

CARLOS ANTÔNIO RIEDI

**PESQUISA DE MUTAÇÕES *CFTR* EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM BRONQUIOLITE OBLITERANTE
PÓS-INFECCIOSA**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, com área de concentração em Pneumologia Pediátrica.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho.

CURITIBA

2006

Dedico este trabalho a pessoas especiais:
À minha querida esposa Adriana e, aos
meus pais, Aurora e Alcides (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho**, que sempre acreditou no meu trabalho e sempre foi muito mais do que orientador.

Ao **Prof. Rubens Cat**, chefe do Departamento de Pediatria do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Ao **Prof. Dr. Luiz de Lacerda Filho**, vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, do Departamento de Pediatria. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

À **Prof^a. Dr^a. Mônica Lima Cat**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, do Departamento de Pediatria. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

À minha esposa, **Adriana S. Riedi**, pelo incentivo, apoio e pela compreensão dos momentos ausentes para a realização deste trabalho.

Ao meu pai **Alcides Riedi** (*in memoriam*), que sempre acreditou que o conhecimento é o melhor presente que se pode dar a um filho.

À minha mãe, **Aurora Antônia Scariot Riedi**, que usou de todas as suas forças para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Aos meus irmãos, **Valeriano Marcos Riedi, Ana Maria Riedi, Caroline Riedi, Marina Riedi**, que juntos crescemos e sempre soubemos nos respeitar e ao **Maurício Riedi** (*in memoriam*).

À **Dra Loreni Kovalhuk Carneiro**, pela amizade, exemplo e pela dedicação.

À **Dra Tsukiyo O. Kamoi**, pela amizade e exemplo de determinação.

A duas pessoas especiais, admiráveis, **Leonardo S. Boz e Henrique S. Boz**, que dividem comigo seu espaço e que me orgulho muito de tê-los como verdadeiros amigos.

Aos **pais e aos pacientes** com Bronquiolite Obliterante que participaram deste trabalho, pelo relacionamento constante e que acreditaram em contribuir para melhor entendimento da doença.

Aos **amigos(as)** de trabalho, médicos residentes e especializando, **Fabíola Tigrinho, Juliano J. Jorge, Leandro M. Spinelli, Marcos Geraldini, Mônica B. Ribeiro, Vanessa da Matta**, pela convivência e aprendizado do dia a dia, e sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Rui Fernando Pilotto**, pela antiga amizade e pela disposição dispensada na realização deste trabalho.

À **Dr^a. Carmen Sílvia Bertuzzo**, que por meio de sua gentileza tornou possível a realização dos exames dos pacientes.

Ao **Dr. Salmo Raskin**, amigo de trabalho, que gentilmente nos forneceu os dados de sua tese e tornou possível a interpretação dos dados.

À enfermeira **Maria Aparecida da Silva**, pelo exemplo de carinho com as crianças e pela ajuda na colheita do material de pesquisa.

Ao **Prof. Dr. José Dirceu Ribeiro**, exemplo de simplicidade com inteligência, meu agradecimento pela sua ajuda na realização desta tese.

"A diferença entre o vencedor e o
perdedor não é a força
nem o conhecimento, mas,
sim, a vontade de vencer."
Vincent T. Lombard

"O covarde nunca começa, o
fracassado nunca termina,
o vencedor nunca desiste."
Norman Vincent Peale

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE QUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 OBJETIVOS	02
1.1.1 Objetivo Geral	02
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	02
2. REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1 BRONQUIOLITE OBLITERANTE	04
2.1.1 Desenvolvimento Fisiológico do Sistema Respiratório	05
2.1.2 Revisão Histórica	06
2.1.3 Etiologia	10
2.1.4 Achados Anátomo-Patológicos	14
2.1.5 Manifestações Clínicas	19
2.1.6 Diagnóstico	23
2.1.7 Achados Radiológicos e Cintilografia	26
2.1.8 Função Pulmonar	30
2.1.9 Tratamento	31
2.2.10 Prevenção	33
2.3 FIBROSE CÍSTICA	34
2.3.1 Conceito e Histórico	35
2.3.2 Incidência	36
2.3.3 Aspectos Clínicos	38
2.3.4 CFTR	40
2.3.5 Mutações no Gene <i>CFTR</i>	42
2.3.6 Mutação DF508	47

2.3.7 Mutações <i>CFTR</i> e suas Conseqüências	48
2.3.7.1 Pancreatite crônica.....	51
2.3.7.2 Rinossinusite crônica.....	53
2.3.7.3 Aspergilose broncopulmonar alérgica	55
2.3.7.4 Bronquiectasias.....	56
2.3.7.5 Ausência congênita bilateral de ducto deferente.....	58
2.3.7.6 Polipose nasal	60
3 MÉTODOS	61
3.1 DELINEAMENTO.....	61
3.2 CASUÍSTICA.....	61
3.2.1 Critérios de Inclusão.....	61
3.2.2 Critérios de Exclusão.....	61
3.3 AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL.....	62
3.3.1 Teste Cutâneo Alérgico.....	62
3.3.2 Teste do Suor.....	63
3.3.3 Exames Radiológicos	63
3.3.4 Espirometria	63
3.4 COLHEITA DE SANGUE PERIFÉRICO.....	64
3.5 EXTRAÇÃO DE DNA DE LEUCÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO.....	64
3.5.1 Reação em Cadeia da Polimerase.....	65
3.5.2 Digestão Enzimática.....	68
3.6 CONTROLES	71
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	71
4 RESULTADOS	73
4.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES ...	73
4.2 DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS	74
4.3 TESTE DO SUOR	74
4.4 TESTE CUTÂNEO ALÉRGICO.....	74
4.5 EXAMES RADIOLÓGICOS.....	74
4.6 ECOCARDIOGRAMA.....	75
4.7 ESPIROMETRIA	75

4.8 PESQUISA DAS MUTAÇÕES DA FC.....	76
5 DISCUSSÃO	77
6 CONCLUSÃO	95
7 REFERÊNCIAS.....	96
8 APÊNDICE.....	114
9 ANEXO.....	117

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS BRONQUIOLITES PELA TOMOGRAFIA DE TÓRAX.....	09
TABELA 2 - CONDIÇÕES ASSOCIADAS COM O DESENVOLVIMENTO DE BRONQUIOLITE OBLITERANTE.....	13
TABELA 3 - SINAIS E SINTOMAS SUGESTIVOS DE BO.....	21
TABELA 4 - LAVADO BRONCOALVEOLAR EM DOENÇAS BRONQUIOLARES.....	26
TABELA 5 - ESTIMATIVAS E LIMITE DE CONFIANÇA DE 95% DA FREQUÊNCIA DE HOMOZIGOTOS E DE HETEROZIGOTOS PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA, EM EURO E AFRO-BRASILEIROS.....	37
TABELA 6 - FREQUÊNCIA DAS MUTAÇÕES <i>CFTR</i> DETECTADAS EM INDIVÍDUOS AFETADOS, POR GRUPO CONTINENTAL E ESTADO DE NASCIMENTO.....	49
TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NA REAÇÃO DE PCR PARA AS MUTAÇÕES DA FIBROSE CÍSTICA.....	66
TABELA 8 - DESCRIÇÃO DA SEQÜÊNCIA DOS INICIADORES UTILIZADOS NA PCR DOS EXONS 11, 19 E 21, TAMANHO DOS FRAGMENTOS RESULTANTES DESTA REAÇÃO E ENZIMAS DE RESTRIÇÃO ESPECÍFICAS.....	67
TABELA 9 - DESCRIÇÃO DA SEQÜÊNCIA DOS INICIADORES UTILIZADOS NA PCR DO ÉXON 10 E TAMANHO DO FRAGMENTO RESULTANTE DESTA REAÇÃO.....	67
TABELA 10 - DESCRIÇÃO DAS CONDIÇÕES PARA REALIZAÇÃO DA DIGESTÃO ENZIMÁTICA PARA INVESTIGAÇÃO DAS MUTAÇÕES DE FIBROSE CÍSTICA.....	69
TABELA 11 - DESCRIÇÃO DAS CONDIÇÕES PARA REALIZAÇÃO DA DIGESTÃO ENZIMÁTICA PARA DIFERENCIAÇÃO DAS MUTAÇÕES G551D E R553X.....	69
TABELA 12 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES COM BO PÓS-INFECCIOSA.....	73
TABELA 13 - ESTUDOS COM DOENÇAS RELACIONADAS AO <i>CFTR</i>	78

