

SIMONE VAN DE SANDE LEE

**INFLAMAÇÃO DAS VIAS AÉREAS EM ASMÁTICOS
VIRGENS DE TRATAMENTO COM ESTERÓIDES:
CARACTERÍSTICAS DO ESCARRO INDUZIDO EM
NOSSO MEIO**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2002

SIMONE VAN DE SANDE LEE

**INFLAMAÇÃO DAS VIAS AÉREAS EM ASMÁTICOS
VIRGENS DE TRATAMENTO COM ESTERÓIDES:
CARACTERÍSTICAS DO ESCARRO INDUZIDO EM
NOSSO MEIO**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Edson José Cardoso
Orientadora: Prof^a Dra. Márcia Margaret Menezes Pizzichini
Co-orientador: Prof. Dr. Emílio Pizzichini**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2002**

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus orientadores, Prof^ª Dra. Márcia Margaret Menezes Pizzichini e Prof. Dr. Emilio Pizzichini, por toda a dedicação e paciência demonstradas, sem os quais nada teria sido realizado. São exemplos de médicos, professores e pesquisadores, em quem sempre procurarei me espelhar.

A todos aqueles que contribuíram diretamente para a realização do trabalho, especialmente às enfermeiras do NUPAIVA, Janara Voltolini Maia e Cristiane Cinara Rocha, por terem auxiliado na coleta dos dados e na indução do escarro, à Sra. Célia Tania Zimmermann, por ter processado as amostras de escarro, e aos aos pacientes que se dispuseram a participar do estudo.

Aos meus pais, Alphonse Bongman Lee e Marianne Catharina Clara Monica van de Sande Lee, por tudo.

À minha avó, Catharina Wilhelmina Antonia Nanda Peperkamp van de Sande, pelo carinho, preocupação e apoio durante todos estes anos em que estive na universidade.

Aos meus irmãos, Juliana van de Sande Lee e Francisco van de Sande Lee, por terem se mostrado acima de tudo grandes amigos.

Ao meu namorado, Alexandre Sawada Viegas, pela compreensão e companheirismo.

Aos amigos da turma de medicina 97.1, por terem feito destes seis anos um período tão agradável, do qual sempre guardarei boas lembranças.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
SUMMARY.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Magnitude do Problema.....	01
1.2. Avaliação da Resposta Inflamatória na Asma.....	02
2. OBJETIVOS.....	05
3. MÉTODO.....	06
3.1. Participantes.....	06
3.2. Delineamento do Estudo.....	07
3.3. Procedimentos Clínicos e Laboratoriais.....	08
3.4. Análise Estatística.....	10
4. RESULTADOS.....	11
5. DISCUSSÃO.....	14
6. CONCLUSÕES.....	18
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
NORMAS ADOTADAS.....	24

RESUMO

Introdução: A inflamação das vias aéreas, reconhecida como uma importante característica da asma, pode ser avaliada através do exame do escarro induzido.

Objetivos: Determinar o padrão de células inflamatórias no escarro de asmáticos estáveis virgens de tratamento com corticosteróides, em nosso meio.

Método: Analisamos o escarro induzido de 34 asmáticos em uso exclusivo de broncodilatadores inalatórios por demanda. As características clínicas dos mesmos foram obtidas na visita 1 e o escarro foi induzido na visita 2. A contagem diferencial de células foi realizada em citospinas coradas pelo Giemsa. O escarro foi considerado eosinofílico na presença de $\geq 3\%$ de eosinófilos e neutrofilico na presença de $\geq 65\%$ de neutrófilos.

Resultados: Os resultados são expressos através da mediana e amplitude do semiquartil. A contagem celular total foi de $3,4 (3,7) \times 10^6$ células/ml e a viabilidade celular foi de 80,0 (16,4)%. A proporção de neutrófilos foi de 14,4 (22,1)%, de eosinófilos 6,4 (17,2)%, de macrófagos 60,3 (37,5)% e de linfócitos 1,1 (1,2)%. Escarro eosinofílico foi observado em 24 participantes (70,6%); nenhum apresentou escarro neutrofilico. Não houve diferença significativa entre os grupos eosinofílico e não-eosinofílico quanto aos desfechos clínicos medidos, contagem total e proporções de células no escarro, com exceção da proporção de eosinófilos (14,4 [19,3] vs 0,4 [1,1], $p < 0,001$).

Conclusões: Asmáticos virgens de tratamento com corticosteróides, em nosso meio, apresentam maior proporção de eosinófilos no escarro em relação a valores de referência estabelecidos. Os parâmetros clínicos e fisiológicos analisados foram incapazes de predizer a presença de inflamação eosinofílica das vias aéreas.

SUMMARY

Introduction: Airway inflammation, an important feature of asthma, can be assessed by the examination of induced sputum.

Objectives: To determine the pattern of inflammatory cells in induced sputum from stable steroid naive asthmatics, in our setting.

Method: We examined the induced sputum from 34 asthmatics using only inhaled bronchodilators on demand. Subjects' characteristics were obtained at visit 1 and sputum was induced at visit 2. The differential cell count was performed on Giemsa-stained cytopins. Sputum was considered to be eosinophilic if there was $\geq 3\%$ eosinophils and neutrophilic if there was $\geq 65\%$ neutrophils.

Results: Results are expressed as median and interquartile range. The total cell count was 3,4 (3,7) $\times 10^6$ cells/ml and cell viability was 80,0 (16,4) %. The proportions of cells were 14,4 (22,1) % for neutrophils, 6,4 (17,2) % for eosinophils, 60,3 (37,5) % for macrophages and 1,1 (1,2) % for lymphocytes. Eosinophilic sputum was observed in 24 subjects (70,6%); none had neutrophilic sputum. Except for the proportion of sputum eosinophils (14,4 [19,3] vs 0,4 [1,1], $p < 0,001$), there were no significant differences between the eosinophilic and non-eosinophilic groups in clinical outcomes and sputum total and differential cell counts.

