblast-derived mitogen is a variant of hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 415-419.

97. Raghu G, Chen YY, Rusch V, Rabinovitch PS. Differential proliferation of fibroblasts cultured from normal and fibrotic human lungs. *Am Rev Respir Dis* 1988;138 (3): 703-708.

98. Keane MP, Arenberg DA., Lynch III JP, Whyte RI, Iannettoni MD, Burdick MD, Wilke CA, Morris SB, Glass MC, DiGiovine B, Kunkel SL, Strieter RM. The CXC chemokines, IL-8 and IP-10, regulate angiogenic activity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 1997; 159: 1437-1443.

99. Golden A, Bronk TT. Diffuse interstitial fibrosis of lungs. *Arch Intern Med* 1953;92:606–614.

-
100. Turner-Warwick M. Precapillary systemic–pulmonary anastomoses. *Thorax* 1963; 18: 225–237.
101. Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, Petkov V, Block LH. A preliminary study of long-term treatment with interferon gamma-1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 1999; 341: 1264-1269.
102. Giri SN., Hyde DM, and Marafino Jr BJ. Ameliorating effect of murine interferon gamma on bleomycin-induced lung collagen fibrosis in mice. *Biochem Med Metab Biol* 1986; 36:194-197.
103. Gracey DR, Divertie MB, Brown AL, Jr. Alveolar–capillary membrane in idiopathic interstitial pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1968;98:16–21.
104. Coalson JJ. The ultrastructure of human fibrosing alveolitis. *Virchows Arch* 1982; 395: 181-199.
105. Renzoni EA, Walsh DA, Salmon M, Wells AU, Sestini P, Nicholson AG, Veeraraghaven S, Bishop A E, Romanska HM, Pantelidis P, Black CM, Du Bois RM. Interstitial vascularity in fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 438-443.

106. Lapi-Blanco E, Soini Y, Kinnula V, Paakko P. VEGF and bFGF are highly expressed in intraluminal fibromyxoid lesions in bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *J Pathol* 2002; 196: 220-227.
107. Koyama S, Sato E, Haniuda M, Numanami H, Nagai S, Izumi T. Decreased level of vascular endothelial growth factor. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 382-385.
108. Ebina M, Shimizukawa M, Shibata N, Kimura Y, Suzuki T, Endo M, Sasano H, Kondo T, Nukiwa T. Heterogeneous increase in CD34-positive alveolar capillaries in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169 (11): 1179-1180.
109. Conran RS, Vinay, Kumar, Collins T. Acute and chronic inflammation. Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed. Pennsylvania: WB Saunders Company, 1999: 50-88.
110. Roitt I, Brostoff J, Male D. Migração celular e inflamação. *Imunologia*, 5^a ed. Editora Manole Ltda, 1999: 61-69
111. Mulligan MS, Vaporciyan AA, Warner RL. Compartmentalized roles for leukocytic adhesion molecules in lung inflammatory injury. *Immunology J* 1995; 154: 1350-1363.

112. Southcott AM, Hemingway I, Lorimer S, Sugars K, Hellewell PG, Black CM, Jeffery PK, Gearing AJ, Haskard DO, du Bois RM. Adhesion molecule expression in the lung: a comparison between normal and diffuse interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1998; 11: 91-98.

113. Shijubo N, Imai K, Honda Y, *et al.* Soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in sera and bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 156-161.

114. Paine R, Ward PA. Cell adhesion molecules and pulmonary fibrosis. *Am J Med* 1999; 107: 268-279.

115. Matsuse T, Teramoto S, Katayama H. ICAM-1 mediates lung recruitment but not pulmonary fibrosis in a murine model of bleomycin-induced lung injury. *Eur Respir J* 1999; 13: 71-77.

116. Nakao A, Hasegawa Y, Tsuchiya Y, Shimokata K. Expression of cell adhesion molecules in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1995; 108: 233-239.

117. Schaberg T, Rau M, Stephan H, Lode H. Increased number of alveolar macrophages expressing surface molecules of the CD11/CD18 family in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis is related to the production of superoxide anions by these cells. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1507-1513.

118. Hoogsteden HC, van Hal PTW, Wijkhuijs JM, *et al.* Expression of the CD11/CD18 cell surface adhesion glycoprotein family and MHC class II antigen on blood monocytes and alveolar macrophages in interstitial lung diseases. *Lung* 1992; 170: 221-233.

119. Meyer KC, Powers C, Rosenthal N, Auerbach R. Alveolar macrophage surface carbohydrate expression is altered in interstitial lung disease as determined by lectin-binding profiles. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1325-1334.

120. Crystal RG, Fulmer JO, Baum BJ. Cells, collagen, and idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung* 1978; 155: 199-224.

121. Fukuda Y, Basset F, Ferrans VJ, *et al.* Significance of early intra-alveolar fibrotic lesions and integrin expression in lung biopsy specimens from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Hum Pathol* 1995; 26 (1): 53-61.

