

## «Alveolite subclínica nos indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana»

## «Subclinical alveolitis in infected individuals by the human immunodeficiency virus.»

BAGANHA, MF<sup>(1)</sup>; MARQUES, MAT<sup>(1)</sup>; LEITE, I.<sup>(1)</sup>; ROBALO CORDEIRO, C.<sup>(1)</sup>; MOTA PINTO A.<sup>(2)</sup>; TEIXEIRA, ML<sup>(3)</sup>; ANJOS, MJ<sup>(2)</sup>; LIMA, MAM<sup>(2)</sup>; CORTE REAL R<sup>(4)</sup>; SERRA, E.<sup>(4)</sup>; MALCATA, L.<sup>(4)</sup>; LOPES, C.<sup>(4)</sup>; NUNES, MJ<sup>(5)</sup>; FRADINHO, F.<sup>(1)</sup>; SILVESTRE, MJ<sup>(1)</sup>; SANTOS ROSA, MA<sup>(2)</sup>; MELIÇO SILVESTRE, A.<sup>(4)</sup>; ROBALO CORDEIRO, AJA<sup>(1)</sup>

CENTRO DE PNEUMOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

(Director — Prof. Doutor A.J.A. Robalo Cordeiro)

### RESUMO

Face à possibilidade de o HIV atingir precocemente o pulmão profundo, os AA procuraram averiguar os desvios que ocorrem nas células inflamatórias e/ou imunocompetentes deste território orgânico na fase de latência clínica desta infecção.

Com essa finalidade aplicaram o seguinte protocolo a 14 voluntários HIV1 positivos (11 homens e 3 mulheres), clinicamente assintomáticos (Grau II da Classificação CDC) e com uma média de idades de  $31.2 \pm 4.4$  anos. Todos eram ex-toxicodependentes e neles predominavam os fumadores (13) sobre os não fumadores (1), com uma carga tabágica de  $19.4 \pm 7.0$  maços/ano:

• Exame da celularidade total e percentual do líquido de lavagem broncoalveolar (LLBA) recolhido por broncofibroscopia.

- Avaliação da imunidade celular através da fenotipagem das populações e subpopulações linfocitárias (CD2, CD19, CD4, CD8, CD4/CD8, CD2CD16, CD5CD19), quer no LLBA, quer no sangue periférico.

- Avaliação da imunidade humoral a partir do doseamento das imunoglobulinas A, G e M (IgA, IgG e IgM), tanto no sangue como no LLBA.

- Realização de exames bacteriológico, fúngico e parasitológico do LLBA.

- Realização de tomografia axial computadorizada (TAC) torácica com cortes de alta resolução (TAC-AR).

Dos resultados obtidos destacam-se:

- Presença de uma alveolite de características subclínicas, com comprometimento das células fagocitárias e dos linfócitos T-CD8 (provavelmente subpopulações citotóxicas).

(1) Serviço de Pneumologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra

(2) Centro de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra

(3) Serviço de Radiologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra

(4) Serviço de Doenças Infecciosas dos Hospitais da Universidade de Coimbra

(5) Serviço de Pneumologia do Hospital Militar de Coimbra

- Maior número de células B no sangue do que no LLBA (com diferença estatisticamente significativa).
- Significativo aumento da subpopulação B-CD5CD19 no LLBA em relação ao sangue.
- Níveis séricos genericamente elevados das imunoglobulinas, particularmente da IgG.
- Presença de imagens compatíveis com alveolite na TAC-AR dos indivíduos com taxas de linfócitos T-CD2CD6 superiores a 10%, e somente nestes doentes.

Finalmente, os AA procedem à discussão destes resultados, com particular incidência nos mecanismos imunopatogénicos subjacentes às alterações imunitárias que atingem o pulmão profundo dos indivíduos infectados pelo HIV, em fase de latência clínica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alveolite. Alveolite Subclínica. Fenótipos Linfocitários. Infecção HIV. Imunidade Humoral. Imunidade Celular. Lavagem Broncoalveolar. TAC de Alta Resolução.

## SUMMARY

Concerning the early involvement of deep lung by HIV, the authors tried to verify the deviations in inflammatory and immunocompetent cells of this organ during the clinical latency of this infection.

So, we have studied 14 voluntary HIV positive asymptomatic individuals (clas. II of the CDC classification) (11 men and 3 women), clinically asymptomatic with a mean age of  $31.2 \pm 4.4$  years. All ex-drug users 13 smokers and 1 non-smoker; tobacco charge of  $19.4 \pm 7.0$  packets/year. All of them were submitted to the following study:

## INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ocorre através da ligação deste agente a estruturas celulares de superfície identificadas com os receptores moleculares CD4 [2, 15, 18, 19, 23, 25]. Assim, os linfócitos T-CD4 e as células da linha monocítica encontram-se mais expostas a esta infecção, embora outros elementos celulares, como os linfócitos B, as células dendríticas e os percursores timocitários possam ser igualmente atingidos. No

- total and percentual cellularity of BALF, obtained through flexible fiberoptic bronchoscopy.
- Evaluation of the cellular immunity trough phenotypic study of the lymphocyte populations and subpopulations (CD2, CD19, CD4, CD8, CD4/CD8, CD2CD16, CD5CD19), both in blood and in BALF.
- Study of humoral immunity trough the serum and BALF / evaluations of immunoglobulins A, G and M.
- Bacteriological, parasitologic and fungic exams of BALF.
- horacic CT high resolution scans (HRCT)
- From the results we emphasize:
  - A subclinical alveolitis with involvement of the phagocite and lymphocyte cells T-CD8 (eventually cytotoxic subpopulations)
  - Increased number of B cells in blood than in BALF with significant statistical differences
  - Significant increased of sub population B-CD5CD19 in BALF than in blood.
  - Global normal numbers of T cells, both in blood as in the BALF.
  - Marked decreased of the subpopulation T-CD4 and the CD4/CD8 ratio, with tight values in these two biological means.
  - Significant increased of the NK activity of T-CD2CD16 cells in BALF than in blood.
  - Presence of a «ground glass» pattern on HR-CT scans only on individuals with values of lymphocytes T CD2-CD16 higher than 10%.
  - Serum and BALF values of immunoglobulins globally increased, particularly IgG.

Finally, the Authors discuss the results on basis of the immunopathogenetic mechanisms involved in the immunological abnormalities founded in the deep lung of individuals infected by HIV in the early clinical phase.