TABELA 14 - PRINCIPAIS ESTUDOS DE FUNÇÃO PULMONAR EM PACIENTES COM BO PÓS-INFECCIOSA	85
TABELA 15 - HIERARQUIA DE ASSOCIAÇÕES COM MUTAÇÕES NO GENE <i>CFTR</i>	88

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - COMPARAÇÃO ENTRE BO PÓS-INFECCIOSA E FC.....	03
QUADRO 2 - CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA	38
QUADRO 3 - FORMAS ATÍPICAS DE APRESENTAÇÃO DA FIBROSE CÍSTICA	39
QUADRO 4 - MUTAÇÃO DF508 DO GENE <i>CFTR</i>	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - BIÓPSIA BRÔNQUICA	15
FIGURA 2 - FLUXOGRAMA DA EVOLUÇÃO DE BO	16
FIGURA 3 - TCAR DE TÓRAX DE PACIENTE COM BO.....	29
FIGURA 4 - ESTRUTURA DO GENE <i>CFTR</i> E DA PROTEÍNA.....	43
FIGURA 5 - EXEMPLOS DE MUTAÇÕES NO GENE <i>CFTR</i>	45
FIGURA 6 - INTRON 8 COM A SEQUÊNCIA DE TIMIDINAS.....	46
FIGURA 7 - ELETROFORESE DE GEL DE POLIACRILAMIDA A 12%, MUTAÇÃO DF 508.....	67
FIGURA 8 - ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA A 12%, MUTAÇÕES G542X, G551D, R553X.....	70
FIGURA 9 - ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA A 12% PARA DETECÇÃO DA MUTAÇÃO R1162X	70
FIGURA 10 - ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA A 12% PARA DETECÇÃO DA MUTAÇÃO N1303K	71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACBDD	- Ausência congênita bilateral do ducto deferente
ATS	- <i>American Thoracic Society</i>
BO	- Bronquioli Obliterante
BVA	- Bronquiolite Viral Aguda
CFTR	- <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Regulation</i>
CVF	- Capacidade Vital Forçada
DF 508	- Deleção de Fenilalanina no Códon 508
FC	- Fibrose Cística
HIV	- Vírus imunodeficiência humana
HLA	- Hystocompatibility Leukocyte Antigen (antígeno leucocitário de histocompatibilidade)
IC	- Intervalo de confiança
IL	- Interleucina
MSD	- <i>Membrane Spanning Domain</i> (domínio que atravessa a membrana)
NBD	- <i>Nucleotide Binding Domain</i> (domínio de ligação do nucleotídeo)
NBF	- <i>Nucleotide Binding Fold</i> (dobra de ligação nucleotídica)
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase
RSC	- Rinossinusite Crônica
TCA	- Teste cutâneo alérgico
TCAR	- Tomografia computadorizada de alta resolução
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
VEF ₁	- Volume Expiratório Forçado no Primeiro Segundo
VRS	- Vírus Respiratório Sincicial

RESUMO

A bronquiolite obliterante pós-infecciosa é causa freqüente de doença pulmonar obstrutiva na criança. Ocorre geralmente após quadro de bronquiolite viral aguda nos primeiros 24 meses de vida. Vários vírus (vírus respiratório sincicial, influenza, parainfluenza e adenovírus), podem determinar o quadro agudo e destes, o adenovírus é o mais freqüente. A bronquiolite obliterante apresenta-se com quadro clínico respiratório com algumas semelhanças à fibrose cística. A presença de uma mutação do gene da fibrose cística implica em uma perda de até 50% da função da proteína CFTR. Isto é suficiente para dar origem à expressão fenotípica de sintomas da doença fibrose cística como bronquiectasias, rinossinusite crônica, polipose nasal, pancreatite crônica e azoospermia. Como bronquiolite obliterante e fibrose cística compartilham sinais e sintomas (doença pulmonar obstrutiva crônica, bronquiectasias, bronquite crônica), é possível que a presença de uma mutação FC possa ser fator predisponente ou facilitador para o desenvolvimento de bronquiolite constritiva, após um quadro de bronquiolite viral aguda. Foram avaliados 42 pacientes não aparentados, com diagnóstico clínico-radiológico de bronquiolite obliterante pós-infecciosa para a presença das mutações FC (DF508, G542X, G551D, R553X, R1162X e N1303K). Os critérios de exclusão foram tuberculose, imunodeficiências, HIV, deficiência de alfa 1 - antitripsina e FC. Entre os 42 pacientes, 100% internaram na fase aguda da bronquiolite viral, destes 19 (45,0%) em UTI e na evolução, 95% reinternaram. Houve predomínio do sexo masculino (69,0%), onde a doença teve apresentação mais grave e a idade variou de 3-126 meses. Dos pacientes que realizaram TCA, apenas 03 de 29 (10,3%) apresentaram sensibilização atópica. Os achados na tomografia computadorizada de tórax de alta resolução foram perfusão em mosaico, bronquiectasias e atelectasias. A espirometria foi realizada em 20 pacientes e 18 apresentaram distúrbio ventilatório obstrutivo. A ausência de resposta broncodilatadora foi observada em 17 (85%) dos casos. A presença de uma mutação no gene *CFTR* foi observada em 4 pacientes, (IC de 95%; 0,007 a 0,18) 4,8 vezes superior ao da população normal (IC de 95%; -0,02 a 0,06). A BO apresentou associação com mutações do gene *CFTR* neste grupo de pacientes. A etiologia desta complicação de bronquiolite viral apresentou, neste grupo de pacientes, componente genético *CFTR* relacionado.

Palavras - chave: bronquiolite obliterante, mutações *CFTR*, fibrose cística, doenças relacionadas ao *CFTR*.

ABSTRACT

Post-infectious bronchiolitis obliterans (BO) is a frequent respiratory obstructive disease in children in the first 2 years of life. Different virus can cause an acute infection preceding the chronic disease. Among them, adenovirus is the most frequent virus. Clinical features of post-infectious bronchiolitis obliterans are similar to those of cystic fibrosis (CF). The expression of a single CF gene mutation implies in 50% loss of cystic fibrosis transmembrane regulation (CFTR) protein. This originates the phenotypes of CF, such as bronchiectasis, chronic rhinosinusitis, nasal polyps, chronic pancreatitis and obstructive azoospermia (congenital bilateral absence of the vas deferens). Possibly a CF mutation could be a predisposing factor for the development of constrictive bronchiolitis after a viral infection. In order to test this hypothesis, 42 unrelated patients with post-infectious bronchiolitis obliterans were screened for 6 CF mutations (DF508, G542X, G551D, R553X, R1162X and N1303K). Diagnosis de BO was based upon clinical criteria, CT scan findings and exclusion of other diseases like cystic fibrosis, immunodeficiency, tuberculosis, alpha-1 antitrypsin deficiency, HIV. Twenty eight patients were male (69%), age ranged 3-126 months. All (n=42) were hospitalized during the acute phase, 19 (45%) of them in the ICU, and 40 (95%) required a second hospitalization. The findings of the high-resolution computed tomography in 40 cases were mosaic perfusion, bronchiectasis and atelectasis. Pulmonary function tests were performed in 20 patients and showed fixed mild airway obstruction in 18. Seventeen patients (85%) had a negative bronchodilator response. *CFTR* mutation carriers in 4 of 42 (95% IC; 0,007 a 0,18) post-infectious BO patients were greater than would be expected in a normal population (95% IC; - 0,02 a 0,06). There is an increased occurrence of *CFTR* mutations in children who have bronchiolitis obliterans and do not meet diagnosis criteria for CF. These findings suggest that *CFTR* mutations do have a major role in the pathogenesis of post-infeccious BO and further investigation is needed to establish the predisposing factors in the development of this disease.