122. Rozin GF, Gomes MM, Parra ER, Kairalla RA, de Carvalho CR, Capelozzi VL. Collagen and elastic system in the remodelling process of major types of idiopathic interstitial pneumonias (IIP). *Histopathology* 2005; 46 (4): 413-421.

123. Raghu G, Striker LJ, Hudson LD, *et al.* Extracellular matrix in normal

and fibrotic human lungs. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131 (2): 281-9.

124. Marian TJ, Roby JD, Mecham RP et al. Localization of Type I procollagen gene expression in silica-induced granulomatous lung disease and implication of transforming growth factor-beta as a mediator of fibrosis. *Am J Pathol* 1996; 148 (1): 151-164.

125. Shahzeidi S, Jefery PK, Laurent et al. Increased type I procollagen mRNA transcripts in the lung of mice during the development of bleomycin-induced fibrosis. *Eur Respir J* 1994; 7 (11): 1938-1943.

126. Zhang K, Gharaee-Kermani M, Mc Garry B et al. In situ hybridization analysis of rat lung alpha 1(I) and alpha 2(I) collagen gene expression in pulmonary fibrosis induced by endotracheal bleomycin injection. *Lab Invest* 1994; 70 (2): 192-202.

127. Nishiyama T, McDonough AM, Bruns RR et al. Type XII and XIV collagens mediate interactions between banded collagen fibers in vitro and may modulate extracellular matrix deformability. *J Biol Commun* 2003; 308 (1): 152-158.

128. Walchii C, Koch M Chiquet M. Tissue-specific expression of the fibril-associated collagen XII and XIV. *J Cell Sci* 1994; 107 (Pt 2): 669-681.

129. Hay ED. Matrix assembly. In: Hay ED (Eds) Cell biology of extracellular matrix, 20th ed. Plenum, New York. 1991; 221-249.

19. Haque MA, Mizobuchi T, Yasufuku K, Fujisawa T, Brutkiewicz RR, Zheng Y, Woods K, Smith GN, Cummings OW, Heidler KM, Blum JS, Wilkes DS. Evidence for immune responses to a self-antigen in lung transplantations: Role of type V collage-specific T cells in the pathogenesis of lung allograft rejection. *J Immunol* 2002; 169:1542-1549.

20. Yasufuku K, Heidler KM, Woods KA, Smith GNJ, Cummings OW, Fujisawa T, Wilkes DS. Prevention of bronchiolitis obliterans in rat lung allografts by type V collagen-induced oral tolerance. *Transplantation* 2002; 73: 500-505.

21. Yasufuku K, Heidler KM, O'Donnell PW, Smith Jr GN, Cummings OW, Foresman BH, Fujisawa T, Wilkes DS. Oral tolerance induction by type V collagen downregulates lung allograft rejection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25: 26-34.

130. Burgeson RE, Adili FAL, Kaitila II. Fetal membrane collagens: Identification of two new collagen alpha chains. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1976; 73: 2579-2583.

131. Mayne R, Burgeson R. Structure and function of collagen types. In:

Ulecham R (Ed) *Biology of Extracellular Matrix*, 20th ed., Academic Press, London 1993; 1-37

132. Adachi E, Hopkinson I, Hayashi T. Basement-membrane stromal relationships: interactions between collagen fibrils and the lamina densa. *Int Rev Cytol* 1997; 173: 73-156.

133. Linsenmayer TF, Fitch JM, Birk DE. Heterotypic collagen fibrils and stabilizing collagens: Controlling elements in corneal morphogenesis. *Ann NY Acad Sci* 1990; 580: 143-60.

134. Teodoro WR, Parra ER, Capelozzi VL, et al. Architectural remodelling in lungs of rabbits induced by type V collagen immunization: a preliminary morphologic model to study diffuse connective tissue diseases. *Pathol Res Pract* 2004; 200 (10): 681-91.

135. Gomes MMG, Rozin GF, Parra ER, Kairalla R, Saldiva PHN, Capelozzi VL. Prevalence of non-infectious diffuse interstitial lung diseases (DILD) among 444 patients with open lung biopsies. *Histopathology* 2002;41(1): 64-206 (Abstract).

136. Parra ER, Gomes MM, Rozin G, Ab'Saber AM, de Carvalho CRR, Kairalla RA, Capelozzi VL. New ATS 2001 Classification Revisited in

Idiopathic Interstitial Pneumonia (IIP): Impact on the Frequency of Specific Entities. *Am J Respir Crit Care* 2003; 167 (7): A 990 (Abstract).

137. American Thoracic Society. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: diagnosis and treatment. International Consensus Statement. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:646-664.

138. Heath D, Edwards JE (1958) The pathology of hypertension pulmonary vascular disease. A description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac defects. *Circulation* 18:533-547.

139. Wiebe BM, Laursen H (1998) Lung morphometry by unbiased methods in emphysema: bronchial and blood vessel volume, alveolar surface area and capillary length. *APMIS* 106 (6):651-656.

