

# Doxiciclina em pacientes com linfangioleiomiomatose: segurança e eficácia no bloqueio de metaloproteínas\*

Doxycycline use in patients with lymphangioleiomyomatosis:  
safety and efficacy in metalloproteinase blockade

Suzana Pinheiro Pimenta, Bruno Guedes Baldi, Milena Marques Pagliarelli Acencio,  
Ronaldo Adib Kairalla, Carlos Roberto Ribeiro Carvalho

## Resumo

**Objetivo:** A linfangioleiomiomatose (LAM) é caracterizada pela presença de cistos pulmonares, cuja formação está associada à hiperreatividade de metaloproteínas de matriz (MMP), principalmente MMP-2 e MMP-9. Objetivamos comparar os níveis dessas MMPs entre pacientes com LAM e controles saudáveis, assim como avaliar, nas pacientes com LAM, a segurança e a eficácia do tratamento com doxiciclina, um potente inibidor de MMPs. **Métodos:** Estudo clínico prospectivo no qual as pacientes com LAM receberam doxiciclina (100 mg/dia) por seis meses, coletando-se amostras de urina e sangue para a dosagem de MMP-2 e MMP-9 antes e ao final do período. Foram ainda obtidas amostras de 10 mulheres saudáveis. **Resultados:** De 41 pacientes com LAM que iniciaram o tratamento, 34 concluíram o protocolo. Os níveis de MMP-9 sérica e urinária foram significativamente inferiores no grupo controle ( $p < 0,0001$ ). Comparando-se os valores antes e após o tratamento, a mediana do nível sérico da MMP-9 reduziu de 919 ng/mL para 871 ng/mL ( $p = 0,05$ ), enquanto a mediana da dosagem urinária de MMP-9 diminuiu de 11.558 pg/mL para 7.315 pg/mL ( $p = 0,10$ ). A mediana da MMP-2 sérica apresentou um decréscimo significativo após o tratamento ( $p = 0,04$ ). Não foram detectados níveis de MMP-2 urinária. Epigastria, náuseas e diarreia foram os efeitos adversos mais prevalentes, e geralmente autolimitados. Apenas 1 paciente interrompeu o tratamento devido a efeitos colaterais. **Conclusões:** Pela primeira vez, conseguiu-se evidenciar em pacientes com LAM a redução dos níveis séricos e urinários de MMPs após o uso de doxiciclina, que se mostrou uma medicação segura, com efeitos colaterais leves e toleráveis.

**Descritores:** Linfangioleiomiomatose; Metaloproteínas da matriz; Doxiciclina.

## Abstract

**Objective:** Lymphangioleiomyomatosis (LAM) is characterized by lung cysts, whose development is associated with matrix metalloproteinase (MMP) hyperactivity, principally that of MMP-2 and MMP-9. Our objective was to compare LAM patients and controls in terms of the levels of these MMPs, as well as to determine the safety and efficacy of treatment with doxycycline, a potent MMP inhibitor. **Methods:** Prospective clinical study involving female LAM patients who received doxycycline (100 mg/day) for six months. Urine and blood samples were collected for the quantification of MMP-2 and MMP-9 before and after the treatment period. Samples from 10 healthy women were also collected. **Results:** Of the 41 LAM patients who started the treatment, 34 completed the protocol. Serum and urinary MMP-9 levels were significantly lower in the controls than in the LAM patients ( $p < 0.0001$ ). Comparing pre- and post-treatment values, we found that the median level of MMP-9 in serum decreased from 919 ng/mL to 871 ng/mL ( $p = 0.05$ ), whereas that of MMP-9 in urine decreased from 11,558 pg/mL to 7,315 pg/mL ( $p = 0.10$ ). After treatment, the median level of MMP-2 in serum was significantly lower ( $p = 0.04$ ) and urinary MMP-2 levels were undetectable. Nausea, diarrhea, and epigastric pain were the most prevalent adverse effects and were often self-limiting. There was only one case in which the patient discontinued the treatment because of side effects. **Conclusions:** We have demonstrated, for the first time, a decrease in serum and urine levels of MMPs in LAM patients treated with doxycycline, which proved to be a safe medication, with mild and well-tolerated side effects.

