

Artigo Original

Avaliação quantitativa das fibras elásticas na doença pulmonar obstrutiva crônica*

Quantitative assessment of elastic fibers in chronic obstructive pulmonary disease

Rogério Rufino¹, Kalil Madi², Heitor Siffert Pereira de Souza³, Cláudia Henrique da Costa¹, Eduardo Haruo Saito⁴, José Roberto Lapa e Silva⁵

Resumo

Objetivo: Quantificar fibras elásticas (FE), músculo liso (ML) e linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ na doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) estável. **Métodos:** Biópsias cirúrgicas foram obtidas de 15 pacientes com DPOC, 18 tabagistas sem limitação do fluxo aéreo e 14 não tabagistas. FE, ML e células T CD4⁺ e CD8⁺ foram quantificados através de métodos histológicos e imuno-histoquímicos. **Resultados:** Não foi observada diferença estatisticamente significativa das FE nos três grupos ($p > 0,05$). Tanto a quantidade de FE por unidade de área pulmonar (mm²), quanto o percentual destas fibras por tecido pulmonar foram semelhantes nos três grupos. Foi encontrado aumento da quantidade de ML em pacientes com DPOC quando comparados a tabagistas ($p = 0,003$) e não tabagistas ($p = 0,009$). Houve tendência de aumento das células T CD8⁺ nos pacientes com DPOC. O total de células T CD4⁺ estava diminuído nos pacientes com DPOC quando comparados aos tabagistas ($p = 0,015$) e não tabagistas ($p = 0,003$). Observou-se fraca correlação entre estas células e a relação entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo e a capacidade vital forçada ($r^2 = 0,003$). **Conclusões:** A quantidade de FE foi semelhante nos três grupos estudados. A hipertrofia/hiperplasia muscular da parede das vias aéreas foi encontrada tanto em pacientes com DPOC quanto em tabagistas, indicando que o remodelamento ocorra também nos tabagistas sem limitação do fluxo aéreo. Houve diminuição da relação CD4/CD8 em pacientes com DPOC.

Descritores: Doença pulmonar obstrutiva crônica; Contagem de linfócito CD4; Tecido elástico; Músculo liso.

Abstract

Objective: To quantify elastic fibers (EFs) and smooth muscle (SM) cells, as well as CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes, in stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods:** Surgical specimens were obtained from 15 COPD patients, 18 smokers without airflow limitation, and 14 nonsmokers. Histological and immunohistochemical methods were employed in order to quantify EFs, SM cells, CD4⁺ T cells, and CD8⁺ T cells. **Results:** There was no significant difference in EF numbers among the three groups ($p > 0.05$). The number of EFs per unit area of lung tissue (mm²) and the percentage of EFs in the lung tissue were similar among the three groups. The numbers of SM cells were found to be higher in the COPD patients than in the smokers ($p = 0.003$) or in the nonsmokers ($p = 0.009$). There was a tendency toward an increase in CD8⁺ T-cell counts in the COPD patients. In specimens collected from the COPD patients, CD4⁺ T-cell counts were lower than in those collected from the smokers ($p = 0.015$) or from the nonsmokers ($p = 0.003$). There was a weak correlation between CD4⁺ T-cell count and the ratio of forced expiratory volume in one second to forced vital capacity ($r^2 = 0.003$). **Conclusions:** The EF counts were similar among the three groups. Hypertrophy/hyperplasia of airway wall SM cells was found in the COPD patients and in the smokers, indicating that airway remodeling occurs in smokers. The CD4/CD8 ratio was lower in the COPD patients.

Keywords: Pulmonary disease, chronic obstructive; CD4 Lymphocyte Count; Elastic tissue; Muscle, smooth.

* Trabalho realizado no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

1. Professor Adjunto de Pneumologia e Tisiologia. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

2. Professor Titular do Departamento de Patologia. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

3. Professor Adjunto de Clínica Médica. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

4. Professor Adjunto de Cirurgia Torácica. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

5. Professor Titular de Pneumologia e Tisiologia. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ – Rio de Janeiro (RJ) Brasil.

Endereço para correspondência: José Roberto Lapa e Silva. Laboratório Multidisciplinar, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho,

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Brigadeiro Tromposki, s/n, Ilha do Fundão, CEP 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Tel 55 21 2562-2669. Fax 55 21 2290-3520. E-mail: jrlapa.ntg@terra.com.br

Recebido para publicação em 29/11/2006. Aprovado, após revisão, em 24/1/2007.