140. Blumer R, Konakci KZ, Brugger PC, et al. Muscle spindles and Golgi tendon organs in bovine calf extraocular muscle studied by means of double-fluorescent labeling, electron microscopy, and three-dimensional reconstruction. *Exp Eye Res* 2003 Oct; 77(4): 447-62.

(141) (Nyengaard JR, Bendtsen TF, Gundersen HJ. Stereological estimation of the number of capillaries, exemplified by renal glomeruli. *APMIS Suppl.* 1988; 4: 92-99.).

141. Howrad CV, Reed MG, eds. Unbiased stereology: three-dimensional measurement in microscopy. In: Microscopy handbooks, vol. 41. New York: Springer-Verlag & BIOS Scientific Publishers Ltd., 1998.
142. Norusis MJ, SPSS for Windows [10.0] Chicago, SPSS Inc.; 2002.
143. Parra ER, Yonara Rivelle, Alexandre Ab'Saber, V.L. Capelozzi. Vascular Remodeling Process in Usual Interstitial Pneumonia. *European Respiratory Journal* 2004; 24 (48): 320S (Abstract).
144. Parra E.R., Y.R. David, R. Souza, A.M. Ab'Saber, C.H. Felicio, L.S. da Costa, R.A. Kairalla, C. R.R. de Carvalho, V.L. Capelozzi. Vascular Changes and Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Respir Crit Care Med* 2004; 169 (7): A 106 (Abstract).
145. Peao MND, Aguas AP, DeSa CM, Grande NR. Neofornation of blood vessels in association with rat lung fibrosis induced by bleomycin. *Anat Rec* 1994; 238: 57-67.
146. Capelozzi VL, Batista AL, Gomes MM, Parra ER, Ab`Saber A, de Carvalho CRR, Kairalla RA. Architectural Remodelling in Usual Interstitial Pneumonia: From Alveolar Collapse and mural Organizing Fibrosis to Honeycombing. *Eur Respir J* 2004; 24 (48): 557S (Abstract).

147. Baptista AL, Parra ER, Gomes MM, Ab'Saber AM, Fernezlian SM, de Carvalho CRR, Kairalla RA, Capelozzi VL. Remodelamento arquitetural na pneumonnia intersticial usual: colapso alveolar frente à fibrose mural organizante. *FeSBE* 2004;148: 06.019 (Abstract).

148. Parra ER, David YR, da Costa LRS, Ab'Saber A, Sousa R, Kairalla RA, de Carvalho CRR, Filho MT, Capelozzi VL. Heterogeneous remodeling of lung vessels in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung* 2005; 183 (4): 291-300.

149. Cutaia M, Rounds S (1990) Hypoxic pulmonary vasoconstriction: physiologic significance, mechanism, and clinical relevance. *Chest* 97:706–718.

150. Basset F, Ferrans VJ, Soler P, Takemura T, Fukuda Y, Crystal RG. Intraluminal fibrosis in interstitial lung disorders. *Am J Pathol* 1986; 122: 443-461.

151. Myers JL, Katzeinstein AL. Epithelial necrosis and alveolar collapse in the pathogenesis of usual interstitial pneumonia. *Chest* 1988; 94: 1309-1311.

152. Fukuda Y, Basset F, Soler P, Ferrans VJ, Masugi Y, Crystal RG. Intraluminal fibrosis and elastic fiber degradation lead to lung remodelling in pulmonary Langerhans cell granulomatosis (histiocytosis X). *Am J Pathol* 1990; 137: 415-424.

153. Fukuda YM, Ishizaki M, Kudoh S, Kitaichi M, Yamanada N. Localization of matrix metalloproteinases-1, 2, and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in interstitial lung diseases. *Lab Invest* 1998; 78: 687-698.
154. Fukuda Y, Ishizaki M, Masuda Y, Kimura G, Kawanami O, Masugi Y. The role of intra-alveolar fibrosis in the process of pulmonary structural remodelling in patients with diffuse alveolar damage. *Am J Pathol* 1987; 126: 171-182.
155. Tozzi CA, Christiansen DL, Poiani GJ, Riley DJ. Excess collagen in hypertensive pulmonary arteries decreases vascular distensibility. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149 (5): 1317-26.
156. Li, DY. Elastin is an essential determinant of arterial morphogenesis. *Nature* 1998.393:276-280.
157. Bitterman PB, Pollunovsky VA, Ingbar DH. Repair after acute lung injury. *Chest* 1994; 105 (Suppl 118): 120.
158. Mariani TJ, Crouch E, Rouby JD, Starcher B, Pierce RA. Increased elastin production in experimental granulomatous lung disease. *Am J Pathol* 1995; 147: 988-1000.