**KEY WORDS:** Alveolitis; Subclinical Alveolitis; HIV Infection; Cellular Immunity; HR-CT.

entanto, resultados de recentes investigações sugerem a hipótese de o HIV poder invadir todas as células humanas, ao ter sido demonstrada a sua penetração em células que não possuem receptores CD4, como as neurais, hepáticas e epiteliais.

Na sequência da infecção primária e da intensa virémia que ela desencadeia, 50 a 70% dos indivíduos manifestam uma síndrome aguda, tipo mononucleose like, que se mantém, habitualmente, por três a seis semanas (Fig. 1). Neste curto intervalo de tempo, em que se inicia a resposta imune ao HIV,

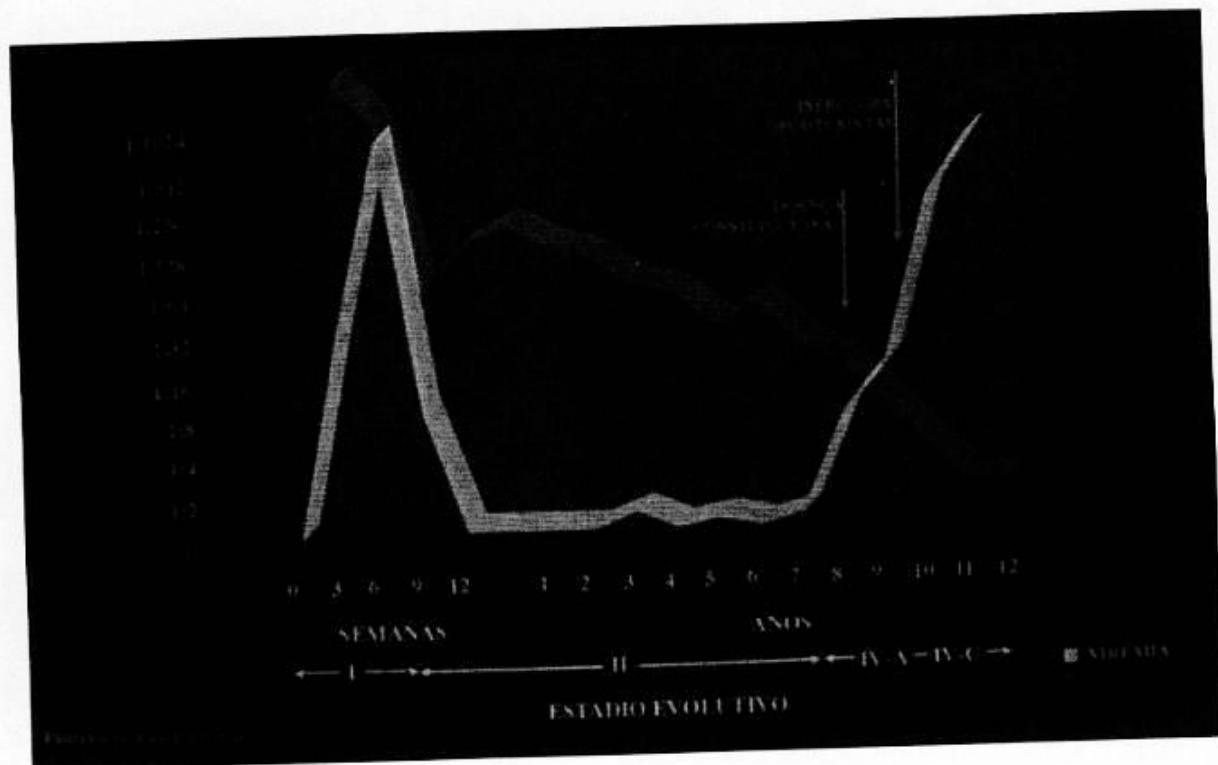


FIG. 1 — Perfil evolutivo da virémia e da subpopulação linfocitária T-CD4 ao longo da infecção pelo HIV.

assiste-se a uma disseminação viral, particularmente em direcção aos órgãos linfoides, onde, uma grande percentagem permanece «sequestrada» durante um longo período de tempo [19].

Esta fase caracteriza-se (Fig. 1) pela latência clínica, de acordo com a ausência de uma virémia significativa. Só ao cabo de oito a dez anos de evolução e como consequência das lesões induzidas nos órgãos linfoides, com involução dos centros germinativos e desaparecimento da rede de células dendríticas, o vírus regressa à corrente circulatória determinando uma segunda elevação dos níveis da virémia [2, 19, 23, 25]. É a partir deste momento, e coincidentemente com uma acentuada depleção linfóide, que surgem graves e persistentes sinais e sintomas constitucionais, infecções oportunistas e neoplasias, que caracterizam a fase de SIDA, cujo início precede a morte dois a três anos (Fig. 1).

Face à possibilidade de o HIV atingir precoceamente o aparelho respiratório, quer após a travessia da barreira alvéolo-capilar, como um vírião extracelular livre, mas principalmente através das células circulantes infectadas que migrem em direcção a este território [2, 17, 18, 23], é possível que ele aí desencadeie, desde as fases mais precoces da infecção, alterações de variada natureza, entre as quais poderá assumir relevante importância patogénica o estabelecimento de uma alveolite.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste contexto tivemos oportunidade de estudar 14 voluntários (11 homens e 3 mulheres) HIV1 positivos em fase assintomática (Classe II da Classificação CDC), com uma média de idades de  $31.2 \pm 4.4$  anos.

Eram todos ex-toxicodependentes e neles predominavam os fumadores (treze) sobre os não fumadores (um), com uma carga tabágica média de  $19.4 \pm 7.0$  maços/ano.

Todos os indivíduos foram submetidos, para além dos habituais exames clínico, bioquímico, hematológico, telerradiográfico do tórax em dois planos perpendiculares (postero-anterior e lateral) e da expectoração (bacteriológico, fúngico e parasitológico), ao seguinte protocolo:

- Broncofibroscopia destinada à realização de lavagem broncoalveolar (LBA), em cujo líquido (LLBA) se viria a efectuar:
  - A determinação da celularidade total e percentual.
  - A avaliação da imunidade celular, através da contagem das populações e subpopulações linfocitárias (CD2, CD19, CD4, CD8, CD4/CD8, CD2CD16, CD5CD19).
  - A avaliação da imunidade humoral através do doseamento das imunoglobulinas A, G e M (IgA, IgG e IgM).

- Realização de exames bacteriológico, fúngico e parasitológico.
- Avaliação das imunidades celular e humoral no sangue periférico, a partir dos mesmos parâmetros utilizados no LLBA, em onze e sete dos indivíduos, respectivamente.
- Tomografia axial computorizada (TAC) do tórax com cortes de alta resolução (TAC-AR).