Introdução

Em todo o mundo, a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) tem aumentado a sua prevalência e mortalidade. A Organização Mundial de Saúde prevê que no ano de 2020 a DPOC se tornará a 5ª doença em prevalência e a 3ª causa de mortalidade.⁽¹⁾ Atualmente, a DPOC é definida como uma doença inflamatória crônica, caracterizada pelo lento declínio da função pulmonar, que não responde adequadamente ao tratamento medicamentoso.

O pulmão reage às agressões causadas pelos gases tóxicos mais freqüentemente relacionados ao tabagismo através de uma resposta inflamatória. Células como macrófagos, neutrófilos e linfócitos são recrutadas e substâncias oxidativas, antioxidativas e mediadores imunitários liberados, interferindo na função e na estrutura do parênquima e das vias respiratórias. Esta inflamação promove remodelamento tanto do parênquima quanto das vias aéreas.⁽²⁻⁴⁾

Ainda não está plenamente estabelecido o papel de cada uma dessas células inflamatórias na alteração estrutural causada pela doença. Em algumas circunstâncias, como na infecção ou no fumo, os neutrófilos migram em grande quantidade para o pulmão. Durante este processo, os neutrófilos podem liberar suas enzimas com a finalidade de preservação pulmonar. Assim, substâncias neutrofilicas são liberadas em grande quantidade, atuando nos sítios reconhecidos de sua interação enzimática, sem distinção entre substâncias nocivas ou componentes da matriz extracelular.^(5,6)

A elastase lisossomal neutrofilica é a principal enzima que age degradando a elastina, componente da estrutura das fibras elásticas. Em condições normais, a atividade enzimática proteolítica é prevenida e restaurada pelas enzimas antiproteolíticas.⁽⁷⁻⁹⁾ Este fato tem estimulado alguns pesquisadores a produzirem modelos de enfisema com altas concentrações de elastase ou com deficiência de alfa-1 antitripsina.⁽⁹⁻¹¹⁾ No entanto, a correlação entre estes modelos inflamatórios e as alterações estruturais por eles produzidas não é simples e direta. Nem todos os tabagistas com alto número de neutrófilos recolhidos de suas vias aéreas desenvolvem enfisema, sugerindo que os neutrófilos não sejam as únicas células a participarem desse processo.

Recentemente, os linfócitos T, especialmente CD8+, têm sido encontrados nos alvéolos e nas

paredes bronquiolares dos pacientes com DPOC.^(3,11) Embora se saiba que estas células têm participação direta na proteção contra vírus e parasitas, não está estabelecida a sua correlação com as alterações das fibras elásticas.

O objetivo deste estudo é quantificar as fibras elásticas em biópsias pulmonares e investigar a sua correlação com as células T CD8+ em pacientes com DPOC.

Métodos

O estudo seccional-transverso foi realizado no período de 2001 a 2005, com 47 pacientes que foram submetidos à cirurgia torácica. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da cirurgia. Para serem incluídos no estudo, os pacientes realizavam: anamnese e exame físico; radiografia de tórax; espirometria; dosagem de alfa-1 antitripsina; sorologia para o HIV; e biópsia pulmonar durante a cirurgia. Os critérios de exclusão estabelecidos foram: história de atopia; resposta broncodilatadora positiva na espirometria; infecção pulmonar há menos de quatro semanas; níveis de alfa-1 antitripsina abaixo da faixa da normalidade; sorologia positiva para anti-HIV; evidência radiográfica de alterações infiltrativas ou inflamatórias, ou quando um dos três patologistas envolvidos no protocolo concluía que as amostras estavam infiltradas por tecido neoplásico ou inflamatório.

Grupos de estudo

Três grupos foram constituídos, levando-se em conta também a relação entre volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) e capacidade vital forçada (CVF):

- 1) DPOC: pacientes com carga tabágica acima de 20 maços/ano, sem história de atopia, VEF₁/CVF < 70%, e prova broncodilatadora negativa, de acordo com os critérios da *American Thoracic Society* (ATS)⁽¹²⁾;
- 2) Tabagistas: pacientes com carga tabágica acima de 20 maços/ano, sem história de atopia, VEF₁/CVF > 70%, VEF₁ > 80% e prova broncodilatadora negativa, de acordo com os critérios da ATS⁽¹²⁾; e

3) Não tabagistas: pacientes sem história de tabagismo e de atopia, $VEF_1/CVF > 70\%$, $VEF_1 > 80\%$ e prova broncodilatadora negativa, de acordo com os critérios da ATS.⁽¹²⁾

