

Asbestose pulmonar – mecanismos celulares da sua patogenia

ANA MARIA M. BOTELHO TEIXEIRA⁽¹⁾

CENTRO DE IMUNOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE COIMBRA
CENTRO DE PNEUMOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE COIMBRA
(UNIDADE CNC3 DO INIC)

(Director: Prof. Dr. ROBALO CORDEIRO).

RESUMO

A asbestose pulmonar continua a ser uma das doenças ocupacionais mais graves do nosso tempo. Apesar de clínica e epidemiologicamente bem caracterizada pouco se sabe ainda dos mecanismos celulares responsáveis pela sua ocorrência. Assim, a partir da informação até ao momento disponível sobre este assunto, tentámos delinear os vários mecanismos envolvidos na resposta do pulmão profundo à inalação de fibras de asbesto.

Numa primeira parte caracterizam-se os vários tipos de fibras de asbesto existentes bem como os seus diferentes padrões de deposição e transporte.

Numa segunda parte descrevem-se os possíveis mecanismos celulares envolvidos na patogenia da asbestose pulmonar, nomeadamente a acção dos macrófagos alveolares, dos neutrófilos e dos respectivos mediadores.

A análise do perfil linfocitário de lavados bronco-alveolares de pacientes com asbestose é também descrita, salientando-se um acentuado aumento na relação CD4/CD8.

SUMMARY

Pulmonary asbestosis is still one serious occupational disease of our times. Although the clinical and epidemiological features of the disease are well characterized, the cellular mechanisms involved are still poorly understood.

Taking advantage of all the information available on this subject, we tried to depict the several mechanisms involved in the answer of the deep lung to the inhalation of asbestos fibers.

In the first part of this article we characterized the different kinds of asbestos fibers as well as their patterns of transport and deposition in the deep lung.

⁽¹⁾ Licenciada em Bioquímica. Bolseira do INIC para o Centro de Pneumologia (CnC3 - INIC).

In the second part we described the possible cellular mechanisms underlying the pathogeny of pulmonary asbestosis. The effect of the alveolar macrophages, polinuclear neutrophils and the action of their mediators is described.

Analysis of the bronco alveolar lavage fluid lymphocitary profile of patients with pulmonary asbestosis is also described, revealing significant increase in the CD4/CD8 ratio.

I - INTRODUÇÃO

O asbesto encontra-se entre os «minerais» mais versáteis até hoje conhecidos pelo homem. É um material resistente a altas temperaturas, de difícil corrosão, muito maleável e que confere maior força tensil aos produtos em que é incorporado. Durante as I e II Guerras Mundiais foi amplamente utilizado na manufactura de máscaras anti-gás, nas indústrias naval, automóvel, têxtil, na aeronáutica e na construção civil, nomeadamente no isolamento térmico, sonoro e eléctrico de edifícios. Ainda hoje, devido ao seu baixo custo e excelentes propriedades, continua a ser utilizado na construção civil e no fabrico de material sujeito a fricção bem como numa série de produtos utilitários em que a resistência ao calor é importante.

Os efeitos adversos da exposição ocupacional às fibras de asbesto são conhecidos desde os princípios deste século [4]. Mineiros e trabalhadores envolvidos no processamento do minério encontram-se entre os grupos de maior risco pois estão expostos à inalação de grandes quantidades de fibras durante longos períodos de tempo. Estes dois grupos não são no entanto os únicos atingidos pelos efeitos nocivos da sua inalação. De um modo geral, toda a população se encontra exposta, com maior ou menor intensidade. Tanto o desgaste e a corrosão de formações geológicas que contêm asbesto, como a demolição ou renovação de velhos edifícios libertam para a atmosfera fibras de asbesto e a sua presença na água e em produtos alimentares [38] encontra-se igualmente documentada.

Entretanto e apesar dos aspectos clínicos e epidemiológicos das afecções relacionadas com a inalação de asbesto se encontrarem relativamente bem caracterizados [14,37], os mecanismos celulares subjacentes à sua acção patológica encer-

ram, ainda, importantes incógnitas. É neste contexto que o presente trabalho pretende compilar a informação até ao momento disponível sobre esta matéria e assim proporcionar uma imagem integrada, dos mecanismos envolvidos na resposta do pulmão profundo à agressão pelas fibras de asbesto.

II - CARACTERIZAÇÃO DE VÁRIOS TIPOS DE ASBESTOS

Na medida em que recentes estudos apontam para a existência de diferentes quadros patológicos na dependência do tipo de fibra em causa, julga-se oportuno iniciar a sua abordagem pela descrição, embora sucinta, das suas características fisicoquímicas.

Com efeito o asbesto não é um mineral mas sim uma família de fibras de silicatos hidratados que se agrupam essencialmente, em dois grupos com diferentes características mineralógicas: as serpentinas e os anfibólios.