A celularidade total e percentual do LBA foi determinada por microscopia de luz.

O estudo das populações e subpopulações linfocitárias processou-se através de imunofenotipagem com anticorpos monoclonais (CD2, CD19, CD4, CD5, CD16) e leitura em citómetro de fluxo ("FACSTAR PLUS DA FIRMA BECKTON DICKINSON").

O doseamento das imunoglobulinas foi realizado por Nefelometria Laser.

A TAC-AR torácica foi obtida num aparelho SOMATON ART (SIEMENS) com matriz de imagem de 512x512 e cortes de 2 mm de espessura, seriados e intervalados de 10 mm, dos vértices pulmonares até às hemicúpulas diafragmáticas. O tempo de aquisição de imagem foi de três segundos e utilizou-se um algoritmo de alta resolução. Para a realização deste exame os doentes encontravam-se em posição supina e as imagens, efectuadas durante a inspiração profunda, foram gravadas com centro de janela de — 600 UH e largura de 1400.

Como controlo utilizaram-se os valores de referência do Laboratório do Centro de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra:

— Celularidade do LLBA: número total de células < 1 80/mm<sup>3</sup>; macrófagos - 80 a 90%; linfócitos < 15%; polimorfonucleares neutrófilos < 4%; eosinófilos < 1%.

— Populações e subpopulações linfocitárias: linfócitos B - 10 a 12%; linfócitos T - cerca de 75%; CD4 - 40 a 45%; CD8 - 30 a 35%; CD2CD16 < 10%.

— Imunoglobulinas sérias: IgG - 988 a 1382 mg%; IgA - 173 a 379 mg%; IgM - 50 a 158 mg%.

As telerradiografias e as TACs torácicas foram referenciadas aos padrões utilizados no Serviço de Radiologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

Na interpretação estatística dos resultados utilizaram-se o teste t de Student para o cálculo de médias e desvio padrão e um programa comercial "STATSWORK" para a análise de regressão linear.

## RESULTADOS

### — DA CELULARIDADE DO LIBA

A celularidade total (Quadro I) encontrava-se anormalmente elevada ( $479.8 \pm 390.7$  células/mm<sup>3</sup>).

QUADRO I  
CELULARIDADE DO LÍQUIDO DE LAVAGEM BRONCOALVEOLAR

CASO CLÍNICO	Células totais (/mm <sup>3</sup> )	Macrófagos (%)	Linfócitos (%)	PMN-N (%)	Monócitos (%)	Eosinófilos (%)
ES	248	92.6	6.7	0.7	0.0	0.0
SB	300	84.9	6.5	3.8	4.3	0.5
JORC	477	94.5	3.0	1.5	1.0	0.0
VMSR	205	94.1	2.8	2.0	1.1	0.0
MD	501	97.4	2.3	0.0	0.0	0.3
MFB	1593	78.9	9.2	8.8	2.4	0.7
PPF	295	94.0	1.5	2.1	1.5	0.9
MS	223	84.6	12.9	1.7	0.8	0.0
JRM	735	95.2	3.8	0.7	0.0	0.3
AM	196	87.4	8.4	3.4	0.8	0.0
SHC	505	85.9	9.5	4.0	0.5	0.1
RRZ	912	84.3	10.5	3.9	1.3	0.0
MCRB	313	93.9	3.1	1.3	1.7	0.0
JCAM	404	92.6	5.4	1.0	1.0	0.0
TOTAIS	$479.8 \pm 390.7$	$90.1 \pm 5.6$	$6.1 \pm 3.6$	$2.5 \pm 2.2$	$1.2 \pm 1.1$	$0.2 \pm 0.3$

Por seu lado, a distribuição percentual correspondente a este conjunto celular (Quadro I) mostrou um expressivo predomínio de macrófagos ( $90.1 \pm 5.6\%$ ), os quais ultrapassavam a taxa de 90% em 57.1% dos casos (oito indivíduos). Quanto aos linfócitos ( $6.1 \pm 3.6\%$ ), só em dois casos excediam, ligeiramente aliás, os 10% (10.5 e 12.9%). Já os polimorfonucleares neutrófilos, globalmente abaixo do limite superior da normalidade ( $2.5 \pm 2.2\%$ ), apresentavam uma generalizada dispersão individual, com apenas um indivíduo a ultrapassar a barreira dos 4%.

A percentagem de monócitos não ia além dos  $1.2 \pm 1.1\%$ .

E os eosinófilos, somente presentes nos LLBA em 42.9% dos casos (seis indivíduos), atingiram, em média, a cifra de  $0.2 \pm 0.3\%$ .

#### — DAS POPULAÇÕES E SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS

Os linfócitos B (Quadro II), significativamente ( $p < 0.02$ ) em maior número no sangue ( $7.9 \pm 3.0$ ) do que no LLBA ( $3.9 \pm 4.0$ ), apresentavam-se anor-

mal e globalmente diminuídos. Pelo contrário, os linfócitos T (Quadro II) não se afastavam do limite superior da normalidade, com valores sobreponíveis nos dois meios biológicos considerados:  $76.4 \pm 6.6\%$  no sangue e  $76.3 \pm 12.7\%$  no LLBA. As células T-CD4 (Quadro III) encontravam-se expressivamente diminuídas, tanto no sangue ( $18.6 \pm 6.5\%$ ) como no LLBA ( $19.9 \pm 10.7\%$ ), enquanto que os linfócitos T-CD8 (Quadro III) apresentavam valores muito superiores ao seu máximo normal:  $58.4 \pm 10.2\%$  no sangue e  $57.3 \pm 17.2\%$  no LLBA. Nestas condições, a relação CD4/CD8, com taxas muitoaproximadas no sangue ( $0.3 \pm 0.2$ ) e no LLBA ( $0.4 \pm 0.2$ ), atingia níveis anormalmente baixos (Quadro III).

A subpopulação linfoцитária T-CD2CD16, com uma acentuada dispersão individual (Quadro III), revelou valores significativamente ( $p < 0.01$ ) mais elevados no LLBA ( $9.1 \pm 8.2\%$ ) em relação aos detectados no sangue ( $4.2 \pm 3.2\%$ ).

Os linfócitos B-CD5CD19 (Quadro III), com valores igualmente muito dispersos, apresentavam-se significativamente ( $p < 0.03$ ) mais numerosos no LLBA ( $6.3 \pm 7.2\%$ ) do que no sangue ( $1.8 \pm 1.6\%$ ).