Histologia

Amostras de tecido pulmonar medindo entre 1 e 3 cm³ foram obtidas cirurgicamente, evitando-se as áreas envolvidas pelo tumor. Os espécimes foram divididos em duas partes: a primeira foi fixada com formaldeído 10%, desidratada e incluída em parafina, para o estudo histológico; a segunda, congelada em nitrogênio líquido e mantida em temperatura de -80 °C, para o estudo imuno-histoquímico. Foram confeccionadas 10 lâminas com cortes de 5 µm de

espessura, tanto para o estudo histológico quanto para o imuno-histoquímico, sendo que os cortes para este último foram confeccionados no criostato (-24 °C) e sua secção em lâmina filmada por poli-L-lisina, secada à temperatura ambiente, resfriada, protegida em filme plástico e estocada a -20 °C até a realização das análises com imunomarcadores.

Análises morfométricas

As medidas morfométricas foram realizadas em lâminas coradas pela técnica tricrômica de Masson e a resorcina-fucsina de Weigert, para identificar, respectivamente, músculo liso e fibras elásticas.⁽¹³⁾ As leituras foram realizadas em microscópio óptico (Microstar IV; Reichert/Leica, Depew, NY, EUA)

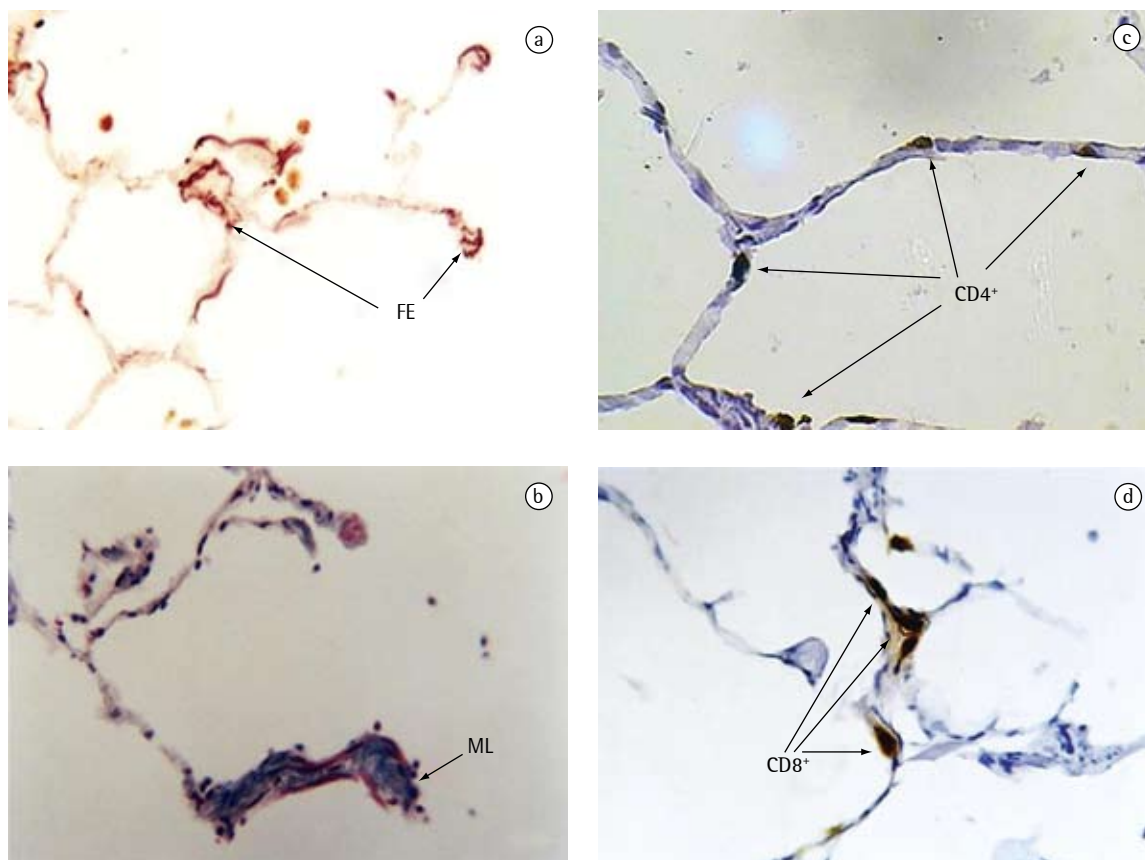


Figura 1 - Pannel das técnicas histológicas e imuno-histoquímicas de um paciente do grupo de doença pulmonar obstrutiva crônica: a) Técnica de resorcina-fucsina de Weigert. FE representa as fibras elásticas que se dispõem descontínuas com vários tamanhos e distribuídas irregularmente no septo alveolar. (Aumento 400×); b) Técnica tricrômica de Masson. ML representa o músculo liso que aumenta os diâmetros dos tabiques alveolares formando uma imagem de baqueta de tambor. (Aumento 400×); c) Marcação de CD4⁺ pela técnica de imunoperoxidase. Os linfócitos repousam e ocupam praticamente a toda a linha do septo alveolar. (Aumento 400×); e d) Marcação de CD8⁺ pela técnica de imunoperoxidase. Há uma tendência de agrupamento dos linfócitos no septo alveolar. (Aumento 400×).

