



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Rui Pedro Mocho de Seixas
Padrões Inflamatórios da Fibrose
Quística

Março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Rui Pedro Mocho de Seixas
Padrões Inflamatórios da Fibrose Quística

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Pneumologia

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutora Maria Adelina Azevedo Amorim Cordeiro**

Revista Portuguesa de Pneumologia

Março, 2012

FMUP

Eu, Rui Pedro Mocho de Seixas, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801124, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, ___/___/_____

Assinatura: _____

Nome: Rui Pedro Mocho de Seixas

Endereço eletrónico: ruip_mseixas@hotmail.com **Telefone ou Telemóvel:** 915421111

Número do Bilhete de Identidade: 12904034

Título da ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessa):

Padrões Inflamatórios da Fibrose Quística

Orientador: Maria Adelina de Azevedo Amorim Cordeiro

Ano de conclusão: 2011/2012

Designação da área do projeto: Pneumologia

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, ___/___/_____

Assinatura: _____

ÍNDICE REMISSIVO

RESUMO	3
ABSTRACT	4
INTRODUÇÃO	5
MATERIAL E MÉTODOS	6
Pesquisa Bibliográfica	6
Critérios de Elegibilidade Para Esta Revisão	7
PATOGENIA DA FIBROSE QUÍSTICA	7
AGENTES INFECIOSOS NA FIBROSE QUÍSTICA	8
ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DA FIBROSE QUÍSTICA	9
A INFLAMAÇÃO NA FIBROSE QUÍSTICA	11
O Neutrófilo	12
As Células Epiteliais	13
O Linfócito	13
Mediadores Inflamatórios	14
OS PADRÕES INFLAMATÓRIOS DA FIBROSE QUÍSTICA	17
A Inflamação Independente da Infecção	17

A Inflamação Excessiva Perante o Estímulo Infecioso	19
A Medição da Resposta Inflamatória	20
TERAPÊUTICA ANTI-INFLAMATÓRIA	21
Dificuldades da Terapêutica na Fibrose Quística	25
CONCLUSÃO	26
AGRADECIMENTOS	27
BIBLIOGRAFIA	28
LISTA DE FIGURAS	34
LISTA DE TABELAS	34

Resumo: A Fibrose Quística (FQ) é uma patologia multissintomática decorrente de alterações genéticas ao nível do *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR). Estas mutações, levam à formação de secreções respiratórias densas e compactas com alterações patológicas do parênquima pulmonar, acompanhadas de uma resposta inflamatória intensa e prolongada e de uma colonização bacteriana crónica. No indivíduo com FQ, ocorre um declínio gradual da função pulmonar com bronquiectasias severas, devido ao quadro inflamatório crónico e libertação de uma elevada concentração de neutrófilos ao nível das vias aéreas. Estas células, acompanhadas de vários mediadores pró-inflamatórios como a IL-8, o factor de necrose tumoral α (TNF α) e o factor nuclear de transcrição κ -B (NF- κ B) vão originar alterações estruturais e funcionais do pulmão. É a resposta inflamatória excessiva, dependente de um estímulo infeccioso ou não, que vai ser responsável pela falência respiratória do doente. O seu papel preponderante na morbidade e mortalidade desta doença, torna a terapêutica anti-inflamatória como a corticoterapia, o ibuprofeno ou os macrólidos a assumirem uma importância crescente. Contudo, a existência de efeitos adversos e a falta de métodos sensíveis na medição da resposta inflamatória, limitam a sua aplicação prática. Torna-se crucial compreender os mecanismos da resposta inflamatória e quantificá-la de maneira sensível e precisa para que se possa otimizar a terapêutica e controlar a sua extensão e efeito deletério.

Palavras-chave: fibrose quística; CFTR; bronquiectasias; *P. aeruginosa*; neutrófilos; interleucinas; corticoterapia; ibuprofeno; macrólidos

THE INFLAMMATORY PATTERNS OF CYSTIC FIBROSIS

Abstract: Cystic Fibrosis (CF) is a multi-symptomatic disease that occurs due to genetic alterations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). These mutations lead to the formation of thick and compact respiratory secretions with pathological changes of the lung parenchyma, accompanied by an intense and prolonged inflammatory response and a chronic bacterial infection. In individuals with CF occurs a gradual decline in the lung's function with severe bronchiectasis due to chronic inflammation and release of a high concentration of neutrophils in the airways. These cells, together with various pro-inflammatory mediators such as IL-8, tumor necrosis factor α (TNF α) and the nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) will cause structural and functional abnormalities in the lung. It is the excessive inflammatory response, towards infectious stimulus or not, that will be responsible for the patient's respiratory failure. Its role in the morbidity and mortality of this disease makes the anti-inflammatory therapy such as steroids, ibuprofen or macrolides to assume an increasing importance. However, the existence of side effects and the lack of sensitive methods to measure the inflammatory response, limits their practical application. It is crucial to understand the mechanisms of the inflammatory response and quantify it in a sensitive and accurate way so that we can control its extension and deleterious effect and optimize its therapy.

Keywords: cystic fibrosis; CFTR; bronchiectasis; *P. aeruginosa*; neutrophils; interleucines; steroids; ibuprofen; macrolides.

INTRODUÇÃO

A Fibrose Quística (FQ) é a doença hereditária autossômica recessiva com maior prevalência em indivíduos de raça caucasiana, afetando 1 em cada 2500 recém-nascidos.¹

Foi descrita pela primeira vez em 1938 por Anderson ² como “fibrose cística do pâncreas” devido à existência de dilatação cística dos ductos pancreáticos. Em 1953 Di Sant’ Agnese et al. ³ demonstrou a existência de elevadas perdas salinas no suor de doentes com FQ. Mas foi só várias décadas depois que se descobriu a ocorrência de mutações num gene localizado no braço longo do cromossoma 7 responsável pela codificação da proteína transmembranar – *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (CFTR), que funciona como um canal iônico na membrana apical das células epiteliais. As mutações afetam a CFTR, através de uma variedade de mecanismos moleculares, levando à sua ausência ou a um funcionamento anormal ou escasso. Este defeito no transporte iônico resulta na acumulação de uma camada de muco viscoso e espesso na superfície epitelial de vários órgãos como os pulmões, pâncreas, trato gastrointestinal, sistema hepatobiliar, glândulas sudoríparas e sistema reprodutor, o que condiciona a expressão multissistêmica da doença. ⁴ As alterações que ocorrem a nível pulmonar conduzem a um declínio progressivo da função respiratória.

O método laboratorial *gold-standard* para diagnosticar a FQ é o teste de suor ^{5,6} (concentração de cloro é superior a 60mmol/L) ⁷, existindo outros métodos como o estudo genético (identificação de 2 mutações causadoras de doença) ⁸, ou a

determinação da Diferença de Potencial Transepitelial Nasal.⁹ O diagnóstico de FQ é confirmado quando a pelo menos um destes testes positivo se associa à identificação de alterações clínicas características (doença sinopulmonar crónica, anomalias gastrointestinais ou nutricionais, síndromes “*salt-loss*” ou azoospermia obstrutiva), ou a história de FQ identificada num irmão ou a um rastreio neo-natal positivo.

A FQ cursa com um quadro inflamatório exuberante cuja etiologia ainda não está bem definida mas sabe-se atualmente que a sua gravidade e o grau de atingimento pulmonar influenciam diretamente a evolução e a sobrevida da doença. Associadamente, ocorre a colonização crónica por variados agentes patogénicos.

Este trabalho tem como objetivo rever o estado atual do conhecimento sobre o processo inflamatório da FQ, pois torna-se cada vez mais evidente a importância de se atuar farmacologicamente.

MATERIAL E MÉTODOS

PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

A pesquisa bibliográfica foi levada a cabo recorrendo à base de dados *online* da PubMed/ MEDLINE, [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>], tendo sido empregues os seguintes descritores: “Cystic Fibrosis AND Airway Inflammation”. A pesquisa devolveu 764 artigos indexados, publicados entre 1992 e Março de 2012.