#### QUADRO II

POPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS B E T NO SANGUE E NO LÍQUIDO DE LAVAGEM BRONCOALVEOLAR (%)

CASO CLÍNICO	< CD19		CD2	
	Sangue	LLBA	Sangue	LLBA
ES	8.8	2.3	64.6	62.2
SB	9.5	3.7	69.7	63.7
JORC	6.0	2.5	82.4	82.9
VMSR	13.8	1.5	73.1	87.5
MD	—	5.5	—	78.2
MFB	12.5	6.5	69.3	73.7
PPF	5.2	2.2	82.6	87.3
MS	5.6	1.1	82.0	86.2
JRM	—	1.7	—	75.7
AM	6.7	3.2	80.1	86.4
SHC	7.7	3.8	79.4	74.1
RRZ	5.6	0.8	73.7	93.9
MCRB	—	2.8	—	70.5
JCAM	5.8	16.7	83.9	46.2
TOTais	7.9	3.9	76.4	76.3
	$\pm 3.0$	$\pm 4.0$	$\pm 6.6$	$\pm 12.7$
$p < 0.02$				

## QUADRO III

POPULAÇÕES LINFOCITARIAS T-CD4, CD8, CD2CD16 e B-CD5CD19 NO SANGUE E NO LÍQUIDO DE LAVAGEM BRONCOALVEOLAR (%)

CASO CLÍNICO	CD4		CD8		CD4/CD8		CD2CD16		CD5CD19	
	Sangue	LLBA	Sangue	LLBA	Sangue	LLBA	Sangue	LLBA	Sangue	LLBA
ES	25.8	33.8	50.8	40.8	0.51	0.82	9.7	19.5	1.5	7.6
SB	16.4	24.5	55.3	50.3	0.30	0.49	3.1	5.3	1.0	3.7
JORC	19.4	15.1	64.0	69.5	0.30	0.22	5.9	2.5	3.4	1.5
VMSR	23.0	20.9	42.6	63.7	0.54	0.33	6.6	0.9	1.9	0.5
MD	—	19.5	—	52.9	—	0.37	—	15.5	—	4.4
MFB	7.5	7.7	58.3	69.0	0.13	0.11	9.3	9.7	1.7	6.5
PPF	20.5	35.7	60.6	46.7	0.34	0.76	2.2	1.0	5.1	1.1
MS	11.1	15.1	72.5	69.3	0.15	0.22	1.6	1.5	0.1	1.5
JRM	—	19.1	—	38.7	—	0.49	—	10.1	—	4.2
AM	15.8	9.1	69.4	77.0	0.23	0.12	1.8	4.4	—	—
SHC	22.6	36.2	51.6	58.1	0.44	0.62	2.8	11.9	0.5	10.3
RRZ	12.9	0.7	71.3	92.3	0.18	0.01	3.2	0.7	—	—
MCRB	—	26.3	—	46.1	—	0.57	—	16.7	—	7.3
JCAM	29.0	14.5	45.8	28.4	0.63	0.50	0.3	27.2	1.2	2.7
TOTAIS	18.6 ±6.5	19.9 ±10.7	58.4 ±10.2	57.3 ±17.2	0.3 ±0.2	0.4 ±0.2	4.2 ±3.2	9.1 ±8.2	1.8 ±1.6	6.3 ±7.2
							p < 0.01		p < 0.03	

## — DAS IMUNOGLOBULINAS

Os níveis séricos de IgA (Quadro IV) ultrapassavam ligeiramente o seu valor normal ( $396 \pm 264$  mg%), acompanhando níveis no LLBA de  $0.8 \pm 0.2$  mg%. Já em relação à IgG (Quadro IV) foi possível reconhecer, no sangue periférico, taxas muito superiores ao normal ( $1932 \pm 693$  mg%), com valores no LLBA de  $2.3 \pm 1.4$  mg%. A IgM, apenas doseada no sangue, atingiu, neste meio biológico, níveis ( $259 \pm 180$  mg%) que se afastavam largamente da normalidade.

## — DO ESTUDO BACTERIOLÓGICO, MICOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DO LLBA

Os LLBAs não continham fungos nem parasitas e os exames bacteriológicos efectuados apenas revelaram a presença de uma flora saprófita, sem germes patogénicos, não tendo sido reconhecida a presença de *Mycobacterium Tuberculosis* em qualquer dos indivíduos estudados.

## — DA TAC TORÁCICA COM CORTES DE ALTA RESOLUÇÃO

Entre as perturbações assinaladas nas TACs torácicas em 85.7% dos casos (doze doentes), permitimo-nos destacar a presença de imagens em *vidro despolido* compatíveis com um processo de alveolite, em cinco indivíduos, como se pode constatar no exemplo inserido na Fig. 2.

## DISCUSSÃO

Das múltiplas modalidades de reacção do pulmão profundo a um diversificado número de agressões, tanto endógenas como exógenas, tem vindo a ga-

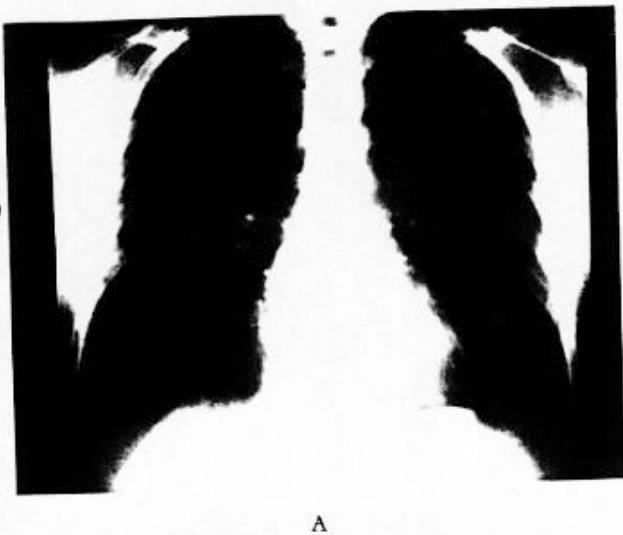
## QUADRO IV

DOSEAMENTO DAS IMUNOGLOBULINAS NO SANGUE E NO LÍQUIDO DE LAVAGEM BRONCOALVEOLAR (mg%)

