

Alterações Imunológicas Pulmonares nas Doenças Intersticiais

Immunologic Pulmonary Damage in Interstitial Disease

José Roberto Lapa e Silva (*)

Nesta revisão abordaremos alguns aspectos da patogenia, com ênfase nas alterações imunológicas de duas das principais pneumopatias que cursam com fibrose intersticial, a sarcoidose e a fibrose pulmonar idiopática.

Alterações Imunes na Sarcoidose

A despeito de uma preocupação com a sarcoidose, que já ultrapassa a casa dos 100 anos, até o momento não se conseguiu associar a esta doença granulomatosa uma causa claramente estabelecida. Tal fato levou muitos investigadores a concentrarem sua atenção nos mecanismos imunopatológicos envolvidos no estabelecimento e progressão da doença. O granuloma é uma estrutura histopatológica que depende, para seu estabelecimento, de mecanismos complexos envolvendo linfócitos-T, macrófagos e as citocinas que eles produzem quando ativados. Neste campo houve grande progressão do conhecimento nos últimos anos e muitos deles têm sido aplicados na tentativa de clarificar a patogenia da sarcoidose (1).

A marca histopatológica da sarcoidose é a formação de múltiplos granulomas difusamente distribuídos por todo o corpo. Em geral, na doença em atividade, a concentração de granulomas de idades diferentes nos pulmões fazem com que alguns deles apresentem-se ainda em fase de formação, enquanto outros já estejam em processo de substituição por tecido fibrótico. A fibrose pulmonar que se nota nas fases avançadas da doença resulta deste processo de substituição do tecido granulomatoso por estrias de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular. Tais granulomas consistem em grupamentos de células alongadas, como fibroblastos e células epitelióides, rodeadas de células mononucleares

pequenas, compostas de linfócitos T CD4+ e CD8+ e de células do componente monocítico macrófago. Células multinucleadas aparecem também na periferia do granuloma. A ausência de necrose central distingue o granuloma da sarcoidose de outros tipos presentes em lesões infecciosas, como a tuberculose (1).

Embora o sítio da lesão principal no pulmão seja o interstício pulmonar, a exteriorização clínica é de uma alveolite linfocítica. Isso pode ser comprovado pela realização de lavado broncoalveolar nas fases de instalação clínica da doença, onde a marca registrada é a linfocitose absoluta e relativa, às custas de uma diminuição relativa dos macrófagos, muito embora os números de macrófagos estejam também aumentados devido a um incremento global da celularidade recuperada pelo lavado. Os linfócitos são predominantemente linfócitos T *helper* CD4+, com aumento da relação CD4/CD8. Zissel e cols (2) analisaram a relação CD4/CD8 de clones de linfócitos T expandidos *in vitro* a partir de sangue periférico, lavado broncoalveolar e biópsias transbrônquicas de pacientes com sarcoidose. Verificaram um aumento exagerado da relação CD4/CD8 em clones expandidos a partir de células obtidas por lavado broncoalveolar. Já os clones expandidos a partir das biópsias também mostraram aumento da relação CD4:CD8, porém, não de forma tão evidente como no lavado. Os clones expandidos a partir do sangue periférico estavam com distribuição normal. Tal fato reforça a hipótese da alveolite como fator predominante da patogenia da sarcoidose. Isso se deve não apenas ao recrutamento preferencial de tais células da circulação, o que resulta em queda da relação CD4/CD8 periférica, como também da expansão clonal *in situ*. Tal expansão clonal, com uso prefe-

(*) Professor Titular de Pneumologia da Faculdade de Medicina da UFRJ.

renciais de certos rearranjos de moléculas peptídicas que constituem as cadeias variáveis (V) α e β do receptor de antígeno do linfócito T (TCR), tem sido bastante explorada nos últimos anos. O estudo de Zissel (2), referido acima, verificou que as alterações mais proeminentes nas percentagens de cadeia V β foram detectadas na subpopulação de clones CD4+, obtidos a partir do lavado broncoalveolar. As famílias mais freqüentes foram V β 5 no sangue periférico e no lavado, com 28% neste último, outras famílias sendo a V β 8, V β 12, 13.3 e 19. Tais achados sugerem uma ativação de linfócitos T dirigidos por antígeno, apesar da natureza de tal antígeno ser desconhecida até hoje. Reforça também a compartimentalização existente no pulmão, já que o repertório de TCR encontrado no lavado é bem diferente do encontrado nas biópsias transbrônquicas. Trentin e colegas (3) também encontraram expansão de clones utilizando arranjos V β 2, V β 5 e V β 6 no pulmão, mas não no sangue de pacientes com sarcoidose. O acompanhamento destes pacientes após o tratamento demonstrou o desaparecimento destas células, mais uma vez apontando na direção de um uso exagerado e dirigido por antígeno de arranjos de cadeias do TCR no microambiente pulmonar.