(magnificação de 100x) conectado a um sistema de imagem computadorizado (Image-pro Plus v. 4.1; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA). As lâminas foram codificadas e analisadas sem o conhecimento dos grupos aos quais pertenciam e no mínimo 2 mm² de material foram examinados em cada lâmina, compostos por 10 ou mais campos vistos com a objetiva de 10x.

Em função da heterogeneidade dos espécimes (áreas mais e menos insufladas), foi utilizado um modelo de correção pelo Image-pro Plus, quantificando-se as fibras elásticas e musculares exclusivamente por área de tecido pulmonar, sem contabilizar o espaço aéreo. As regiões foram selecionadas em função da qualidade da amostra, evitando-se áreas subpleurais e cercanias de bronquíolos e vasos, isto é, exclusivamente parênquima.

Os resultados foram apresentados tanto pela quantidade global das fibras elásticas ou fibras musculares contabilizadas por unidade de área de tecido pulmonar (mm²) e pelo seu percentual em relação ao total.

A marcação imuno-histoquímica foi realizada pela técnica avidina-biotina-peroxidase (Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA) usando cortes de 5 µm fixados em acetona. Foram utilizados anticorpos humanos monoclonais CD4⁺ (clone QA4120, código C-1805, lote 116H4875; Sigma Chemical, St. Louis, MO, EUA) e CD8⁺ (clone UCH-4, código C-7423, lote 40K4830; Sigma Chemical) e feita contagem total ao microscópio (point-counting). Controles negativos foram realizados utilizando-se imunoglobulinas de camundongos.

Todas as análises histológicas foram realizadas por dois observadores em separado (Figura 1).

Análise estatística

Inicialmente, foi analisada a distribuição das amostras utilizando os testes Kolmogorov-Smirnov, kurtosis e skewness. Depois, avaliando a distribuição amostral, escolheu-se o teste não-paramétrico Mann-Whitney e o teste de contraste bi-caudal para análise, sempre considerando significância estatística quando $p < 0,05$. As correlações estatísticas foram realizadas usando o teste de Spearman.

Resultados

Foram analisados 47 pacientes, sendo 15 com DPOC, 18 tabagistas e 14 não tabagistas. No grupo de pacientes com DPOC, 6 foram considerados leves e 9 moderados, pelos critérios do Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.⁽²⁾ A idade foi significativamente maior no grupo de DPOC ($p < 0,05$), sendo que neste grupo todos os pacientes tinham câncer não pequenas células nos estágios Ib ($n = 3$), IIa ($n = 5$), e IIb ($n = 4$) e pequenas células limitadas ao tórax ($n = 3$). O mesmo aconteceu no grupo dos tabagistas (entre os quais somente 1 paciente tinha sido diagnosticada outra doença), que também apresentavam carcinoma não pequenas células nos estágios Ia ($n = 2$), Ib ($n = 3$), IIa ($n = 4$), e IIb ($n = 6$) e pequenas células limitada ao tórax ($n = 2$). Já no grupo de não tabagistas, os pacientes tinham câncer não pequenas células nos estágios IIa ($n = 4$), e IIb ($n = 2$), câncer pequenas células limitada ao tórax ($n = 1$), tuberculose ($n = 4$), pneumotórax ($n = 2$) e bronquiectasia ($n = 1$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados demográficos e espirométricos.

Variáveis	Grupos		
	Não tabagista ($n = 14$)	Tabagista ($n = 18$)	DPOC ($n = 15$)
Idade (anos)	46,71 ± 17,85 ^a	60,39 ± 11,55	61,20 ± 11,11 ^a
Sexo (F/M)	8/6	8/10	1/14
Casos de câncer	7	17	15
Outras doenças	7	1	0
VEF ₁ (L)	2,73 ± 1,00	2,49 ± 1,00	2,34 ± 0,32
CVF (L)	3,22 ± 1,06	3,10 ± 0,56	3,58 ± 0,59
VEF ₁ /CVF (%)	84,18 ± 7,21 ^b	79,91 ± 6,98 ^b	63,46 ± 5,20 ^b

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; F: feminino; M: masculino; VEF₁: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; VEF₁/CVF: a relação entre VEF₁ e CVF; ^a $p < 0,05$ entre os grupos de não tabagistas e DPOC; e ^b $p < 0,05$ entre os grupos de não tabagistas ou tabagistas e DPOC.