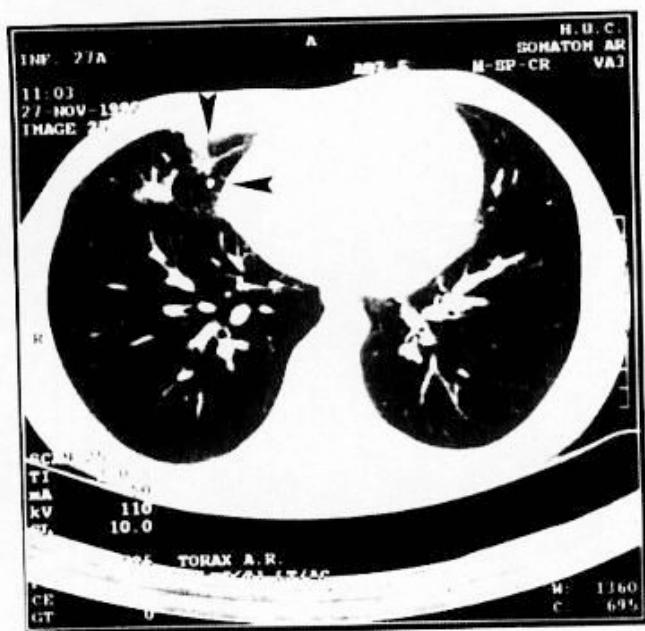
Meio Biológico	IgA	IgG	IgM
Sangue (n=7)	$396 \pm 264$	$1932 \pm 693$	$259 \pm 180$
LLBA(n=14)	$0.8 \pm 0.2$	$2.3 \pm 1.4$	—

nhar individualidade nos últimos anos uma forma particular de alveolite caracterizada por uma diminuta capacidade de reacção deste território orgânico mas susceptível de diversos tipos de evolução — a alveolite subclínica [1,3, 4,5, 12, 13, 16, 20, 21, 22, 26, 27, 31].

A sua definição assenta, fundamentalmente, em dois importantes critérios: ausência de sintomas e de sinais clínicos e presença de teleradiografias torácicas inalteradas [20].



A



B

FIG. 2 — Telerradiografia torácica (A) sem alterações de um indivíduo infectado pelo HIV, em período de latência clínica, e correspondente corte de TAC com alta resolução (B) no qual se podem reconhecer imagens em *vidro despolido* (→) sugestivas de alveolite.

Quanto à sua metodologia diagnóstica têm sido propostas diversas técnicas; no entanto, a LBA e a TAC-AR parecem representar, pela sua acessibilidade, precocidade e capacidade de diferenciação, as modalidades semiológicas com mais interesse na detecção destas situações clínicas, nomeadamente quando os seus resultados são interpretados simultaneamente [4,5, 9, 14, 20].

Em relação a este conjunto de indivíduos que tivemos oportunidade de estudar, a reacção das áreas respiratórias mais distais, traduzida numa expressiva elevação da celularidade total do LLBA, permite, na ausência de perturbações clínicas e de alterações radiográficas, o enquadramento destas situações, à semelhança de tantas outras, no âmbito das alveolites subclínicas [2, 6, 15, 23, 24].

Face ao acrescido afluxo celular aos territórios alvéolo-intersticiais, responsável pelos desvios da celularidade destes LLBAs, dir-se-ia que o largo predomínio de células macrofágicas, as quais ultrapassavam a taxa de 90% em mais de metade dos casos, parecia determinar as características celulares desta alveolite. Aliás, a presença, praticamente constante neste meio biológico, de um apreciável número de monócitos faz pressupor a existência de um rápido *turnover* da linha monocítica/macrofágica.

Este tipo de alveolite estaria de acordo com as perturbações celulares do pulmão profundo desencadeados pelo HIV na fase inicial da afecção. Com efeito, os macrófagos alveolares infectados por este vírus adquirem características funcionais muito particulares (maior capacidade de apresentação antigénica, acrescida expressão da determinante CD4 e sinais de acentuada activação, entre outras), as quais, associadas a uma mais intensa actividade de alguns dos mediadores biológicos comprometidos na resposta imune e com origem nestes elementos celulares, acabam por desencadear um ciclo vicioso responsável pela expansão e perpetuação da infecção [2, 6, 10, 11, 15, 17, 23, 24]. Na verdade, como se pode observar na Fig. 3, uma maior quantidade de factor de estimulação do crescimento dos macrófagos e granulócitos (GM-CSF) e do factor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sintetizados pelo macrófago alveolar portador de infecção latente atraem ao pulmão profundo os monócitos periféricos; por sua vez, esses medidores, associados à interleucina 6 (IL-6), virão a desencadear uma reactivação da expressão HIV nas células com infecção latente, originando, assim, a colonização dos macrófagos não infectados recentemente instalados nesse território [2, 15, 17, 19, 23, 24, 29]. Por isso se sugere que este fatal ciclo