A crisolite é a única serpentina de importância comercial. É constituída por fibras pliáveis e espiraladas formadas por várias fibrilas compostas por folhas paralelas de óxido de sílica e de hidróxido de magnésio «empilhadas» em diferentes graus de sobreposição e curvatura, dando origem às estruturas espiraladas características desta variedade de asbesto.

Os anfibólios são direitos e longos, apresentando uma estrutura cristalina composta por cadeias duplas de grupos tetrahédricos de óxido de sílica e ligadas por catiões que diferem em número, tipo e capacidade de substituição. Nestas circunstâncias, a sua composição química é complexa e pode incluir quantidades variáveis de metais mono, bi e trivalentes. Existem pois diferentes tipos de anfibólios (crocidolite, amosite,

antofilite, tremolite e actinolite), mas os mais importantes são a amosite e a crocidolite.

Na Fig. 1 encontram-se representadas as fibras de asbesto de maior importância comercial bem como as suas composições químicas.

Depósitos minerais de serpentinas e amfibólios encontram-se distribuídos por toda a crosta terrestre. O Canadá e a África do Sul são os maiores fornecedores do mundo ocidental, embora existam minas de importância comercial mais limitada em vários países. Para além disso, sabe-se que a quantidade de asbesto extraída na União Soviética e na República Popular da China excede de longe a produção ocidental.

As propriedades físicas, únicas destas fibras, justificam a continuada utilização industrial, do asbesto, apesar da crescente preocupação sobre os seus efeitos orgânicos nocivos.

III - DEPOSIÇÃO E TRANSPORTE

A ocorrência de um ou outro tipo de patologia após a inalação de fibras de asbesto depende, entre outros factores, do tipo e dimensão das fibras, bem como da sua concentração e da duração de exposição.

Por outro lado a diferente patogenia atribuída aos diversos tipos de fibras, nomeadamente às serpentinas e aos amfibólios, encontra-se adstrita aos seus modelos de transporte e deposição. Com efeito o diâmetro das fibras parece influenciar decisivamente o seu padrão de deposição [48]. Assim fibras de diâmetro relativamente grande depositam-se na região superior da árvore respiratória enquanto que as de menor diâmetro podem alcançar os canais brônquicos terminais [7, 51]. Devido à sua forma curvilínea,

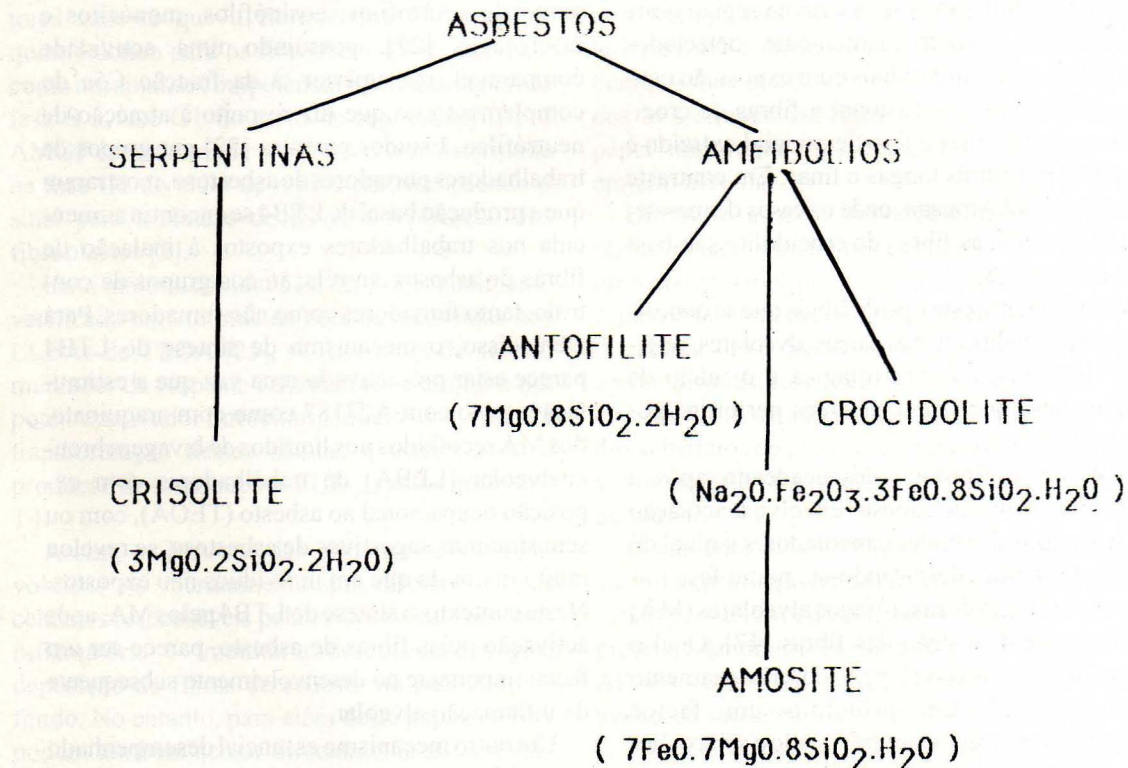


FIG. 1 - Asbestos de importância comercial e sanitária sua composição química.

mente maior do que a dos amfibólios, longos e finos como agulhas. Deste modo, as fibras de crisolite são mais facilmente interceptadas nas bifurcações brônquicas superiores, enquanto que os amfibólios atingem as áreas pulmonares mais distais. Dados referidos nas XIV^a Jornadas de Actualização em Pneumologia [53] apontam para uma retenção pelo pulmão profundo de cerca de 94% dos amfibólios inalados enquanto que essa percentagem rondaria os 10% para as fibras de crisolite.