159. Li, DY. Elastin point mutations cause an obstructive vascular disease, supravalvular aortic stenosis. *Hum Mol* 1997; 6:1021-1028.
160. Ried L, Meyrick B. Hypoxia and pulmonary vascular endothelium. *Ciba Fund Symp* 1980; 78: 37-60.
161. Meyrick B, Reid L. Hypoxia-induced structural changes in the media and adventitia of the rat hilar pulmonary artery and their regression. *Am J Pathol* 1980; 100 (1): 151-78.
162. Vyas-Somani AC, Aziz SM, Arcot SA, Gillespie MN, Olson JW, Lipke DW. Temporal alterations in basement membrane components in the pulmonary vascular of the chronically hypoxic rat: impact of hypoxia and recovery. *Am J Med Sci* 1996; 312 (2): 54-67.
163. Parra ER, Felicio CHC, Capelozzi VL. Active vascular remodelling in idiopathic interstitial pneumonias: collagen-elastic system fibers evaluation. *Boletim de Pneumologia Paulista* 2005; 19 (29): 68 P201 (Abstract).
164. Masahito E, Minoru S, Naoko S, et al. Heterogeneous Increase in CD34-positive Alveolar Capillaries in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 1203-1208.
165. Golden A, Bronk TT. Diffuse interstitial fibrosis of lungs. *Arch Intern Med*. 1953; 92: 606-614.

166. Van Dinther-Janssen ACHM, Van Maarsseveen TCMTH, Eckert H, et al. Identical expression of ELAM-1, VCAM-1 and ICAM-1 in sarcoidosis and usual interstitial pneumonitis. *J Pathol* 1993; 170: 157-164.
167. Parra ER, Ab'Saber AM, da Costa LRS, Capelozzi VL. Estudo das moléculas de adesão e da densidade vascular nas pneumonias intersticiais idiopáticas. *FeSBE* 2004;78: 06.016 (Abstract).
168. Parra ER, da Costa LRS, Ab'Saber A M, de Carvalho CRR, Kairalla RA, Fernezliam SM, Capelozzi VL. CD34, VCAM-1, E-Selectin and ICAM-1 Expression in alveolar epithelial and endothelial cells in major types of idiopathic interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2005; 26 (49): 267S (Abstract).
169. Parra ER, da Costa LRS, Ab'Saber A, de Carvalho CRR, Teixeira LR, Capelozzi VL. Non-homogeneous density of CD34 and VCAM-1 alveolar capillaries in major types of idiopathic interstitial pneumonia. *Lung* 2005 (Imprinting).
170. Mayet WJ, Schwarting A, Orth T, et al. Antibodies to proteinase 3 mediate expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 259-267.
171. Shijubo N, Imai K, Aoki S, Hirasawa M, Sugawara H, Koba H, Tsujisaki M, Sugiyama T, Hinoda Y, Yachi A, et al. Circulating intercellular adhesion

molecule-1 (ICAM-1) antigen in sera of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol* 1992 Jul;89(1):58-62.

172. Tsoutsou PG, Gourgoulisanis KI, Petinaki E, Mpaka M, Efremidou S, Maniatis A, Molyvdas PA. ICAM-1, ICAM-2 and ICAM-3 in the Sera of Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Inflammation* 2004 Dec;28 (6):359-64.

173. Katzenstein A, Zisman AD, Litzky AL, Nguyen TB, Kotloff MR: Usual interstitial pneumonia. Histologic study of biopsy and explant specimens. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1567-1577.

174. Flaherty KR, Travis WD, Colby TV, Toews BG, Kazerooni AE, Gross HB, Jain A, Strawderman LR III, Flint A, Lynch PJ III, Martinez JF: Histopathologic variability in usual and nonspecific interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1722-1727.

175. Campell DA, Poulter LW, Janossy G, du Bois RM: Immunohistological analysis of lung tissue from patients with cryptogenic fibrosing alveolitis suggesting local expression of immune hypersensitivity. *Thorax* 1985; 40: 405-411.

176. White SR, Lazar HM, Thannichal JV: Pathogenetic mechanisms in usual interstitial pneumonia/idiopathic pulmonary fibrosis. *J Pathol* 2003; 201: 343-354.

177. Kradin RL, Divertie MB, Colvin RB, Ramirez J, Ryu J, Carpenter HA, Bhan AK: Usual interstitial pneumonitis is a T-cell alveolitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1986, 40: 224-235.
178. Haslam LP: Evaluation of alveolitis by studies of lung biopsies. *Lung* 1990; (Suppl 168): 984-992.
179. Paradis LI, Dauber HJ, Rabin SB: Lymphocyte phenotypes in bronchoalveolar lavage and lung biopsies in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 855-860.
180. Yamadori I, Fujiata J, Kajitani H, Tokuda M, Yang Y, Ohtsuki Y, Yoshinouchi T, Kamei T, Ishida T: Lymphocytic subsets in lung tissue of non-specific interstitial pneumonia and pulmonary fibrosis associated with collagen vascular disorders: correlation with CD4/CD8 ratio in bronchoalveolar lavage. *Lung* 2000; 178: 361-370.
- 181 Parra ER, Teodoro WR, Velosa AP, Oliveira CC, Carvalho CRR, Kairalla RA, Yoshinari NH, Capelozzi VL. Imunomarcção e caracterização morfométrica do colágeno tipo V na pneumonia intersticial usual/fibrose pulmonar idiopática. 2º *Simpósio Avançado em Pesquisas Médicas dos Laboratórios de Investigação Médica* 2005 (Abstract).