Key - words: post-infectious bronchiolitis obliterans, *CFTR* mutations, cystic fibrosis, *CFTR*-related disorders.

1 INTRODUÇÃO

A bronquiolite obliterante (BO) é uma doença caracterizada por processo de inflamação e fibrose das vias aéreas. Entre as várias etiologias descritas em crianças, a BO-pós infecciosa é a causa mais freqüente no sul do Brasil (TEPER, FISCHER, JONES, 2002). A BO pode ocorrer em qualquer idade, embora a maioria das crianças afetadas é lactente, uma vez que nesta idade são freqüentes as infecções respiratórias (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

Não existem dados epidemiológicos disponíveis, mas aparentemente a BO pós-infecciosa tem alta prevalência na região sul do Brasil, Uruguai, Argentina e Chile, e é uma das principais causas de doença pulmonar crônica da infância nestas regiões. Os fatores de risco, fisiopatologia, alterações inflamatórias e de função pulmonar não são bem conhecidos (TEPER, FISCHER, JONES, 2002). É relativamente comum após quadro de pneumonia ou bronquiolite por adenovírus e os fatores predisponentes nesses lactentes têm sido os mais estudados. Em crianças com infecção por adenovírus, o HLA DR8-DQB1*0302 é mais freqüente nos pacientes que desenvolvem BO pós-infecciosa (TEPER et al., 2004). Aumento das concentrações séricas de IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral alfa, assim como redução do número de células *natural killer*, CD4 e células B1 ocorrem em crianças com pneumonia grave por adenovírus (MISTCHENKO et al., 1994; MISTCHENKO et al., 1998). Os dados sugerem que a resposta do hospedeiro pode ter papel importante na gravidade da pneumonia por adenovírus, assim como para o desenvolvimento de bronquiolite obliterante pós-infecciosa em algumas crianças e adolescentes. É provável que os mecanismos fisiopatológicos variem de acordo com a causa ou problema subjacente associado com a bronquiolite obliterante. Por exemplo, na bronquiolite obliterante associada a transplante de pulmão, a reação enxerto versus hospedeiro, isquemia, infecções virais e inflamação são os principais

fatores que determinam o aumento de citocinas profibróticas e o desenvolvimento de fibrose bronquiolar (REYNAUD-GAUBERT et al., 2002).

As manifestações clínicas de BO pós-infecciosa são de bronquite crônica, com tosse, sibilância e dificuldade respiratória. No exame físico é freqüente a presença de estertores bolhosos, que geralmente estão associados à bronquiectasias (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

A fibrose cística é uma doença genética, autossômica recessiva que compromete o aparelho respiratório (sinusite, polipose, bronquite), digestório (insuficiência pancreática, cirrose, íleo meconial), reprodutor (azoospermia) e glândulas exócrinas (desidratação). Pacientes com polipose nasal, sem manifestações de fibrose cística, apresentam maior freqüência de mutações no gene *CFTR* (KOSTUCH et al., 2005), assim como indivíduos com pancreatite crônica isolada (COHN, FRIEDMAN, NOONE, 1998; SHARER et al., 1998), aspergilose broncopulmonar (MILLER et al., 1996) e bronquiectasias sem etiologia definida (GERVAIS et al., 1993; PIGNATTI et al., 1995; NINIS et al., 2003).

Bronquiolite obliterante e fibrose cística apresentam manifestações clínicas e exames laboratoriais semelhantes (Quadro 1) e até o momento não há relatos de pesquisa de mutações de fibrose cística em pacientes com BO.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Analisar características clínicas e laboratoriais de pacientes com BO pós-infecciosa.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Verificar se mutações do gene *CFTR* tem freqüência maior neste grupo de pacientes com BO pós-infecciosa.

QUADRO 1 - COMPARAÇÃO ENTRE BO PÓS-INFECCIOSA E FC

	BO PÓS-INFECCIOSA	FIBROSE CÍSTICA
Etiologia	pós-infecção (BVA)	autossômica recessiva
Histopatologia	bronquiolite constrictiva, inflamação	inflamação/infecção, bronquite obstrutiva
Fisiologia	obstrutiva	obstrutiva
Início dos sintomas	primeiro ano	primeiro ano
Manifestações respiratórias	bronquite crônica	bronquite crônica
Evolução	estável ou progressiva	progressiva
Espirometria	distúrbio ventilatório obstrutivo	distúrbio ventilatório obstrutivo
Radiografia de tórax	↑ de volume, alteração de perfusão, bronquiectasias, atelectasias, espessamento brônquico, pulmão hiperlucente	↑ de volume, alteração de perfusão, bronquiectasias, atelectasias, espessamento brônquico, pulmão hiperlucente
Tomografia de tórax	bronquiectasias, atelectasias, espessamento brônquico, perfusão mosaico, pulmão hiperlucente	bronquiectasias, atelectasias, espessamento brônquico, perfusão mosaico, pulmão hiperlucente
Prognóstico	bom ou desfavorável	desfavorável ou bom

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 BRONQUIOLITE OBLITERANTE

O desenvolvimento anatômico e funcional das vias aéreas pode ser afetado por agressões infecciosas, metabólicas, tóxicas, traumáticas ou de natureza genética e isto pode começar no período neonatal. As alterações estruturais ou funcionais nos pulmões e nas vias aéreas dependem de fatores como período, gravidade e duração do agente agressor, resposta do hospedeiro, processo de reparação e efeitos do tratamento instituído. Durante a gestação e durante o período de crescimento das vias aéreas e dos alvéolos, o resultado da ação destes fatores pode ser mais grave (MERKUS, 2003). De fato, uma série de doenças respiratórias no adulto é secundária às seqüelas de doenças que ocorreram no período da gravidez ou na infância (ROSENTHAL, BUSH, 2002).

Alterações bronquiolares são relativamente frequentes e ocorrem em uma série de condições como infecções, aspiração, doenças imunológicas e do tecido conjuntivo, inalação de gases, reações a drogas e, em pacientes submetidos a transplante pulmonar e de medula óssea. Alguns padrões de doença bronquiolar podem ser relativamente únicos para um contexto clínico específico, como bronquiolite respiratória causada pelo tabagismo. Na maioria das vezes os achados histopatológicos são inespecíficos para a sua etiologia ou patogênese (JAY et al., 2003).

Os sinais e sintomas, a evolução clínica e exames diagnósticos facilitam o diagnóstico. A maioria das crianças tem evolução clínica estável após o evento agudo e apresentam melhora na evolução, dependendo da idade e da proporção de pulmão afetado (KAREN, 1994).

Existe uma confusão nos termos usados para referir-se às doenças dos bronquíolos. O termo bronquiolite obliterante, por exemplo, tem sido usado para dois

tipos histológicos distintos de fibrose bronquiolar, assim como para várias síndromes clínicas que apresentam, ou obstrução ao fluxo aéreo (bronquiolite constrictiva ou obliterativa), ou um infiltrado associado a padrões restritivos de função pulmonar (bronquiolite obliterante com pneumonia em organização) (EPLER, 1994).

A bronquiolite obliterante é um processo patológico que leva à obstrução ou obliteração das pequenas vias aéreas. Embora geralmente esteja associada a uma série de eventos anteriores, que determinam lesão das vias aéreas, a bronquiolite obliterante tem especial importância em pacientes pediátricos que são submetidos a transplante pulmonar ou de medula óssea (KURLAND, MICHELSON, 2005).

Várias infecções por diferentes agentes etiológicos podem comprometer o trato respiratório inferior. As infecções virais podem resolver completamente ou então, resultar em dano irreversível para as vias aéreas. O adenovírus e o vírus sincicial respiratório são exemplos deste tipo de evolução. A pneumonia por adenovírus é geralmente causa de doença respiratória crônica e uma das principais causas de Síndrome de Swyer-James ou pulmão hiperlucente unilateral (ROSÁRIO, KANTOR-JR, 1998; MURTAGH, KAJON, 1997).