Estudos *in vitro* [8] revelaram que as fibras longas e finas são mais citotóxicas e possuem uma maior capacidade para iniciar uma resposta neoplásica do que fibras curtas. Talvez este facto justifique que dos vários tipos de asbesto conhecidos a crocidolite é aquele que maior número de vezes se encontra associado à ocorrência de tumores [35,49]. Exemplos que ilustram bem a relação existente entre o comprimento das fibras e o seu poder cancerígeno vêm-nos da Austrália e da África do Sul [35, 49]. Assim na região oeste da Austrália são frequentemente detectados mesoteliomas em indivíduos com exposição ocupacional ou mesmo ocasional a fibras de crocidolite e nessas zonas o tipo de mineral extraído é composto por fibras longas e finas. Em contraste no Transval Sul Africano, onde os casos de mesotelioma são raros, as fibras de crocidolite são bastante mais curtas.

São no entanto este tipo de fibras que se depositam preferencialmente nos canais alveolares, originando uma resposta macrofágica e o início da fibrinogénese que atinge as áreas peribronquiolares e alveolares.

O processo fibrótico desencadeado após a inalação de fibras de asbesto envolve a actuação de vários tipos de células e mediadores a nível do pulmão profundo, destacando-se, numa fase inicial a acumulação de macrófagos alveolares (MA) nos locais de deposição das fibras [47]. Qual o mecanismo responsável pelo desencadeamento desta reacção? Em princípio um factor quimiotáctico parece estar envolvido e são conhecidos diferentes elementos celulares, tais como as células epiteliais tipo I e II, bem como proteínas do complemento [42] e macrófagos pulmonares acti-

vados [29] que poderiam desempenhar essa função. Ainda antes do fluxo macrofágico, o transporte das fibras de asbesto para o interstício através das células epiteliais de tipo I [7] é tido como um dos primeiros passos nesta cadeia de eventos.

IV - MECANISMOS CELULARES

I - Acção dos macrófagos alveolares

Os MA, ao serem activados pelas fibras de asbesto, vão mediar uma série de etapas fundamentais para o estabelecimento do processo fibrótico característico da asbestose.

Um dos principais mecanismos parece ser a elaboração e secreção de vários factores quimiotácticos para os leucócitos. Estão nestas condições a elastina [45], componentes do complemento [39] e o metabolito do ácido araquinoico - leucotrieno B4 (LTB4) [34]. Este último é um potente activador, agente quimiotáctico e agregante de neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos [22], possuindo uma actividade comparável, ou superior, à da fracção C5a do complemento no que diz respeito à atracção de neutrófilos. Estudos recentes [22] em grupos de trabalhadores portadores de asbestose, mostraram que a produção basal de LTB4 se encontra aumentada nos trabalhadores expostos à inalação de fibras de asbesto em relação aos grupos de controlo, tanto fumadores como não fumadores. Para além disso, o mecanismo de síntese do LTB4 parece estar pré-activado uma vez que a estimulação, tanto com A23187 como com araquinato, dos MA recolhidos nos líquidos de lavagem broncoalveolar (LLBA) de trabalhadores com exposição ocupacional ao asbesto (TEOA), com ou sem sintomas sugestivos de asbestose, se revelou muito maior do que em indivíduos não expostos. Neste contexto, a síntese do LTB4 pelos MA, após activação pelas fibras de asbesto, parece ser um factor importante no desenvolvimento subsequente da inflamação alveolar.

Um outro mecanismo essencial desempenhado pelo LTB4 corresponde à indução da produção do factor de necrose tumoral (TNF) pelos MA. Com efeito, alguns autores [18] mostraram recente-

mente que uma maior síntese de LTB₄ por MA expostos às fibras de asbesto precedia um aumento da actividade do TNF, assistindo-se a uma correlação positiva entre a produção endógena de LTB₄ e TNF. Verificou-se ainda, que a utilização de inibidores da lipoxigenase conduzia à inibição da actividade do TNF, a qual se encontrava directamente dependente da concentração dos inibidores utilizados. Por outro lado, a regeneração da actividade do TNF era largamente alcançada após adição de LTB₄ exógeno.