**Keywords:** Lymphangioleiomyomatosis; Matrix metalloproteinases; Doxycycline.

\* Trabalho realizado no Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.  
Endereço para correspondência: Suzana Pinheiro Pimenta. Rua Oscar Freire, 1929, apto. 401, Pinheiros, CEP 05409-011, São Paulo, SP, Brasil.

Tel. 55 11 3069-6000. E-mail: spp3847@yahoo.com.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).  
Recebido para publicação em 18/4/2011. Aprovado, após revisão, em 14/6/2011.

## Introdução

A linfangioleiomiomatose (LAM) pulmonar é uma doença cística rara que afeta mulheres em idade fértil, com incidência de aproximadamente 2,6 por milhão de habitantes.<sup>(1)</sup> Pode ocorrer esporadicamente ou associada à síndrome autossômica denominada esclerose tuberosa.<sup>(2)</sup>

O quadro clínico mais frequente é caracterizado por dispneia, pneumotórax e angiomiolipoma renal; porém, o acometimento do sistema linfático, através de quilotórax ou linfangiomas, também pode estar presente.<sup>(3-6)</sup> Na TC de tórax evidenciam-se cistos com paredes finas e bem delimitadas, distribuídos difusamente.<sup>(7)</sup>

Histologicamente são evidenciados aglomerados de células musculares lisas imaturas que podem ter aspecto fusiforme ou epitelióide, adjacentes às lesões císticas e acompanhando o feixe peribroncovascular. As células apresentam positividade para o anticorpo alfa actina de músculo liso, e aquelas do tipo epitelióide são marcadas adicionalmente com o anticorpo monoclonal *human melanoma black 45* na análise imuno-histoquímica.<sup>(8)</sup> Receptores hormonais para estrogênio e progesterona também foram evidenciados nas células de LAM, sendo inicialmente descritos por Brentani et al.<sup>(9)</sup>

As células fusiformes expressam *matrix metalloproteinases* (MMPs, metaloproteinases de matriz), componentes funcionais da matriz extracelular (MEC) responsáveis pelo remodelamento pulmonar e linfangiogênese, tendo sua atividade regulada por *tissue inhibitors of MMP* (TIMP, inibidores teciduais de MMP).<sup>(10)</sup> A degradação de fibras elásticas pode ser observada nas áreas com proliferação de células musculares lisas, por meio de microscopia eletrônica, em biópsias de pulmão de pacientes com LAM.<sup>(11)</sup> Na análise imuno-histoquímica, observou-se significativa reatividade de MMP-2 e MMP-9 no tecido pulmonar de portadoras de LAM, quando comparado com o tecido de pulmões normais.<sup>(12)</sup> Matsui et al. evidenciaram intensa atividade de MMP-2 nas células de pacientes com LAM, bem como de *membrane type 1 MMP*, responsável por ativar a conversão da pró-enzima da MMP-2 na superfície da membrana celular.<sup>(13)</sup>

Concordante com a hiperreatividade tecidual das MMPs, descrita em pacientes com LAM, Odajima et al. demonstraram títulos séricos

e plasmáticos significativamente elevados de MMP-9 nessas pacientes, quando comparados aos de controles, quantificados por zimografia.<sup>(14)</sup>

Tem crescido o interesse na relação entre a patogênese da destruição cística pulmonar e a atividade das MMPs na LAM, inclusive como potencial alvo terapêutico. De fato, um relato de caso descreveu o uso de doxiciclina, um conhecido inibidor de MMPs, em uma paciente com LAM em lista de transplante pulmonar. Após o tratamento por quatro meses, a paciente apresentou melhora no VEF<sub>1</sub> e na troca gasosa, concomitante à redução expressiva dos níveis de MMPs dosados na urina.<sup>(15)</sup>

Até o momento, não existem ensaios clínicos prospectivos que tenham avaliado a eficácia e a segurança do uso de doxiciclina no bloqueio das MMPs em pacientes portadoras de LAM, o que nos incentivou a delinear este estudo.