2.1.1 Desenvolvimento Fisiológico do Sistema Respiratório

A diferenciação pré e pós-natal, o desenvolvimento e o crescimento dos pulmões e das vias aéreas tem sido tema de várias revisões (MERKUS et al., 1996; GAULTIER, 1999).

O desenvolvimento da árvore brônquica ocorre no primeiro trimestre da gravidez e até a 16^a semana de vida intra-uterina. No final da gestação, as vias aéreas estão completas em número, estrutura e maturação (WOHL, 2006). Depois disso, ocorre apenas crescimento visceral, que nem sempre ocorre de maneira proporcional ao crescimento somático (DORNELES, ROSÁRIO, RIEDI, 2003). Os alvéolos começam a surgir na 28^a semana de gestação, apresentam um

crescimento acentuado nos primeiros 2 anos de vida e ocorre crescimento em número até os 8 anos de vida (THURLBECK, 1982). O crescimento das vias aéreas e dos alvéolos não ocorre de maneira simétrica. Esse padrão de crescimento assimétrico recebe a denominação de “disinapsis” e não é necessariamente significado de doença. É um fenômeno natural biológico com consideráveis diferenças entre indivíduos e gênero. Essas diferenças, no entanto, podem predispor ao desenvolvimento de doença mais grave (MEAD, 1980).

Os bronquíolos são pequenas vias aéreas (diâmetro menor ou igual a 2mm) (COLBY, 1998); não contêm cartilagem; consistem de vias membranosas e bronquíolos terminais, que têm puramente a função de conduzir o ar, e de bronquíolos respiratórios, que contêm alvéolos (WRIGHT et al., 1992). O ácino ou lóbulo pulmonar primário (unidade base de troca), consiste de um bronquíolo terminal, 2 a 5 gerações de bronquíolos respiratórios, ductos alveolares, sacos alveolares e alvéolos (COLBY, 1998; MULLER, MILLER, 1995). Os bronquíolos contribuem pouco para a resistência das vias aéreas em pulmões normais, porque a área total das pequenas vias aéreas é muito maior que das grandes vias. Na presença de doença, entretanto, as pequenas vias contribuem de maneira desproporcional para o aumento da resistência. (JAY, JEFFREY, SWENSEN, 2003).

2.1.2 Revisão Histórica

A bronquiolite obliterante foi a princípio definida patologicamente em adultos que morriam rapidamente após a inalação de gases. Surgiram também relatos de autópsia de pacientes afetados após infecções respiratórias por sarampo, coqueluche e escarlatina. LaDue, em 1941, revisou 42.038 autópsias. Essa revisão salientou três padrões: por irritação, por inalação e uma forma idiopática. O curso clássico, após inalação de gases tóxicos em um espaço fechado foi generalizado a todos os pacientes e, consistiu de *distress* respiratório imediato, grave, com necessidade de cuidados médicos. Estertores, tosse, dispnéia e sibilos estavam

presentes e o tratamento de forma urgente era a administração de oxigênio. O paciente apresentava um breve período de melhora antes da piora clínica e presença de sintomas crônicos de distress respiratório. A maioria sofria de obliteração progressiva com fibrose bronquiolar, que era tão grave, que os pacientes morriam de insuficiência respiratória por alteração da ventilação-perfusão. Pacientes que sofriam de pneumonia poderiam apresentar uma evolução semelhante. As complicações mais frequentes eram infecções recorrentes, bronquiectasias, áreas de aprisionamento de ar e áreas de atelectasia. LaDue chamou atenção para a aparência bem nutrida de pacientes gravemente doentes. Os achados anátomo-patológicos mostraram lesões bronquiolares isoladas com pequenas alterações no parênquima pulmonar. Alguns pacientes da primeira metade do século XX eram crianças e seu curso clínico não foi bem descrito (LaDUE)¹, citado por HARDY (1994, p. 416). Desde 1964, relatos na faixa pediátrica deram ênfase para a relação entre a infecção pulmonar e o desenvolvimento de bronquiolite obliterante. Algumas infecções virais evoluíam para bronquiolite necrosante e formaram a base da primeira série de casos em pediatria. No Canadá, uma epidemia por adenovírus em crianças indígenas, provocou um grande número de casos de doença pulmonar crônica e bronquiolite obliterante (WENMAN et al., 1982). Infecções por influenza e suas seqüelas foram revisadas por Laraya-Cuasay (LARAYA-CUASAY et al., 1977). Há relatos de pneumonias bacterianas graves com seqüelas, mas a possibilidade de associação com vírus não pode ser descartada (HARDY, 1994).

Uma revisão de pacientes pediátricos com BO foi publicada em 1988, pelo grupo do Hospital São Cristóvão, Philadelphia. Foram revisadas 244 peças de biópsia, em um período de 20 anos (1965-1985), e, 19 casos foram confirmados, com critérios radiológicos e histológicos. Os autores concluíram que

¹LaDUE, J.S. Bronchiolitis fibrosa obliterans. *Arch Intern Med*, v.68, p.663-73, 1941.

BO deve ser considerada quando ocorre sinais e sintomas respiratórios persistentes

após um quadro de pneumonia, áreas de hipertransparência na radiografia de tórax e falta de resposta ao tratamento. As principais seqüelas que ocorrem são dispnéia com exercício, doença pulmonar obstrutiva crônica, bronquiectasias, atelectasia persistente e síndrome do pulmão hiperlucente (HARDY, SCHIDLOW, ZAERI, 1988).

Embora Reynaud, em 1835, foi o primeiro a descrever uma entidade consistente com BO, Lange, em 1901, foi o primeiro a descrever casos de BO com os achados patológicos. Estes casos descritos são uma entidade denominada bronquiolite proliferativa, que é caracterizada por formação de pólipos intraluminais. Isto contrasta com a entidade denominada bronquiolite constrictiva, que é mais freqüente e deve ser diferenciada de uma outra, denominada BOOP (*bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia*). Essa apresenta história, exame físico, achados laboratoriais, patológicos, e, resposta ao tratamento diferentes da BO (SCHLESINGER et al., 1998).

Bronquiolite é um termo genérico utilizado para várias doenças inflamatórias que comprometem os bronquíolos e, a forma viral, é a doença mais freqüente que compromete as pequenas vias aéreas. Bronquiolite viral aguda é a causa mais frequente de internações hospitalares em crianças saudáveis em países em desenvolvimento. Desde que Chanock e Finberg identificaram o vírus sincicial respiratório em 1957, os aspectos epidemiológicos têm sido bem estudados (CHANOCK, FINBERG, 1957).

Bronquiolite é uma lesão comum, mas raramente é extensa o suficiente para provocar sintomas clínicos. Diversos padrões de bronquiolite primária foram estabelecidos, como bronquiolite constrictiva (também denominada bronquiolite obliterativa ou bronquiolite obliterante), bronquiolite aguda, panbronquiolite difusa, bronquiolite respiratória, doença da via aérea por pó mineral e bronquiolite folicular (Tabela 1) e associadas a obstrução do fluxo aéreo. Os achados radiológicos do tórax, especialmente a tomografia de tórax de alta resolução, são úteis para a

avaliação diagnóstica de pacientes com doença das pequenas vias aéreas (MULLER, 2001).