Utilizaram-se alguns livros de texto e acedeu-se a determinados conteúdos *online* referidos oportunamente ao longo deste trabalho.

CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE PARA ESTA REVISÃO

Com o objetivo de compilar uma grande parte da informação publicada, procuraram-se estudos que examinassem particularmente os mecanismos inflamatórios da Fibrose Quística nas vias aéreas e terapêutica anti-inflamatória. Essa seleção foi realizada com base na análise do *abstract*. Para esse efeito adotaram-se os seguintes critérios de inclusão: (1) artigos publicados até 21 de Março de 2012, redigidos em língua inglesa, portuguesa ou espanhola; (2) todos os estudos com dados apropriados, referentes a inflamação das vias aéreas na FQ (3) todos os artigos de autores/grupos de investigação, com várias publicações neste domínio, foram incluídos. Foram excluídos todos os seguintes: (1) estudos fora do âmbito temático desta revisão.

PATOGENIA DA FIBROSE QUÍSTICA

Na FQ existe uma ausência de proteínas CFTR funcionais ao nível da membrana apical das células epiteliais. Estas alterações são devidas a mutações que influenciam desde a produção à maturação da proteína CFTR, sendo a mutação mais frequente a mutação F508del.¹

O motivo pelo qual estas alterações da proteína CFTR resultam numa resposta inflamatória e num estado crónico de infeção pulmonar ainda não está bem elucidado. A explicação mais consensual é a de que o defeito do CFTR no transporte do cloro

provoca uma diminuição na secreção deste ião que, associada a uma menor capacidade do CFTR em inibir a atividade dos canais de sódio, leva a uma hiperatividade do canal de sódio epitelial (ENaC) conduzindo a um aumento na absorção de sódio. Consequentemente, vai ocorrer, por movimentos osmóticos, uma diminuição do volume de líquido periciliar, tornando as secreções cada vez mais viscosas e compactas, comprometendo a ação do aparelho mucociliar.¹⁰

Estas secreções obstruem as vias aéreas, constituindo um ambiente propício para o desenvolvimento da flora bacteriana.

AGENTES INFECIOSOS NA FIBROSE QUÍSTICA

A capacidade debilitada dos indivíduos com FQ em eliminarem as secreções nas vias aéreas constitui um importante fator na colonização do trato respiratório por diversos agentes patogénicos. O *Staphylococcus aureus* associa-se a infeções nos primeiros anos de vida, colonizando cerca de 40% das crianças nos primeiros 3 meses de vida,¹¹ sendo responsável pelas lesões iniciais do parênquima pulmonar com deterioração da função respiratória.¹² A *Pseudomonas aeruginosa* coloniza as vias aéreas mais tardiamente e é o agente infeccioso crónico mais frequentemente isolado atingindo cerca de 80% dos doentes com FQ aos 18 anos de idade. A infeção por *P.aeruginosa* é a que se associa mais claramente à diminuição da sobrevivência e maior morbilidade.¹³

Outras bactérias como a *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* e *Burkholderia cepacia* foram isoladas em indivíduos adultos e têm sido associadas, em alguns casos, a um rápido declínio da função pulmonar.¹⁴

ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DA FIBROSE QUÍSTICA

Os doentes com FQ têm um atingimento multiorgânico, sendo que o aparelho respiratório é o mais afetado, constituindo a principal causa de morte.

Vários autores comprovaram que os pulmões são estruturalmente normais ao nascimento e que muitas vezes nos exames culturais das secreções de crianças com menos de 2 anos não são isolados agentes específicos.⁴ Outros estudos, contudo, mostram acumulação de mucina nas glândulas traqueobrônquicas já no segundo trimestre de fetos com FQ.¹⁵ Com a obstrução das glândulas submucosas do tecido pulmonar ocorre dilatação ductal (um dos sinais patológicos mais precoces) que origina fenómenos de hiperplasia glandular rodeados de inflamação parenquimatosa e fibrose tecidual.¹⁶ Com o tempo, ocorre infecção das vias aéreas, que não podendo ser erradicada, estimula uma intensa resposta inflamatória.¹⁷ As vias aéreas são preenchidas com material mucopurulento espesso e compacto contendo colónias bacterianas e muco viscoso que irão, por sua vez, ser fonte de obstrução aérea e originar processos de bronquite e bronquiolite caracteristicamente acompanhados de infiltrados de neutrófilos, linfócitos, histiócitos e células plasmáticas, independentemente da estirpe bacteriana em causa.⁴

Na sequência deste processo contínuo de inflamação e infecção desenvolvem-se progressivamente bronquiectasias. Estas, apesar de disseminadas, afetam mais frequentemente as vias aéreas proximais, com uma distribuição mais marcada nos lobos pulmonares superiores, lobo médio direito e segmentos superiores dos lobos inferiores (figura 1).¹⁶

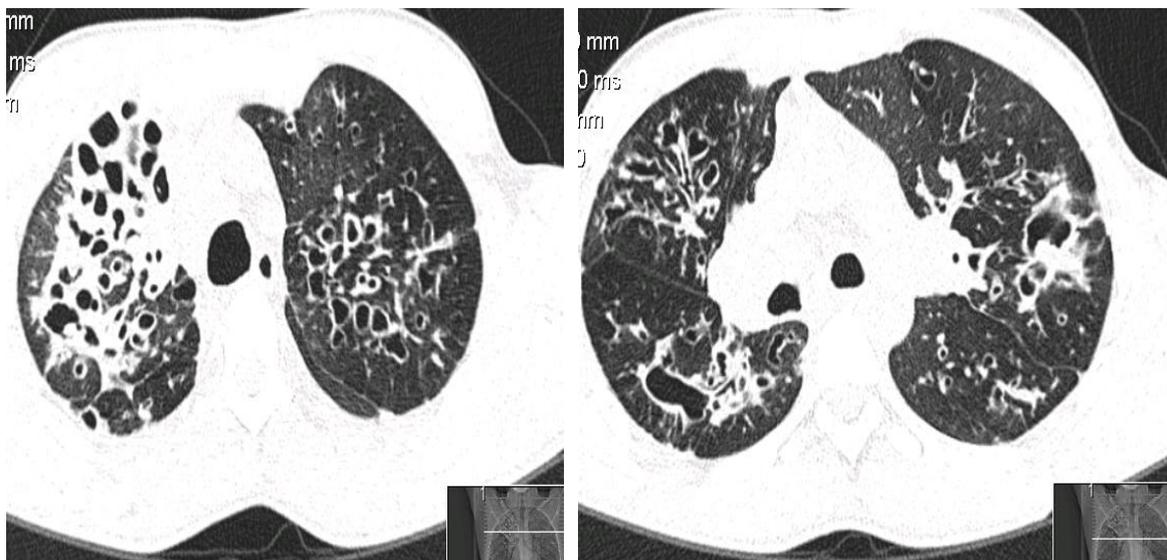


Figura 1 – Tomografia Computorizada de Alta Resolução de doentes com FQ revelando bronquiectasias císticas difusas.

As próprias bronquiectasias, decorrentes do ciclo inflamatório, ajudam à perpetuação do mesmo, pois, constituem locais de maior acumulação das secreções e menor capacidade da sua eliminação.