Tanto o TNF como a interleucina-1 (IL-1) podem amplificar a resposta inflamatória e a fibrinogénese, estimulando a atracção, mobilização e activação de neutrófilos e fibroblastos, ao e no local da resposta inflamatória.

Um aumento da libertação espontânea de fibronectina e do factor de crescimento derivado dos macrófagos alveolares (AMDGF) pelos MA de indivíduos com exposição ao asbesto foi também observado [41]. Em relação a estes factores sabe-se que a fibronectina é um factor quimiotáctico para os fibroblastos [23] que actua como um sinal de competência para a passagem da fase S à fase G1 do ciclo de replicação [6] e o AMGF é um factor de progressão com actividade na fase G1 do ciclo de replicação, fornecendo o sinal para a síntese de DNA e replicação dos fibroblastos [5].

Uma maior actividade da IL-1 foi igualmente verificada em culturas de células recolhidas nos LLBAs de TEOA [25]. A IL-1 além de ser um mediador da resposta inflamatória é também um potente activador linfocitário, iniciando o ciclo de transformação destas células e estimulando a produção de interleucina-2 (IL-2) pelos linfócitos T4.

Assim, os MA são das primeiras células envolvidas no recrutamento dos diferentes tipos celulares responsáveis pela evolução das respostas inflamatória e imunitária desencadeadas pela deposição de fibras de asbesto no pulmão profundo. No entanto, para além deste papel, os MA podem também actuar directamente na agressão da matriz tecidual.

Com efeito, elevados níveis do activador do

plasminogénico (AP) foram detectados nos LLBAs de TEOA [9]. O AP sintetizado pelos MA é uma protease neutra com capacidade para converter o plasminogénico em plasmina [10]. Esta é uma protease serínica com um vasto espectro de substratos e com capacidade para aumentar a degradação de elastina mediada pelos MA [10].

De acordo com a ideia de que o AP sintetizado pelos MA possa desempenhar um papel importante na patogénese da asbestose encontram-se as seguintes observações: a secreção de AP pelos MA pode ser aumentada *in vitro* [3] e *in vivo* [9] pelas fibras de asbesto; os modelos experimentais de asbestose são caracterizados pelo aumento da libertação de AP pelos MA e pela sua acumulação nos LLBAs [9]; a possibilidade de medir a degradação de proteínas da matriz extracelular - fibrina, elastina, lamelina, fibronectina e outras glicoproteínas - pelo AP [3, 10, 52]. Muitas destas proteínas são constituintes essenciais das membranas basais, e sendo a transformação dos pneumócitos tipo II em pneumócitos tipo I parcialmente regulada pela integridade das membranas basais [32] é bem possível que o AP produzido pela activação dos MA através das fibras de asbesto tenha um papel importante na alteração da arquitectura epitélio-alveolar.

Um outro aspecto importante neste contexto reside no facto de a matriz extracelular dos canais broncoalveolares possuir grande quantidade de fibras de elastina necessárias à integridade dessas estruturas [15]. Sendo este compartimento da árvore respiratória o local de deposição preferencial das fibras de asbesto inaladas e a elastina um dos substratos do plasminogénico, é possível que a sua degradação afecte essencialmente essa região pulmonar.

O aumento da secreção de AP ocorre, no entanto, nas primeiras etapas da asbestose [9] decrescendo posteriormente ou sendo suprimido pela presença de inibidores fibrinolíticos (os níveis de AP observados em trabalhadores com asbestose avançada são semelhantes aos normais).

Para além do aumento verificado na secreção das proteases neutras, os MA de TEOA libertavam também quantidades exageradas de radi-

cais oxidantes [41]. Tanto o O_2 como o H_2O_2 são mediadores susceptíveis de danificarem as células do parênquima pulmonar, tanto *in vitro* como *in vivo* [19]. Estudos *in vitro* revelaram, ainda, que poeiras inorgânicas podem activar os MA por forma a que estes libertem oxidantes [16, 17] sugerindo que o papel defensivo desempenhado pela fagocitose das fibras de asbesto pelos MA, pode ter como efeito secundário a activação destes elementos celulares e a libertação de radicais oxidantes, contribuindo assim para a patogénese da asbestose.

2 - Acção dos polimorfonucleares neutrófilos

Os polimorfonucleares neutrófilos (PMN-N) possuem grande capacidade de agressão tecidual [44]. Não são residentes habituais do pulmão e encontram-se em pequenas percentagens nos LLBAs dos indivíduos saudáveis [27]. Na asbestose o seu número aumenta substancialmente sendo provavelmente os mais directos responsáveis pela agressão do epitélio pulmonar [33].

São variadas os mecanismos pelos quais os PMN-N podem danificar as estruturas alveolares. De facto estas células contêm várias proteases, nomeadamente a collagenase [31] e a elastase [11], implicadas na destruição da matriz tecidual. Sabe-se ainda que o factor quimiotáctico para os neutrófilos, segregado pelos MA, estimula a libertação de collagenase pelos PMN-N quando atraídos aos locais de inflamação [21], o que está de acordo com as investigações de autores que relatam o aparecimento de collagenase livre no pulmão profundo de pacientes com asbestose [20].