Os linfócitos T recuperados, tanto através de lavado broncoalveolar como de granulomas obtidos por biópsias pulmonares, apresentam evidências fenotípicas e funcionais de linfócitos T ativados e de memória. Tais achados sugerem fortemente que os linfócitos T estão reconhecendo antígeno através do TCR e reagindo a eles, através da ativação, aumento da capacidade de proliferação e de produção de citocinas.

Vários estudos sugerem uma alteração do balanço entre citocinas do tipo Th1 e Th2 na sarcoidose. Milburn e cols. (4) verificaram aumento da presença de interferon (IFN)- γ e diminuição da presença de IL-4. Após o tratamento com corticosteróide, verificaram queda de IFN- γ e aumento da IL-4, sugerindo predomínio da resposta Th1 em detrimento da Th2, que se restabelece após tratamento. Já Minshall e colegas (5) verificaram aumento da expressão de RNA mensageiro para IL-2, IL-10, IL-12 e IFN- γ em pacientes com sarcoidose ativa, em comparação com sarcoidose inativa e controles saudáveis. Não encontraram diferenças na expressão de IL-3, IL-4 e IL-5, sugerindo também uma resposta preferentemente do tipo Th1 na sarcoidose. Tais citocinas estão implicadas numa maior ativação dos macrófagos. Ishioka e colegas (6) verificaram au-

mento da expressão de IL-6, TNF- α , GM-CSF e PDGF-B em células obtidas por lavado broncoalveolar de sarcoidose. Tais citocinas estão também envolvidas na resposta inflamatória granulomatosa. Outra citocina recentemente descrita, IL-15, que atua através de um aumento da produção de IL-2, também está aumentada no lavado de pacientes com sarcoidose, como descreveram Agostini e cols (7).

Linfócitos T com TCR tipo $\gamma\delta$ também estão aumentados na lesão sarcóide. Diferentemente dos linfócitos T tipo $\alpha\beta$, geralmente expressando moléculas CD4 ou CD8 e que reconhecem antígenos complexados, as moléculas do tipo MHC Classe I ou II, os linfócitos $\gamma\delta$ não expressam moléculas CD4 ou CD8 e reconhecem antígenos de forma não restrita pelas moléculas do MHC. Tais células estão fortemente expandidas em doenças infecciosas como a tuberculose ou a lepra. Parecem reagir a um pequeno grupo de antígenos altamente conservados que estão presentes em uma variedade de agentes infecciosos. Uma das conseqüências da ativação das células $\gamma\delta$ é a produção de citocinas altamente ativadoras dos macrófagos, como o IFN- γ e α IL-12, resultando na atração de muitas destas células e no início da formação do granuloma (1).

Os macrófagos também participam da patogenia da alveolite, pois estão aumentados em número absoluto, estão ativados, com produção aumentada de espécies reativas de oxigênio e, talvez, de nitrogênio, de mediadores lipídicos e de citocinas. Os macrófagos alveolares de pacientes com sarcoidose têm uma capacidade de apresentação de antígeno aumentada em relação aos controles saudáveis. Nicod e Isler (8) demonstraram que isto se deve provavelmente ao aumento da expressão de moléculas CD86, CD40 e CD30L. O aumento da expressão destas moléculas relacionadas à habilidade da célula acessória em apresentar antígeno ao linfócito T resulta em maior comprometimento imunológico destes linfócitos, sua ativação e produção de citocinas, que irão ser muito importantes no desencadeamento e manutenção da alveolite linfocítica e, conseqüentemente, na produção de granulomas. Anticorpos capazes de bloquear a ação da molécula CD86 reduzem em mais de 80% a capacidade de tais macrófagos induzirem a proliferação de linfócitos T *in vitro*. A expressão destas moléculas coestimulatórias para o linfócito T é típica de células acessórias que apresentam antígeno, como as células dendríticas. Tais alterações na sarcoidose sugerem que o macrófago está alterado e contribui para a doença. Fato semelhante foi descrito por Zissel e

cols.(9), que mostraram aumento da capacidade de apresentação de antígenos em macrófagos alveolares *in vitro* e aumento de outra molécula co-estimulatória, CD80. Tais células geram sinais secundários suficientes para uma proliferação ótima de linfócitos T e aumento da produção de IL-2. Além deste aumento da função acessória, os macrófagos alveolares de pacientes com sarcoidose também apresentam aumento da capacidade de gerar mediadores da inflamação. De Rose e colegas (10) investigaram a produção de metabólitos do ácido aracdônico, pela via da cicloxigenase e da lipoxigenase, que podem modular de forma diferente a evolução da resposta inflamatória granulomatosa nos pulmões. Prostaglandina E2 e leucotrieno B4 foram medidos em sobrenadantes de culturas de macrófagos alveolares de pacientes com sarcoidose em diversos estágios clínicos e controles, estimulados por zimosan opsonizado. Macrófagos de pacientes com sarcoidose produziram e liberaram maiores quantidades de LTB4 que os controles, mas não houve diferenças na produção de prostaglandina E2. O leucotrieno pode aumentar a resposta imune local, sendo um fator adicional para a resposta inflamatória exagerada na sarcoidose.