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS BRONQUIOLITES PELA TOMOGRAFIA DE TÓRAX

TIPO DE BRONQUIOLITE	CAUSA OU CONDIÇÃO ASSOCIADA	ACHADOS HISTOLÓGICOS	ACHADOS NA TAC	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL
INFLAMATÓRIA				
Infeciosa	Infecção aguda ou crônica vírus, <i>Mycoplasma</i>	Infiltração da parede brônquica com células inflamatórias	Nódulos centro-lobulares, padrão <i>tree in bud</i>	Pneumonite de hipersensibilidade
Pneumonite de hipersensibilidade	Agentes inalados orgânicos e inorgânicos	Infiltração de linfócitos e plasmócitos bronquiolar e peribronquiolar	Nódulos centro-lobulares mal definidos, mosaico, <i>ground-glass</i>	Bronquiolite respiratória
Bronquiolite respiratória	Tabagismo	Macrófagos com pigmentos nos bronquíolos respiratórios e ao redor	Nódulos centro-lobulares e <i>ground-glass</i>	Pneumonite de hipersensibilidade
Folicular e linfocítica	Síndrome de Sjögren, artrite reumatóide, imunodeficiência	Acúmulo de linfócitos nos brônquios e ao redor	Padrão <i>tree in bud</i> , nódulos, cistos	Bronquiolite celular e panbronquiolite
Panbronquiolite	Idiopática	Infiltração da parede brônquica por células inflamatórias	Padrão <i>tree in bud</i> , bronquioloectasias e bronquiectasias	Bronquiolite celular, folicular, outras causas de bronquiectasias
Bronquiectasias	Fibrose cística e infecção prévia	Bronquiolite inflamatória ou fibrótica ou ambas	<i>Tree in bud</i> , aprisionamento de ar, bronquioloectasias	Outras causas de bronquiolites
FIBRÓTICA				
Constritiva	Pós-infeciosa, gases tóxicos, transplante, doenças do colágeno, drogas	Estreitamento ou obstrução brônquica por fibrose	Mosaico, bronquiectasias, aprisionamento de ar	Asma, enfisema panlobular hiperplasia neuroendócrina

FONTE: Pipavath, S.J. et al., **AJR**, 2005;185:354-63.

A incidência de BO em crianças sem história de transplante prévio não é conhecida. Hardy, Schidlow e Zaeri (1988) em uma análise retrospectiva de autópsias (n = 2.897) e biópsias (n = 244) encontraram 19 casos de bronquiolite

obliterante. No entanto, este estudo foi limitado pelo fato de pacientes que sobreviveram com BO, não terem sido submetidos à biópsia e, pacientes que foram a óbito por BO, não terem sido submetidos a necrópsia (HARDY, SCHIDLOW, ZAERI, 1988). A descrição de dois pacientes com bronquiolite obliterante, em 1901, estabeleceu o início e a compreensão das doenças dos bronquíolos. Muito foi escrito na primeira década do século XX sobre as causas de bronquiolite obliterante. Em 1980, a descrição de BOOP e de bronquiolite obliterante após transplante desencadeou o início da investigação científica e a melhor compreensão das doenças bronquiolares.

A bronquiolite obliterante é uma das principais causas de doença pulmonar crônica em crianças no sul do Brasil e países vizinhos. Os dados epidemiológicos, os fatores de risco, a fisiopatologia, as alterações inflamatórias e de função pulmonar não são bem conhecidos (TEPER, FISCHER, JONES, 2002).

2.1.3 Etiologia

O vírus sincicial respiratório é o principal agente etiológico de bronquiolite viral aguda (BVA) mas outros vírus como adenovírus, parainfluenza, influenza, podem ser responsáveis. Aumento da frequência do número de casos de BVA ocorrem no hemisfério norte, de novembro a março, e no hemisfério sul, entre abril e julho. Em locais de temperatura elevada onde as estações não são bem definidas, podem ocorrer casos nos meses de verão. A infecção por vírus sincicial respiratório é comum em pacientes internados pela facilidade de transmissão e os pacientes imunodeprimidos podem transmitir o vírus por períodos de tempo prolongados (FISHAUT, TUBERGEN, McINTOSH, 1980).

Diversos agentes infecciosos estão associados com o desenvolvimento de bronquiolite obliterante. O mais importante deles é o adenovírus, particularmente os tipos 1, 3, 7, 21 (COLOM et al., 2002b; WENMAN et al., 1982). O adenovírus está associado aos casos mais graves. Fatores como genótipo viral, resposta

imunológica, carga viral, predisposição genética (WENMAN et al., 1982) e influências do meio ambiente, podem estar associadas à gravidade da doença, tanto na sua fase aguda, como com as seqüelas. Na América do Sul, a genotipagem das cepas de adenovírus, feita ao longo de vários anos, mostrou que o genótipo 7h, uma nova variante de adenovírus, era o agente infeccioso na maioria dos casos graves e fatais da doença (KAJON et al., 1994).

A síndrome do pulmão hiperlucente, também denominada síndrome de Swyer-James ou MacLeod, também foi descrita após quadro de pneumonia ou bronquiolite por adenovírus (SWYER, JAMES, 1953; MacLEOD, 1954). A bronquiolite obliterante é relativamente comum após quadro de pneumonia ou bronquiolite por adenovírus e os fatores predisponentes, em lactentes após quadro de adenovírus, têm sido os mais estudados. Um estudo recente na Argentina, em crianças com infecção por adenovírus, encontrou que o HLA DR8-DQB1*0302 era mais freqüente nos pacientes com BO pós-infecciosa (TEPER et al., 2004). Outros estudos demonstraram aumento das concentrações séricas de IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral alfa, assim como uma redução do número de células *natural killer*, CD4 e células B1 (CD5 positiva) em crianças com pneumonia grave por adenovírus. Embora os dados sejam poucos, eles sugerem que a resposta do hospedeiro pode ter um papel importante na gravidade da pneumonia por adenovírus, assim como para o desenvolvimento de bronquiolite obliterante em algumas crianças (MISTCHENKO et al., 1994; MISTCHENKO et al., 1998).

Bronquiolite após quadro de sarampo também foi relatada como causa de bronquiolite obliterante. Outros vírus associados à BO incluem herpes, parainfluenza tipo 3 e HIV. Alguns autores colocam o vírus respiratório sincicial (VRS) com agente causador de BO. Isso tem sido motivo de debate, uma vez que a infecção por VRS é freqüente e BO é rara. Agentes bacterianos também são descritos como causa de BO, como o *Mycoplasma* e a *B. pertussis* (ISLES, MASEL, O'DUFFY, 1987).

Causas conhecidas e associações com bronquiolite constrictiva incluem as doenças do tecido conjuntivo, infecções (PENN, LIU, 1993), pneumonite de

hipersensibilidade (MARKOPOULO et al., 2002), drogas (BOEHLER et al., 1996), transplante (SPEICH et al., 2004) e outros (Tabela 2).

Artrite reumatóide associada a bronquiolite constrictiva ocorre principalmente em mulheres na quinta e sexta décadas de vida. Infecções virais, especialmente por adenovírus, são as mais freqüentes (PENN, LIU, 1993). Uma das complicações da bronquiolite obliterante pós-infecciosa que ocorre em crianças é a síndrome de Swyer-James (ou MacLeod) também denominada pulmão hiperlucente unilateral, com evidência de aprisionamento de ar e diminuição da vascularização (ROSÁRIO, KANTOR JR, 1998). Bronquiolite constrictiva após inalação de gases tóxicos, por exemplo amônia, apresenta-se com tosse e dispnéia progressiva que começa dias ou semanas após a recuperação do episódio agudo (*American Thoracic Society*, 1998). Pacientes com transplante de coração-pulmão ou de medula óssea podem desenvolver bronquiolite obliterante, como um fenômeno de rejeição (ESTENNE, HERTZ, 2002). Este é um dos maiores problemas terapêuticos em sobreviventes de transplante e pode afetar até 65% dos pacientes transplantados de pulmão após 5 anos. A BO é a principal causa de óbito após transplante de pulmão. A confirmação diagnóstica nem sempre é fácil por biópsia transbrônquica, pela distribuição heterogênea das lesões. Então, o fenômeno de obstrução progressiva das vias aéreas em pacientes transplantados é denominado síndrome de bronquiolite obliterante, um diagnóstico clínico e definido fisiologicamente por decréscimo de 20% ou mais do VEF₁ basal (COOPER et al., 1993). Outras causas e associações com BO incluem hiperplasia de células neuroendócrinas, pênfigo paraneoplásico, doença inflamatória intestinal, tratamento com sais de ouro (SCHWARTZMAN et al., 1995) e com penicilamina (SCHWARTZMAN et al., 1995; BOEHLER et al., 1996).