Os objetivos do presente protocolo foram comparar as dosagens séricas e urinárias de MMP-2 e MMP-9 em pacientes com LAM e em mulheres saudáveis, avaliar a eficácia do uso de doxiciclina em inibir as MMPs e avaliar a segurança dessa medicação em pacientes com LAM.

## Métodos

Desenvolvemos um estudo clínico prospectivo no qual todas as pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Doenças Intersticiais do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), no período entre novembro de 2006 e julho de 2009, com diagnóstico clínico-radiológico e/ou histopatológico de LAM, foram convidadas a participar do estudo. Como um grupo controle, foram avaliadas também 10 mulheres sem doenças respiratórias, sem nenhuma condição médica e sem história prévia de tabagismo.

O termo de consentimento e o protocolo foram aprovados pelo Comitê de Ética do HC-FMUSP.

As pacientes com LAM submeteram-se à coleta de amostras de urina e de sangue para as dosagens de MMP-2 e MMP-9, sendo obtidas igualmente amostras de sangue e de urina dos controles.

A seguir, as pacientes receberam doxiciclina na dose de 100 mg/dia durante seis meses,

coletando-se novas amostras séricas e urinárias ao final desse período.

Todas as amostras de sangue e de urina coletadas foram centrifugadas a 1.500 rpm durante 10 min e armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise.

Os níveis séricos e urinários de MMP-2 e de MMP-9 foram mensurados através do método ELISA (R&D System, Inc., Minneapolis, MN, EUA) em acordo com as instruções do fabricante. Placas com 96 poços (Costar; Corning Inc., Cambridge, MA, EUA) foram sensibilizadas com 100  $\mu\text{L}$  de anticorpo monoclonal e incubadas por 18 h a  $4^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, as placas foram bloqueadas, para evitar ligações inespecíficas, com 300  $\mu\text{L}$  de solução de bloqueio (BSA a 2%) e incubadas por 2 h a  $37^{\circ}\text{C}$ . Após o bloqueio, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  das amostras por poço e 100  $\mu\text{L}$  dos padrões diluídos previamente em PBS. As placas foram incubadas por 18 h a  $4^{\circ}\text{C}$ , sendo então adicionados 100  $\mu\text{L}$  do anticorpo conjugado (biotinilado) e, após o período de incubação, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de *streptavidin-conjugated horseradish peroxidase* (1:250) por poço, e as placas foram incubadas por mais 30 min a  $37^{\circ}\text{C}$ .

A revelação foi realizada através da adição de 100  $\mu\text{L}$  da solução de revelação (peróxido de hidrogênio + tetrametilbenzidina) por poço, e as placas foram incubadas de 5 a 30 min a  $37^{\circ}\text{C}$ , de acordo com cada proteína. A reação foi interrompida com 50  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico a 30% por poço, e as placas foram agitadas lentamente.

Os títulos de MMPs foram quantificados por comparação de densidade óptica em um leitor de ELISA (Power Wave; Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, EUA) utilizando um filtro de 450 nm. O limite de detecção para MMP-2 foi de 156,2 pg/mL, e aquele para MMP-9 foi de 15,6 pg/mL.

A análise estatística foi realizada utilizando o software *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). As variáveis paramétricas, definidas pela curva de normalidade em histograma, foram expressas em médias e desvios-padrão e comparadas pelo teste t de Student. As variáveis não paramétricas foram expressas através de medianas e intervalos interquartílicos (II) e comparadas utilizando o teste de Wilcoxon para as variáveis pareadas e o teste de Mann-Whitney

para as variáveis não pareadas. A significância estatística foi assumida para valores de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Todas as 42 pacientes com diagnóstico de LAM acompanhadas em nosso serviço, no período do estudo, foram convidadas a participar do protocolo. Dessas, apenas 1 paciente foi excluída por ter sido submetida a transplante pulmonar.