Outro achado comum é o aparecimento de atelectasias, muito frequentes em crianças com menos de 2 anos,¹⁸ devido à obstrução do muco nas vias aéreas e à existência dos gânglios aumentados que impedem a oxigenação apropriada nesses segmentos. O enfisema é muito menos comum estando presente somente depois dos 2 anos de idade e atingindo cerca de 41% entre os indivíduos dos 10-24 anos de idade.⁴

Em casos de hipertensão pulmonar, consequente da evolução da doença, os episódios de hemoptises são muito frequentes sendo decorrentes da ruptura das artérias ou veias brônquicas dilatadas nas paredes das vias aéreas, do dano direto na vasculatura provocado pelas infecções bacterianas ou mesmo devido ao aumento do número de anastomoses arteriovenosas que se vão criando dada a perda funcional de variados segmentos parenquimatosos pulmonares.¹⁹

A INFLAMAÇÃO NA FIBROSE QUÍSTICA

O quadro clínico da FQ é decorre em grande parte do processo inflamatório associado à colonização bacteriana. Existe uma resposta inflamatória por parte das células epiteliais e imunológicas, com um influxo de elevadas quantidades de neutrófilos e libertação de mediadores pró-inflamatórios. A inflamação pulmonar local começa precocemente e progride ao longo da vida do doente, simultaneamente acompanhada por uma resposta inflamatória sistémica.²⁰

O NEUTRÓFILO

O neutrófilo é a principal célula da resposta inflamatória na FQ, encontrando-se em elevadas concentrações. Tem como função primária fagocitar e destruir os agentes patogénicos, contudo, nesse processo acaba por gerar espécies oxidativas reativas via a oxidase da *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) ²¹ e libertar proteínas antimicrobianas granulares como a elastase, a colagenase e mieloperoxidase.²² Estas proteases são críticas para a resposta contra o agente infeccioso, contudo, são libertadas em grandes quantidades aquando da apoptose dos neutrófilos e durante o processo de fagocitose. A elastase produzida pelos neutrófilos tem a capacidade de digerir diversos substratos incluindo proteínas estruturais como a elastina e a fibronectina.²³ Este aumento nas proteases suplanta a função antiproteasica do organismo, o que acaba por aumentar o processo lesivo da resposta inflamatória.

Aquando da apoptose, o neutrófilo liberta também ADN, que acaba por aumentar a viscosidade das secreções respiratórias, e elevadas quantidades de espécies oxidativas reativas, o que faz com que as vias aéreas estejam expostas a concentrações de oxidases oriundas não só do oxigénio inalado e dos produtos bacterianos, como também da própria resposta inflamatória do indivíduo.²⁰

Para além disso, pensa-se que no ambiente hipóxico próprio do muco acumulado nas vias aéreas, o neutrófilo tenha uma sobrevivência mais prolongada, o que constitui mais um fator nocivo do processo anti-inflamatório.²⁴ Não admira, pois, que o neutrófilo seja um dos principais alvos terapêuticos a investir para novos tratamentos na FQ.²⁵

AS CÉLULAS EPITELIAIS

As células epiteliais das vias aéreas participam ativamente nos mecanismos imunitários participando na elaboração da resposta inflamatória e exercendo um papel fundamental na regulação da hidratação e do volume de líquido da superfície das vias respiratórias, essenciais na eliminação das secreções. Na FQ estes mecanismos estão afectados, dado o transporte de cloro alterado e a hiperatividade do ENaC.²⁶

Além disso, o epitélio das vias aéreas reconhece e desencadeia uma resposta aos estímulos inflamatórios através da interação de vários ligandos com determinados recetores do sistema imunitário, nomeadamente os recetores *toll-like* (TLR). O TLR2 e o TLR5 são considerados os mais importantes. De facto, os produtos bacterianos da *P. aeruginosa* ativam os TLR, ainda que a exposição crónica das células epiteliais aos patogénios resulte numa adaptação e tolerância.²⁷

O LINFÓCITO

Apesar do neutrófilo ser reconhecido como um agente crucial na resposta inflamatória, também ocorrem infiltrados de linfócitos no pulmão do indivíduo fibrocístico.²⁸

Na FQ ocorre ativação linfocitária em toda a evolução da doença, independentemente da idade do doente, com formação de grandes agregados de células B (CD20+) no tecido peribronquiolar e de células T (CD3+) no tecido bronquiolar distal

e parênquima pulmonar.²⁸ De facto, doentes com FQ cronicamente infetados com *P. aeruginosa* revelam elevadas concentrações tecidulares de linfócitos T CD4+CCR4+ quando comparados com indivíduos saudáveis.²⁹ As células T CD4+ são responsáveis pela libertação de interleucina-17A (IL-17A), um mediador inflamatório com a função de recrutar neutrófilos como resposta a infeções por micro-organismos Gram-negativos.²⁵

Podemos depreender assim que o processo inflamatório e o dano pulmonar na FQ resultam de uma interação entre neutrófilos, o epitélio das vias aéreas e os linfócitos, potenciais alvos na terapêutica anti-inflamatória.

MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

As secreções respiratórias e o lavado broncoalveolar (LBA) constituem o método mais utilizado como forma de avaliação do estado inflamatório das vias aéreas e quantificação dos vários mediadores inflamatórios presentes em doentes com FQ. Nestes indivíduos, o LBA possui elevadas concentrações de neutrófilos, citocinas e quimiocinas, mesmo que se tratem de crianças ou adultos com manifestações moderadas da doença.³⁰

Indivíduos adultos com FQ possuem grande aumento do número de mediadores pró-inflamatórios, incluindo elastase, IL-8, IL-1, IL-9 e fator de necrose tumoral α (TNF α) no LBA e de IL-6 e TNF α no sangue quando comparados com indivíduos saudáveis. Além disso, doentes com FQ apresentam elevações dos níveis de ácido araquidónico em variados tecidos, nomeadamente nas vias aéreas. Os seus metabolitos

como LTB4 e LTE4 encontram-se em excesso na urina, expetoração e mesmo no ar exalado, sendo responsáveis por fenómenos de broncoconstricção, aumento da permeabilidade microvascular, além de exercerem um papel fundamental como mediadores do estado inflamatório na FQ.³¹

A IL-8 é um mediador inflamatório muito importante, pois constitui um dos maiores estímulos à migração dos neutrófilos para o pulmão, contribuindo para a instalação do quadro inflamatório.

Os neutrófilos recrutados, por seu lado, vão produzir elastase, a qual agrava o grau de obstrução das vias aéreas ao comprometer a ação do aparelho mucociliar ao aumentar a secreção de muco e a reabsorção de sódio através da ativação do ENaC, ao promover a cronicidade do estado infeccioso pela clivagem de opsoninas e recetores críticos para a fagocitose e, por último, ao estimular a produção de ILs com ação neutrofílica, como a IL-8, o LTB4 e o peptídeo C5a-like do sistema complemento.³²

A intensidade do quadro inflamatório não é explicada somente pelo aumento de atividade dos mediadores inflamatórios. Ocorre simultaneamente diminuição ou inibição da atividade de diversos agentes com função anti-inflamatória.

A IL-10, uma citocina anti-inflamatória, existe em níveis marcadamente diminuídos, quando comparados com indivíduos saudáveis. O papel da IL-10 é modular as funções inflamatórias dos neutrófilos e linfócitos existentes nas vias aéreas e a impossibilidade de os indivíduos fibrocísticos em produzir IL-10 em quantidades suficientes contribui para uma resposta inflamatória aberrante, excessiva e prolongada.³³

Não só a IL-10 se encontra em níveis reduzidos como também o óxido nítrico – ambos mediadores anti-inflamatórios que têm em comum preservar a funcionalidade da

proteína-kappaB (IκB), que é inibidora do fator nuclear de transcrição (NF)-κB. Este fator de transcrição, ativado na presença de bactérias e citocinas pró-inflamatórias, tem como função sintetizar novas citocinas pró-inflamatórias como o TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-8 contribuindo para a perpetuação da resposta inflamatória.^{30,34}

Recentemente, Karp et al.³⁵ contribuíram com mais um dado para a explicação da magnitude da resposta inflamatória. Através da análise do LBA de diversos doentes com FQ, constataram a existência de níveis muito reduzidos de lipoxina A4 (LXA4), cuja função é inibir a quimiotaxia, a aderência, a transmigração e a ativação dos neutrófilos.³⁶

Pode-se concluir assim que a resposta inflamatória que ocorre na FQ acontece não só devido à existência de um estímulo infeccioso mas também ao excesso de mediadores pró-inflamatórios e quantidades extremamente diminutas de mediadores anti-inflamatórios (Tabela 1), levando, pois, à instalação de uma resposta inflamatória intensa, crónica e danosa não só para o tecido pulmonar (o mais afetado) mas também para todo o restante organismo. É um fenómeno com gravidades e padrões diferentes consoante a idade do doente, a existência ou não de um agente patogénico, o grau de atingimento sistémico e finalmente o tipo de mutação subjacente às alterações da funcionalidade da CFTR.