182. Parra ER , Teodoro WR, Velosa AP, Oliveira CC, Carvalho CRR, Kairalla RA, Yoshinari NH, Capelozzi VL. Imunomarcção do colágeno Tipo V na pneumonia intersticial usual. *FeSBE* 2005; 71: 19.004 (Abstract).
183. Birk DE, Linsenmayer TF. In *Extracellular Matrix Assembly and Structure*, Yurchenco PD, Birk D E, Mecham RP, Eds., Academic Press: San Diego, 1994; 91-128.
184. Konomi H, Hayashi T, Nakayasu K, Arima M. Localization of type V collagen and type IV collagen in human cornea, lung, and skin. Immunohistochemical evidence by anti-collagen antibodies characterized by immunoelectroblotting. *Am J Pathol* 1984; 116: 417-426.
185. Kenyon NJ, Ward RW, McGrew G, et al. TGF-beta1 causes airway fibrosis and increased collagen I and III mRNA in mice. *Thorax* 2003; 58 (9): 772-777.
186. Fulmer JO, Bienkowski RS, Cowan NJ, et al. Collagen concentration and rates of synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122: 289-301.
187. Kirk JM, Heard BE, Kerr I, Turner-Warwick M, et al. Quantitation of types I and III collagen in biopsy lung samples from patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Coll Relat Res* 1984; 4 (3): 169-82.

188. Van der Rest M, Dublet B, Champlaud MF. Fibril-associated collagens. *Biomaterials* 1990; 11: 28-31.

189. Birk DE. Type V collagen: heterotypic type I/V collagen interactions in the regulation of fibril assembly. *Micron* 2001; 32 (3): 223-237.

190. Malfait F, Coucke P, Symoens S, et al. The molecular basis of classic Ehlers-Danlos syndrome: a comprehensive study of biochemical and molecular findings in 48 unrelated patients. *Hum Mutat* 2005; 25 (1): 28-37.

191. Fichard A, Tillet E, Delacoux F, et al. Human recombinant alpha1 (V) collagen chain. Homotrimeric assembly and subsequent processing. *J Biol Chem* 1997; 272 (48): 30083-7.

192. Burrows NP, Nicholls AC, Yates JRW, et al. The gene encoding collagen 1(V) (COL5A1) is linked to mixed Ehlers-Danlos syndrome type I/II. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1273-1276.

193. Nicholls AC, Oliver JE, McCarron S, et al. An exon skipping mutation of a type V collagen gene (COL5A1) in Ehlers-Danlos syndrome. *J Med Genet* 1996; 33: 940-946.

194. Parra ER , Teodoro WR, Velosa AP, Oliveira CC, Carvalho CRR, Kairalla RA, Yoshinari NH, Capelozzi VL. Type V Collagen three-

dimensional reconstruction in idiopathic pulmonary fibrosis. *Boletim Pneumologia Paulista* 2005; 22.207 (Abstract).

10. APÊNDICES

APÊNDICE A

Aprovação do Protocolo de Pesquisa 315/03 pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) de 08 de maio de 2002.



HOSPITAL DAS CLÍNICAS
D.A.
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 3671
SÃO PAULO - BRASIL

DIRETORIA CLÍNICA

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

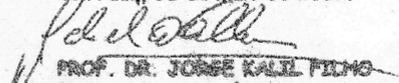
APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 08.05.02, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº 226/02, intitulado: "**Determinantes clínicos, funcionais e histopatológicos de prognóstico nas pneumonias intersticiais idiopáticas com ênfase ao componente vascular**", do Departamento de PATOLOGIA.

Pesquisador(a) Responsável: **PROFA. DRA. VERA LUIZA CAPELOZZI**

Pesquisador(a) Executante: **DR. EDWIN ROGER PARRA CUENTAS**

CAPPesq, 08 de maio de 2002.



PROF. DR. JORGE KALIL FILHO
Presidente da Comissão Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

OBSERVAÇÃO: Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX.2, letra "c").

APÊNDICE B

Protocolo modificado para análise de dados dos prontuários segundo o protocolo de pesquisa de pacientes com DILD, Disciplina de Pneumologia, Ambulatório de Doenças Intersticiais Pulmonares.