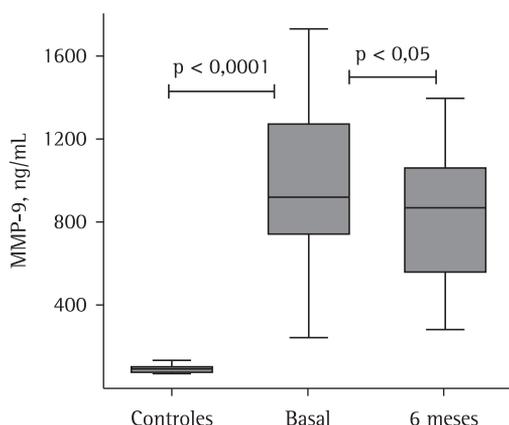
No total, 41 pacientes iniciaram o tratamento com 100 mg/dia de doxiciclina. A média de idade das pacientes era de  $41 \pm 9$  anos, enquanto a dos controles era  $40 \pm 4$  anos. Nenhuma era fumante atual, sendo que 10 (24%) eram ex-tabagistas, e 27 (66%) haviam apresentado pneumotórax previamente. O diagnóstico de LAM foi estabelecido por estudo histopatológico em 37 (93%), sendo por biópsia pulmonar em 35 e por biópsia de outro sítio em 2. O diagnóstico clínico-radiológico, definido pela associação da presença de angiomiolipomas renais e cistos pulmonares, foi realizado em 4 pacientes.

Durante o seguimento, 7 pacientes não completaram o estudo: por piora dos sintomas respiratórios, em 1 (admitida em lista de transplante pulmonar após quatro semanas do início do protocolo); por sintomas relacionados aos efeitos colaterais associados à doxiciclina (colite aguda) após um mês de uso, em 1; por desistência do protocolo, em 1; e por não retornarem para a dosagem de MMP aos seis meses, em 4; essas pacientes continuaram utilizando doxiciclina, sem apresentar quaisquer efeitos adversos.

Ao final do estudo, 34 pacientes completaram seis meses de tratamento e realizaram as dosagens de MMP-2 e MMP-9 no sangue e na urina. As características clínico-funcionais desse grupo encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

O grupo controle compreendeu 10 mulheres sem doenças respiratórias, sem outras comorbidades e sem história prévia de tabagismo, com média de idade de  $40 \pm 4$  anos. Não houve diferença estatística em relação à idade entre os dois grupos ( $p = 0,29$ ).

No grupo controle, a mediana dos valores de MMP-9 sérica e urinária foram, respectivamente, 89,6 ng/mL (II: 80 a 102) e 200 pg/mL (II: 89 a 263). Comparando esses valores aos das pacientes com LAM, houve diferenças significativas para ambos ( $p < 0.0001$ ), conforme mostram as

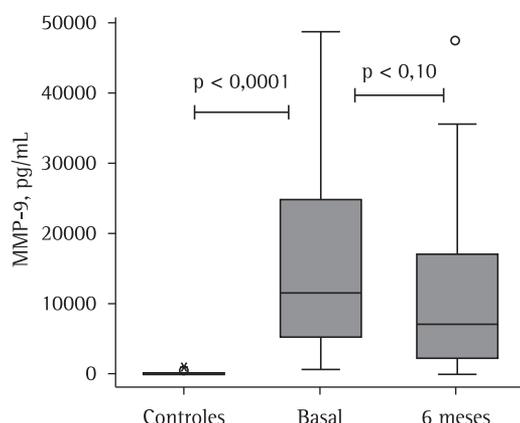


**Figura 1** - Níveis de metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9) sérica em 10 controles e em 34 pacientes com linfangioleiomiomatose, antes e após o uso de doxiciclina.

Figuras 1 e 2. Os níveis de MMP-2 no sangue e na urina estavam abaixo do limite de detecção nos controles.

Após o tratamento com doxiciclina por seis meses, foi observada uma redução global na mediana dos níveis séricos de MMP-9 nas pacientes com LAM – de 919 ng/mL (II: 742 a 1.268) para 871 ng/mL (II: 564 a 1.053;  $p = 0,05$ ) – conforme mostrado na Figura 1. Em 20 dessas pacientes (59%), a variação proporcional da mediana, em relação ao nível basal, foi de -34% (II: -45% a -15%), enquanto, nas 14 pacientes restantes, houve estabilização ou incremento, com mediana de 8% (II: 3% a 35%).