TABELA 1.

Mediadores com ação pró-inflamatória aumentados	IL-17A; IL-8; IL-1; IL-9; IL-6; TNFα; LTB4/LTE4; Elastase; Colagenase; Mieloperoxidase; NF-κB; Peptídeo C5a-like (Sistema Complemento)
Mediadores com ação anti-inflamatória diminuídos	IL-10; NO; IκB; LXA4

Legenda: IL – Interleucina; TNFα – Factor de Necrose Tumoral α; LT – Leucotrieno; NF-κB – Factor Nuclear de Transcrição κB; IκB – Inibidor do NF-κB; NO – Óxido Nítrico; LX – Lipoxina.

OS PADRÕES INFLAMATÓRIOS DA FIBROSE QUÍSTICA

Como referido anteriormente, a etiologia do mecanismo inflamatório na FQ ainda não está bem elucidada. Foram realizados variados estudos numa tentativa de perceber a origem e a intensidade da resposta inflamatória. Existe atualmente uma linha de pensamento que defende a existência de uma resposta inflamatória independente da presença de um estímulo infeccioso, como se o doente com FQ possuísse à partida um fenótipo pró-inflamatório responsável por um quadro inflamatório de base.

Contudo, outros investigadores defendem que a resposta inflamatória é dependente da presença de um agente patogénico, com a particularidade de ser um quadro inflamatório excessivo para a carga bacteriana presente.

A INFLAMAÇÃO INDEPENDENTE DA INFEÇÃO

Estudos realizados sugerem que o epitélio das vias aéreas de doentes com FQ possa ter características pró-inflamatórias inerentes e que a resposta inflamatória seja desencadeada independentemente da presença de um agente patogénico. Modelos *in vitro*, em que se usaram linhas celulares com FQ e linhas celulares saudáveis, mostraram que a ativação do NF- κ B é dependente da presença da CFTR e do transporte

de cloro.³⁷ A acumulação de proteínas CFTR defeituosas no retículo endoplasmático resulta num “stress celular” que ativa o NF- κ B e promove a transcrição de IL-8, independentemente da existência de uma infeção.

A introdução do rastreio para a FQ em recém-nascidos tem permitido aos investigadores examinar o pulmão logo após o nascimento, presumivelmente antes de ter ocorrido qualquer infeção. Tais análises revelaram a existência de níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias e de neutrófilos no LBA, mesmo na ausência de uma infeção detetável.³⁸ Aliás, quando se comparou o LBA de grupos de indivíduos saudáveis com e sem infeções pulmonares e indivíduos com FQ com e sem infeções pulmonares, as diferenças são marcantes.^{11,39,40} A percentagem de polimorfonucleares e de IL-8 de indivíduos fibrocísticos sem processos infecciosos só é comparável com indivíduos saudáveis que tenham infeções respiratórias, favorecendo assim a ideia da existência de um quadro inflamatório próprio da FQ mesmo na ausência de agentes infecciosos.^{38,41} Contudo, em algumas das crianças estudadas, agentes patogénicos foram identificados em segmentos mais distais do trato respiratório mesmo na ausência de sintomatologia, revelando que as crianças com FQ podem ter uma colonização bacteriana subclínica.

A dificuldade em interpretar estes resultados, baseia-se no facto de se ter utilizado uma única referência temporal para a análise dos LBA, incorrendo no risco de existir uma infeção bacteriana subclínica que justificasse os achados. Para além disso, dever-se-iam utilizar técnicas mais sensíveis na deteção de agentes patogénicos que permitissem verificar a existência de infeções víricas nos doentes com FQ⁴², que neste caso possam não ter sido reconhecidas e que tenham influenciado os resultados.

A INFLAMAÇÃO EXCESSIVA PERANTE O ESTÍMULO INFECIOSO

Vários investigadores defendem que na FQ instala-se um quadro inflamatório excessivo, exuberante e sustentado aquando da presença de um estímulo infeccioso. Modelos *in vitro* de células do epitélio respiratório com FQ demonstraram, na existência de um agente infeccioso, um aumento na libertação de mediadores inflamatórios em comparação com células normais, provavelmente provocado por uma desregulação da transcrição do fator NF- κ B.⁴³ Esta resposta inflamatória excessiva pode resultar também da incapacidade do epitélio das vias aéreas de parar o processo inflamatório, como demonstrado em vários modelos celulares.⁴⁴

Muhlebach et al.⁴¹ e Kazachkov et al.⁴⁵ compararam LBA de crianças com 1-2 anos com FQ com outras crianças da mesma idade que possuíam outras doenças respiratórias e demonstraram que o ratio concentrações de neutrófilos e IL-8 para o número de bactérias ou concentração de lipopolissacarídeos (LPS) era marcadamente mais elevado nas crianças com FQ.

Além disso, também se verificou a existência de níveis muito reduzidos de mediadores anti-inflamatórios no LBA, como a IL-10⁴⁶ e lipoxina³⁵, sendo que esta diferença nas proporções de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios contribui para uma resposta inflamatória excessiva para as concentrações bacterianas existentes.

Contudo, a determinação deste fenótipo depende muito do modelo celular usado para testar. Existe uma grande variedade nas respostas inflamatórias por parte das células do epitélio das vias aéreas aquando da presença de um estímulo infeccioso, que depende do modelo celular utilizado. Esta necessidade de modelos celulares epiteliais

que sejam mais reproduzíveis impede uma conclusão definitiva, quanto à caracterização da resposta inflamatória na FQ.

A MEDIÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

De modo a poder avaliar o grau de inflamação dos doentes com FQ são utilizados variados métodos de análise. O mais frequentemente utilizado é a medição da função pulmonar, nomeadamente através da avaliação do Volume Expiratório Máximo no 1º segundo (VEMS). A avaliação das provas respiratórias é um método com algumas limitações, pois, são necessários vários anos para que se possam verificar diferenças no VEMS em doentes submetidos a diferentes terapêuticas, tornando os ensaios clínicos mais complexos e dispendiosos.⁴⁷

Outro método utilizado pelos investigadores é a análise do LBA dos doentes com FQ. Contudo é um método invasivo e pode não ser representativo de todo o pulmão. A expetoração induzida é também utilizada na avaliação da resposta inflamatória contudo a sua reprodutibilidade é questionável.

Finalmente, existem métodos imagiológicos que permitem visualizar a extensão das alterações pulmonares provocadas pela resposta inflamatória, como a Tomografia Computorizada de Alta Resolução. É o método imagiológico mais sensível na deteção de alterações precoces em doentes com manifestações moderadas da FQ.⁴⁷ Infelizmente os custos deste exame e a exposição à radiação limitam o seu uso como meio complementar de diagnóstico e como método para atestar a eficácia de formas de terapêutica.

TERAPÊUTICA ANTI-INFLAMATÓRIA

Atualmente a FQ ainda não possui cura, contudo, são variadas as terapêuticas com o objetivo de controlar a sintomatologia, prolongar a sobrevida e melhorar a qualidade de vida do doente. A terapêutica anti-inflamatória deve ser iniciada precocemente, uma vez que as crianças com FQ não só exibem manifestações mais moderadas, como possuem um menor grau de compromisso respiratório e melhores hipóteses de sucesso terapêutico.