A utilização de radicais livres na degradação das fibras intersticiais continua a suscitar controvérsia. Por um lado sabe-se que podem oxidar e inactivar o inibidor das proteases através da oxidação do resíduo de metionina presente no «sítio» activo desta molécula, tornando-a incapaz de se ligar à elastase [12,28]. Por outro lado, parece que a inibição das antiproteases pelos radicais oxidantes não representa um mecanismo tão importante como seria de esperar. Na verdade o que parece ter realmente influência na acção das proteases é a criação de um microambiente celular entre o PMN-N e a matriz extracelular [11, 46],

com exclusão, pelo menos parcial, dos inibidores das proteases, da interface PMN-tecido conjuntivo.

Os radicais livres podem ser citotóxicos para vários tipos de células, nomeadamente, células endoteliais, epiteliais e fibroblastos [19]. Num estudo efectuado com culturas de células humanas do epitélio pulmonar (CHEP) [30] verificou-se que a adição de asbesto e de PMN-N a essas culturas era citotóxica encontrando-se este efeito dependente da quantidade de asbesto utilizada. KAMP [30] demonstrou ainda, que o H_2O_2 produzido pelos PMN-N desempenhava um papel decisivo na danificação das culturas de CHEP. Com efeito os níveis deste radical aumentavam substancialmente quando os PMN-N eram estimulados pelo asbesto, comparados com a quantidade produzida pelos PMN-N isolados. Estas observações não se verificavam com a junção de catalase ao meio de cultura, o que parece implicar o H_2O_2 como o principal mediador deste efeito, de acordo aliás com a recente demonstração [43] de que o H_2O_2 representa um dos principais oxidantes responsáveis pela destruição do DNA celular.

No entanto outros oxidantes não deverão ser excluídos do mecanismo que conduz à destruição celular. Assim, por exemplo, o OH gerado pela reacção do H_2O_2 com o ferro intracelular parece constituir uma das principais causas de citotoxicidade intracelular no modelo acima citado [43].

Embora a reprodução *in vitro* do tecido pulmonar, atingido pelas fibras de asbesto seja difícil, alguns autores mostraram já que os metabolitos do oxigénio são importantes mediadores da destruição, induzida por este material, de alguns tipos de células, nomeadamente do epitélio traqueal de hamsters [36] e de macrófagos de ratinho [24].

3 - Perfil linfocitário

O estudo da celularidade nos LLBAs de indivíduos com asbestose revelava que na maior parte dos casos o número total de células recolhidas aumenta substancialmente e que os tipos celulares responsáveis por esse aumento parecem ser os neutrófilos, os eosinófilos e os linfócitos.

Com efeito, uma ligeira linfocitose a nível do pulmão profundo parece constituir uma das características da asbestose [13, 26, 50].

Estudos efectuados no nosso Laboratório [1,2] confirmam este facto, bem como os resultados que apontam para um aumento significativo da relação CD4/CD8 [2, 13, 50] nos linfócitos presentes nos LLBAs de TEOA, tanto com manifestações clínicas de asbestose como sem elas.

Uma outra contribuição importante para o diagnóstico da asbestose, que confirma a existência de alterações na estrutura pulmonar, é o facto da densidade pulmonar aumentar nos doentes com asbestose [2].

Com efeito, tanto a densidade pulmonar como o valor da relação linfocitária CD4 CD8 do LLBA parecem constituir dois bons auxiliares no diagnóstico da asbestose, dado que, como demonstrou BAGANHA [1,2] quando a relação CD4/CD8 se encontra elevada a densidade pulmonar aumenta paralelamente.

No sangue periférico pode-se verificar que essa relação não sofre alterações significativas, embora o número absoluto, de linfócitos se encontre reduzido [1,2,13].

Deste modo, parece existir uma sequestração linfocitária a nível do pulmão profundo com a consequente redução do número total de linfócitos B, T e subpopulações T no sangue periférico.

Alterações na actividade linfocitária provocadas pelas fibras de asbesto foram igualmente detectadas. Num estudo recente verificou-se que o asbesto suprimia quase totalmente a actividade citotóxica das células «natural killer» (NK) [40]. Esta actividade podia ser restaurada com a adição de interleucina - 2 recombinante às culturas, vinte e quatro horas antes da exposição às fibras de asbesto. Por outro lado os linfócitos pulmonares previamente expostos à IL-2 *in vivo* (sarcoidose activa) eram resistentes à supressão da actividade NK pelo asbesto. Resultados semelhantes foram também observados em pacientes com asbestose. Nestas circunstâncias o aumento da subpopulação linfocitária T4 produtora de IL-2 poderia funcionar como um mecanismo de defesa em relação à acção supressora provocada pelas fibras de asbesto. Para além disso, a supressão da actividade NK pelas fibras de asbesto pode contribuir para a crescente susceptibilidade dos TEOA ao desen-

volvimento de mesoteliomas ou de tumores bronco-géneos.