Conclusions: Steroid naive asthmatics, in our setting, have a larger proportion of sputum eosinophils compared with established reference values. The clinical and physiological parameters measured could not predict the presence of airway eosinophilic inflammation.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Magnitude do Problema

Asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, cujos mecanismos fisiopatológicos e fatores determinantes ainda não estão claramente estabelecidos.¹ Portanto, não existe uma definição universal para esta condição. Uma das definições, proposta pela *National Heart, Lung and Blood Institute*², baseia-se nas conseqüências funcionais da inflamação. De acordo com esta definição “asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas na qual estão envolvidos diversas células e produtos celulares, em particular mastócitos, eosinófilos, linfócitos T, macrófagos, neutrófilos e células epiteliais. Em indivíduos susceptíveis, esta inflamação causa episódios recorrentes de sibilância, falta de ar, opressão torácica e tosse, particularmente à noite ou de madrugada. Estes episódios normalmente se associam a limitação difusa, porém variável ao fluxo de ar (broncoconstricção), que é, em geral, reversível espontaneamente ou com tratamento. A inflamação também causa um aumento na responsividade das vias aéreas (hiperresponsividade) a uma variedade de estímulos inespecíficos”.

A importância da busca de maior compreensão sobre a fisiopatologia da asma reside em suas implicações em relação ao diagnóstico, terapêutica e prevenção da doença, que hoje constitui importante problema de saúde pública. Um estudo realizado em 56 países, com escolares de 6 a 7 anos e adolescentes de 13 a 14 anos (*International Study of Asthma and Allergy in Children; ISAAC*)³ mostrou prevalências de sintomas de asma que variaram desde 1,6 até 36,8% entre os diversos países, sendo que o Brasil esteve entre os 8 países com maior prevalência (entre 17 a 27%). Dados do ano de 2000 indicaram que, dentre as doenças do aparelho respiratório, a asma foi a segunda maior causa de internação hospitalar e a segunda maior causa de gastos com hospitalizações pelo Sistema Único de Saúde (SUS), chegando a mais de 115 milhões de reais (DATASUS).⁴

Em Santa Catarina, um estudo recente utilizando o questionário ISAAC⁵ avaliou a prevalência e a gravidade dos sintomas de asma e rinite em 2.980 adultos jovens universitários. A prevalência relatada de asma e de rinite foi, respectivamente 10% e 20%. Em

Florianópolis, Piazza e colaboradores⁶ avaliaram 3.059 adolescentes com idade entre 13 e 14 anos, através do questionário ISAAC, distribuído nas escolas da cidade. A prevalência relatada de asma foi similar (10,0%) àquela observada nos adultos jovens. A validade destes dados é confirmada, visto que os adolescentes que relataram asma alguma vez tiveram prevalências significativamente maiores de sibilos no último ano (50,8% vs. 15,5%, respectivamente, $p < 0,001$), despertares noturnos (30,9% vs. 6,7%, respectivamente, $p < 0,001$), sibilos após exercício (48,0% vs. 17,6%, respectivamente, $p < 0,001$), tosse noturna (52,6% vs. 23,8%, respectivamente, $p = 0,002$) e rinite (49,8% vs. 20,4%, respectivamente, $p < 0,001$) quando comparados com aqueles que negaram asma alguma vez.

1.2. Avaliação da Resposta Inflamatória na Asma

Até recentemente, o conhecimento a respeito dos mecanismos da asma limitava-se à ocorrência de broncoespasmo, que se acreditava ser conseqüente a fatores principalmente relacionados a musculatura lisa dos brônquios. As alterações inflamatórias, observadas em estudos de necrópsia em de espécimes obtidos de pacientes que haviam morrido após uma grave exacerbação, eram atribuídas aos eventos terminais da doença.⁷ A exploração das vias aéreas de pacientes asmáticos em vida só foi possível a partir da década de 80, através da introdução da broncofibroscopia para obtenção de amostras de tecido brônquico e do líquido do lavado bronco-alveolar, e só então foi verificado que muitas daquelas alterações estavam presentes mesmo em formas leves da doença.^{8,9} Estes métodos se mostraram válidos para a avaliação da inflamação das vias aéreas;^{10,11} no entanto, por serem invasivos, onerosos e restritos a pacientes com asma estável de gravidade leve a moderada, não obtiveram espaço na prática clínica.¹² A partir daí, outros métodos menos invasivos e portanto mais seguros foram introduzidos, sendo o principal deles a avaliação de células e marcadores inflamatórios no escarro, obtido de forma espontânea¹³ ou induzido através da inalação de uma solução salina hipertônica.^{14,15}

Os métodos para obtenção e análise do escarro vêm evoluindo nos últimos 13 anos. Suas propriedades em diversos estudos mostraram-se excelentes, particularmente quando o escarro

é separado da saliva.¹⁶ O exame foi considerado válido, tornando possível a discriminação entre diferentes condições clínicas e entre asmáticos sintomáticos e não sintomáticos, além de correlacionar-se com os índices espirométricos e a responsividade das vias aéreas a estímulos inespecíficos como a metacolina.¹⁷ Seus resultados mostraram-se reprodutíveis, com exceção do número total de células e da proporção de linfócitos, conforme demonstrado através da comparação dos resultados entre repetidas amostras de escarro de asmáticos estáveis obtidas em diferentes dias durante uma semana.¹⁷ Com modificações na metodologia de processamento do escarro a contagem total de células agora mostra-se também reprodutível. Outra característica observada foi a responsividade dos marcadores examinados no escarro a intervenções; constatou-se que a resposta inflamatória no escarro aumenta após a exposição a alérgenos inaláveis¹⁸ e após exacerbação dos sintomas,¹⁹ e diminui após tratamento com corticosteróides.²⁰⁻²² O método tem ainda a vantagem adicional de poder ser aplicado mesmo em situações de exacerbação grave.^{20,23} A inflamação das vias aéreas também pode ser avaliada, de forma indireta, através da contagem de eosinófilos e dosagem de proteína catiônica eosinofílica (ECP) no sangue periférico; no entanto, a acurácia e a especificidade do exame do escarro mostrou ser significativamente maior.²⁴

Vários estudos, através da mensuração direta da inflamação das vias aéreas, vêm contribuindo para a elucidação da patogênese da asma. Desta forma, à luz dos conhecimentos atuais, a inflamação é reconhecida como sua causa primária, determinando gravidade da doença, exacerbações e alterações estruturais. Estas podem ser persistentes, resultando em um processo conhecido como “remodelamento”, que culmina na irreversibilidade da obstrução ao fluxo aéreo.²⁵