Sendo o estado de inflamação contínua um dos problemas cruciais desta patologia, cada vez mais se tem investido na terapêutica anti-inflamatória.

A **corticoterapia** tem um enorme potencial anti-inflamatório, podendo ser administrada sob a forma oral ou inalada.

Em 1985 Auerbach et al.⁴⁸ realizou um ensaio duplamente cego controlado em que foi administrado a doentes com FQ (45 crianças entre 1 – 12 anos de idade) 2mg/kg de prednisona oral em dias alternados, durante um período de 4 anos. O grupo de crianças ao qual foi administrado a prednisona, ao contrário do grupo de controlo que recebeu placebo, revelou menor declínio da função pulmonar, melhor estado nutricional e menor grau de inflamação. Também registaram-se menor número de admissões hospitalares por exacerbações do quadro clínico. Contudo, a existência de efeitos adversos como restrição do crescimento, intolerância à glicose, formação precoce de cataratas, fraturas ósseas e aparência cushingóide e a não-aderência à terapêutica contribuíram para que 25% dos doentes não completassem o protocolo do ensaio.⁴⁹

Quanto ao uso de corticoides na sua forma inalatória, é controverso. Teoricamente teriam uma aplicação mais direta nas vias aéreas, contudo vários estudos⁵⁰⁻⁵³ concluíram não haver benefícios clínicos significativos na sua utilização. Uma possível explicação será o facto de que a camada de secreções respiratórias e muco acumulado nas vias aéreas é de tal forma denso e compacto que impossibilita uma absorção apropriada. Este tipo de terapêutica poderá ser mais efetiva se utilizada em crianças antes de ocorrer um aumento significativo da hiperviscosidade das secreções respiratórias. A corroborar esta hipótese, Wojtczak et al.⁵² constataram uma diminuição do número de neutrófilos nas vias aéreas de crianças com FQ após a utilização de beclometasona durante 2 meses.

Para além da corticoterapia, também a utilização de **Anti-inflamatórios Não Esteróides** (AINES) mostra grande benefício no tratamento da FQ. O ibuprofeno em altas doses (doses que permitem atingir uma concentração plasmática >50 µg/ml), possui atividade específica contra os neutrófilos incluindo a inibição da sua migração³³ Além disso, elevadas concentrações de ibuprofeno inibem a atividade do NF-κB e da proteína ativadora 1 (AP-1) – dois importantes fatores de transcrição pró-inflamatórios – provavelmente pela inibição de diversas cinases críticas no processo inflamatório.⁵⁴

Um ensaio clínico de 4 anos, duplamente cego, controlado com placebo, envolvendo 85 doentes com FQ (dos 5-39 anos de idade) que receberam diariamente ibuprofeno em elevadas doses (20-30 mg/kg) mostrou que estes doentes, quando comparados com os controlos, revelavam um menor declínio na função pulmonar, uma melhoria do estado nutricional, menor número de admissões hospitalares e melhores

scores radiográficos de Brasfield.⁵⁵ O efeito foi mais pronunciado nos doentes mais jovens em que a taxa anual de declínio do VEMS diminui 88%.

Em 2007, a *Cystic Fibrosis Foundation* concluiu que existe evidência de que os AINES previnem a deterioração pulmonar em doentes com FQ, recomendando o seu uso em doentes a partir dos 6 anos de idade, com um VEMS superior a 60%.⁵⁶ Contudo, esta forma de terapêutica não é das mais utilizadas, por receio dos efeitos adversos como hemorragias e úlceras gastrointestinais e insuficiência renal.

Outra alternativa na terapêutica anti-inflamatória é o uso de **macrólidos**.⁵⁷ Estes ligam-se reversivelmente à unidade 50s dos ribossomas bacterianos interferindo com a translação do ARN mensageiro.⁵⁸ Esta inibição resulta num efeito bacteriostático, se bem que em concentrações elevadas se possa atingir um efeito bactericida. Os macrólidos diferem entre si principalmente a nível da sua estrutura química variando no número de anéis. Esta classe de fármacos é utilizada em patologias como a panbronquiolite difusa com excelentes resultados decorrentes da sua ação anti-inflamatória e imunomoduladora, como comprovado em variados estudos,⁵⁹ o que levou à tentativa de se usar também em doenças como a FQ. Jaffe et al.⁶⁰ publicaram, em 1998, o primeiro ensaio de uso de azitromicina a longo-prazo em sete crianças com FQ, todas elas colonizadas por *P. aeruginosa*. Após 3 meses de tratamento com tomas de azitromicina diária, verificou-se um aumento na Capacidade Vital Forçada (CVF) e VEMS de 11.3% e 11.0%, respetivamente. Num estudo mais recente⁶¹ de adultos com FQ, dos quais 90% estavam colonizados por *P. aeruginosa*, constatou-se, após 12 meses de tratamento com doses diárias de 250 mg de azitromicina, uma diminuição no declínio da CVF e do VEF1, uma diminuição na percentagem de indivíduos colonizados

por *P. aeruginosa* (de 90% para 81%) e um aumento do peso e índice de massa corporal.

Existem várias teorias para explicar o grande potencial dos macrólidos no tratamento da FQ. Os macrólidos podem atuar a nível dos mecanismos inflamatórios inibindo quer a ativação do NF- κ B e outras citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-8 e TNF α), quer a nível da quimiotaxia e proliferação dos neutrófilos e linfócitos. Paralelamente, possuem um papel antibacteriano que atua nos agentes patogénicos de variadas maneiras. Os macrólidos, especialmente a azitromicina, inibem a produção de alginato necessário à formação de biofilmes pela *P. aeruginosa*, cuja principal função é proteger a bactéria dos agentes antimicrobianos e fagócitos.⁵⁷ Também atuam sinergicamente com antibióticos, como a tobramicina, potenciando os seus efeitos.⁶² Além disso, bactérias como a *P. aeruginosa* utilizam mecanismos de *quorum sensing* como maneira de coordenar a atividade bacteriana individual em benefício da colónia e os macrólidos têm a capacidade de interferir nas vias de sinalização destes mecanismos.⁵⁷ Simultaneamente, os macrólidos provocam a diminuição da síntese de flagelina da *P. aeruginosa* – um potente estimulador do processo inflamatório e constituinte dos flagelos bacterianos responsáveis pela grande motilidade da bactéria.⁶³

Finalmente, a terapêutica com macrólidos pode alterar a expressão de espécies reativas oxidativas, elastase e recrutamento de neutrófilos no contexto do processo inflamatório, contudo, são dados que ainda não foram comprovados em doentes com FQ.⁵⁷

Existem variadas outras maneiras de tratar e controlar a evolução da FQ, interferindo noutras fases do ciclo inflamação/infeção. Antibióticos como a tobramicina, o aztreonam ou a colistina inalados, usados em doentes com colonização crónica por *P.*

aeruginosa, têm como objetivo suprimir a carga bacteriana e, de uma forma indireta, diminuir a resposta inflamatória. A DNase humana recombinante (alfadornase) traz benefícios terapêuticos ao hidrolisar o ADN libertado pelos neutrófilos, diminuindo a viscoelasticidade das secreções respiratórias e melhorando a capacidade da sua eliminação pelo aparelho mucociliar.⁶⁴

A N-acetilcisteína (NAC) é outra alternativa terapêutica, pois despolimeriza as ligações sulfúricas do muco existente nas vias aéreas. A quebra destas ligações diminui a viscosidade das secreções e a facilita a sua eliminação.⁵⁶

LIMITAÇÕES AO USO DA TERAPÊUTICA ANTI-INFLAMATÓRIA

A busca por novas formas de terapêutica para a FQ encontra-se por vezes dificultada devido a limitações inerentes ao desconhecimento que ainda se tem acerca da área da FQ. Apesar dos vários métodos que hoje se dispõe para avaliar a resposta inflamatória do doente fibrocístico, a verdade é que ainda existem várias dificuldades em poder quantificar e avaliar o quadro inflamatório com precisão e inclusive estabelecer o *cut-off* entre uma resposta inflamatória adequada à presença bacteriana e uma resposta inflamatória excessiva e deletéria.