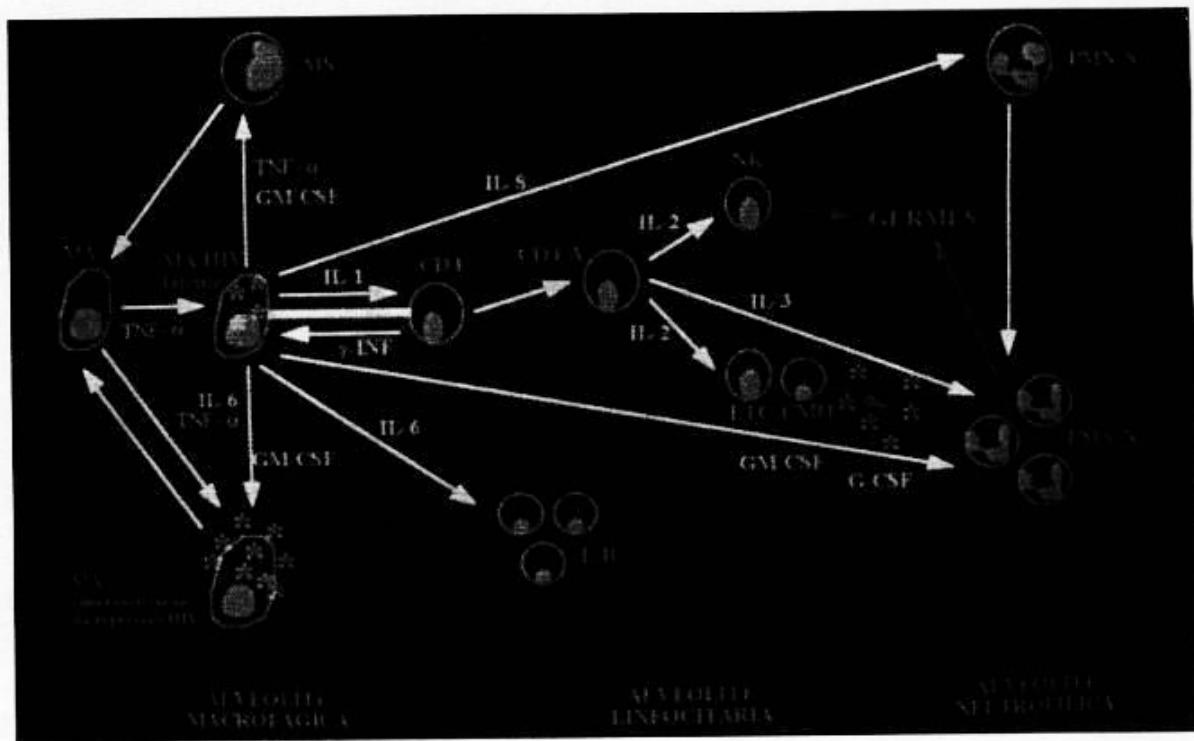


FIG. 3 — Proposta de um esquema representativo dos principais acontecimentos imunopatogénicos desencadeados no pulmão profundo pela infecção HIV (Esquema pessoal).

vicioso assume uma decisiva relevância, tanto na génesis da alveolite, como na disseminação da infecção.

A observação dos resultados da distribuição percentual dos diferentes elementos que integravam a celularidade do LLBA sugere que nem as células linfocitárias nem os polimorfonucleares neutrófilos teriam contribuído para a instalação destes quadros de alveolite, já que em relação a este conjunto celular a taxa de linfócitos se situou invariavelmente abaixo do seu patamar superior de normalidade e apenas num indivíduo a percentagem de neutrófilos ultrapassou esse limite.

Pelo que diz respeito a estas últimas células, a ausência de infecções, nomeadamente oportunistas, na fase de latência clínica, como seria de aguardar face aos resultados do estudo bacteriológico, fúngico e parasitológico dos nossos LLBAs, poderá justificar estes resultados. Com efeito, só nas fases mais adiantadas da afecção, e na presença de uma agressão infeccciosa, estas células são atraídas ao pulmão através da interleucina 8 (IL-8) de origem macrofágica e aí se acumulam sob a influência da interleucina 3 (IL-3) linfocitária (células CD4 activadas) e dos GM-CSF e G-CSF (Fig. 3), podendo desencadear, nestas circunstâncias, uma alveolite neutrofílica com toda a carga perjorativa que lhe é atribuída em relação às estruturas das regiões alvéolo-intersticiais [1, 2, 15, 17, 23, 29].

Quanto às populações linfocitárias, não se detectou, tanto no LLBA como no sangue, qualquer desvio das células T, mas as células B encontravam-se significativamente diminuídas no primeiro deste meios, em relação ao sangue. Dir-se-ia, assim, que a infecção pelo HIV não acarreta, nas fases iniciais da afecção, uma maior produção de interleucina 6 (IL-6) a partir do macrófago alvéolar, sendo conhecida a importância desta monócina na activação polidona dos linfócitos B (Fig. 3) [2, 15, 17, 23, 25, 29].

Mas se na sua globalidade as células B eram mais numerosas no sangue periférico, a subpopulação B CD5CD19 apresentava-se, significativamente aliás em maior quantidade a nível do pulmão profundo. Qual a razão desta sequestração ou de uma maior expressão local? Poderá este aumento de células B CD5CD19 relacionar-se com fenómenos, mesmo que fugazes, de auto-imunidade? Eis um achado que necessita de ser mais profundamente esclarecido, em estudos que deverão incluir uma apreciação longitudinal destes doentes.

O maior número de linfócitos B no sangue do que no LLBA poderá justificar os elevados níveis de IgG detectados neste meio biológico e, mais moderadamente, das IgA e M, assim como as taxas de IgG presentes no pulmão profundo, onde os valores das imunoglobulinas se encontram dependentes da sua concentração sanguínea e da capacidade de difusão a partir da corrente circulatória [7].

Foi, no entanto, a nível das subpopulações T-CD4 e T-CD8 que se encontraram os mais acentuados e importantes desvios da celularidade recolhida pela LBA. Com efeito, a intensa queda das células T-CD4 e a expressiva elevação dos linfócitos T-CD8 determinavam já relações CD4/CD8 acentuadamente diminuídas e muito distantes dos seus valores normais.

Estes resultados permitem-nos reconhecer que apesar destes indivíduos se encontrarem numa fase de latência clínica e dos reduzidíssimos níveis de virémia que caracterizam este período evolutivo da afecção, as células T-CD4 são alvo, desde muito cedo, de um intenso processo de destruição conduzido por um complexo conjunto de mecanismos que determina a sua progressiva queda, tanto no pulmão profundo como no sangue periférico: efeitos citopáticos directamente exercidos pelo HIV; morte celular programada; formação de sincícios mediada por este vírus; perturbações dependentes da actividade de superantigénios; e, eventualmente, de fenómenos de anergia ou de auto-imunidade e de uma provável resposta imune específica ao HIV (citotoxicidade celular exercida por anticorpos, linfócitos T citolíticos específicos para o HIV e actividade ligada às células NK) [2, 15, 19, 23, 25].

Curiosamente, apesar dos baixos teores de células T-CD4 no pulmão profundo, a síntese de IL-2 ainda se deverá processar, nesta fase evolutiva, a um ritmo que assegure uma eficaz diferenciação, proliferação e acumulação intrapulmonares de linfócitos T-citotóxicos (Fig. 3). Este facto poderá explicar a ausência de sintomatologia que caracteriza este período da afecção, na medida em que dois importantes fenótipos da subpopulação T-CD8, os que se encontram adstrictos ao complexo maior de histocompatibilidade (CMH) e os que exercem uma actividade de NK (não adstricta ao CMH), ao participarem, a par de outros mecanismos, na luta anti-HIV e contra germes endógenos e exógenos, respectivamente, poderão preservar este território das agressões infecções, nomeadamente oportunistas (Fig. 3).

No entanto, esta protecção, efectuada a partir dos linfócitos citotóxicos, que para esse efeito se elevaram numericamente no pulmão profundo, o que estaria de acordo com o significativo aumento das células T-CD2CD16 no LLBA, em relação ao sangue, e, de uma forma geral, com as importantes taxas de células T-CD8 detectadas nestes dois meios biológicos, poderá acarretar efeitos perjorativos sobre as estruturas destas áreas pulmonares, expressos através da sua contribuição para a instalação dos quadros de alveolite [1, 2, 6, 15, 23, 24, 29].