TABELA 2 - CONDIÇÕES ASSOCIADAS COM O DESENVOLVIMENTO DE BO

-
- *Inalação de gases e toxinas*
 - Cloreto de amônia
 - Tricloronitrometano
 - Ácido hidrolórico
 - Ácido nítrico
 - Dióxido de nitrogênio
 - Ácido sulfúrico
 - Talco (pó)
 - Cloreto de zinco
 - *Infecções*
 - Virais
 - Adenovírus (tipo 1, 3, 7, 21)
 - Influenza
 - Sarampo
 - Varicela-zoster
 - Bacterianas
 - Bordetella pertussis*
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus B hemolítico do grupo B*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Pneumocistis carinii*
 - *Doenças do tecido conjuntivo/transplante*
 - Anemia hemolítica autoimune
 - Transplante de medula óssea
 - Fasciíte eosinofílica
 - Transplante coração-pulmão
 - Artrite reumatóide
 - Síndrome de Sjögren
 - *Aspiração*
 - Corpo estranho
 - Lipídeos
 - Conteúdo gástrico
 - *Outras doenças*
 - Proteinose alveolar
 - Displasia broncopulmonar
 - Insuficiência cardíaca congestiva
 - Fibrose cística
 - Miastenia grave
 - Tratamento penicilamina
 - Tratamento sulfasalazina
 - *Idiopática*
-

FONTE: Adaptado de Hardy, K.A. Childhood bronchiolitis obliterans. In: Epler, G.R. (ed).

Diseases of the bronchioles. Raven Press, 1994; pp. 415-26.

É provável que os mecanismos fisiopatológicos variem de acordo com a causa ou problema subjacente associado com a bronquiolite obliterante. Entretanto, várias formas de insultos podem eventualmente levar a lesões histopatológicas semelhantes. Por exemplo, na bronquiolite obliterante associada a transplante de pulmão, a reação enxerto - versus - hospedeiro, isquemia, infecções virais e inflamação são os principais fatores que determinam o aumento de citocinas profibróticas e o desenvolvimento de fibrose bronquiolar (REYNAUD-GAUBERT et al., 2002). A bronquiolite obliterante, associada a pênfigo paraneoplásico, ocorre com deposição de autoanticorpos da classe IgG, na superfície das células epiteliais brônquicas (NOUSARI et al., 1999). Provavelmente, os mecanismos que levam ao desenvolvimento de BO são múltiplos. A BO que ocorre sem uma causa evidente é rara e geralmente ocorre em mulheres (KRAFT et al., 1993).

2.1.4 Achados Anátomo-Patológicos

A bronquiolite obliterante é uma enfermidade caracterizada por processo de inflamação e fibrose das vias aéreas. Entre as várias etiologias descritas em crianças, a BO-pós infecciosa é a causa mais freqüente no sul do Brasil (TEPER, FISHER, JONES, 2002). A bronquiolite obliterante é caracterizada por oclusão parcial ou completa dos bronquíolos e bronquíolos respiratórios por um processo inflamatório e fibroso (Figura 1).

Na forma extrema, a histologia dos bronquíolos afetados de pacientes com BO demonstra cicatrização concêntrica que leva a obstrução total das vias aéreas (MAUAD, DOLHNIKOFF, 2002; KURLAND, MICHELSON, 2005).

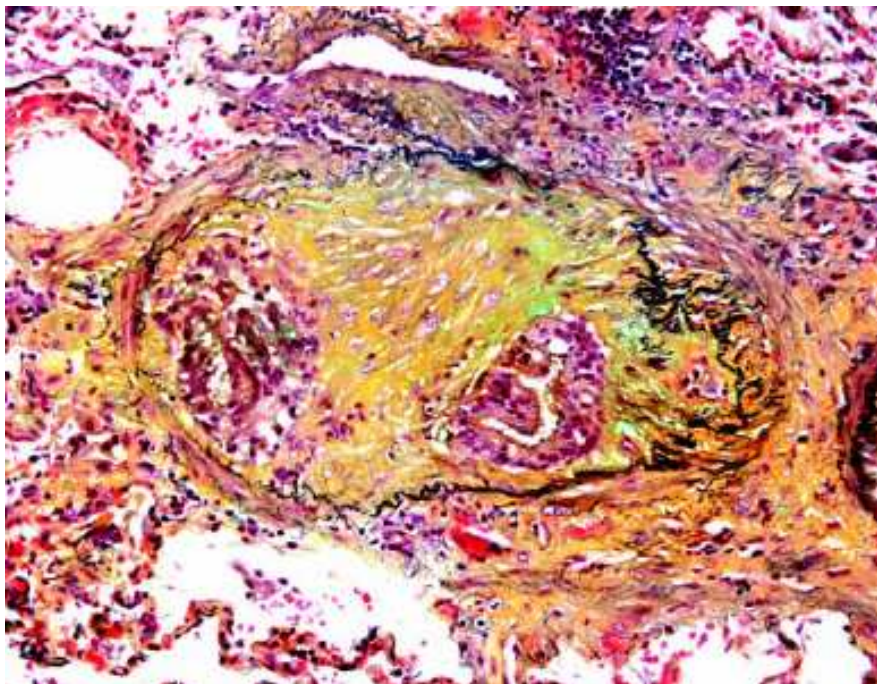


FIGURA 1 - BIÓPSIA BRÔNQUICA. A COLORAÇÃO AMARELA CORRESPONDE A TECIDO FIBROSO. O LÚMEN BRÔNQUICO APRESENTA-SE COM OBSTRUÇÃO PARCIAL.

FONTE: PIPAVATH, S.J. et al. Radiologic and pathologic features of bronchiolitis. *AJR*, v.185, n.2, p.354-63, 2005.

A evolução do processo agudo para BO ocorre em etapas, ilustradas no fluxograma (Figura 2).

As anormalidades iniciais são necrose do epitélio respiratório, com destruição do epitélio, seguido por infiltração peribrônquica de linfócitos. Há edema de submucosa e obstrução dos bronquíolos por fibrina e restos celulares. Isso resulta em obstrução dos bronquíolos com áreas de atelectasia. Nos casos mais graves ocorre alteração da ventilação-perfusão, que pode evoluir para insuficiência respiratória (WHOL, 1998).

É provável que o evento principal que leva à BO, inicie com uma lesão no epitélio das pequenas vias aéreas secundária a uma das várias causas. Esta lesão pode causar uma alteração transitória da função das células epiteliais ou necrose local. Na evolução, o acúmulo de exsudato fibrino-purulento leva à quimiotaxia de

miofibroblastos oriundos da submucosa. Essa proliferação celular induz o depósito de colágeno e de mucopolissacárides. Em alguns casos, histiócitos e proliferação de capilares levam ao desenvolvimento de pólipos intraluminais denominados corpúsculos de Masson. Em raros casos, onde biópsias seqüenciais foram realizadas, foi possível documentar lesões desde pneumonite intersticial, bronquiolite obliterante com pneumonia em organização, até um estágio de cicatrização das vias aéreas distais, característico de bronquiolite obliterante (TRISOLINI et al., 2001).