Por outro lado, sendo a inflamação um mecanismo de defesa do organismo, é complicado saber qual o alvo terapêutico preferencial, pois incorre-se no risco de comprometer o sistema imunitário do doente agravando a evolução da doença, o sucesso terapêutico e a sobrevivência do indivíduo.

CONCLUSÃO

A FQ é uma patologia multissistémica com uma expressão clínica muito diversa e um quadro inflamatório de base extremamente marcado. É uma doença caracterizada por uma resposta inflamatória pulmonar intensa e danosa em associação com uma colonização bacteriana crónica. Quer a inflamação pulmonar se desencadeie de forma excessiva na presença de um agente patogénico, quer seja um fenómeno independente, esta contribui significativamente para a morbilidade e mortalidade dos doentes com FQ.

Deste modo, estudar os mecanismos inflamatórios desta patologia torna-se cada vez mais importante, para que se possa controlar a extensão e os danos causados pela resposta inflamatória e reconhecer potenciais alvos terapêuticos. Os agentes anti-inflamatórios mostraram vários benefícios no tratamento da doença, contudo, o receio dos efeitos adversos limitam a sua aplicação. A criação de métodos não invasivos que possam avaliar o quadro inflamatório com uma maior sensibilidade e precisão é de fulcral importância para que se possa entender claramente as vantagens da terapêutica dirigida à resposta inflamatória.

Compreende-se, pois, que cada vez mais estudos explorem aprofundadamente a inflamação pulmonar na FQ para que se avalie o potencial da terapêutica anti-inflamatória, numa tentativa de se controlar e minimizar o processo inflamatório, prolongando a sobrevivência destes indivíduos que padecem de uma doença, até ao momento, incurável.

AGRADECIMENTOS

À Dr.^a Adelina Amorim, orientadora desta monografia, agradeço o incansável apoio concedido, a partilha do saber e as inestimáveis sugestões e contribuições para este projeto.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Bush A, Alton EFWF, Davies JC, Griesenbach U, Jaffe A (eds). Cystic Fibrosis in the 21st Century. Prog Respir Res. Basel, Karger 2006;vol34:2-10.
- 2- Anderson DH. Cystic fibrosis of the pâncreas and its relation to celiac disease: A clinical and pathological study. Am J Dis Child 1938;56: 344.
- 3- Di Sant'Agnes PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. Pediatrics 1953; 12: 549-563.
- 4- Sheppard MN, Nicholson AG. The pathology of cystic fibrosis. Current Diagnostic Pathology 2002; 8: 50-59.
- 5- Rosenstein BJ, Cutting GR, for the cystic fibrosis foundation consensus panel. J Pediatr 1998; 132:589-95.
- 6- Orenstein BM, Winnie GB, Altman H. Cystic fibrosis: a 2002 update. J Pediatr 2002;140:156-64.
- 7- De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge j, Sinaasappel M. Cysic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. Thorax Online First 2005.
- 8- (<http://genet.sickkids.on.ca/cgi-bin/WebObjects/MUTATION>)
- 9- Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential techniques and protocols for the assessment of the efficiency of gene transfer in cystic fibrosis. Hum Gene Ther 1995;6:445-55.
- 10- Donaldson SH, Bennett WD, Zeman KL, et al. Mucus clearance and lung function in cystic fibrosis with hypertonic saline. N Engl J Med 2006; 354:241–250.
- 11- Armstrong DS, Grimwood K, Carzino R, et al. Lower airway inflammation in infants with newly diagnosed cystic fibrosis. BMJ 1995; 310(6997):1571-2.
- 12- Hoiby N. Microbiology of lung infections in cystic fibrosis patients. Acta Paediatr Scand Suppl 1982; 301: 33d54.

- 13- Kerem E, Corey M, Gold R, Levison H. Pulmonary function and clinical course in patients with cystic fibrosis after pulmonary colonization with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Paediatr* 1990; 116: 714d719.
- 14- Taylor P C, Kalamatianos C C. *Pseudomonas cepacia* in the sputum of cystic fibrosis patients. *Pathology* 1995; 26: 315d317.
- 15- Chow CW, Landau LI, Taussig LM. Bronchial mucous glands in the newborn with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1982;139:240–243.
- 16- Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Mechanisms of disease: Cystic Fibrosis. *N Eng J Med* 2005; 352: 1992-2001.
- 17- Bedrossian CW, Greenberg S D, Singer D B, Hansen J J, Rosenberg H S. The lung in cystic fibrosis. A quantitative study including prevalence of pathologic findings among different age groups. *Hum Pathol* 1976; 7: 195d204.
- 18- Di Sant'Agnes P A. Bronchial obstruction with lobar atelectasis and emphysema in cystic fibrosis of the pancreas. *Pediatrics* 1953; 12: 178d190.
- 19- Holsclaw D S, Grand R J, Shwachman H. Massive haemoptysis in cystic fibrosis. *J Pediatr* 1970; 76: 829d838.
- 20- Elizur A, Cannon AL, Ferkol TW. Airway Inflammation in Cystic Fibrosis. *Chest* 2008;133:489-495.
- 21- Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: Oxidants myeloperoxidase and bacterial killing. *Blood* 1998;92(9):3007–301.
- 22- Borregaard N, Coweland JB. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood* 1997;89:3503–21.
- 23- Gaggar A, Li Y, Weathington N, et al. Matrix metalloprotease-9 dysregulation in lower airway secretions of cystic fibrosis patients. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293:L96–L104.
- 24- Walmsley SR, Print C, Farahi N, Peyssonnaux C, Johnson RS, Cramer T, et al. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 α -dependent NF κ B. *J Exp Med* 2005;200(1):105–15.
- 25- Banner KH et al. Highlights of a workshop to discuss targeting inflammation in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 8 2009; 1-8.

- 26- Donaldson SH, Boucher RC. Sodium channels and cystic fibrosis. *Chest* 2007;132(5):1631-6.
- 27- Wu Q, Lu Z, Verghese MW, Randell SH. Airway epithelial cell tolerance to *Pseudomonas aeruginosa*. *Respir Res* 2005;6:26.
- 28- Hubeau C, Lorenzato M, Couetil JP, Hubert D, Dusser D, Puchelle E, et al. Quantitative analysis of inflammatory cells infiltrating the cystic fibrosis airway mucosa. *Clin Exp Immunol* 2001;124(1):69–76.
- 29- Hartl D, Griese M, Kappler M, Zissel G, Reinhardt D, Rebhan C, et al. Pulmonary T(H)2 response in *Pseudomonas aeruginosa*-infected patients with cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(1):204–11.
- 30- Bonfield TL, Konstan MW, Berger M. Altered respiratory epithelial cell cytokine production in cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:72-78.
- 31- Bush A, Alton EFW, Davies JC, Griesenbach U, Jaffe A (eds). *Cystic Fibrosis in the 21st Century*. *Prog Respir Res*. Basel, Karger 2006;vol34:122-130.
- 32- Chmiel JF, Konstan MW, Berger M. The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002;23(1):5-27.
- 33- Chmiel JF, Konstan MW. Inflammation and Anti-inflammatory Therapies for Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med* 28 2007;331-346
- 34- Bonfield TL, Konstan MW, Burfeind P, et al. Normal bronchial epithelial cells constitutively produce the anti-inflammatory cytokine interleukin-10, which is downregulated in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13(3):257-61.
- 35- Karp CL, Flick LM, Park KW, et al. Defective lipoxin-mediated anti-inflammatory activity in the cystic fibrosis airway. *Nat Immunol* 2004; 5:388–38942.
- 36- Serban CS; Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: An update and role in anti-inflammation and pro-resolution Prostaglandins Other Lipid Mediat 2002; 68-69;433-455.
- 37- Weber AJ, Soong G, Bryan R, et al. Activation of NF- κ B in airway epithelial cells is dependent on CFTR trafficking and Cl⁻ channel function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281:L71–L78.