Uma característica importante da inflamação na asma é a presença de infiltrado eosinofílico nas vias aéreas.^{13,17} No entanto, nem todos os asmáticos apresentam este tipo de resposta inflamatória e nem todas as exacerbações da asma são acompanhadas por um aumento destas células no escarro.^{26,27} Esta observação possui implicações terapêuticas, já que há estreita correlação entre presença de eosinofilia e resposta à terapia com corticosteróides. Por exemplo, estudos recentes constataram que pacientes que apresentaram escarro eosinofílico obtêm benefícios clínicos significativamente maiores com este tipo de droga, quando comparados àqueles com escarro não-eosinofílico.^{28,29} Por outro lado, os índices indiretos da inflamação (presença de sintomas, obstrução ao fluxo aéreo e hiperresponsividade das vias aéreas a diversos estímulos), utilizados na prática clínica para

conduzir a terapêutica, são inespecíficos e correlacionam-se de forma variável entre si e com os índices diretos,^{20,21,26,30-32} o que pode resultar em condutas equivocadas. Outro tipo de resposta inflamatória observada em alguns asmáticos é a neutrofilica, que pode estar relacionada, por exemplo, à exposição à fumaça do cigarro, exposição a elevadas concentrações de ozônio, óleo diesel ou a diferentes tipos de infecção, incluindo virais.^{27,33-35}

Asmáticos sintomáticos, virgens de tratamento com corticosteróides inalatórios, apenas em uso de tratamento sintomático de acordo com a demanda (broncodilatadores inalatórios) ainda constituem a grande maioria da população de asmáticos vistos no Brasil e são comumente encontrados em nosso meio. Estes pacientes são atendidos com frequência nas emergências e ambulatórios de nossos hospitais. Nós, portanto, no presente estudo, decidimos examinar as características clínicas e inflamatórias destes pacientes.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivo determinar o padrão do infiltrado celular inflamatório observado no escarro induzido de asmáticos estáveis virgens de tratamento com corticosteróides, em nosso meio. Adicionalmente, pretendemos comparar algumas características clínicas entre grupos de indivíduos de acordo com a presença ou não de inflamação eosinofílica, detectada pelo exame do escarro.

3. MÉTODO

3.1. Participantes

Participaram do estudo, de forma consecutiva, 34 adultos asmáticos com idade entre 18 e 67 anos, atópicos ou não atópicos, em uso exclusivo de broncodilatadores inalatórios por demanda. As características dos mesmos encontram-se descritas na tabela 1. O diagnóstico de asma foi indicado pela presença, no último ano, de sintomas episódicos de sibilância, sensação de opressão torácica, tosse e dispnéia, e confirmado em 33 participantes através da verificação de obstrução reversível do fluxo aéreo (volume expiratório forçado no 1º segundo [VEF₁] menor do que 70% do valor previsto, com melhora no VEF₁ de no mínimo 15% após inalação de 200 µg de salbutamol inalado através de espaçador) e em apenas em um participante através da presença de hiperresponsividade das vias aéreas à metacolina (concentração provocativa de metacolina capaz de produzir uma queda de 20% no VEF₁ [CP₂₀] menor do que 8 mg/ml).

Todos os participantes eram não-fumantes ou ex-fumantes por tempo superior a um ano. Nenhum deles havia sido medicado com esteróides sistêmicos ou inalatórios nos últimos dois meses, nem apresentara história de resfriado ou outra infecção respiratória nas últimas seis semanas antes de sua inclusão no estudo. Foram excluídos do estudo os indivíduos com qualquer outra doença pulmonar associada (exemplo: bronquiectasias, pneumonia etc). Todos os participantes foram capazes de produzir escarro não purulento após indução com inalação de solução salina hipertônica.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, e todos os participantes assinaram o termo de consentimento informado.

TABELA 1: Características dos participantes

Características	Resultados
Participantes (n)	34
Idade (anos)	34,8 (13,7)*
Sexo (masculino)	14
Atopia (n)**	21
Tabagismo (ex)	6
VEF ₁ pré-BD (L)	2,2 (0,67)*
VEF ₁ pré-BD (% prev)***	64,9 (10,5)*
VEF ₁ pós-BD (L)	2,7 (0,83)*
VEF ₁ pós-BD (% prev)***	78,1 (11,6)*
VEF ₁ /CVF pré-BD	61,3 (9,6)*
VEF ₁ /CVF pós-BD	70,9 (18,5)*
Δ BD (L)	0,54 (0,37)*
Δ BD (%)	26,0 (16,5)*

* Dados expressos através da média e desvio padrão. ** Participantes com um ou mais resultados positivos nos testes cutâneos. *** Valores previstos de VEF₁ obtidos de Crapo et al.³⁹ VEF₁ = Volume expiratório forçado no primeiro segundo. BD = Broncodilatador. Prev = Valor previsto. CVF = Capacidade vital forçada. Δ BD = Diferença entre VEF₁ pós-BD e VEF₁ pré-BD.

3.2. Delineamento do Estudo

Este é um estudo descritivo transversal. O estudo incluiu consecutivamente todos os indivíduos que participaram da triagem de um ensaio clínico placebo controlado, que pretendia comparar os efeitos antiinflamatórios de duas drogas utilizadas para o tratamento da asma, um corticosteróide inalado, o dipropionato de fluticasona e um antagonista dos receptores para leucotrienos, o montelukast, em asmáticos com bronquite eosinofílica.³⁶ Todos foram atendidos no Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas (NUPAIVA), do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Santa Catarina.

O estudo foi detalhadamente explicado a cada participante. Aqueles que aceitaram colaborar foram atendidos no laboratório de pesquisa clínica do NUPAIVA em 2 visitas consecutivas, com intervalo de aproximadamente 48 horas entre as mesmas. Na primeira visita, após a obtenção do consentimento informado por escrito, foi aplicado um questionário para a obtenção das características individuais do participante. Foram realizados testes alérgicos cutâneos por puntura, se não realizados previamente nos últimos 12 meses no laboratório de pesquisa, além de espirometria, com medida da reversibilidade da obstrução das vias aéreas ou teste de broncoprovocação com metacolina, se necessário. Na segunda visita os participantes foram submetidos a nova espirometria e a indução de escarro. O escarro foi examinado por um profissional cego às características clínicas dos participantes.

3.3. Procedimentos Clínicos e Laboratoriais

As características dos participantes foram documentadas através de um questionário estruturado que incluía dados como idade, sexo, altura, história de tabagismo, infecção respiratória nas últimas seis semanas, sintomas e sua gravidade (determinada através da frequência dos sintomas, presença ou não de sintomas noturnos provocando despertares, frequência do uso de broncodilatadores inalatórios), história passada ou presente de outra doença respiratória e tratamentos presentes ou passados.