Em relação aos níveis urinários de MMP-9, a mediana dos níveis basais foi de 11.558 pg/



**Figura 2** - Níveis de metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9) urinária em 10 controles e em 34 pacientes com linfangioleiomiomatose, antes e após o uso de doxiciclina.

mL (II: 5.551 a 23.563) e a mediana após seis meses de tratamento com doxiciclina foi de 7.315 pg/mL (II: 2.393 a 16.683;  $p = 0,10$ ), conforme mostrado na Figura 2. Houve decréscimo nos títulos em 21 pacientes (62%), apresentando uma variação da mediana, em relação ao valor basal, de -58% (II: -90% a -45%) e, nas 13 pacientes restantes, houve um incremento mediano de 65% (II: 23% a 79%).

Os títulos de MMP-2 sérica apresentaram uma mediana basal abaixo do nível de detecção (percentil 75: 833 pg/mL) e uma mediana após o tratamento com doxiciclina também abaixo do limite de detecção (percentil 75: 592 pg/mL;  $p = 0,04$ ). Houve decréscimo nos títulos em 11 pacientes (32%), apresentando uma variação da mediana de -12% (II: -75% a -12%), e, nas 23 pacientes restantes, houve estabilização ou incremento, com mediana e II abaixo do limite de detecção. Todos os níveis de MMP-2 urinária estavam abaixo do limite de detecção.

Durante o uso da doxiciclina, com exceção de 1 paciente que apresentou colite aguda relacionada à doxiciclina, nenhuma outra paciente necessitou descontinuar o tratamento por efeitos colaterais.

Algumas pacientes apresentaram efeitos adversos, especialmente gastrointestinais. A epigastralgia foi o mais prevalente, estando presente em 47% dos casos, geralmente de leve intensidade e com o desaparecimento dos sintomas em duas semanas. Foram utilizados inibidores de bomba de prótons em metade delas. Foram observadas também náuseas, em 21%, e diarreia, em 21%, de leve intensidade e autolimitadas.

Dois pacientes queixaram-se de prurido e reação de fotossensibilidade; ambos os sintomas foram prontamente revertidos após o afastamento à exposição excessiva ao sol e o uso de protetor solar.

## Discussão

O presente estudo mostrou que os níveis séricos e urinários de MMP-9 encontrados no grupo de pacientes com LAM foram elevados quando comparados com aqueles do grupo controle. Os títulos de MMP-2 na urina não foram detectados em nenhum dos dois grupos e aqueles de MMP-2 sérica não foram evidenciados no grupo controle.

**Tabela 1** - Características clínicas e demográficas das 34 pacientes com linfangioleiomiomatose que completaram o estudo.

| Características            | n = 34     |
|----------------------------|------------|
| Idade, anos, média ± dp    | 43,0 ± 8,6 |
| Tabagismo prévio, n (%)    | 8 (24)     |
| Esclerose tuberosa, n (%)  | 5 (15)     |
| Dispneia, n (%)            | 29 (85)    |
| Derrame quiloso, n (%)     | 4 (12)     |
| Pneumotórax, n (%)         | 23 (68)    |
| Angiomolipoma, n (%)       | 14 (41)    |
| Diagnóstico                |            |
| Histopatológico, n (%)     | 31 (91)    |
| Clínico-radiológico, n (%) | 3 (9)      |

O achado de hiperreatividade das MMPs em doenças císticas pulmonares tem sido relatado na literatura. Em pacientes com histiocitose de células de Langerhans, Hayashi et al., usando microscopia confocal, demonstraram moderada a intensa atividade de MMP-2 nas áreas onde havia células de Langerhans concomitantes à lesão na membrana basal do epitélio alveolar.<sup>(16)</sup> Na doença de depósito das cadeias leves, evidenciou-se a degradação da MEC no parênquima pulmonar, associada à expressão de MMP-1, MMP-2, MMP-9 e MMP-14 nesses sítios, além da ausência de TIMP-1 e TIMP-2.<sup>(17)</sup>