V - CONCLUSÃO

A asbestose é uma desordem que atinge o interstício pulmonar caracterizada pela presença de um grande número de fibras de asbesto, uma alveolite linfocitária e/ou neutrofilica, alterações do número, tipo e arranjo das células parenquimatosas e fibrose [27]. O processo inicia-se com o estímulo que conduz à inflamação do pulmão profundo, onde se pode assistir a um aumento do número de células imunes e inflamatórias activadas.

Um dos primeiros passos nesta cadeia de acontecimentos parece ser a estimulação pelas fibras de asbesto dos MA. São estes, com a sua panóplia de biomoduladores, os grandes responsáveis pelo recrutamento das células (sobretudo neutrófilos e fibroblastos) que actuam como efectoras directas das alterações observadas nestas circunstâncias.

Aceitando o conceito de que os mediadores libertados pelos MA desempenham um importante papel na patogénese da asbestose, e possivelmente na das pneumoconioses em geral, afigura-se viável a futura utilização de estratégias terapêuticas que intervenham a este nível. Assim, por exemplo a possibilidade de bloquear a actividade do TNF utilizando inibidores da lipoxigenase poderia representar uma base para o desenvolvimento de agentes específicos capazes de interromper o processo de inflamação e fibrose crónicas.

O total conhecimento do desenvolvimento deste processo continua ainda pouco claro. Neste trabalho tentámos compilar aquilo que até este momento de mais importante se tem efectuado neste âmbito e embora muito esteja ainda por esclarecer, os contornos dos respectivos mecanismos patogénicos, bem como o esboço de acções terapêuticas, começam já a emergir.

Agradecimento: Ao Doutor M. Fontes Baganha pelo apoio prestado.

Pedidos de separatas:

ANA MARIA TEIXEIRA
 Centro de Imunologia
 Faculdade de Medicina de Coimbra
 3049 Coimbra Codex

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BAGANHA M.F., ABREU F., ALMEIDA J.R.G., TEIXEIRA M.L., LIMA M.A.M., GASPAR E., MARQUES M.A.T., MACEDO M., PÊGO A., SOUSA A., CHIEIRA L., LEITE I., FERREIRA M., ROSA M.A.S., TEIXEIRA A.M., MORAIS J.C.T., ROBALO-CORDEIRO A.J.A. - Aplicação de novas técnicas ao diagnóstico da asbestose pulmonar: análise por microfiltração; tomodensitometria; estudo do pulmão profundo - *Via Pneumologica*, 1: 53, 1990.
- [2] BAGANHA M.F., ABREU F., PÊGO A., MACEDO M., LIMA M.A.M., TEIXEIRA L., ROSA M.A.S., GASPAR E., LEITE I., SOUSA A., MARQUES M.A.T., ALCOBIA C., TORRES M., LOPES M.L., TEIXEIRA A.M., MORAIS J.C.T., ROBALO-CORDEIRO A.J.A. - Contribution of tomodensitometry, deep-lung study and microfiltration analysis to the diagnosis and valuation of pulmonary asbestosis. - Comunicação apresentada no Joint Meeting SEP-SEPCR, Londres, 9-14 Setembro de 1990.
- [3] BALIAN G., CLIK E.M., CROUCH E., DAVIDSON J.M., BORNSTEIN P. - Isolation of a collagen binding fragment from fibronectin and cold insoluble globulin. - *J. Biol. Chem.*, 254: 1429, 1979.
- [4] BECKLAKE M.R. - Asbestos-related diseases of the lung and other organs: their epidemiology and implications for clinical practice. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 114: 187, 1976.
- [5] BITTERMAN P.B., RENNARD S.I., HUNNINGHAKE G.W., CRYSTAL R.G. - Human alveolar macrophages growth factor for fibroblasts: regulation and parcial characterization. - *J. Clin. Invest.*, 70: 806, 1982.
- [6] BITTERMAN P.B., RENNARD S.I., ADELBERGS, CRYSTAL R.G. - Role of fibronectin as a growth factor for fibroblasts. - *J. Cell. Biol.*, 97: 1925, 1983.
- [7] BRODY A.R., HILL L.H., ADKINS JR. B., O'CONNOR R.W. - Chrysotile asbestos inhalation in rats: Deposition pattern and reaction of alveolar epithelium and pulmonary macrophages. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 123: 670, 1981.
- [8] BROWN R.C., CHAMBERLAIN M., GRIFFITHS D.M., TRIMBELL V. - The effect of fibre size on the in vitro biological activity of three types of amphibole asbestos. - *Int. J. Cancer*, 58: 587, 1978.
- [9] CANTIN A., ALLARD C., RÉGIN R. - Increased alveolar plasminogen activator in early asbestosis. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139: 604, 1989.
- [10] CAMPBELL E.J., SENIOR R.M., MCDONALD J.A., COX D.L. - Proteolysis by neutrophils - Relative importance of cell-substrate contact and oxidative inactivation of proteinase inhibitors in vitro. - *J. Clin. Invest.* 70: 845, 1982.
- [11] CHAPMAN H.A., STONE O.L., VAVRIN Z. - Degradation of fibrin and elastin by intact human alveolar macrophages in vitro: characterization of a plasminogen activator and its role in matrix degradation. - *J. Clin. Invest.*, 73: 806, 1984.
- [12] COHEN A.B. - The effects in vivo and in vitro of the oxidative damage to purified alfa 1 - antitrypsin and to the enzyme - inhibiting activity of plasma. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 119: 953, 1979.
- [13] COSTABEL U., BROSS K.Y., HUCK E., GUZMAN J., MATTHYS H. - Lung and blood lymphocyte subsets in asbestosis and in mixed dust pneumoconiosis. - *Chest*, 91: 110, 1987.
- [14] CRAIGHEAD J.E., MOSSMAN B.T. - The patogenesis of asbestos-associated diseases. - *N. Engl. J. of Med.*, 306: 1446, 1982.
- [15] DAMIANO V.V., TSANG A., CHRISTNER P., ROSENBLOOM J., WEINBAUM G. - Immunologic localization of elastin by electron microscopy. - *Am. J. Pathol.*, 96: 439, 1979.
- [16] DONALDSON K., SLIGHT J., HANNAT D., BOLTON R.E. - Increased release of hydrogen peroxide and superoxide anion from asbestos primed macrophages. - *Inflammation*, 9: 139, 1985.
- [17] DONALDSON R., CULLEN R.T. - Chemiluminescence of asbestos-activated macrophages. - *Br. J. Exp. Pathol.*, 65: 81, 1984.