E a corroborar a importância assumida pelas células T-citotóxicas nos mecanismos patogénicos subjacentes à alveolite subclínica dos indivíduos infectados pelo HIV, gostaríamos de assinalar o relacionamento, no nosso conjunto de doentes, entre a TAC-AR e a actividade NK ligada às células CD2CD16 (Quadro V). De facto, todos os indivíduos que apresentavam percentagens destes elementos celulares, e só eles, superiores a 10%, exibiam imagens de TAC sugestivas de alveolite (9). E, neste contexto, não nos pareceu que a condição de ex-toxicomanos que afectava estes indivíduos pudesse ter influenciado os resultados obtidos. Com efeito, o facto de terem abandonado o seu consumo há pelo menos dois anos, e há mais tempo ainda a utilização da via inalatória, parece depor nesse sentido. Para além disso, o perfil celular dos LLBAs de alguns indivíduos ex-toxicodependentes, mas HIV negativos, que tivemos igualmente oportunidade de estudar, era totalmente distinto do que correspondia aos doentes infectados pelo HIV.

Em conclusão, o afluxo de células inflamatórias e imunocompetentes ao pulmão profundo dos indivíduos infectados pelo HIV e que ocorre na fase assintomática desta afecção, determina o desencadeamento de uma alveolite subclínica cujas características celulares (elevação do número de fagócitos e de linfócitos T-citotóxicos) decorrem da

#### QUADRO V

RELAÇÃO ENTRE A ACTIVIDADE NK DO LLBA LIGADA ÀS CÉLULAS T-C2CD16 E A PRESENÇA DE SINAIS DE ALVEOLITE NA TAC-AR TORÁCICA

Caso Clínico	Estadio Evolutivo (Classif. CDC)	CD2CD16 (%)	Sinais de Alveolite
ES	Classe II	19.5	Vidro Despolido
SB	Classe II	5.3	Ausente
JORC	Classe II	2.5	Ausente
VMRS	Classe II	0.9	Ausente
MD	Classe II	15.5	Vidro Despolido
MFB	Classe II	9.7	Ausente
PPF	Classe II	1.0	Ausente
MS	Classe II	1.5	Ausente
JRM	Classe II	10.1	Vidro Despolido
AM	Classe II	4.4	Ausente
SHC	Classe II	11.9	Vidro Despolido
RRZ	Classe II	0.7	Ausente
MCRB	Classe II	16.7	Vidro Despolido
JCAM	Classe II	27.2	Vidro Despolido

luta anti-HIV e da preservação destas regiões das infecções oportunistas por germes endógenos ou exógenos.

Provavelmente, só com a evolução da doença, e numa fase em que ocorre uma acentuada queda das células T-citotóxicas dependente da dimimuição,

entre outros mecanismos, dos níveis de IL-2, paralela a uma intensa destruição dos linfócitos T-CD4, se assistirá a uma atracção ao pulmão profundo de um excessivo número de polimorfonucleares neutrófilos que justificará a alveolite neutrofílica detectada nalguns dos indivíduos portadores de SIDA.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] AGOSTINI, C.; SEMENZATO, G. — Immune response in the lung: basic principles — *Lung* (Suppl.) 1990; 1001-1012.
- [2] AGOSTINI, C.; TRENTIN, L.; ZAMBELLO, R.; SEMENZATO, G. — HIV-1 and the lung (infectivity, pathogenic mechanisms and cellular immune responses taking place in the lower respiratory tract) — *Am. Rev. Resp. Dis.* 1993; 147:1038-1049.
- [3] AZEVEDO, P.; MENDES, AC.; VASCONCELOS, C.; TELES DE ARAÚJO, A.; FREITAS E COSTA, M. — Alveolite nas conectivopatias com expressão pulmonar — *Actas do VII Congresso da Soc. Port. Pat. Resp.* 1989;8.
- [4] BAGANHA, MF.; ABREU, F.; MACEDO, M.; MARQUES, MAT.; PÉGO, A.; TEIXEIRA, ML.; LIMA, MAM.; SANTOS ROSA, MA.; SOUSA, A.; LEITE, I.; FERREIRA, JM.; CHIEIRA, L.; MORAIS, JCT.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — A alveolite subclínica da exposição ao asbesto — *Via Pneumologica*, 1991;1:27-38.
- [5] BAGANHA, MF.; ABREU, F.; TEIXEIRA, ML.; LIMA, MAM.; SANTOS ROSA, MA.; MARQUES, MAT.; MACEDO, M.; PÉGO, A.; MORAIS, JCT.; ROBALO CORDEIRO, AJA. Subclinical alveolitis in asbestos exposed workers — *Europ. Resp. Rev.* (Suppl.) 1991; 7 5 .
- [6] BAGANHA, MF.; LEITE,I.; MARQUES, MAT.; MOTA PINTO, A.; LIMA, MAM.; ANJOS, A.; CORTE REAL, R.; SANTOS ROSA, MA.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Bronchoalveolar lavage fluid in the immunological evalution of HIV positive individuals — *Abstract Book of the 4th. International Conference on Bronchoalveolar Lavage* (Umea). 1993: 49.
- [7] BAGANHA, MF.; LEITE, I.; MARQUES, MAT.; MOTA PINTO, A.; LIMA, MAM.; ANJOS, MJ.; ROBALO CORDEIRO, C.; NUNES, MJ.; CORTE REAL, R.; FRADINHO, F.; SILVESTR, MJ.; CHIEIRA, L.; SANTO ROSA, MA.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Alterações imunoglobulinicas (LLBA e sangue) em indivíduos infectados pelo HIV — *Actas do Simpósio da SPRP — Infecções Pulmonares* (Figueira Foz), 1992: P23.
- [8] BAGANHA, MF.; LEITE,I.; MARQUES, MAT.; SANTOS ROSA, MA.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Study of alveolar phagocytic cells in HIV positive assymthomatic individuals — *Abstract Book of the IXth International Conference on AIDS and IVth STD World Congress* (Berlin), 1993: PO-A25.
- [9] BAGANHA, MF.; LEITE, I.; TEIXEIRA, ML.; MARQUES, MAT.; PÉGO, A.; NUNES, MJ.; CORTE REAL, R.; ABREU, F.; MORAIS, JCT.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Interesse da TAC torácica de alta resolução na avaliação de indivíduos infectados pelo HIV em fase assintomática — *Actas do Simpósio da SPRP — Infecções Pulmonares* (Figueira da Foz), 1993: C8.
- [10] BAGANHA, MF.; MARQUES, MAT.; LEITE, I.; MOTA PINTO, A.; ANJOS, MJ.; LIMA, MAM.; ROBALO CORDEIRO, C.; NUNES, MJ.; CORTE REAL, R.; SERRA, E.; MALCATA, L.; LOPES, C.; LEITE, C.; PÉGO, A.; PESTANA, B.; FERREIRA, R.; FRADINHO, F.; SILVESTR, MJ.; SANTOS ROSA, MA.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Estudo da activação dos fagócitos alveolares de indivíduos infectados pelo HIV através da auto-fluorescência — *Actas do 2.º Congresso Nacional de Doenças Infecciosas* (Póvoa de Varzim), 1993: 172.
- [11] BAGANHA, MF.; ROBALO CORDEIRO, C.; MARQUES, MAT.; LEITE, I.; MOTA PINTO, A.; LIMA, MAM.; ANJOS, MJ.; NUNES, MJ.; LEITE, C.; CORTE REAL, R.; SERRA, E.; MALCATA, L.; LOPES, C.; PÉGO, A.; PAIVA, B.; FERREIRA, R.; SILVESTR, MJ.; FRADINHO, F.; SANTOS ROSA, MA.; MELIÇO SILVESTRE, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. Perfil evolutivo da celularidade do pulmão profundo no decurso da infecção pelo HIV — *Actas do Simpósio da SPR — Infecções Pulmonares* (Figueira da Foz), 1993: C10.
- [12] COSTABEL U.; BROSS, KJ.; MARXEN, J.; MATTHYS, H. — T-lymphocytosis in bronchoalveolar lavage fluid of hypersensitivity pneumonitis — *Eur. Resp. J.* 1992; 5: 5-7 .
- [13] COSTABEL, U.; TESCHLER, H. — Inflammation and immune reactions in interstitial lung disease (ILD) associated with inorganic dust exposure — *Eur. Resp. J.* 1989; 190:363-364.