Alterações nos linfócitos B também foram descritas na sarcoidose. Milburn e colegas (4) verificaram um aumento de quase quarenta vezes na quantidade de IgG presente no líquido de lavado broncoalveolar de pacientes com sarcoidose ativa, enquanto os níveis de IgG4 e IgE estavam substancialmente reduzidos. Com o tratamento antiinflamatório e reversão das alterações clínicas, houve correção destas alterações.

Os achados descritos nesta revisão denotam que há uma alteração imunológica na sarcoidose que sugere a presença de um ou mais antígenos, provavelmente de natureza infecciosa, que desencadeiam a alveolite granulomatosa. A investigação da natureza destes antígenos deve concentrar a atenção dos pesquisadores da área nos próximos anos.

Alterações Imunes na Fibrose Pulmonar Intersticial Idiopática

Trata-se de uma condição em que o interstício pulmonar está afetado, ainda de causa desconhecida, mas que cursa com aspectos clínicos, radiológicos e patológicos bem definidos. Um impulso na investigação de sua patogenia foi dado com a introdução rotineira, nos anos oitenta, da broncofibroscopia e do lavado broncoalveolar. Do ponto de vista do exame histopatológico dos pulmões, as alterações

são variadas de acordo com o estágio clínico de progressão da doença. De um quadro inicial de alveolite, caracterizada pela infiltração celular nos espaços alveolares, deixando ainda relativamente intacta as paredes alveolares, evolui para um quadro de alteração dos septos alveolares, caracterizado por edema, exsudato fibrinóide, infiltração por células mononucleares e proliferação de fibroblastos. A deposição de colágeno que se segue termina por alterar profundamente a arquitetura pulmonar, com grande espessamento da parede alveolar, resultando em constrictão dos espaços alveolares, que se tornam verdadeiras fendas, ao invés de estruturas saculares habituais. O epitélio alveolar sofre metaplasia cubóide e os espaços císticos dão ao pulmão, nas fases finais da doença, um aspecto de favo de mel (11).

O que desencadeia esta reação inflamatória intensa permanece até hoje desconhecido. A observação de que apenas um grupo reduzido de pessoas, expostas a agentes reconhecidamente capazes de induzir fibrose, desenvolvem a alteração, e ainda que, ocorre incidência familiar da fibrose pulmonar idiopática, levou à idéia de que a doença poderia ter uma predisposição genética. Vários estudos, como os citados por Marshall e cols. (12), concentraram sua atenção em alterações genéticas relacionadas a *loci* de HLA, mas os resultados foram conflitantes. Estudos ainda parciais oferecem possibilidades bastante atraentes, não apenas para a compreensão das formas familiares, como também nas respostas alteradas a agressores pulmonares comuns a todas as formas da doença. No entanto, um longo caminho ainda falta trilhar para a compreensão destes fenômenos genéticos.

Passos largos foram dados nos últimos anos no sentido da compreensão dos eventos inflamatórios e imunes envolvidos na doença, particularmente os mecanismos de reparação e de fibrose. Células inflamatórias e imunologicamente competentes participam do processo. A maioria dos estudos aponta a participação de neutrófilos e macrófagos, porém outros tipos celulares, como linfócitos e mastócitos, também parecem envolvidos. Pesci e cols. (13) analisaram a correlação entre o número de mastócitos e o grau de fibrose presentes em biópsias transbrônquicas de pacientes com fibrose pulmonar. Encontraram um aumento de quase quatro vezes no número de mastócitos, em comparação com o grupo controle. A correlação entre o grau de fibrose e o número de mastócitos foi altamente significativa. Encontraram estes mastócitos principalmente nos septos al-

veolares. Os macrófagos alveolares desempenham um papel central na patogenia da fibrose pulmonar idiopática. Estudos recentes mostraram também que há uma predominância da resposta tipo Th2 no interstício pulmonar durante esta enfermidade. Furuie e cols. (14) encontraram um aumento da presença de IL-4 e IL-5 em sobrenadantes de culturas celulares de pacientes com fibrose, em comparação com controles. Provavelmente os macrófagos interferem neste tipo de resposta, aumentando sua função de célula acessória. A compreensão de como estas células inflamatórias influenciam o desenvolvimento da fibrose e a conseqüente lesão irreversível do parênquima pulmonar será essencial para o estabelecimento de estratégias terapêuticas no futuro.