Os testes de cutâneos de alergia foram realizados pela técnica de puntura modificada³⁷ usando 19 extratos alergênicos inalatórios comuns. A leitura foi feita após 15 minutos, registrando-se o diâmetro médio da circunferência em milímetros. O teste foi considerado positivo para um determinado alergeno quando houve formação de pápula com diâmetro maior ou igual a 3 mm. Atopia foi definida pela presença de uma ou mais respostas positivas.

A espirometria foi executada de acordo com as especificações da *American Thoracic Society (ATS)*³⁸, utilizando-se um espirômetro computadorizado (Koko® Spirometer, PDS Instrumentation, Louisville, USA). Foi registrado como VEF₁ basal o melhor entre três valores reprodutíveis e com amplitude inferior a 5%. Naqueles com um VEF₁ menor do que 70% do previsto, a reversibilidade foi comprovada 15 minutos após a inalação de 200 µg de

salbutamol liberados através de um dispositivo pressurizado com dose medida e administrados com auxílio de um espaçador (Aerochamber[®], Trudell Medical International, London, On, Canada). Os valores previstos foram obtidos de Crapo *et al.*³⁹

Os testes de broncoprovocação com metacolina, quando indicados, foram realizados pelo método descrito por Juniper e colaboradores.⁴⁰ Os resultados foram expressos através da CP₂₀ em unidades não cumulativas.

O escarro foi induzido de acordo com o método descrito por Pizichinni *et al.*²⁰ Em síntese, o procedimento consistiu da inalação de um aerossol de solução salina isotônica (0,9%) seguida por solução salina hipertônica (3, 4 e 5%), produzido por um nebulizador ultra-sônico Fisoneb[®] (Canadian Medical Products, Ltd., Markham, Ontario) com um débito de 0,87 ml/min e partículas com diâmetro aerodinâmico de massa mediano de 5,58 µm. A inalação do aerossol foi mantida por 1 ou 2 minutos, de acordo com a gravidade da broncoconstrição presente antes do procedimento, seguida pela mensuração do VEF₁. Os participantes foram orientados a enxaguar a boca, engolir a água e assoar o nariz para minimizar a contaminação com saliva ou descarga pós-nasal. A seguir, foram instruídos a tossir e depositar o escarro em um recipiente estéril. Estes procedimentos foram consecutivamente repetidos, aumentando-se a concentração da solução a cada 7 minutos, até completar 21 minutos ou até que uma queda do VEF₁ de 20% ou mais ocorresse.

O escarro foi processado dentro de 2 horas, pela técnica descrita por Pizzichini *et al.*¹⁷ Inicialmente, as porções densas do material expectorado foram selecionadas a olho nu ou, se necessário, sob visualização através de um microscópio invertido, usando-se um fórceps de 115 mm para separar o escarro da saliva. A fração selecionada foi colocada em um tubo de poliestireno de 15 ml e tratada com 4 vezes o seu volume de ditiotreitól (DTT) a 0,1% (Sputalysin 10%; Calbiochem Corp., San Diego, CA); a mistura foi agitada por 15 segundos e consecutivamente aspirada e ejetada através de uma pipeta de Pasteur. O tubo de poliestireno foi então colocado em um agitador de mesa (Dade Tube Rocker; Baxter Diagnostics Corporation, Miami, FL) e agitada por 15 minutos. Para sustar o efeito do DTT sobre a suspensão de células, foi adicionado mais 4 vezes o volume de solução salina tamponada em fosfato de Dulbecco (D-PBS). A suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de nylon com microporos de 48 µm (BBS Thompson, Scarborough, Ontario) para remover os restos celulares e o muco não dissolvido. Em seguida, foi realizada a contagem celular total de leucócitos excluindo-se as células escamosas, utilizando-se um hemocítômetro de Neubauer

modificado, e a viabilidade celular foi determinada através do método de exclusão pelo *trypan blue* (as células mortas aparecem em azul). Sessenta a oitenta microlitros da suspensão, ajustada para $1,0 \times 10^6/\text{ml}$, foram colocados em recipientes para citocentrífuga Shandon III (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) e 4 citospinas codificadas foram preparadas a 450 r.p.m. por 6 min. Depois de secar ao ar livre, as citospinas foram coradas pelo corante de Giemsa para a contagem diferencial de células, sendo que 400 células não escamosas foram contadas na lâmina de melhor qualidade. Os resultados foram expressos como porcentagem do total de células não escamosas.

O escarro foi considerado eosinofílico na presença de contagem diferencial de eosinófilos maior ou igual a 3,0% , e neutrofílico na presença de contagem diferencial de neutrófilos maior ou igual a 65%. Estes pontos de corte foram estabelecidos com base nos valores normais relatados por Belda *et al.*⁴¹

3.4. Análise Estatística

Os dados de distribuição normal encontram-se sumarizados como média e desvio padrão (DP) e aqueles de distribuição não normal (por exemplo, contagem total e diferencial de células) encontram-se sumarizados como mediana e amplitude do semi-quartil (ASQ). As diferenças entre os grupos, para variáveis contínuas, foram analisadas através do teste t não pareado; variáveis de distribuição não normal sofreram transformação logarítmica antes da aplicação do teste. Para variáveis categóricas (sintomas), as diferenças entre os grupos foram estimadas pelo teste de qui-quadrado. A significância foi aceita ao nível de 95%.

4. RESULTADOS

As características celulares do escarro dos participantes encontram-se descritas na tabela 2. A presença de eosinofilia no escarro foi observada em 24 (70,6%) dos 34 participantes. Nenhum deles apresentou escarro neutrofilico. Os participantes foram subdivididos em dois grupos, de acordo com a presença ou não de eosinofilia no escarro. As características clínicas de cada grupo foram comparadas (Tabela 3). A ocorrência de sintomas diurnos e noturnos foi mais prevalente no grupo eosinofilico (79,2% vs. 50,0%), porém esta diferença não atingiu significância estatística. A frequência do uso de broncodilatadores inalatórios, magnitude da obstrução de vias aéreas e a resposta ao broncodilatador mostraram-se similares entre os dois grupos.

TABELA 2: Características celulares do escarro de todos os participantes (todos) e dos mesmos divididos de acordo com a presença (eosinofilicos) ou ausência (não eosinofilicos) de eosinofilia no escarro.