Não houve diferença estatística na quantificação percentual e absoluta das fibras elásticas entre os três grupos (Tabela 2 e Figura 2) e a sua regressão linear com VEF₁/CVF ($r^2 = 0,003$), fibras musculares lisas ($r^2 = 0,006$), linfócito T CD4⁺ ($r^2 = 0,005$) e CD8⁺ ($r^2 = 0,054$) demonstrava fraca correlação.

Com relação ao músculo liso, foi observado que, no grupo de pacientes com DPOC e no de tabagistas, havia aumento da quantidade destas fibras quando comparado com o grupo de não tabagistas (respectivamente, $p = 0,003$ e $p = 0,009$) (Tabela 2 e Figura 2). Houve fraca correlação linear entre a quantidade de músculo liso e a relação VEF₁/CVF ($r^2 = 0,059$), assim como com o total de células T CD4⁺ ($r^2 = 0,013$) e T CD8⁺ ($r^2 = 0,005$).

Os linfócitos T CD4⁺ estavam reduzidos nos pacientes com DPOC quando comparados com os não tabagistas ($p = 0,003$) (Tabela 2 e Figura 3).

Não foi observado aumento significativo dos linfócitos T CD8⁺, mas houve significativa redução da relação CD4/CD8 ($p < 0,005$) nos pacientes com DPOC em relação ao grupo de não tabagistas (Tabela 2 e Figura 3).

Discussão

A DPOC tem como característica a inflamação tênue e crônica, com expressão fenotípica das células imunitárias CD8⁺, o que já a diferencia de muitas doenças inflamatórias não-infecciosas no pulmão. Além disso, há um desequilíbrio de substâncias proteolíticas e oxidantes que atuam preferencialmente nas áreas mais distais do pulmão.

O nosso trabalho não demonstrou diferença estatística no conteúdo de fibras elásticas nos

grupos estudados, tanto pela contagem absoluta e percentual de fibras elásticas, quanto por aquela corrigida pela área tecidual total.

O desequilíbrio das enzimas proteolíticas e anti-proteolíticas como modelo de desenvolvimento da DPOC ainda não foi plenamente estabelecido no enfisema pulmonar sem a deficiência hereditária de alfa-1 antitripsina. Modelos experimentais de enfisema utilizam quantidades elevadas de enzimas proteolíticas, que mais mimetizam o relacionado à deficiência da alfa-1 antitripsina.^(8,14)

Alguns autores,⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ na década de setenta, descreveram que as fibras elásticas na DPOC 'pareciam diminuídas' por 'degeneração ou destruição'. Outros autores⁽¹⁸⁾ realizaram necropsias de 10 pacientes com DPOC e 9 sem doença pulmonar e relataram que as fibras elásticas estavam quantitativamente semelhantes nos dois grupos. Num estudo experimental⁽¹⁹⁾ realizado com a instilação de elastase na traquéia de porcos, foi observado que, após quatro meses, a quantidade de fibras elásticas não foi significativamente diferente da do grupo controle. Todavia, o grupo da instilação demonstrava configuração anormal associada à desorganização das fibras elásticas. Em outro estudo,⁽²⁰⁾ instilações de elastase foram feitas em ratos e análises estruturais das fibras elásticas realizadas através de microscopia eletrônica, sendo visualizadas fenestrações e fraturas. Pretensamente estariam desconexas e descomprometidas com a funcionalidade do sistema respiratório. Ainda em um outro estudo,⁽²¹⁾ foram analisados pelo método ELISA os peptídeos derivados da degradação das fibras elásticas nos grupos DPOC, tabagista e não tabagista. Os autores demonstraram que havia aumento significativo dos

Tabela 2 - Achados histométricos e celulares.