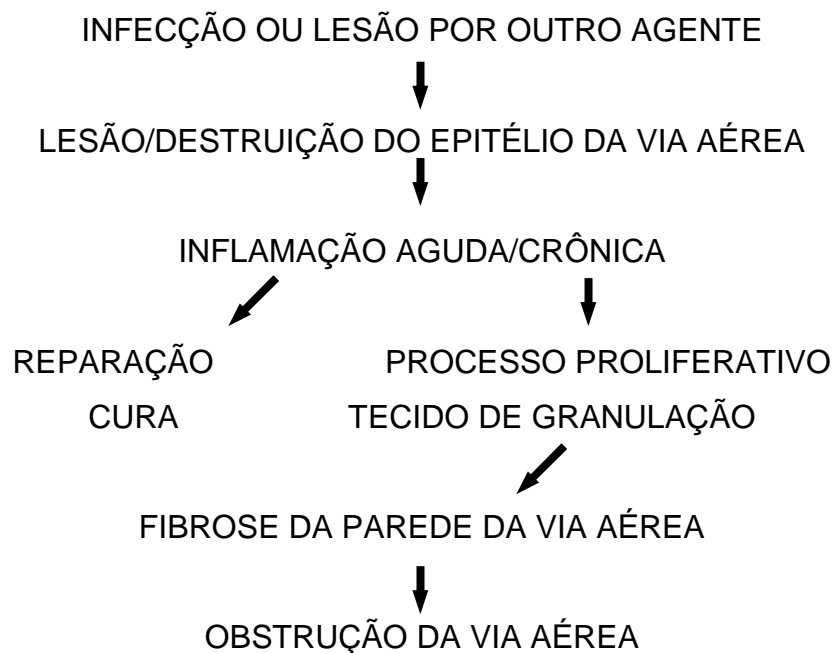


FIGURA 2 - FLUXOGRAMA DO DESENVOLVIMENTO DE BRONQUIOLITE OBLITERANTE APÓS AGRESSÃO DO EPITÉLIO DA VIA AÉREA.

FONTE: KURLAND, G.; MICHELSON, P. Bronchiolitis obliterans in children. *Pediatr Pulmonol*, v.39, n.3, p.193-208, 2005.

Embora a evolução descrita parece oferecer um prognóstico sombrio, uma gradual reabsorção do tecido conjuntivo fibrovascular é possível, com restauração do epitélio e do calibre das vias aéreas. Em algumas circunstâncias, a inflamação aguda do epitélio das vias aéreas leva a uma contínua deposição de colágeno entre o músculo liso e a lâmina própria da parede das vias aéreas. Essa matriz colagenosa aumenta em tamanho, provoca estreitamento da via aérea e, em casos extremos, oclusão total (TRISOLINI et al., 2001).

O exame histológico da biópsia pulmonar é o exame padrão-ouro para o diagnóstico, quando achados característicos de obstrução total ou parcial das vias aéreas por fibroblastos, leucócitos e fibrina, são observados. Cicatrização concêntrica constrictiva com obstrução também é uma característica diagnóstica. Dificuldades para a realização de biópsia pulmonar são peculiares em crianças. Como a doença não é difusa pode ocorrer que a biópsia seja realizada em segmentos de pulmão normal. Biópsia a céu aberto é necessário para se obter fragmento adequado de tecido pulmonar. Muitos pais não autorizam a realização da biópsia e o diagnóstico não pode ser totalmente confirmado (HARDY, 1994). O tempo da realização da biópsia também é um problema. Se a biópsia for precoce, pode mostrar brônquios com massas polipóides ainda não organizadas. A obliteração com fibrose pode ocorrer de forma rápida, como 8 dias após um quadro de infecção por adenovírus (HARDY, 1994; ABERNATHY et al., 1991). Biópsia tardia pode não ser útil, uma vez que alterações importantes, com destruição da parede das vias aéreas, podem ocorrer e alterar o parênquima pulmonar. Biópsia transbrônquica geralmente não é realizada em crianças. Devido a estes obstáculos o diagnóstico baseia-se nas características clínicas, alterações nas provas de função pulmonar, cintilografia de perfusão e alterações na tomografia de tórax de alta resolução (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

Alguns vírus causam diferentes tipos de lesão no aparelho respiratório. Os adenovírus tipo 3, 7 e 21 podem ocasionar doença mais grave com maior morbimortalidade. A infecção pelo VRS pode prejudicar a resposta imunológica de diferentes formas e com envolvimento de várias células. Há resposta IgE específica, atividade citotóxica excessiva da célula T e linfócitos *helper* e menos produção de interferon (EVERARD, 1999). Os achados patológicos das infecções por VRS não são diferentes em pacientes desnutridos, mas no México, o VRS foi encontrado em tecido pulmonar de pacientes submetidos à necropsia, que foram a óbito por pneumonia, o que sugere que isto possa estar ligado à patologia da doença. (BUSTAMANTE-CALVILLO et al., 2001).

Bernardi et al. (1995) avaliaram a citologia do lavado broncoalveolar de dois pacientes com BO (Swyer-James). Nos dois pacientes houve aumento do número de neutrófilos e pequeno aumento de linfócitos. A subpopulação de linfócitos mostrou um predomínio de linfócitos do tipo CD8+ (citotóxico). A presença de células inflamatórias, particularmente neutrófilos, pode ser um fator determinante para lesão de vias aéreas periféricas e remodelamento fibrótico das vias aéreas (BERNARDI et al., 1995).

Mauad et al. (2004) avaliaram as biópsias pulmonares de 23 crianças com diagnóstico de bronquiolite obliterante pós-infecciosa com o objetivo de verificar o tipo de infiltrado inflamatório. O infiltrado celular encontrado era composto principalmente de linfócitos T CD3⁺ com predomínio de linfócitos T CD8. A presença deste tipo de infiltrado abre novas perspectivas para o tratamento de pacientes com BO (MAUAD et al., 2004).

BO descrita por Lange, em 1901, era resultado de uma necrose extensa de todo o tecido bronquiolar sem comprometer o tecido cartilaginoso.

Gosink Friedman e Liebow (1973) utilizaram o termo BO para caracterizar um grupo heterogêneo de apresentações, algumas das quais tinham fibrose de submucosa e peribronquiolar, com conseqüente estreitamento e obstrução da luz brônquica. A maioria dos pacientes descritos por esses autores provavelmente tinha pneumonia criptogênica em organização. Após estas descrições, o termo BO tem sido utilizado em várias condições, sem relação clínico-patológica entre si (GOSINK, FRIEDMAN, LIEBOW, 1973).

Patologicamente, bronquiolite constrictiva é caracterizada por um padrão distinto de fibrose peribronquiolar que resulta em completa cicatrização da luz brônquica (MARKOPOULO et al., 2002). O processo inflamatório e a fibrose comprometem o brônquio ao invés de preencher a luz, o que resulta em compressão extrínseca e obstrução da via aérea. As áreas de fibrose podem ser tênues, entremeadas por tecido normal mesmo em pacientes gravemente afetados. Então, o diagnóstico pode não ser confirmado se as biópsias não são realizadas de forma adequada. A biópsia transbrônquica é relativamente insensível como exame diagnóstico, e para os pacientes onde a confirmação histológica é necessária, a biópsia deve ser a céu aberto (WRIGHT et al., 1992). No estágio agudo ocorre membrana hialina, perda do epitélio e presença de células inflamatórias na luz do bronquíolo. A seguir, a proliferação de fibroblastos e deposição de colágeno ocorre com massas polipóides fazendo obstrução dos bronquíolos (MAUAD, DOLHNIKOFF, 2002).

2.1.5 Manifestações Clínicas

O quadro clínico de uma infecção de vias aéreas superiores que evolui com sibilância, taquipnéia e tiragem é característico. Os episódios de bronquiolite viral aguda ocorrem nos meses de inverno. Em países de clima tropical e

subtropical, os episódios de epidemia ocorrem na estação chuvosa. Lactentes com idade menor de 6 meses têm maior risco de internação hospitalar e são mais propensos a desenvolver insuficiência respiratória. Condições como prematuridade, doença cardíaca e fibrose cística são fatores de risco de pior prognóstico (FISCHER, TEPER, COLOM, 2002).