- [18] DUBOIS C.M., BISSONNETTE E., ROLA-PLESZCZYNSKS M. - Asbestos fibers and silica particles stimulate rat alveolar macrophages to release Tumor necrosis factor. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139: 1257, 1986.
- [19] FANTOME J.C., WARD P.A. - Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. - *Am. J. Pathol.*, 107: 397, 1982.
- [20] GADEK J., HUNNINGHAKE G., SCHOENBERGER C., FELS G., CRYSTAL R. - Pulmonary asbestos and idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenetic parallels. - *Chest*, 80, suppl: 635, 1981.
- [21] GADEK J.E., FELS G., HUNNINGHAKE G.W., CRYSTAL R.G. - Interaction of the alveolar macrophage (AM) and the circulating neutrophil: AM-induced neutrophil activation. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 119: 66 (abstract), 1979.
- [22] GARCIA J.N.G., GRIFFITH D.E., COHEN A.B., CALLAHAM K.S. - Alveolar macrophages from patients with asbestos exposure release increased levels of leucotrien B4. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139: 1494, 1989.
- [23] GAUS-MULLER V., KLEINMAN H.K., MARTIN G.R., SCHIFFMAN G. - Role of attachment factors and attractants in fibroblast chemotaxis. - *J. Lab. Clin. Med.*, 96: 1071, 1980.
- [24] GOODLICK L.A., KANE A.B. - Role of reactive oxygen metabolites in crocidolite asbestos toxicity to mouse macrophages. - *Cancer Res.*, 46: 5558, 1986.
- [25] HARTMAN D.P., GEORGIAN M.M., OGHISO Y., KAGAN E. - Enhanced interleukin activity following asbestos inhalation. - *Clin. Exp. Immunol.*, 55: 643, 1984.
- [26] HAYES A.A., MULLEN B., LOVEGROVE F.T., ROSE A.H., MUSK A.W., ROBINSON B.W. - Gallium lung scanning and broncoalveolar lavage in crocidolite-exposed workers. - *Chest*, 96: 22, 1989.
- [27] HUNNINGHAKE G.W., GADEK J.E., KAWANAMI O., FERRANS V.Y., CRYSTAL R.G. - Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease: evaluation by broncoalveolar lavage. - *Am. J. Pathol.*, 97: 149, 1979.
- [28] JOHNSON D.A., TRAVIS J. - Structural evidence for methionine at the reactive site of human alfa-1-proteinase inhibitor. - *J. Biol. Chem.* 253: 7142, 1978.
- [29] KAGAN E., OGHISO Y., HARTMANN D.P. - Enhanced release of a chemoattractant for alveolar macrophages following asbestos inhalation. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 128: 680, 1983.
- [30] KAMP D.W., DUNNE M., WEITZMAN S.A., DUNN M.M. - The interaction of asbestos and neutrophils injuries cultured human pulmonary epithelial cells: role of hydrogen peroxide. - *J. Lab. Clin. Med.*, 114: 604, 1989.
- [31] KRANE S.M. - Degradation of collagen in connective tissue diseases. Rheumatoid arthritis. In: Burleigh RMC, Poole AR, eds. Dynamics of connective tissue macromolecules. Amsterdam: Elsevier-North Holl and Publishing Company, pg. 309, 1975.
- [32] LWEBUGA-MUKASA J.S., INGBAR D.H., MADRI J.A. - Repopulation of human alveolar matrix by adult rat type II pneumocytes in vitro. - *Exp. Cell. Res.*, 162: 423, 1986.
- [33] MARTIN W.J. II, GADEK J.E., HUNNINGHAKE G.W., CRYSTAL R.G. - Polymorphonuclear leucocyte-induced lung injury: a quantitative in vitro model. - *Clin. Res.*, 29: 449 (abstract), 1981.
- [34] MARTIN T.R., ALTMAN L.C., ALBERT R.K., HENDERSON W.R. - Leukotriene B4 production by the human alveolar macrophage. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 129: 106, 1984.
- [35] MCDONALD A.D., MCDONALD J.C. - Malignant mesothelioma in North America. - *Cancer*, 46: 1650, 1980.
- [36] MOSSMAN B.T., MARSH J.P., SANTOS M.A. - Alteration of superoxide dismutase activity in tracheal epithelial cells by asbestos and inhibition of cytotoxicity by antioxidants. - *Lab. Invest.* 54: 204, 1986.
- [37] MOSSMAN B.T., GEE J.B.L. - Asbestos-related diseases. - *N. Engl. J. of Med.*, 320: 1721, 1989.
- [38] National Research Council, Committee on Nonoccupational Health Risks. Washington, D.C.: National Academic Press, 1984.
- [39] REYNOLDS H.Y. - Lung inflammation: role of endogenous chemotactic factors in attracting polymorphonuclear granulocytes. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 127: 18, 1983.
- [40] ROBINSON B.W. - Asbestos and cancer: human natural killer cell activity is suppressed by asbestos fibers but can be restored by recombinant interleukin-2. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139: 897 (abstract), 1989.
- [41] ROM W.N., BITTERMAN P.B., RENNARD S.I., CANTIN A., CRYSTAL R. G. - Characterization of the lower Respiratory tract inflammation of nonsmoking individuals with interstitial lung disease associated with chronic inhalation of inorganic dusts. - *Am. Rev. Respir. Dis.* 136: 1429, 1987.
- [42] SAINT-REMY J.M.R., COLE P. - Interactions of chrysotile asbestos fibers with the complement system. - *Immunology*, 41: 431, 1980.
- [43] SCHRAUFSTATER I., HYSLOP P.A., JACKSON J.A., COCHRANE C.G. - Oxidant-induced DNA damage of target cells. - *J. Clin. Invest.*, 82: 1040, 1988.