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Data de Nascimento: Data de óbito: Registro hospitalar:		Ocupação atual: Ocupações anteriores:
Sexo: Feminino <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/>	Naturalidade (Cidade/Estado): Cor: Branca <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Amarela <input type="checkbox"/>	

HISTÓRIA DA MOLESTIA ATUAL

<u>ASSINTOMÁTICO</u> <input type="checkbox"/> Encaminhado por: RX tórax anormal <input type="checkbox"/> PFP anormal <input type="checkbox"/> Fator de risco para DIP <input type="checkbox"/> <u>SINTOMÁTICO</u> <input type="checkbox"/> Tempo de início dos sintomas:	<u>SINTOMAS RESPIRATÓRIOS</u> Dispnéia: - ausência <input type="checkbox"/> - leve <input type="checkbox"/> - moderada <input type="checkbox"/> - grave <input type="checkbox"/> Tosse seca persistente <input type="checkbox"/>
---	--

<p><u>BIÓZIA PRÉVIA:</u> Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/></p> <p>Tipo: Transbrônquica <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 40px;">Pulmonar <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 40px;">Extrapulmonar <input type="checkbox"/></p> <p>Data:</p> <p><u>TRATAMENTO PRÉVIO OU ATUAL</u></p> <p>Não <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/></p> <p>Medicamento (Dose / Período):</p> <p>Corticosteróide <input type="checkbox"/> ()</p> <p>Imunossupressor <input type="checkbox"/> ()</p>	<p>Hemoptise/Escarro hemóptico <input type="checkbox"/></p> <p>Dor torácica <input type="checkbox"/></p> <p>Chiado <input type="checkbox"/></p> <p>Pneumotórax recorrente <input type="checkbox"/></p> <p>Pneumonia recorrente <input type="checkbox"/></p> <p>Outros <input type="checkbox"/>:</p>
--	---

DOENÇAS PRÉ-EXISTENTES / MEDICAMENTOS EM USO

<p>Cardiopatia <input type="checkbox"/></p> <p>- Isquemia <input type="checkbox"/></p> <p>- hipertensiva <input type="checkbox"/></p> <p>- miocardiopatia <input type="checkbox"/></p> <p>HAS <input type="checkbox"/></p> <p>Arritmia cardíaca <input type="checkbox"/></p> <p>DPOC <input type="checkbox"/></p> <p>ASMA <input type="checkbox"/></p> <p>Sinusite <input type="checkbox"/></p> <p>Refluxo gastroesofágico <input type="checkbox"/></p> <p>Úlcera péptica <input type="checkbox"/></p> <p>Hepatopatia <input type="checkbox"/></p> <p>Cirrose <input type="checkbox"/> hepatite <input type="checkbox"/></p> <p>esquistossomose <input type="checkbox"/></p> <p>Nefropatia <input type="checkbox"/></p> <p>Diabetes <input type="checkbox"/></p> <p>Insulino-dependente <input type="checkbox"/> não-ID <input type="checkbox"/></p> <p>Osteoporose <input type="checkbox"/></p>	<p><u>MEDICAÇÕES POTENCIALMENTE PNEUMOTÓXICAS EM USO ATUAL OU PRÉVIO</u></p> <p>Antibióticos <input type="checkbox"/></p> <p>(nitrofurantoína, sulfassalazina)</p> <p>Antiinflamatórios <input type="checkbox"/></p> <p>(Aspirina, ouro, penicilamina)</p> <p>Antiarrítmicos <input type="checkbox"/></p> <p>(amiodarona, tocainida)</p> <p>Quimioterápicos <input type="checkbox"/></p> <p>- Antibióticos <input type="checkbox"/></p> <p>(bleomicina, mitomicina-C)</p> <p>- Alquilantes <input type="checkbox"/></p> <p>(busulfan, ciclofosfamida, clorambucil, melfalan)</p> <p>- Antimetabólicos <input type="checkbox"/></p> <p>(azatioprina, ara-C, metotrexate)</p> <p>- Nitrosuréias <input type="checkbox"/></p> <p>(BCNU, CCNU, metil-CCNU)</p>
--	--

<p>Colagenose ÿ</p> <ul style="list-style-type: none"> - artrite reumatóide ÿ - lúpus eritematoso sistêmico ÿ - esclerodermia ÿ - polimiosite / dermatopolimiosite ÿ - síndrome de Sjogren ÿ - doença mista do tecido conectivo ÿ - outra ÿ <p>Neoplasia ÿ</p> <p>Radioterapia ÿ</p> <p>Tuberculose ÿ</p> <p>HIV/AIDS ÿ</p> <p>Outras ÿ</p>	<p>- Outras ÿ</p> <p>(procarbazina, zinostatin, VP-16, vinblastina)</p> <p><u>OUTRAS MEDIACÕES EM USO ATUAL</u></p>
--	---