- 38- Rosenfeld M, Gibson RL, McNamara S, et al. Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2001; 32:356–366.
- 39- Khan TZ, Wagener JS, Bost T, et al. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151(4):1075-82.
- 40- Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, et al. Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;;156(4 Pt 1). 1197-204.
- 41- Muhlebach MS, Stewart PW, Leigh MW, Noah TL,; Lipid-laden macrophage index and inflammation in bronchoalveolar lavage fluids in children. *Eur Respir J* 2001 ;18:790-795.
- 42- van Ewijk BE, van der Zalm MM, Wolfs TF, et al. Viral respiratory infections in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2005; 2:31–36.
- 43- Tirouvanziam R, Khazaal I, Peault B. Primary inflammation in human cystic fibrosis small airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283:L445–L451.
- 44- Black HR, Yankaskas JR, Johnson LG, et al. Interleukin-8 production by cystic fibrosis nasal epithelial cells after tumor necrosis factor- α and respiratory syncycial virus stimulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19:210–215.
- 45- Kazachkov MY, Mublech MS, Livasy CA, Noah TL,; Lipid-laden macrophage index and inflammation in bronchoalveolar lavage fluids in children. *Eur Respir J* 2001;18:790-795.
- 46- Bonfield TL, Konstan MW, Berger M. Altered respiratory epithelial cell cytokine production in cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:72–78.
- 47- Dakin CJ, Pereira JK, Henry RL, et al. Relationship between sputum inflammatory markers, lung function, and lung pathology on high-resolution computed tomography in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:475– 482.
- 48- Auerbach HS, Williams M, Kirkpatrick JA, Cotton HR. Alternate day prednisone reduces the morbidity and improves lung function in cystic fibrosis. *Lancet* 1985;11:686– 8.
- 49- Balfour-Lynn IM, Dinwiddie R. Role of corticosteroids in cystic fibrosis lung disease. *J R Soc Med* 1996;89:8–13.

- 50- Shiotz PO, Jorgensen M, Flensburg EW, et al. Chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in cystic fibrosis. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:283–7.
- 51- Bisgaard H, Pedersen SS, Nielsen KG, et al. Controlled trial of inhaled budesonide in patients with cystic fibrosis and chronic bronchopulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1190-1196.
- 52- Wojtczak HA, Kerby GS, Wagener JS, Copenhauer SC, Golin Richer DW, Accurso FJ. Beclomethasone dipropionate reduces airway inflammation without adrenal suppression in young children with cystic fibrosis: a pilot study. *Pediatr Pulmonol* 2001;32:293– 302.
- 53- van Haren EHJ, Lammers J-WJ, Festen J, et al. The effects of the inhaled corticosteroid budesonide on lung function and bronchial hyperresponsiveness in adult patients with cystic fibrosis. *Respir med* 1995; 89(3):209-14.
- 54- Tegeder I, Niederberger E, Israr E, et al. Inhibition of NF- κ B and AP-1 activation by R- and S-flurbiprofen. *FASEB J* 2001;15(3):595-7.
- 55- Konstan MW, Byard PJ, Hoppel CL, et al. Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Eng J Med* 1995;332(13) 844-848.
- 56- Flume, O’Sullivan, Robinson, et al. Cystic Fibrosis Pulmonary Guidelines. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 176. pp 957–969, 2007.
- 57- McArdle JR, Talwalker JS. Macrolides in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med* 28 2007;347-360.
- 58- Nguyen T, Louie SG, Beringer PM, et al. Potential role of macrolide antibiotics in the management of cystic fibrosis lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8(6):521-8.
- 59- Nagai H, Shishido H, Yoneda R, et al. long-term low-dose administration of erythromycin to patients with diffuse panbronchiolitis. *Respiration* 1991;58(3-4):145-9.
- 60- Jaffe A, Francis J, Rosenthal M, et al. Long-term azithromycin may improve lung function in children with cystic fibrosis. *Lancet* 1998;351(9100):420.
- 61- Hansen CR, Pressler T, Koch C, et al. Long-term azithromycin treatment in cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection: an observational cohort study. *J Cyst Fibros* 2005; 4(1):35-40.
- 62- Saiman L, Chen Y, Gabriel PS, et al. Synergistic activities of macrolide antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and

Alcaligenes xylosoxidans isolated from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;45(6):1930-3.

63- Kawamura-Sato K, Linuma Y, Hasewaga T, et al. Effect of subinhibitory concentrations of macrolides on expression of flagellin in *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(10):2869-72.

64- Shak S, Capon Dj, Hellmiss R, et al. Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(23):9188-92.

LISTA DE FIGURAS

- Tomografia Computorizada de Alta Resolução de doentes com FQ – **página 10**



LISTA DE TABELAS

- Tabela dos Mediadores Inflamatórios – **página 16**

<p>Mediadores com ação pró-inflamatória aumentados</p>	<p>IL-17A; IL-8; IL-1; IL-9; IL-6; TNFα; LTB4/LTE4; Elastase; Colagenase; Mieloperoxidase; NF-κB; Peptídeo C5a-like (Sistema Complemento)</p>
<p>Mediadores com ação anti-inflamatória diminuídos</p>	<p>IL-10; NO; IκB; LXA4</p>

Normas de Publicação

Instructions for Authors

Normas de publicação na *Revista Portuguesa de Pneumologia*

Portuguese Journal of Pulmonology *Instructions for authors*

A *Revista Portuguesa de Pneumologia* considera para publicação trabalhos (artigos originais, de revisão, de actualização, casos clínicos, cartas ao editor, resumos críticos a livros, etc.) relacionados directa ou indirectamente com o Aparelho Respiratório.

As opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos autores.

Os artigos publicados ficarão propriedade da *Revista Portuguesa de Pneumologia*, não podendo ser reproduzidos, no todo ou em parte, sem autorização do editor.

A aceitação dos originais enviados para publicação é condicionada à avaliação pelo **Conselho Científico da Revista**. Nesta avaliação os artigos poderão ser:

- aceites sem alterações;
- aceites após as modificações propostas e aceites pelos autores;
- recusados.

Apresentação dos trabalhos – Os textos devem ser escritos em português, dactilografados, com margens largas (25 mm), a dois espaços, numa só face do papel e em três exemplares com as páginas numeradas no canto superior direito.

Solicita-se a todos os autores que enviem artigos para publicação que o façam **acompanhados do respectivo**

Revista Portuguesa de Pneumologia / The Portuguese Journal of Pulmonology publishes papers (original articles, revised articles, updated articles, case reports, letters to the editor, book reviews, etc) which are directly or indirectly related to the respiratory system.

The opinions expressed are the exclusive responsibility of the authors.

The articles published are the intellectual property of *Revista Portuguesa de Pneumologia/ The Portuguese Journal of Pulmonology* and may not be reproduced, in part or in whole, without permission from the editor.

All submissions are subject to a screening process by the **Journal's Scientific Board**. There are three assessments possible:

- accepted for publication as is;
- accepted for publication after the proposed alterations, accepted by the authors;
- rejected.

Manuscript instructions – The manuscripts submitted should be in Portuguese, typed, doubled spaced with ample (25mm) margins, and on one side of A4 sized paper. Three copies should be submitted, with the pages numbered in the upper right corner.

All articles submitted for publication must be sent in addition in a computerised format. The compu-

vo suporte magnético, que indiquem o programa de computador em que foram executados e que tenham em atenção à reprodução das imagens (que deverá ser feita, idealmente, em suporte JPG ou TIFF) de modo a que fiquem nítidas na sua impressão tipográfica.