- [44] SENIOR R.M., TEGNER H., KUHN C., OHLSSON K., STARCHER B., PIERCE J.A. - The induction of pulmonary emphysema with human leucocyte elastase. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 116: 469, 1977.
- [45] SENIOR R.M., GRIFFIN G.L., MECHAM R.P. - Chemotactic activity of elastin-derived peptides. - *J. Clin. Invest.*, 66: 859, 1980.
- [46] SIMON R.H., DEHART P.D., TODD III R.F. - Neutrophil-induced injury of rat pulmonary alveolar epithelial cells. - *J. Clin. Invest.* 78: 1375, 1986.
- [47] SPURZEM J., SALTINI C., ROM W.N., WINCHESTER R.J., CRYSTAL R.G. - Mechanisms of macrophage accumulation in the lungs of asbestos-exposed subjects. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136: 276, 1987.
- [48] TIMBRELL V. - The inhalation of fibrous dusts. - *Ann. NY Acad. of Sc.*, 133: 255, 1965.
- [49] WAGNER J.C., SLEGGES C.A., MARCHAND P. - Diffuse pleural mesotelioma and asbestos exposure in North Western Cape Province. - *Br. J. Ind. Med.*, 17: 260, 1960.
- [50] WALLACE J.M., OISHI J.S., BARBERS R.G., BATRA P., ABERLE D.R. - Broncoalveolar lavage cell and lymphocyte phenotype profiles in healthy asbestos-exposed shipyard workers. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139: 33, 1989.
- [51] WARHEIT D.B., CHANG L.Y., HILL L.H., HOOK G.E.R., CRAPO J.D., BRODY A.R. - Pulmonary macrophage accumulation and asbestos-induced lesions at sites of fiber deposition. - *Am. Rev. Respir. Dis.*, 129: 301, 1984.
- [52] WERB Z., BANDA M.Y., JONES P.A. - Degradation of connective tissue matrices by macrophages: proteolysis of elastin, glycoproteins and collagen by proteinases isolated from macrophages. - *J. Exp. Med.*, 152: 1340, 1980.
- [53] YERNAULT J.C. - A análise mineralógica do pulmão profundo. - XIV Jornadas de Pneumologia. Coimbra 6-7 de Julho de 1990.