Características	Todos*	Eosinofilicos*	Não-eosinofilicos*	P
Viabilidade (%)	80,0 (16,4)	81,1 (14,5)	76,0 (24,2)	0,83
CCT (X10 ⁶ /ml)	3,4 (3,7)	3,4 (10,5)	3,5 (3,7)	0,72
Neutrófilos (%)	14,4 (22,1)	17,1 (24,4)	11,3 (23,1)	0,23
Eosinófilos (%)	6,4 (17,2)	14,4 (19,3)	0,4 (1,1)	<0,001
Macrófagos (%)	60,3 (37,5)	58,4 (30,6)	79,6 (41,2)	0,37
Linfócitos (%)	1,1 (1,2)	1,1 (2,4)	1,3 (2,3)	0,53

*Resultados expressos através da mediana e amplitude do semi-quartil. CCT = Contagem celular total.

Da mesma forma, com exceção da proporção de eosinófilos, não foram observadas diferenças na contagem total e nas proporções de células no escarro dos grupos eosinofilico e não-eosinofilico (Tabela 2 e Figura 1).

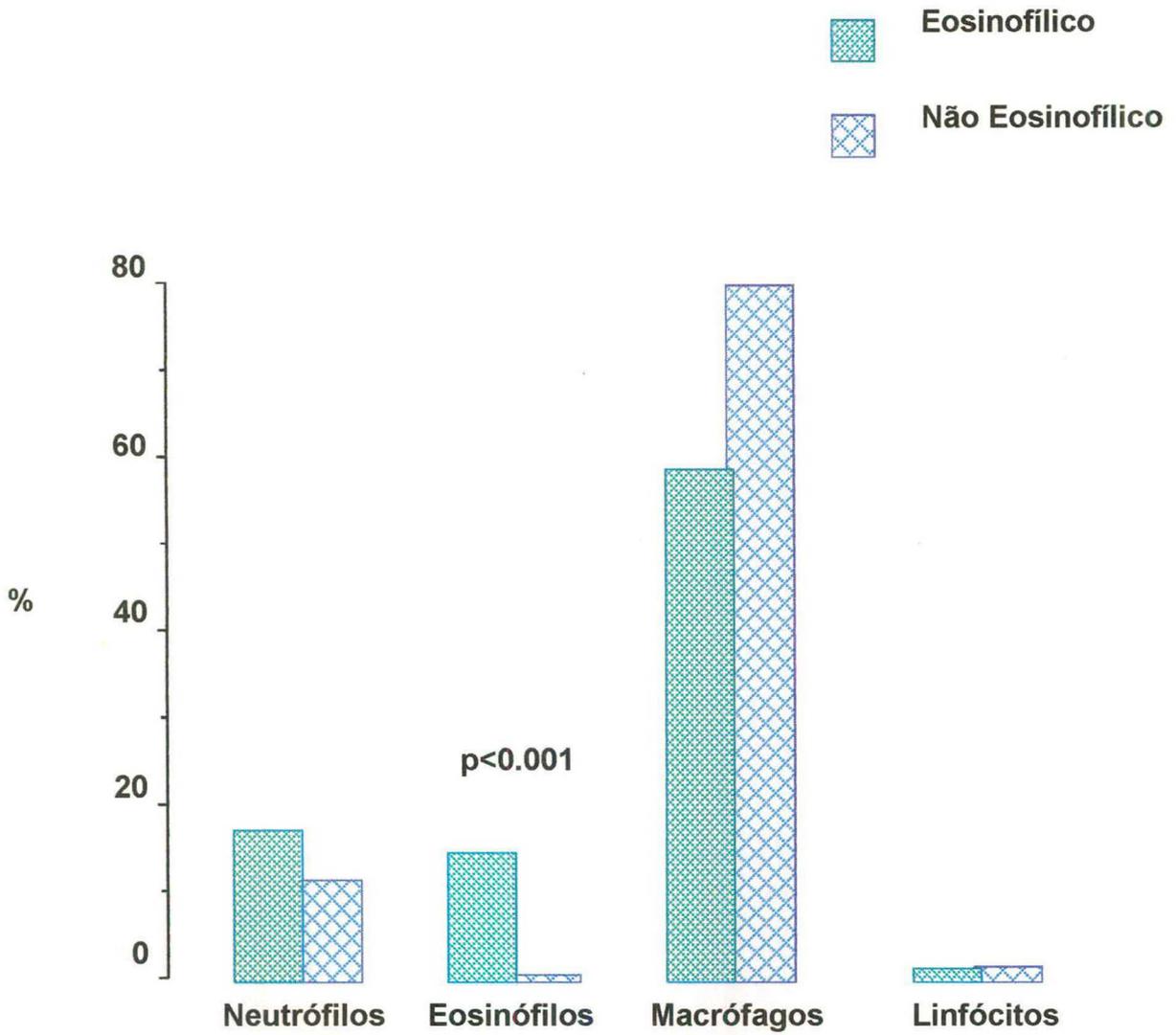


Figura 1 – Proporção de células no escarro de asmáticos virgens de tratamento com corticosteróides nos grupos eosinofílico e não-eosinofílico.

TABELA 3: Características clínicas dos participantes classificados de acordo com a presença (eosinofílicos) ou ausência (não eosinofílicos) de eosinofilia no escarro.

Características	Eosinofílicos	Não-eosinofílicos	P
Participantes (n)	24	10	
Sintomas diurnos + noturnos	79,2%	50,0%	0,12
Uso de BD de ação curta (jatos/dia)	4,3 (3,4)*	3,5 (2,3)*	0,32
VEF ₁ pré-BD (L)	2,2 (0,7)*	2,1(0,6)*	0,26
VEF ₁ pré-BD (% prev)**	63,6 (9,6)*	67,8 (12,4)*	0,48
VEF ₁ pós-BD (L)	2,7 (0,9)*	2,7 (0,8)*	0,35
VEF ₁ pós-BD (% prev)**	78,9 (10,8)*	76,0 (13,8)*	0,42
VEF ₁ /CVF pré-BD	60,1 (9,3)*	64,2 (10,1)*	0,43
VEF ₁ /CVF pós-BD	72,4 (18,6)*	67,3 (18,7)*	0,49
Δ BD (L)	0,5 (0,4)*	0,6 (0,4)*	0,77
Δ BD (%)	24,1 (14,7)*	30,4 (28,4)*	0,78

* Dados expressos através da média e desvio padrão. ** Valores previstos de VEF₁ obtidos de Crapo et al.³⁹ BD = Broncodilatador. VEF₁ = Volume expiratório forçado no primeiro segundo. Prev = Valor previsto. CVF = Capacidade vital forçada. Δ BD = Diferença entre VEF₁ pós-BD e VEF₁ pré-BD.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo nós descrevemos as características do processo inflamatório das vias aéreas de indivíduos asmáticos virgens de tratamento com corticosteróides como medido através da contagem total e diferencial de células no escarro. Os resultados mostraram a presença de escarro eosinofílico em 70,6% dos participantes; nenhum apresentou escarro neutrofílico. Não houve diferenças significativas entre os grupos eosinofílico e não-eosinofílico quanto aos sintomas, uso de broncodilatadores, presença de obstrução das vias aéreas ou resposta ao broncodilatador. Estes resultados sugerem que os parâmetros clínicos e fisiológicos analisados nem sempre refletem a presença ou ausência de inflamação eosinofílica na asma.