Chama-se a atenção que a transcrição de imagens, quadros ou gráficos de outras publicações deverá ter a prévia autorização dos respectivos editores para dar cumprimento às normas de regem os direitos de autor. Poder-se-ão considerar para publicação artigos redigidos em inglês. Neste caso, deve incluir-se o resumo, o título e as palavras-chave, também em português.

Deverão ser **referenciados**, pelos próprios autores, como artigos originais, de revisão, cartas ao editor, ou outros.

Todos os artigos originais serão também publicados em inglês, após retroversão para esta língua, pela(s) tradutora(s) da *Revista Portuguesa de Pneumologia*. Caso os autores assim o entendam, poderão enviar os artigos já traduzidos.

Estrutura – Sempre que possível será adoptado o esquema convencional em que se iniciará cada parte do trabalho numa nova página pela seguinte ordem:

- a) Na primeira página:
 - título do trabalho em português e inglês
- b) Na segunda página:
 - o nome dos autores com os respectivos títulos académicos e/ou profissionais;
 - os serviços onde foi realizado, nome dos seus directores e os respectivos endereços.
- c) Na(s) página(s) seguinte(s):
 - o resumo em português que não deverá ultrapassar 250 palavras para os trabalhos originais e de 150 para os casos clínicos;

ter program used must be clearly stated, and particular attention must be paid to the reproduction of images, which should ideally be in JPG or TIFF format, to give a clear printed quality.

If an image, figure or graph has been previously published, written permission from the editor in question must be submitted to safeguard the author's intellectual property rights.

Articles may also be submitted in English. In this case, the summary, the title and key words should also be submitted in Portuguese.

The authors should categorise their submissions as original articles, revised articles, case studies, letters to the editor, technical notes, etc.

All original articles shall be also printed in English, after being translated by the *Revista Portuguesa de Pneumologia / The Portuguese Journal of Pulmonology's* translators. Authors may submit their articles already translated, if they so wish.

Form – As far as possible, the convention will be observed of beginning each new part of the paper on a new page and in the following order:

- a) Title page:
 - the full title of the paper in Portuguese and English;
- b) Second page:
 - the full names of the authors and their academic and /or professional titles;
 - the full name and address of the institution(s) at which the work was carried out and the full name of the institution(s) director(s).
- c) Following page(s):
 - a summary in Portuguese, not exceeding 250 words for original articles and 150 for case reports;

- os resumos em inglês com características idênticas ao do inicial em português;
 - as palavras-chave, em português e inglês (3 a 10), que servirão de base à indexação do artigo, de acordo com a terminologia do Index Medicus “*Medical Subject Headings*”.
- d) O texto que, no caso dos artigos originais, terá em geral: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões
 - e) O texto, também em inglês, tratando-se de um artigo original, e caso o(s) autor(es) assim o entendam fazer
 - f) Agradecimentos
 - g) Bibliografia
 - h) Quadros e Figuras.

Bibliografia – As referências bibliográficas devem ser numeradas por ordem consecutiva da sua primeira citação no texto. Devem ser identificadas no texto com números árabes. As referências devem conter, no caso das revistas, o nome do primeiro autor (apelido e nome), seguido dos restantes, do título do artigo, do nome da publicação e das sua identificação (ano, volume e páginas).

Quadros e figuras – Os quadros e figuras devem ser apresentados em páginas separadas, em condições de reprodução. Devem ser acompanhados da respectiva legenda em página à parte, mencionando no verso a lápis o número de ordem. Todos os gráficos deverão ser apresentados através de fotografia do respectivo original.

Modificações e revisões – No caso da aceitação do artigo ser condicionada a modificações, estas devem ser realizadas pelos autores no prazo máximo de vinte dias.

As **provas tipográficas** serão da responsabilidade da Redacção, se os autores não indicarem o contrário. Neste caso elas deverão ser feitas no prazo determinado pela Redacção, em função das necessidades editoriais da Revista.

- a summary in English, with identical characteristics to that in Portuguese;
 - between three and 10 key words in Portuguese and English, which will be used to index the article, using terms from the *Medical Subject Headings* list of the *Index Medicus*.
- d) Original articles shall include, as a general rule, the following: Introduction, Subjects and Methods, Results, Discussion and Conclusions.
 - e) Original articles may be written in English if the authors so wish.
 - f) Acknowledgments.
 - g) References.
 - h) Tables and Figures.

References – The bibliographical references should be numbered consecutively, in the order in which they are cited in the text and should be identified in the text with Arabic numerals. Each reference to a journal article should contain the surname and initial of the first author followed by the rest. These should be followed by the title of the article, the title of the publication and its identifying years, volume number and the page numbers.

Tables and figures – Each table and figure should be on a separate page, and in such conditions as to be reproduced. Each table and figure should have its own brief description on a separate page and bear its sequence number on its back, written in pencil. Each table and figure should be represented via a copy of the original.

Alterations and changes – Should an article be accepted for publication subject to alteration, these must be made by the authors within a twenty day period.

Publishing proofs – These are the editorial board's responsibility, unless the authors state otherwise. Should this latter be the case, the proofs should be concluded within a deadline set by the editorial board, in line with the editorial norms of the Journal.

Separatas – Podem ser fornecidas vinte e cinco separatas. Um número superior de separatas poderá ser disponibilizado, a expensas dos autores, quando requisitadas antes da impressão.

Cartas ao editor – Devem constituir um comentário crítico a um artigo da Revista ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 500 palavras, nem conter mais de um quadro ou figura e um máximo de 6 referências bibliográficas. As respostas do(s) autor(es) devem obedecer às mesmas características.

Pedido de publicação – Os trabalhos deverão ser enviados à Redacção, em nome do editor, para a sede da SPP, Rua Ivone Silva, n.º 6 – 6.º Esq., Edifício Arcis, 1069-130 Lisboa, Portugal, acompanhados de uma carta com pedido de publicação, **subscrito por todos os autores**, indicação da cedência do *copyright* e que não foram publicados ou enviados para publicação em outra revista nacional ou estrangeira. **Não serão aceites trabalhos já publicados ou enviados simultaneamente a outras revistas.**

Deverão ser acompanhados pelo endereço electrónico do autor principal para eventuais pedidos de esclarecimentos por parte da Redacção.

Os trabalhos também poderão ser enviados por via electrónica (*e-mail*: sppneumologia@mail.telepac.pt).

Nota final – Para um mais completo esclarecimento sobre este assunto aconselha-se a leitura dos requisitos do *International Committee of Medical Journal Editors*, publicados na íntegra no *N Eng J Med* 1991; 324:424-428.

Reprints – Twenty-five reprints will be provided for each paper. Additional reprints may be supplied, and the expense borne by the authors, provided that the authors request this before publishing commences.

Letters to the editor – These should contain a critical appraisal of a Journal article or a small comment on a theme or a case study. They should not exceed 500 words, contain more than one table or figure and have a maximum of 6 bibliographical references. Authors' replies should observe these same norms.

Submissions for publication – Papers should be sent to the editorial board, addressed to the editor: Sociedade Portuguesa Pneumologia office: SPP – Rua Ivone Silva, n.º 6 – 6.º Esq., Edifício Arcis, 1069-130 Lisboa, Portugal. Submissions should be accompanied by a letter requesting that the work be submitted for publication, **signed by all of the authors**, stating that they waive their intellectual property rights and that their work has not been published or submitted for publication in any other Portuguese or international journal. **Work already published or already sent to other journals will be rejected.**

Submissions must bear the e-mail address of the corresponding author in order to facilitate contact with the editorial team should any clarification be necessary.

Papers may should be sent via electronic mail to: sppneumologia@mail.telepac.pt

Final note – For a fuller clarification of this matter, a reading of the requirements of the *International Committee of Medical Journal Editors*, published in full in the *N Eng J Med* 1991; 324:424-428, is advised.