Variáveis	Grupos		
	Não tabagista	Tabagista	DPOC
Fibras elásticas (mm ²)	0,0459 (0,0078-0,1221)	0,0662 (0,0181-0,2558)	0,0611 (0,0109-0,2451)
Fibras elásticas (%)	21,54 ± 12,00	20,03 ± 10,20	18,47 ± 7,59
Músculo liso (mm ²)	0,0237 ^a (0,0089-0,0775)	0,0521 ^a (0,0148-0,1302)	0,0660 ^a (0,0269-0,1473)
Músculo liso (%)	10,06 ± 22,00 ^a	16,40 ± 18,65	20,72 ± 30,12 ^a
CD4 ⁺ (mm ²)	104,79 ^b (11-105)	86,11 (13-116)	45,07 ^b (18-211)
CD8 ⁺ (mm ²)	42,50 (27-219)	48,50 (14-368)	61,20 (27-411)
CD4/CD8 (mm ²)	3,08 ^c (0,41-7,30)	2,04 ^c (0,54-7,36)	1,02 ^c (0,61-3,12)

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; Os resultados em mm² representam a mediana e dentro dos parênteses os valores mínimo e máximo medidos no grupo; ^aHouve significância estatística entre a quantidade e o percentual de músculo liso nas vias aéreas entre o grupo de não tabagistas e o de tabagistas ($p = 0,009$) ou DPOC ($p = 0,003$); ^bHá importante diminuição do número de células T CD4⁺ no grupo de DPOC em relação ao grupo controle não tabagista ($p = 0,003$); e ^cA relação CD4/CD8 diminuiu no grupo de DPOC e de tabagistas em relação ao grupo de não tabagistas ($p < 0,005$).

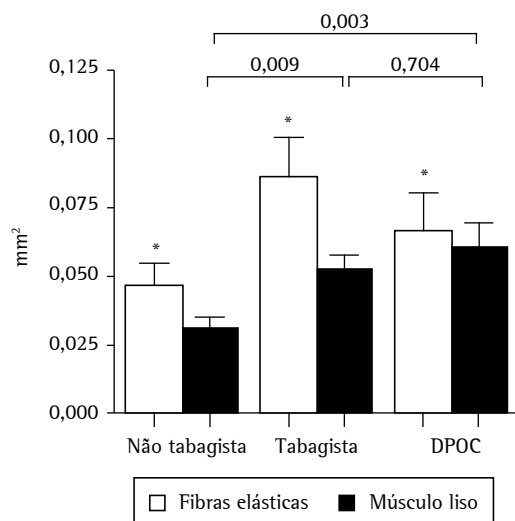


Figura 2 – Valores das fibras elásticas e do músculo liso. Houve aumento do músculo liso bronquiolar tanto no grupo de tabagistas quanto no de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) em relação ao grupo controle de não tabagistas. *Não houve diferença estatística na quantificação das fibras elásticas entre os grupos ($p > 0,05$).

peptídeos no grupo de pacientes com DPOC. Num trabalho⁽²²⁾ com dados semelhantes ao do estudo anterior,⁽²¹⁾ havia aumento significativo entre os grupos de DPOC e não tabagista, utilizando a desmosina e a isodesmosina urinária, que são produtos da degradação da elastina. Os elevados valores dos metabólitos das fibras elásticas encontradas na urina e no sangue do tabagista e do paciente com DPOC podem significar o processo de regeneração do conteúdo elástico.⁽²³⁾ Não se pode esquecer que estes produtos de degradação não são específicos das fibras elásticas pulmonares, mas representam todas as fibras elásticas do corpo humano e que os valores desses metabólitos costumam aumentar nas pessoas idosas, o que pode dificultar a valorização destes achados nos pacientes com DPOC, que normalmente possuem idades avançadas.

No presente estudo, músculo liso é visualizado nas vias aéreas distais, com aumento progressivo e com significância estatística no grupo de tabagistas ($p = 0,009$) e no de pacientes com DPOC ($p = 0,003$). Houve fraca correlação estatística entre a quantidade de músculo liso e a relação VEF_1/CVF ($r^2 = -0,059$ e $p = 0,017$).

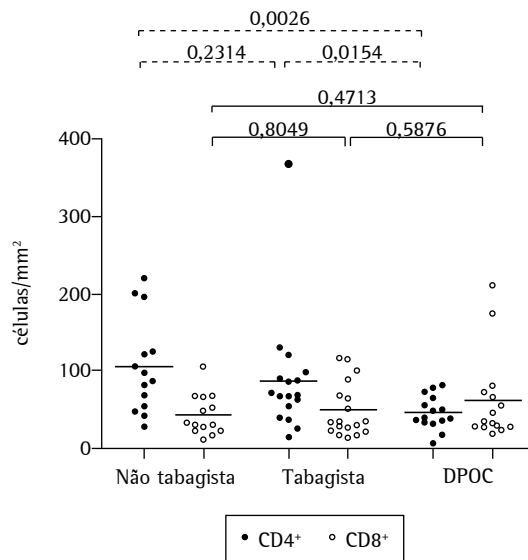


Figura 3 – Valores dos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺. Verifica-se a diminuição dos valores médios do total de células CD4⁺ no grupo de tabagistas e no de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Há aumento não significativo dos valores médios do total de células CD8⁺ no grupo de tabagistas e no de DPOC; e cada ponto cheio ou vazio representa o valor de CD4⁺ ou CD8⁺, respectivamente, e a pequena linha horizontal, o valor médio de CD4⁺ ou CD8⁺ em cada grupo estudado.