- [14] DANSIN, E.; WALLAERT, B.; REMY-JARDIM, M.; PEREZ, T.; HATRON, PY.; REMY, J.; TONNEL, AB. — Etude de la tomodensitometrie thoracique de haute resolution et du lavage broncho-alveolaire — *Rev. Mal. Resp.* 1991; 8:551-558.
- [15] FAUCI, AS. — The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis — *Science* 1988; 239:617-622.
- [16] FREITAS, MS.; PÉGO, A.; ROBALO CORDEIRO, C.; MORAIS, ME.; SOUSA, A.; MORAIS, J.; LEITE, I.; ALCOBIA, R.; ROBALO CORDEIRO, AJA — Reacção subclínica do pulmão profundo à amiodarona — *Via Pneumologica* 1991; 1:19-25.
- [17] HO WZ, CHERUKURI R.; DOUGLAS, SD — *The macrophage and HIV-I. In "Macrophage — Pathogen Interactions"* — Ed. Bruce S. Zwilling and Toby K. Eisenstein. New York, 1994: 569-587.
- [18] JAIME PINA — Infecção pelo HIV e pulmão — 1 vol., Lisboa, 1992; 317 pp.
- [19] PANTALEO, G.; GRAZIOSI, C.; FAUCI, AS. — The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection — *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 327-335.
- [20] ROBALO CORDEIRO, AJA. — Alveolites subclínicas - Perspectiva imunológica — *Rev. Port. Imunoalerg.* 1992; 3: 73-85.
- [21] ROBALO CORDEIRO, AJA.; LEITE, ACP.; LIMA, MAM.; ROBALO CORDEIRO, C.; SIMÃO, P.; ABREU, F.; MESQUITA, L.; AGNELO, L.; SANTOS ROSA, MA. — Pesquisa de alveolite subclínica em mineiros expostos à inalação de silício — *Soc. Port. Pat. Resp., Abstract.*, 1991 .
- [22] ROBALO CORDEIRO, AJA.; LEITE, ACP.; SANTOS ROSA, MA.; LIMA, MAM.; ROBALO CORDEIRO, C.; GASPAR, E.; PÉGO, A. — A alveolite da silicose — *Via Pneumologica*, 1988; 2:113-125.
- [23] ROSENBERG, ZF.; FAUCI, AS. — Immunopathogenesis of HIV infection FASEB, 1991; 5: 2382-2390.
- [24] SEMENZATO, G. — Immunology of interstitial lung diseases: cellular events taking place in the lung of sarcoidosis, hypersensitivity pneumonitis and HIV infection — *Eur. Resp. J.* 1991; 4:94.
- [25] SEMENZATO, G.; AGOSTINI, C. — Human retroviruses and lung involvement — *Am. Rev. Resp. Dis.* 1989; 139:1317-1322.
- [26] SEMENZATO, G.; TRENTIN, L. — Cellular immune response in the lung of hypersensitivity pneumonitis — *Eur. Resp. J.* 1990; 3: 357-359.
- [27] SEVERO, FR.; FILIPE, C.; CHIEIRA, CMS.; MORAIS, JCT.; SANTOS, A.; TODO BOM, A.; ANDRADE, L.; FRANCO, A.; LEITE, I.; PALMEIRO, A.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Subclinical alveolitis in rheumatoid arthritis and Sjogren's Syndrome — *Eur. Resp. Rev. (Suppl.)* 1991: 19s.
- [28] TODO BOM, A.; CHIEIRA, C.; FILIPE, C.; LEITE, I.; TEIXEIRA, L.; BOTELHO, F.; PALMEIRO, A.; SANTOS, A.; ANDRADE, L.; MORAIS, T.; SEVERO, F.; ROBALO CORDEIRO, AJA. — Alveolite subclínica na artrite reumatoide — *Via Pneumologica* 1991;4:1-9.
- [29] TWIGG, HL.; IWAMOTO, GK.; SOLIMAN, DM. — Role of cytokines in alveolar macrophage accessory cell function in HIV - infected individuals. *J. Immunol.* 1992; 149:1462-1469.
- [30] WALLACE, JM.; OISHI, JS.; BARBERS, RG.; BATRA, P.; ABERLE, DR. — Bronchcoalveolar lavage cell and lymphocyte phenotype profiles in healthy asbestos — exposed shipyards workers — *Am. Rev. Resp. Dis.* 1989; 139:33-38. 31
- [31] WALLAERT, B. — Subclinical alveolitis in immunologic systemic disorders — *Lung*. 1990 (Suppl.): 947-983.