Apesar de vários outros estudos terem incluído em sua casuística asmáticos virgens de tratamento com corticosteróides,^{13,21,22,34,42-43} este é o primeiro estudo no Brasil que teve como objetivo principal descrever as características celulares do escarro deste grupo de indivíduos. O poder do estudo baseia-se em dois aspectos. O primeiro é a seleção criteriosa dos participantes, que possibilitou a obtenção de um grupo de asmáticos estáveis, em uso exclusivo de broncodilatadores inalatórios conforme a necessidade. O segundo é o método utilizado para o exame do escarro, que fornece medidas altamente reprodutíveis dos marcadores celulares, válidas e discriminativas entre diferentes condições, tipos e gravidades de processos inflamatórios das vias aéreas.¹⁷

Uma das limitações do nosso estudo é que seus resultados não podem ser extrapolados para populações de outros locais. É preciso considerar as peculiaridades do grupo por nós analisado. Este foi composto de moradores de uma cidade de médio porte, situada em uma ilha, em que a atividade industrial não é predominante. O local onde o estudo foi conduzido apresenta, portanto, condições atmosféricas próprias. Sabe-se que a poluição atmosférica pode levar a um aumento do número de macrófagos⁴⁴ ou neutrófilos⁴⁵⁻⁴⁶ no escarro. Outra limitação a ser destacada é a falta de um grupo controle de indivíduos hígidos, o que impossibilita a comparação das características analisadas entre grupos expostos a fatores ambientais semelhantes.

Neste sentido, nós comparamos nossos resultados (Figura 2) com os únicos valores de referência publicados em indivíduos hígidos (Belda *et al*)⁴¹ e com valores descritos em outros

estudos.^{17,26,34} Observamos que as coortes de asmáticos, nos diversos estudos, recebendo ou não tratamento com corticosteróides, apresentam maiores proporções de neutrófilos em relação à nossa casuística. Uma possível explicação para a menor proporção de neutrófilos em nossa casuística pode estar relacionada, conforme mencionado anteriormente, a diferenças nos níveis de poluição ambiental. A maioria destes estudos foi realizada em cidades industriais, com níveis de poluição atmosférica provavelmente mais elevados. Não dispomos, entretanto, de valores de referência específicos do perfil celular do escarro induzido de indivíduos hígidos e normais em nosso meio, e a realização de estudos para determiná-los seria interessante.

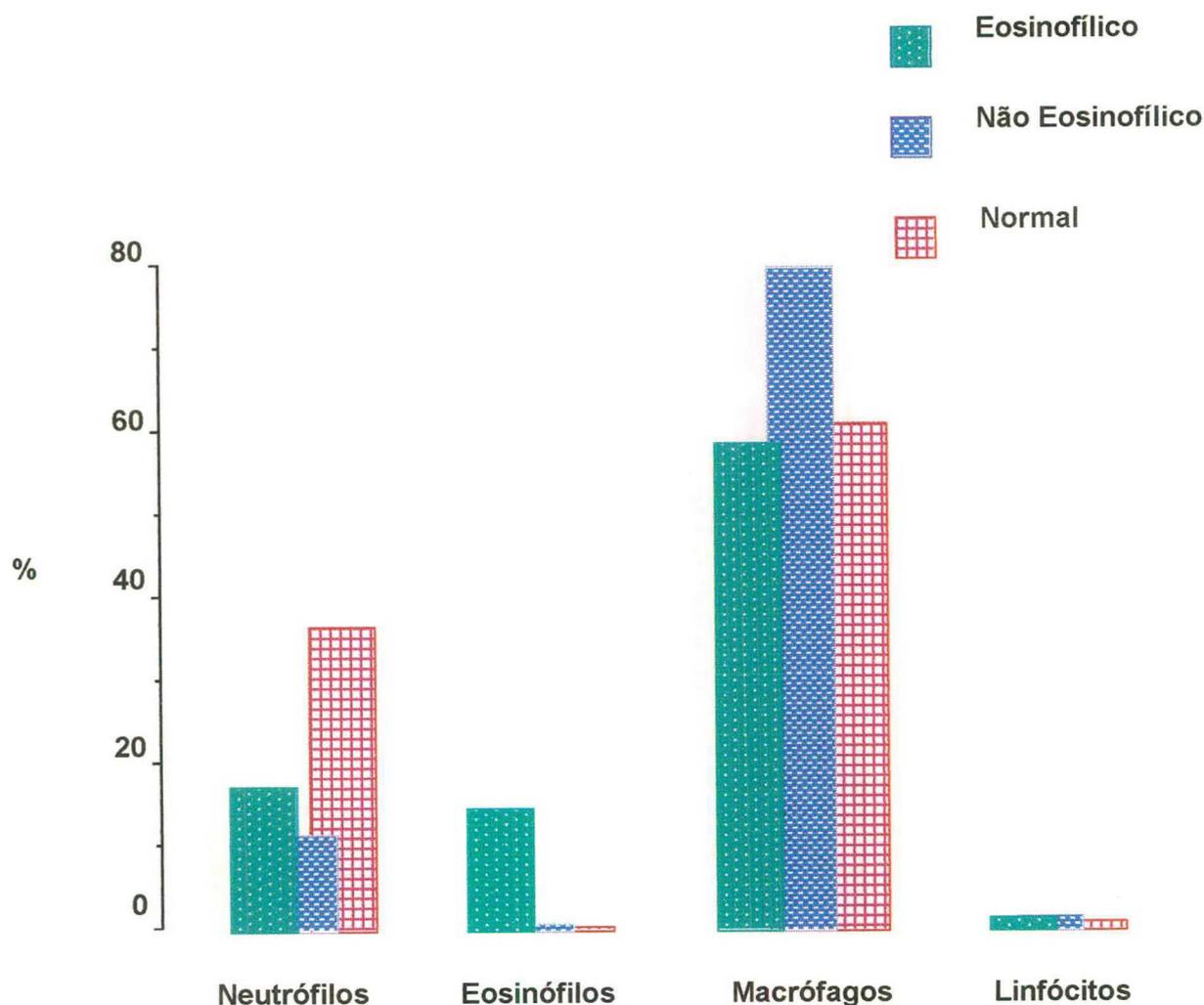


Figura 2 – Comparação da proporção de células inflamatórias no escarro induzido em nossa casuística com valores de referência para indivíduos hígidos, publicados por Belda *et al.*⁴¹