O desbalanço entre MMPs e seus inibidores também tem sido implicado na patogênese de outras doenças pulmonares, como enfisema e asma.<sup>(18)</sup> Níveis urinários de MMP-2 têm sido associados à atividade e à resposta ao tratamento em uma variedade de neoplasias.<sup>(19)</sup>

**Tabela 2** - Resultados de provas de função pulmonar das 34 pacientes com linfangioleiomiomatose que completaram o estudo.<sup>a</sup>

| Variáveis                       | Resultados  |
|---------------------------------|-------------|
| CVF, L                          | 3,2 ± 0,6   |
| CVF, % do predito               | 93 ± 14     |
| VEF <sub>1</sub> , L            | 2,2 ± 0,7   |
| VEF <sub>1</sub> , % do predito | 78 ± 25     |
| VEF <sub>1</sub> /CVF           | 0,7 ± 0,2   |
| CPT, L                          | 5,0 ± 0,8   |
| CPT, % do predito               | 105 ± 14    |
| VR, L                           | 1,8 ± 0,6   |
| VR, % do predito                | 133 ± 49    |
| VR/CPT                          | 0,35 ± 0,08 |
| DLCO, mL/min/mmHg               | 16,2 ± 6,7  |
| DLCO, % do predito              | 62 ± 25     |

<sup>a</sup>Valores expressos em média ± dp.

Na LAM, foi evidenciada hiperreatividade das MMP-2 e MMP-9 no tecido pulmonar das pacientes, quando comparada com controles.<sup>(12)</sup> Quando dosada no sangue, a MMP-9 apresentou títulos mais elevados em pacientes com LAM do que nos títulos séricos de controles,<sup>(14)</sup> e nosso estudo corroborou essa evidência.

A doxiciclina, pertencente à família das tetraciclina, é utilizada na prática clínica por seu efeito antimicrobiano. Quando administrada em baixas doses, essa age sobre o remodelamento da MEC, migração e proliferação celular *in vitro*.<sup>(20)</sup> Esse efeito é causado, em parte, pela inibição das MMPs, que pertencem a uma família de enzimas reguladas pela ativação de seus zimogênios, capazes de degradar os substratos da MEC, como gelatina, laminina, elastina e colágeno tipo I e IV.<sup>(21)</sup>

A doxiciclina vem sendo utilizada como bloqueador de MMPs em modelos experimentais, e foi evidenciada uma atividade antiangiogênese mediada por MMPs no cérebro de ratos após o uso dessa medicação.<sup>(22)</sup> Os derivados de tetraciclina reduzem a degradação tissular em aneurisma de aorta, assim como inibem a invasão local de células neoplásicas e sua metastatização.<sup>(23,24)</sup> Chang et al. demonstraram o efeito da doxiciclina sobre a adesão de células de LAM *in vitro*, bem como sobre MMP-2 e MMP-9, revelando uma redução na proliferação celular, mas à custa de doses muito elevadas de doxiciclina, sem um bloqueio significativo sobre a expressão de MMPs.<sup>(25)</sup> Esses achados, no entanto, são questionáveis, visto que, até o presente momento, não há modelos animais de pulmão de LAM para o estudo apropriado da fisiopatologia dessa doença.

O mecanismo de ação da doxiciclina ainda permanece obscuro; porém, especula-se que sua ação de inibição de MMPs seja pela indução da atividade do TIMP.<sup>(26)</sup> No entanto, não dosamos TIMP em nosso protocolo.

Após o uso de doxiciclina por seis meses, conseguimos evidenciar a redução nos títulos séricos e urinários de MMP-9, assim como nos níveis séricos de MMP-2, nas pacientes com LAM. O bloqueio de MMP-9 sérica evidenciado em nosso estudo foi limítrofe ( $p = 0,05$ ), sugerindo que o uso de doxiciclina por um tempo mais prolongado possa intensificar esse bloqueio. No caso da MMP-2, a redução evidenciada nos níveis séricos foi estatisticamente significativa.

Houve decréscimo nos títulos da MMP-9 urinária, sendo esse bloqueio igualmente limítrofe ( $p = 0,10$ ).