INTERROGATÓRIO SOBRE OS DIVERSOS APARELHOS

<p><u>GERAL</u></p> <p>Febre ÿ</p> <p>Astenia ÿ</p> <p>Suor Noturno ÿ</p> <p>Perda de peso ÿ (Kg / meses)</p> <p><u>PELE</u></p> <p>Alopécia ÿ</p> <p>Fotossensibilidade ÿ</p> <p>F. Raynaud ÿ</p> <p><u>CABEÇA / PESCOÇO</u></p> <p>Olhos secos ÿ</p> <p>Boca seca ÿ</p> <p>Úlceras mucosas ÿ</p>	<p><u>CARDIOVASCULAR</u></p> <p>Ortopnéia / DPN ÿ</p> <p>Dor precordial ÿ</p> <p>Edema de MMII ÿ</p> <p><u>GASTROINTESTINAL</u></p> <p>Náuseas / Vômitos ÿ</p> <p>Dispepsia ÿ</p> <p>Disfagia ÿ</p> <p>Pirose ÿ</p> <p>Regurgitação ÿ</p> <p>Alteração hábito intestinal ÿ</p> <p>Hemorragia digestiva ÿ</p> <p><u>ARTICULAR</u></p>	<p><u>GENITO-URINÁRIO</u></p> <p>Ulceração genital ÿ</p> <p>Anormalidade menstrual ÿ</p> <p><u>NEUROMUSCULAR</u></p> <p>Dor muscular ÿ</p> <p>Fraqueza muscular ÿ</p> <p>Parestesias ÿ</p> <p><u>SISTEMA NERVOSO CENTRAL</u></p> <p>Ansiedade / Depressão ÿ</p> <p>Distúrbios do sono ÿ</p> <p>Alteração de NC ÿ</p> <p>Diabetes insipidus ÿ</p> <p>Disfunção hipofisária ÿ</p>
--	--	---

Gânglios ÿ	Rigidez matinal ÿ Artralgias ÿ Artrites ÿ	Epilepsia ÿ Retardo mental ÿ
------------	---	---------------------------------

ANTECEDENTES PESSOAIS / FAMILIARES

<p><u>EXPOSIÇÃO / OCUPACIONAL</u></p> <p>Não ÿ</p> <p>Sim ÿ</p> <p>- Poeiras orgânicas</p> <p>- Bactérias ÿ (cortiça mofada; feno mofado; bagaço ou cana-de-açúcar mofados; produtos de cogumelos; condicionadores de ar contaminados; detergentes, sabão em pó)</p> <p>- Fungos ÿ (malte mofado; madeira mofada; queijos mofados; telhados de sapé mofados)</p> <p>- Proteínas animais ÿ (dejetos ou penas de aves; pelos de animais)</p> <p>- Químicos ÿ (tintas, resinas; plásticos; reagentes de Pauli; pesticidas; amônia)</p> <p>- Poeiras inorgânicas</p> <p>- Sílica (areia; poeira de pedra) ÿ</p> <p>- Carvão ÿ</p> <p>- Asbesto (amianto) ÿ</p> <p>- Berílio ÿ</p> <p>- Outras (alumínio, bauxita, grafite) ÿ</p>	<p><u>TABAGISMO</u></p> <p>- Não-fumante ÿ</p> <p>- Fumante ÿ anos/maço</p> <p>- Ex-fumante ÿ anos/maço (Parou há anos meses dias)</p> <p><u>DROGAS ILÍCITAS</u></p> <p>Não ÿ</p> <p>Sim ÿ ()</p> <p><u>ANTECEDENTES FAMILIARES</u></p> <p>- Neurofibromatose ÿ</p> <p>- Esclerose tuberosa ÿ</p> <p>- Doenças metabólicas de depósito ÿ</p> <p>- Fibrose pulmonar idiopática familiar ÿ</p> <p>- Sarcoidose familiar ÿ</p> <p>- Colagenose ÿ ()</p> <p><u>OUTRAS INFORMAÇÕES RELEVANTES</u></p>
--	---