Dois estudos^(24,25) demonstraram que, nos bronquíolos respiratórios e membranosos dos tabagistas e dos pacientes com DPOC, havia infiltrado celular, aumento das células calciformes e de músculo. Em outro trabalho,⁽²⁶⁾ foi descrito que a quantidade de bronquíolos menores que 2 mm permanecia percentualmente semelhante nos pacientes com DPOC, tabagistas e não tabagistas. Todavia, quando os bronquíolos eram agrupados conforme as suas dimensões, verificava-se que no grupo de DPOC havia um aumento significativo de bronquíolos com diâmetros menores que 400 μ m em relação aos outros dois grupos. Outro estudo⁽²⁷⁾ demonstrava a relação do diâmetro das pequenas vias respiratórias com a obstrução do fluxo aéreo, correlacionando o aumento da parede brônquica com a diminuição da luz bronquiolar e, como conseqüência, a elevação da resistência das vias respiratórias e a obstrução ao fluxo aéreo. Nesse trabalho, os pacientes com DPOC possuíam maior número de bronquíolos com diâmetros lumenares menores.

Os sítios de aumento da massa muscular são diferentes nas duas principais doenças obstrutivas do pulmão. Na asma, a distribuição da hipertrofia/hiperplasia muscular ocorre preferencialmente nas grandes vias respiratórias. Na DPOC, a hipertrofia/hiperplasia muscular acontece nas pequenas vias. Esta distribuição muscular pode colaborar para as diferenças fisiopatológicas da DPOC.^(26,27)

Diferente do relato descrito por alguns pesquisadores,⁽²⁸⁾ a análise quantitativa das células T CD4⁺ no grupo de DPOC em relação ao grupo de não tabagistas estava significativamente diminuída ($p = 0,003$). A relação CD4/CD8 foi estatisticamente menor no grupo de DPOC em relação ao de não tabagistas ($p < 0,005$). Houve também, no grupo de DPOC, tendência de aumento de células CD8⁺ e fraca correlação entre o número de células CD4⁺ com a relação VEF₁/CVF.

Recentemente, foi demonstrado que o fenômeno de reversibilidade (resposta brônquica) depende das características do processo inflamatório. O aumento das células CD4⁺ ou a combinação do aumento das células CD4⁺ com a depleção de CD8⁺ são estímulos que aumentam a resposta da musculatura brônquica e que concentrações menores de linfócitos T CD4⁺ diminuem a resposta.⁽²⁹⁾

Um estudo *in vitro*⁽³⁰⁾ realizado no músculo bronquiolar de pacientes asmáticos e com DPOC demonstrava que o músculo bronquiolar respondia aos fármacos com a mesma intensidade, não havendo, portanto, diferença qualitativa do músculo na asma e na DPOC.

Concluindo, nós não observamos redução quantitativa das fibras elásticas nos pacientes com DPOC, sugerindo que, se alteradas, devam produzir disfunção. As fibras elásticas possuem meia vida longa, são muito resistentes tanto à degradação quanto à reabsorção natural, razão pela qual talvez tenham sido encontradas na mesma quantidade nos pulmões de pacientes com DPOC e em pessoas não tabagistas.

O aumento das fibras musculares parenquimatosas nos pacientes com DPOC e nos tabagistas foi marcante, demonstrando que o remodelamento pulmonar acontece também nos tabagistas e que este aumento não pode ser isoladamente responsável pela limitação do fluxo aéreo.

Não foi encontrada correlação dos linfócitos T CD4⁺ ou CD8⁺ com a quantidade de fibras elásticas e músculo liso. Os nossos dados demonstram que há uma modificação do perfil linfocitário e infla-

matório na DPOC, verificado pela diminuição da relação dos linfócitos T CD4⁺/CD8⁺.