Das 41 pacientes que foram recrutadas para o protocolo, 7 (17%) não realizaram a reavaliação no sexto mês, sendo que 4 não conseguiram retornar em tempo hábil por residirem em outro estado; entretanto, essas mantiveram o uso da medicação.

A doxiciclina mostrou-se uma droga segura e bem tolerada pelas pacientes, sendo o trato gastrointestinal o mais afetado naquelas pacientes sintomáticas. Os sintomas eram geralmente autolimitados, e nos casos que necessitaram o uso de bloqueadores da bomba de prótons, houve resolução satisfatória desses sintomas. Apenas 1 paciente necessitou ser afastada do protocolo devido a um quadro de colite aguda, que foi revertido logo após suspensão da doxiciclina.

Pela primeira vez, demonstra-se que pacientes portadoras de LAM apresentam altas taxas de MMPs no sangue e na urina e que o uso diário de doxiciclina em doses baixas, por seis meses, reduziu esses níveis, com redução significativa nos níveis de MMP-2 sérica e redução limítrofe naqueles de MMP-9 sérica e urinária. Foi observado que a doxiciclina é uma medicação segura, com efeitos colaterais leves, reversíveis e bem tolerados pelas pacientes.

A LAM é uma doença rara e ainda sem tratamento curativo. Vários estudos realizados nos últimos 20 anos trouxeram informações fundamentais no reconhecimento da patogênese dessa doença; no entanto, observa-se uma escassez de estudos prospectivos e randomizados no campo da terapêutica. Recentemente, em um ensaio clínico duplo-cego e randomizado, utilizou-se a rapamicina, um inibidor de *mammalian target of rapamycin*, demonstrando a estabilização da função pulmonar e a melhora na qualidade de vida em pacientes com LAM.<sup>(27)</sup>

A criação de registros nacionais e internacionais também é fundamental para possibilitar o acesso às pacientes para participação nesses estudos.<sup>(28)</sup>

Os resultados obtidos em nosso estudo estimulam a realização de um protocolo prospectivo e randomizado para avaliar o impacto funcional e a sobrevida de pacientes com LAM sob o uso de doxiciclina.

## Referências

1. Taveira-DaSilva AM, Steagall WK, Moss J. Lymphangioleiomyomatosis. *Cancer Control*. 2006;13(4):276-85.
2. Costello LC, Hartman TE, Ryu JH. High frequency of pulmonary lymphangioleiomyomatosis in women with tuberous sclerosis complex. *Mayo Clin Proc*. 2000;75(6):591-4.
3. Kitaichi M, Nishimura K, Itoh H, Izumi T. Pulmonary lymphangioleiomyomatosis: a report of 46 patients including a clinicopathologic study of prognostic factors. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;151(2 Pt 1):527-33.
4. Chu SC, Horiba K, Usuki J, Avila NA, Chen CC, Travis WD, et al. Comprehensive evaluation of 35 patients with lymphangioleiomyomatosis. *Chest*. 1999;115(4):1041-52.
5. Johnson SR, Tattersfield AE. Clinical experience of lymphangioleiomyomatosis in the UK. *Thorax*. 2000;55(12):1052-7.
6. Ryu JH, Moss J, Beck GJ, Lee JC, Brown KK, Chapman JT, et al. The NHLBI lymphangioleiomyomatosis registry: characteristics of 230 patients at enrollment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(1):105-11.
7. Aberle DR, Hansell DM, Brown K, Tashkin DP. Lymphangiomyomatosis: CT, chest radiographic, and functional correlations. *Radiology*. 1990;176(2):381-7.
8. Ferrans VJ, Yu ZX, Nelson WK, Valencia JC, Tatsuguchi A, Avila NA, et al. Lymphangioleiomyomatosis (LAM): a review of clinical and morphological features. *J Nippon Med Sch*. 2000;67(5):311-29.
9. Brentani MM, Carvalho CR, Saldiva PH, Pacheco MM, Oshima CT. Steroid receptors in pulmonary lymphangiomyomatosis. *Chest*. 1984;85(1):96-9.
10. Ji RC. Lymphatic endothelial cells, lymphangiogenesis, and extracellular matrix. *Lymphat Res Biol*. 2006;4(2):83-100.
11. Fukuda Y, Kawamoto M, Yamamoto A, Ishizaki M, Basset F, Masugi Y. Role of elastic fiber degradation in emphysema-like lesions of pulmonary lymphangiomyomatosis. *Hum Pathol*. 1990;21(12):1252-61.
12. Hayashi T, Fleming MV, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Moss J, Ferrans VJ, et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in pulmonary lymphangioleiomyomatosis (LAM). *Hum Pathol*. 1997;28(9):1071-8.
13. Matsui K, Takeda K, Yu ZX, Travis WD, Moss J, Ferrans VJ. Role for activation of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of pulmonary lymphangioleiomyomatosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(2):267-75.
14. Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Inoue H, Seyama K, Nishimura M. Matrix metalloproteinases in blood from patients with LAM. *Respir Med*. 2009;103(1):124-9.
15. Moses MA, Harper J, Folkman J. Doxycycline treatment for lymphangioleiomyomatosis with urinary monitoring for MMPs. *N Engl J Med*. 2006;354(24):2621-2.
16. Hayashi T, Rush WL, Travis WD, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG, Ferrans VJ. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in pulmonary Langerhans' cell granulomatosis. *Arch Pathol Lab Med*. 1997;121(9):930-7.