Não foram observadas, neste estudo, diferenças com relação aos sintomas, uso de broncodilatadores e magnitude da obstrução das vias aéreas entre os grupos eosinofílico e não-eosinofílico. Nossos resultados são semelhantes aos descritos por Pavord et al,²⁹ que analisou a resposta aos corticosteróides em pacientes até então virgens de tratamento com esta droga. Os grupos eosinofílico e não-eosinofílico apresentaram valores basais similares do VEF₁ (porcentagem do previsto), da razão entre o VEF₁ e a capacidade vital forçada (VEF₁/CVF) e dos escores de sintomas. Por outro lado, no estudo realizado por Turner *et al*²⁶ com pacientes asmáticos em uso ou não de tratamento com corticosteróides durante uma exacerbação leve dos sintomas, apesar de não se terem observado diferenças quanto à prevalência de sintomas, a obstrução das vias aéreas foi significativamente maior no grupo eosinofílico. Esta discordância deve-se, provavelmente, às diferenças entre as populações estudadas.

É importante destacar que, em nosso estudo, restringimo-nos a questionar sobre a frequência dos sintomas e a presença ou não de sintomas noturnos provocando despertares, sem discriminá-los ou caracterizá-los. Este pode ter sido o motivo pelo qual não se observaram diferenças entre os grupos estudados. Para exemplificar, podemos citar uma entidade denominada bronquite eosinofílica, caracterizada pela presença de tosse crônica e eosinofilia no escarro, porém sem evidência de limitação variável ao fluxo de ar das vias aéreas ou hiperresponsividade brônquica.⁴⁷⁻⁴⁹ O tratamento com corticosteróides produz uma diminuição do número de eosinófilos no escarro e melhora da tosse nestes indivíduos.^{47,50} Se tivéssemos estudado os sintomas de forma mais detalhada, em especial o sintoma “tosse”, talvez encontrássemos diferenças significativas em relação a estas variáveis entre os grupos eosinofílico e não-eosinofílico. Esta hipótese requer futuras e mais bem detalhadas investigações.

Outra questão a ser discutida é o ponto de corte por nós utilizado para definir a presença de eosinofilia no escarro. Optamos pelo valor de 3%, com base em dados publicados em alguns estudos. Belda e colaboradores⁴¹ mostraram, a partir da análise do escarro induzido de um grupo de 96 indivíduos hígidos, que as proporções normais de eosinófilos no escarro chegam até 2,2%. Além disso, observou-se que indivíduos que apresentam proporção de eosinófilos no escarro maior ou igual a 3% respondem favoravelmente à terapia com corticosteróides, diferentemente daqueles que apresentam escarro não eosinofílico^{28,29} Desta forma, podemos afirmar com segurança que valores acima deste ponto de corte associam-se à

presença de inflamação eosinofílica das vias aéreas. No entanto, é preciso considerar que, pelo método por nós utilizado para processar as amostras de escarro, apenas 400 células do total de células da amostra são contadas em cada citospina corada pelo Giemsa. Este número faz com que, na verdade, proporções de eosinófilos entre 2 e 3%, difiram apenas por uma ou duas células no número total de células contadas. Sendo assim, é possível que proporções ligeiramente inferiores a 3% tenham sido encontradas em algumas citospinas, mesmo na presença de uma amostra de escarro eosinofílico. Contudo, acreditamos que este erro, intrínseco do método, não ocorra com frequência e não seja por si próprio um fator de confusão nos resultados de estudos com intervenção.

A presença de eosinofilia no escarro é uma característica da asma observada em vários estudos^{13,14,17} e possui relação com a resposta ao tratamento com corticosteroídes,²⁹ como previamente enfatizado. Entretanto, todos estes estudos foram realizados tendo como fator de inclusão a proporção de eosinófilos em um determinado momento, de modo transversal, e não houve preocupação com relação à sua variabilidade ao longo do tempo e com os fatores que podem alterá-la. Neste sentido, a realização de estudos longitudinais é necessária, para avaliar a variabilidade da proporção de eosinófilos no escarro; mais ainda, é obrigatório testar a utilidade desta informação, determinando em que proporção a resposta ao uso de corticosteróides inalatórios na asma pode ser predita pela presença de eosinofilia no escarro.⁵¹

6. CONCLUSÕES

1. Asmáticos virgens de tratamento com corticosteróides, em nosso meio, apresentam maior proporção de eosinófilos no escarro em relação a valores de referência estabelecidos para indivíduos hígidos.
2. Na casuística estudada não observamos neutrofilia no escarro.
3. A ocorrência de sintomas diurnos e noturnos, a frequência do uso de broncodilatadores de ação curta, a magnitude da obstrução de vias aéreas e a resposta ao uso de broncodilatador, neste estudo, são incapazes de predizer a presença ou ausência de inflamação eosinofílica das vias aéreas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Partridge MR. Asthma: Clinical features, diagnosis and treatment. In: Albert R, Spiro S, Jett J, editors. *Comprehensive Respiratory Medicine*. London: Mosby; 1999. p.41.1-18.
2. Global Initiative for Asthma. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention NHLBI/WHO Workshop Report*. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. 1995.
3. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998; 351:1225-32.
4. Brasil. Ministério da Saúde. *Morbidade hospitalar do SUS de jan/1995 a nov/2001*. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>.
5. Barbieri CF, Freitas CF, Cecatto F, Andrade PS, Moritz P, Pizzichini E, et al. Prevalência de sintomas de asma e rinite em adultos jovens. *Jornal de Pneumologia* 2000; 26(3), S89, p051C.
6. Piazza HE. *Prevalência de sintomas de asma e rinite em adolescentes da cidade de Florianópolis [dissertação]*. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2001.
7. Pizzichini MMM, Pizzichini E. *Inflamação das vias aéreas na asma*. In: Silva LCC. *Conduitas em Pneumologia*. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.265-70.
8. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:599-606.
9. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CRW, Twentyman OP, Howarth PH, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:434-57.
10. Kirby JG, Hargreave FE, Gleich GJ, O'Byrne PM. Bronchoalveolar cell profiles of asthmatic and nonasthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:379-83.
11. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, et al. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Resp Dis* 1990; 142:863-71.