EXAMES RADIOLÓGICOS

<p><u>RX TÔRAX</u></p> <p>Data:</p> <p>NORMAL ÿ</p> <p>ALTERADO ÿ</p> <p>- <u>Predomínio</u></p> <p>Metade superior ÿ</p> <p>Metade inferior ÿ</p> <p>Difuso ÿ</p> <p>- <u>Distribuição</u></p> <p>Central ÿ</p> <p>Periférica ÿ</p> <p>Difusa ÿ</p> <p>- <u>Volume pulmonar</u></p> <p>Normal ou aumentado ÿ</p> <p>Reduzido ÿ</p>	<p>- <u>Infiltrado alveolar</u> ÿ</p> <p>- <u>Infiltrado intersticial</u></p> <p>Reticular ÿ</p> <p>Nodular ÿ</p> <p>Reticulonodular ÿ</p> <p>Miliar ÿ</p> <p>- <u>Faveolamento</u> ÿ</p> <p>- <u>Cistos</u> ÿ</p> <p>- <u>Nódulos / Massas</u></p> <p>Cavitados ÿ</p> <p>Não-cavitados ÿ</p>	<p>- <u>Linhas B de Kerley</u> ÿ</p> <p>- <u>Linfonodomegalia</u></p> <p>Hilar ÿ</p> <p>Mediastinal ÿ</p> <p>Calcificações ÿ</p> <p>- <u>Alterações pleurais</u></p> <p>Espessamento ÿ</p> <p>Placas ÿ</p> <p>Derrame ÿ</p> <p>Pneumotórax ÿ</p> <p>- <u>Mediastino</u></p> <p>Cardiomegalia ÿ</p> <p>Alargamento AP ÿ</p>
<p><u>TCAR TÔRAX</u></p> <p>Data:</p> <p>PARÊNQUIMA</p> <p>- <u>Predomínio</u></p> <p>Metade superior ÿ</p> <p>Metade inferior ÿ</p> <p>Difuso ÿ</p> <p>- <u>Distribuição</u></p> <p>Central ÿ</p> <p>Periférica ÿ</p> <p>Difusa ÿ</p> <p>- <u>Padrão Reticular</u> ÿ</p>	<p>- <u>Padrão Cístico</u> ÿ</p> <p>- <u>Padrão em “Vidro de relógio”</u> ÿ</p> <p>- <u>Padrão em “Mosaico”</u> ÿ</p> <p>- <u>Padrão Nodular</u> ÿ</p> <p>- <u>Cosolidação</u> ÿ</p> <p>- <u>Faveolamento</u> ÿ</p> <p>- <u>Broquiectasias / bronquiolectasias de tração</u> ÿ</p>	<p>PLEURA</p> <p>- <u>Pneumotórax</u> ÿ</p> <p>- <u>Derrame pleural</u> ÿ</p> <p>- <u>Espessamento pleural</u> ÿ</p> <p>- <u>Placas pleurais calcificadas</u> ÿ</p> <p>Mediastino</p> <p>- <u>Linfonodomegalia hilar</u> ÿ</p> <p>- <u>Linfonodomegalia mediastinal</u> ÿ</p> <p>- <u>Calcificações ganglionares</u> ÿ</p>

**HIPÓTESE(S) DIAGNÓSTICA(S) BASEADA(S) NA ANAMNESE
+ RX DE TÓRAX + TCAR + EXAMES FUNCIONAIS**

--

EXAMES LABORATORIAIS

DATA	/ /
FAN	
Anti Anti-histona	
Anti-DNA nativo	
Anti- Ro (SS-A)	
Anti-LA (SS-B)	
Anti SM	
Anti-U1-nRNP	
Anti-Ku	
Anti-Scl-70	
Anti-PM-Scl	
Anti-Mi-2	
Anti-centrômero	
Anti-Jo-1	
c-ANCA	
p-ANCA	
FR	
Ch50 / C3 / C4	

EXAMES FUNCIONAIS

DATA	/ /	
	OBTIDO	% PREDITO
CVF		
VEF1		
FEF25-75%		
VEF1/CVF		
CPT		
VR		
VR / CPT		
DCO		
DCO / VA		

GASOMETRIA

DATA	/ /	
	REPOUSO	EXERCÍCIO
PH		
PaO2		
PaCO2		
Bic		
SaO2		
PAO2-PaO2		

APÊNDICE C

Trabalhos Publicados e submetidos para publicação

Edwin Roger Parra, Yonara Rivelle David, Lígia Rodrigues Silvério da Costa, Alexandre Ab'Saber, Rogério Sousa, Ronaldo Adib Kairalla, Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho, Mario Terra Filho, Vera Luiza Capelozzi. **Heterogeneous Remodeling of Lung Vessels in Idiopathic Pulmonary Fibrosis.** *Lung* 2005; Jul-Aug; 183 (4): 291-300.

Edwin Roger Parra, Lígia Rodrigues Silvério da Costa, Alexandre Ab'Saber, Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho, Lisete R. Teixeira, Vera Luiza Capelozzi. **Non-Homogeneous Density of CD34 and VCAM-1 Alveolar Capillaries in Major Types of Idiopathic Interstitial Pneumonia.** *Lung* 2005

Edwin Roger Parra, Ronaldo Adib Kairalla, Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho; Vera Luiza Capelozzi. **Vascular Remodelling in Idiopathic Interstitial Pneumonias (IIPs): Evaluation of Collagen-Elastic System Fibres.** Submetido a publicação, *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Disease*, 2005.

Edwin Roger Parra, Walcy R. Teodoro, Ana Paula Pereira Velosa, Cristiane Carla de Oliveira, Natalino Hajime Yoshinari, Vera Luiza Capelozzi. **Morphometric Evaluation and Three-Dimensional Reconstruction of Type V Collagen in Idiopathic Pulmonary Fibrosis.** Submetido a publicação, *Histopathology* 2005.

Edwin Roger Parra, Ronaldo Adib Kairalla, Carlos Roberto Ribeiro de Carvalho, Esmeralda Eher; Vera Luiza Capelozzi. **Inflammatory Cell Mapping of the Pulmonary Interstitium in Idiopathic Interstitial Pneumonia.** Submetido a publicação, *Respiration* 2005