17. Colombat M, Caudroy S, Lagonotte E, Mal H, Danel C, Stern M, et al. Pathomechanisms of cyst formation in pulmonary light chain deposition disease. *Eur Respir J*. 2008;32(5):1399-403.
18. Vignola AM, Paganin F, Capieu L, Scichilone N, Bellia M, Maakel L, et al. Airway remodelling assessed by sputum and high-resolution computed tomography in asthma and COPD. *Eur Respir J*. 2004;24(6):910-7.
19. Moses MA, Wiederschain D, Loughlin KR, Zurakowski D, Lamb CC, Freeman MR. Increased incidence of matrix metalloproteinases in urine of cancer patients. *Cancer Res*. 1998;58(7):1395-9.
20. Nelson ML. Chemical and biological dynamics of tetracyclines. *Adv Dent Res*. 1998;12(2):5-11.
21. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92(8):827-39.
22. Lee CZ, Xu B, Hashimoto T, McCulloch CE, Yang GY, Young WL. Doxycycline suppresses cerebral matrix metalloproteinase-9 and angiogenesis induced by focal hyperstimulation of vascular endothelial growth factor in a mouse model. *Stroke*. 2004;35(7):1715-9.
23. Fife RS, Sledge GW Jr. Effects of doxycycline on in vitro growth, migration, and gelatinase activity of breast carcinoma cells. *J Lab Clin Med*. 1995;125(3):407-11.
24. Tamargo RJ, Bok RA, Brem H. Angiogenesis inhibition by minocycline. *Cancer Res*. 1991;51(2):672-5.
25. Chang WY, Clements D, Johnson SR. Effect of doxycycline on proliferation, MMP production, and adhesion in LAM-related cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010;299(3):L393-400.
26. Yao JS, Shen F, Young WL, Yang GY. Comparison of doxycycline and minocycline in the inhibition of VEGF-induced smooth muscle cell migration. *Neurochem Int*. 2007;50(3):524-30.
27. McCormack FX, Inoue Y, Moss J, Singer LG, Strange C, Nakata K, et al. Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med*. 2011;364(17):1595-606.
28. Nurok M, Eslick I, Carvalho CR, Costabel U, D'Armiento J, Glanville AR, et al. The International LAM Registry: a component of an innovative web-based clinician, researcher, and patient-driven rare disease research platform. *Lymphat Res Biol*. 2010;8(1):81-7.

## ***Sobre os autores***

---

### ***Suzana Pinheiro Pimenta***

Médica Colaboradora. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Bruno Guedes Baldi***

Médico Assistente. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Milena Marques Pagliarelli Acencio***

Coordenadora. Laboratório de Pleura, Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Ronaldo Adib Kairalla***

Professor Assistente. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

### ***Carlos Roberto Ribeiro Carvalho***

Professor Associado Livre-Docente de Pneumologia. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.