12. Djukanovic R, Wilson JW, Lai CKW, Holgate ST, Howarth PH. The safety aspects of fiberoptic bronchoscopy, bronchoalveolar lavage, and endobronchial biopsy in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:772-7.
13. Gibson PG, Girgis-Gabardo A, Morris MM, Mattoli S, Kay JM, Dolovich J, et al. Cellular characteristics of sputum from patients with asthma and chronic bronchitis. *Thorax* 1989; 44:693-9.
14. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47:25-9.
15. Pizzichini MMM, Popov TA, Efthimiadis A, Hussack P, Evans S, Pizzichini E, et al. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:866-9.
16. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Hargreave FE, Dolovich J. Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination. *Eur Respir J* 1996; 9:1174-80.
17. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:308-17.
18. Pin I, Freitag AP, O'Byrne PM, Girgis-Gabardo A, Watson RM, Dolovich J, et al. Changes in the cellular profile of induced sputum after allergen-induced asthmatic responses. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1265-9.
19. Gibson PG, Wong BJ, Hepperle MJ, Kline PA, Girgis-Gabardo A, Guyatt G, et al. A research method to induce and examine a mild exacerbation of asthma by withdrawal of inhaled corticosteroid. *Clin Exp Allergy* 1992; 22(5):525-32.
20. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1501-8.
21. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S, Barnes PJ. Effect of differing doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma. *Thorax* 1999; 54:108-14.
22. Rensen ELJ, Straathof KCM, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax* 1999; 54:403-8.

23. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy and Clin Immunol* 1995; 98:1031-9.
24. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Dolovich J, Hargreave FE. Measuring airway inflammation in asthma: eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:539-44.
25. Fish JE, Peters SP. Airway remodeling and persistent airway obstruction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:509-16.
26. Turner MO, Hussack P, Sears MR, Dolovich J, Hargreave FE. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax* 1995; 50:1057-61.
27. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hargreave FE. Induced sputum in the management of asthma. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 19(6):581-92.
28. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1511-17.
29. Pavord ID, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet* 1999 Jun 26; 353(9171):2213-4.
30. Kendrick AH, Higgs CMB, Whitfield MJ, Laszlo G. Accuracy of perception of severity of asthma: patients treated in general practice. *BMJ* 1993; 307:422-4.
31. int'Veen JCCM, Smits HH, Ravensberg AJJ, Hiemstra PS, Sterk PJ, Bel EH. Impaired perception of dyspnea in patients with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1134-41.
32. Parameswaran K, Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hussack P, Efthimiadis A, Hargreave FE. Clinical judgement of airway inflammation versus sputum cell counts in patients with asthma. *Eur Respir J* 2000 Mar; 15(3); 486-90.
33. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Efthimiadis A, Chauhan AJ, Johnston SL, Hussack P, et al. Asthma and natural colds: inflammatory indices in induced sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1178-84.
34. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of inhaled ozone on exhaled nitric oxide, pulmonary function, and induced sputum in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1999; 54:1061-9.

35. Nordenh al C, Pourazar J, Blomberg A, Levin J-O, Sandstr on T,  adelroth EA. Airway inflammation following exposure to diesel exhaust: a study of time kinetics using induced sputum. *Eur Respir J* 2000; 15:1046-51
36. Jayaram L, Pizzichini MMM, Hussack P, Efthimiadis A, Goodwin S, Chaboillez S, et al. First line anti-inflammatory treatment for asthma: inhaled steroid or leukotriene antagonist? *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109(1): S245, A746.
37. Pepys J. Skin tests in diagnosis. In: Gell PGH, Coombs RRD, Lachman PJ, editors. *Clinical aspects of immunology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975. p.55-88.
38. American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152; 1107-36.
39. Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123:659-64.
40. Juniper EF, Cockcroft DW, Hargreave FE. Histamine and methacholine inhalation tests: a laboratory tidal breathing protocol. 2nd ed. Lund, Sweden: Astra Draco AB, 1994.
41. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:475-8.
42. Fahy JV, Boushey HA. Effect of low dose beclomethasone dipropionate on asthma control and airway inflammation. *Eur Respir J*, 1998; 11:1240-7.
43. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'Connor BJ, Chung KF, et al. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation: assessment by various inflammatory markers in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:22-30.
44. Nobutomo K. Air pollution and cytological changes in sputum. *Lancet* 1978; 1:523-6.
45. Ghio AJ, Kim C, Devlin RB. Concentrated ambient air particles induce mild pulmonary inflammation in healthy human volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:981-8.
46. Saldiva PHN, Clarke RW, Coull BA, Stearns RC, Lawrence J, Murthy GGK, et al. Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1610-17.
47. Gibson PG, Hargreave Fe, Girgis-Gabardo A, Watson RM, Morris M, Denburg JA, Dolovich J. Chronic cough with eosinophilic bronchitis and examination for variable airflow obstruction and response to corticosteroid. *Clin Exp Allergy* 1995; 25:127-32.

48. Rytälä P, Metso T, Heikkinen K, Saarelainen P, Helenius IJ, Haahtela T. Airway inflammation in patients with symptoms suggesting asthma but with normal lung function. *Eur Respir J* 2000; 16:824-30.
49. Brightling CE, Pavord ID. Eosinophilic bronchitis – what is it and why is it important? *Clin Exp Allergy* 2000; 30(1):4-6.
50. Brightling CE, Ward R, Wardlaw AJ, Pavord ID. Airway inflammation, airway responsiveness and cough before and after inhaled budesonide in patients with eosinophilic bronchitis. *Eur Respir J* 2000; 15:682-6.
51. Pizzichini, MMM (Editorial). Do we have evidence that sputum eosinophilia is a good or poor predictor of benefit from inhaled corticosteroid therapy in asthma? *Eur Respir J*, 2002; (no prelo).

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi digitado de acordo com as normas da resolução número 001/2001 do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, terceira edição.

**TCC
UFSC
CM
0479**

N.Cham. TCC UFSC CM 0479
Autor: Lee, Simone Van de
Título: Inflamação das vias aéreas em asm



972811553

Ac. 253628

Ex.1

Ex.1 UFSC BSCCSM