Referências

1. Donaldson GC, Seemungal TA, Bhowmik A, Wedzicha JA. Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2002;57(10):847-52.
2. GOLD - Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease [Homepage on the Internet]. Executive Summary, Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of COPD Updated 2005 [cited 2006 Nov 19]. Available from: <http://www.goldcopd.org/Guidelineitem.asp?l1=2&l2=1&intl=1662>.
3. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2004;350(26):2645-53.
4. Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev*. 2004;56(4):515-48.
5. O'Donnell RA, Peebles C, Ward JA, Daraker A, Angco G, Broberg P, et al. Relationship between peripheral airway dysfunction, airway obstruction, and neutrophilic inflammation in COPD. *Thorax*. 2004;59(10):837-42.
6. Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, Casoni G, Busljetic K, Turato G, et al. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(3):418-24.
7. Fehrenbach H. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease: some critical remarks. *Pathobiology*. 2002-2003;70(5):277-83.
8. Corteling R, Wyss D, Trifilieff A. In vivo models of lung neutrophil activation. Comparison of mice and hamsters. *BMC Pharmacol*. 2002;2:1.
9. Takubo Y, Guerassimov A, Ghezzi H, Triantafillopoulos A, Bates JH, Hoidal JR, et al. Alpha1-antitrypsin determines the pattern of emphysema and function in tobacco smoke-exposed mice: parallels with human disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(12 Pt 1):1596-603.
10. Abusriwil H, Stockley RA. Alpha-1-antitrypsin replacement therapy: current status. *Curr Opin Pulm Med*. 2006;12(2):125-31.
11. Hogg JC. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2004;364(9435):709-21.
12. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144(5):1202-18.
13. Armed Forces Institute of Pathology. Stains for connective tissue. In: Armed Forces Institute of Pathology. *Manual of Histologic and special staining technique*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill Book Company; 1949. p. 55-96.
14. Cosio MG, Majo J, Cosio MG. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells. *Chest*. 2002;121(5 Suppl):160S-165S.
15. Wright RR. Elastic tissue of normal and emphysematous lungs. A tridimensional histologic study. *Am J Pathol*. 1961;39:355-67.

16. Thurlbeck WM. Measurement of pulmonary emphysema. *Am Rev Respir Dis.* 1967;95(5):752-64.
17. Kaplan PD, Kuhn C, Pierce JA. The induction of emphysema with elastase. I. The evolution of the lesion and the influence of serum. *J Lab Clin Med.* 1973;82(3):349-56.
18. Pierce JA, Hocott JB, Ebert RV. The collagen and elastin content of the lung in emphysema. *Ann Intern Med.* 1961;55:210-22.
19. Kuhn C 3rd, Tavassoli F. The scanning electron microscopy of elastase-induced emphysema. A comparison with emphysema in man. *Lab Invest.* 1976;34(1):2-9.
20. Finlay GA, O'Donnell MD, O'Connor CM, Hayes JP, FitzGerald MX. Elastin and collagen remodeling in emphysema. A scanning electron microscopy study. *Am J Pathol.* 1996;149(4):1405-15.
21. Kucich U, Christner P, Lippmann M, Fein A, Goldberg A, Kimbel P, et al. Immunologic measurement of elastin-derived peptides in human serum. *Am Rev Respir Dis.* 1983;127(2):S28-30.
22. Stone PJ, Gottlieb DJ, O'Connor GT, Ciccolella DE, Breuer R, Bryan-Rhadfi J, et al. Elastin and collagen degradation products in urine of smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(4):952-9.
23. Niewoehner DE, Kleinerman J. Morphometric study of elastic fibers in normal and emphysematous human lungs. *Am Rev Respir Dis.* 1977;115(1):15-21.
24. Bignon J, Khoury F, Even P, Andre J, Brouet G. Morphometric study in chronic obstructive bronchopulmonary disease. Pathologic, clinical, and physiologic correlations. *Am Rev Respir Dis.* 1969;99(5):669-95.
25. Matsuba K, Thurlbeck WM. The number and dimensions of small airways in emphysematous lungs. *Am J Pathol.* 1972;67(2):265-75.
26. Bignon J, Laurent P, de Cremoux H, Kouzan S. Critical review on small airway dysfunction. *Eur J Respir Dis Suppl.* 1986;146:345-58.
27. McLaughlin RF, Tueller EE. Anatomic and histologic changes of early emphysema. *Chest.* 1971;59(6):592-9.
28. Saetta M. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160(5 Pt 2):S17-20.
29. Garsen J, Nijkamp FP, Van Vugt E, Van der Vliet H, Van Loveren H. T cell-derived antigen binding molecules play a role in the induction of airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150(6 Pt 1):1528-38.
30. De Jongste JC, Mons H, Block R, Bonta IL, Frederiksz AP, Kerrebijn KF. Increased in vitro histamine responses in human small airways smooth muscle from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 1987;135(3):549-53.