Existem evidências de que a lesão inicial é de natureza imune, resultando na formação de imunocomplexos no alvéolo que exercem intensa atividade quimiotática para os neutrófilos e ativam os macrófagos residentes. Tais imunocomplexos foram identificados no soro, no lavado broncoalveolar, tanto na fase fluida como na superfície de macrófagos, e ainda na superfície do epitélio alveolar e no endotélio dos capilares pulmonares. A ativação resultante dos macrófagos induz a liberação de fatores quimiotáticos para outros macrófagos e linfócitos. Eles também produzem potentes agentes de atração de fibroblastos, além de fatores de crescimento que promovem a diferenciação e maturação destas células. Com isso, há produção exagerada de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular, além de redistribuição dos tipos de colágeno depositado, com mais colágeno do tipo I que do tipo III, como demonstrado por Harrison e cols. (15). Esta área da biologia passou por recentes progressos no sentido do conhecimento de seus atores, como as células envolvidas na produção e reciclagem do colágeno, a importância do contato célula-célula e célula-matriz e os distúrbios do processo de reparação e fibrose, em que grandes quantidades de proteínas da matriz são produzidas mas sua reciclagem é conturbada, resultando em acumulação de tecido fibrótico no pulmão. Sabe-se que diversas citocinas desempenham um papel central na regulação de funções celulares como proliferação, migração e síntese de matriz, portanto, o balanço destas citocinas também desempenham um papel importante na patogenia da fibrose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-Fanberg BL, Lazarus DS. Sarcoidosis. In: Murray JF & Nadel JA, eds. Textbook of Respiratory Medicine, 2nd edition. Philadelphia: WB Saunders Co, 1994: 1873-1888.
- 2-Zissel G, Baumer I, Fleischer B, Schlaak M, Muller-Quernheim J. TCR V b families in T cell clones from sarcoid lung parenchyma, BAL and blood. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1593-1600.
- 3-Trentin L, Zambello R, Facco M, et al. Selection of T lymphocytes bearing limited TCR-Vb regions in the lung of hypersensitivity pneumonitis and sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:587-596.
- 4-Milburn HJ, Poulter LW, Dilmech A, Cochrane GM, Kemeny DM. Corticosteroids restore the balance between locally produced Th1 and Th2 cytokines and immunoglobulin isotypes to normal in sarcoid lung. *Clin Exp Immunol* 1997; 108:105-113.
- 5-Minshall EM, Tsiopoulos A, Yasrael Z, et al. Cytokine mRNA gene expression in active and nonactive pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 1997; 10:2034-2039.
- 6-Ishioka S, Saito T, Hiyama K, et al. Increased expression of TNF- α , PDGF-B, and GM-CSF mRNA in cells of bronchoalveolar lavage fluids from patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1996; 13:139-145.
- 7-Agostini C, Trentin L, Facco M, et al. Role of IL-15, IL-2, and their receptors in the development of T cell alveolitis in pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* 1996; 157:910-918.
- 8-Nicod LP, Isler P. Alveolar macrophages in sarcoidosis coexpress high levels of CD86 (B7.2), CD40, and CD30L. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17:91-96.
- 9-Zissel G, Ernst M, Schlaak M, Muller-Quernheim J. Accessory function of alveolar macrophages from patients with sarcoidosis and other granulomatous and nongranulomatous diseases. *J Investig Med* 1997; 45:76-86.
- 10-De Rose V, Trentin L, Crivellari MT, et al. Release of prostaglandin E2 and leukotriene B4 by alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *Thorax* 1997; 52:76-83.
- 11-King Jr TE, Cherniak RM, Schwarz MI. Idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung diseases of unknown origin. In: Murray JF & Nadel JA, eds. Textbook of Respiratory Medicine, 2nd edition, Philadelphia: WB Saunders Co, 1994: 1827-1849.
- 12-Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. The pathogenesis of pulmonary fibrosis: is there a fibrosis gene? *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29:107-120.
- 13-Pesci A, Bertorelli G, Gabrielli M, Olivieri D. Mast cells in fibrotic lung disorders. *Chest* 1993; 103:989-996.
- 14-Furuie H, Yamasaki H, Suga M, Ando M. Altered accessory cell function of alveolar macrophages: a possible mechanism for induction of Th2 secretory profile in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 1997; 10:787-794.
- 15-Harrison NK, McAnulty RJ, Kimpton WG, Fraser Jr, Laurent TC, Laurent GJ. Heterogeneity of type III procollagen N-terminal peptides in BAL fluid from normal and fibrotic lungs. *Eur Respir J* 1993; 6:1443-1448.