BO pode ocorrer em qualquer idade, mas a maioria dos casos ocorre em lactentes, uma vez que nesta idade são freqüentes as infecções respiratórias. Sintomas semelhantes à gripe, com tosse, taquipnéia e rinorréia são mais freqüentes. Algumas crianças têm febre e sintomas inespecíficos como náuseas, vômitos, mal estar, anorexia e uma infecção de vias aéreas inferiores geralmente é diagnosticada. A criança pode ou não necessitar de tratamento, mas o que é evidente é a persistência dos sintomas por 1 a 2 meses do quadro agudo com tosse, sibilância, taquipnéia e intolerância aos exercícios físicos (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

Os achados ao exame físico são estertores, sibilos e pode ocorrer diminuição do murmúrio vesicular em algumas áreas. Alguns pacientes têm alterações difusas e graves, enquanto outros podem apresentar alterações leves com comprometimento de um lobo ou segmento pulmonar. Deformidades torácicas secundárias são freqüentes em pacientes com doença grave (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004). Síndrome de Swyer-James com aprisionamento de ar localizado em um dos pulmões, também ocorre e recebe a denominação de síndrome do pulmão hiperlucente (ROSÁRIO, KANTOR JR, 1998). As áreas afetadas aparecem na forma de hipertransparência na radiografia de tórax e diminuição da perfusão, que podem ser observadas na tomografia de tórax ou na cintilografia de perfusão. Baqueteamento digital pode ser observado nos pacientes com apresentação grave da doença. Tosse com expectoração não é uma manifestação típica e geralmente

ocorre nos pacientes que desenvolvem bronquiectasias. O diagnóstico deve ser lembrado na presença de sinais e sintomas sugestivos de BO (Tabela 3).

TABELA 3 - SINAIS E SINTOMAS SUGESTIVOS DE BO

-
- Tosse e sibilância persistente \geq 6 semanas após pneumonia.
 - Estertores e sibilos prolongados após quadro de pneumonia ou de insuficiência respiratória.
 - Intolerância ao exercício após lesão pulmonar.
 - Sintomas respiratórios graves desproporcionais aos achados observados na radiografia de tórax.
 - Aspiração recorrente do conteúdo gástrico associado aos sintomas anteriormente descritos.
 - Síndrome do pulmão hiperlucente.
 - Doença pulmonar grave com hiperaeração localizada.
-

FONTE: HARDY, K.A. Childhood bronchiolitis obliterans. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. New York: Raven Press Ltd. 1994, p.415-26.

Kim et al. (2001) avaliaram 31 crianças com diagnóstico de bronquiolite obliterante pós-infecciosa. Houve predomínio do gênero masculino e os principais sintomas foram tosse, sibilância, intolerância ao exercício, taquipnéia e doença respiratória freqüente. A presença de baqueteamento digital ocorreu apenas em 3 pacientes. Dos pacientes submetidos à tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) de tórax, 29 de 30 apresentaram alterações (hipertransparência, bronquiectasias e diminuição da vascularização). Dos pacientes submetidos à biópsia pulmonar, os achados foram bronquiectasias, obstrução das pequenas vias aéreas com células inflamatórias, tecido de granulação e ou fibrose, inflamação peribronquiolar e ou fibrose, atelectasia e redução do número e do tamanho dos vasos. A espirometria é um exame útil no diagnóstico de BO e os pacientes, caracteristicamente, apresentam doença pulmonar obstrutiva sem resposta à ação de broncodilatadores (KIM et al., 2001).

O curso clínico da BO é variável e depende do volume de tecido pulmonar comprometido. Pacientes com quadro clínico semelhante à influenza são tratados ambulatorialmente. Alguns evoluem com tosse, sibilância e estertores, que podem persistir por anos. Áreas de atelectasia, presentes no início, persistem. Se pequenas, não determinam comprometimento clínico, embora na evolução possam infectar-se e necessitar de lobectomia. Pacientes com doença grave podem necessitar de ventilação mecânica e o desmame pode ser lento. Geralmente sofrem de obstrução grave, são dependentes de oxigênio e alguns evoluem para óbito. Outros apresentam sibilância persistente sem resposta ao uso de broncodilatadores (COLOM et al., 2006).

A BO pós-infecciosa apresenta-se como um quadro de bronquiolite aguda grave em criança previamente saudável, com menos de 6 meses de idade. O período de incubação da bronquiolite por adenovírus varia de 2 a 14 dias. As características clínicas não podem ser diferenciadas de outras infecções virais. Sibilância, dificuldade respiratória e radiografia de tórax com infiltrados broncopneumônicos e atelectasia persistente, são frequentes. Finalmente, após internação prolongada, o paciente desenvolve sinais de insuficiência respiratória crônica, com gravidade que depende da extensão da lesão pulmonar. Nos casos mais graves, os pacientes são desnutridos, têm tosse crônica, taquipnéia, aumento do diâmetro antero-posterior, tiragens. Estertores bolhosos e sibilos geralmente estão presentes na ausculta pulmonar, acompanhados de diminuição da saturação transcutânea de oxigênio (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004). Os achados radiográficos são de aprisionamento de ar, e, com menor freqüência, de atelectasias. A tomografia computadorizada de tórax apresenta padrão de perfusão em mosaico, áreas de aprisionamento de ar, bronquiectasias e atelectasias (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004). O padrão de distribuição irregular bilateral, à

cintilografia de perfusão, representa áreas de perfusão nas áreas não afetadas. Avaliação cardiovascular é importante para identificar sinais de hipertensão pulmonar. A doença respiratória grave aumenta a pressão negativa intratorácica, que favorece o desenvolvimento de refluxo gastroesofágico. Os testes de função pulmonar revelam ausência de resposta ao broncodilatador, piora da retração elástica e aumento da resistência pulmonar. O tratamento da bronquiolite obliterante é s. Os corticóides são utilizados de forma empírica pois não há estudos que confirmem sua eficácia. Oxigênio domiciliar pode ser necessário em alguns pacientes, o que melhora a qualidade de vida e permite alta hospitalar (CHANG, MASEL, MASTERS, 1998).

2.1.6 Diagnóstico

Em países desenvolvidos, estudos sugerem que recém-nascidos prematuros, lactentes abaixo de 6 meses, baixo peso ao nascimento, imunodeficiências, cardiopatia congênita e fibrose cística, são fatores de risco para o desenvolvimento de sintomas mais graves e maior morbidade e mortalidade na bronquiolite viral aguda. Outros fatores que podem contribuir na gravidade da doença, observados no Sul do Brasil, foram o baixo peso na admissão, a alta taxa de reinternação, a falta de aleitamento materno e o tamanho da família (FISCHER, 1996). Fatores como o tipo de vírus, a resposta imunológica do hospedeiro, a predisposição genética e possivelmente, influências ambientais, podem levar a aumento da susceptibilidade em algumas populações, para o desenvolvimento de formas mais graves de infecção por adenovírus. A doença é mais prevalente no hemisfério sul com episódios epidêmicos no sul do Brasil, Argentina e Chile (FISCHER, 1996).

Colom et al. (2006) avaliaram os fatores de risco para o desenvolvimento de bronquiolite obliterante em crianças com bronquiolite viral aguda. Realizaram um estudo caso-controle com 109 crianças abaixo dos 3 anos, entre 1991 e 2002, no Hospital da Criança em Buenos Aires. A média da idade dos pacientes foi de 7 meses e houve predomínio do gênero masculino (58%). Nos pacientes que fizeram investigação viral, o adenovírus foi identificado em 72% dos casos, VRS em 10%, parainfluenza em (4%) e influenza em (1%). Por análise de regressão logística, os fatores de risco significativos foram infecção por adenovírus e ventilação mecânica. Outros fatores como idade, gênero, tabagismo passivo e tabagismo na gravidez, não foram determinantes para o desenvolvimento de BO. A resposta imunológica do hospedeiro e fatores geneticamente determinados poderiam ser fatores adicionais que modificam ou aumentam a suscetibilidade para BO pós-infecciosa (COLOM et al., 2006).

Os critérios para diagnóstico de bronquiolite obliterante são:

1. Ausência de doença respiratória durante o período neonatal e até o início da doença viral;
2. Bronquiolite grave em uma criança previamente saudável e pode necessitar internação hospitalar, oxigênio.
3. Após a fase aguda da doença, persistem os sintomas de dificuldade respiratória, com sinais de obstrução brônquica e aprisionamento de ar sem resposta ao uso de brometo de ipratrópio ou albuterol (TEPER et al., 1999).

Como descrito há mais de um século, o diagnóstico de bronquiolite viral aguda é baseado na apresentação clínica de uma infecção das vias aéreas superiores (coriza, febre, congestão nasal) seguido por tosse, taquipnéia e sinais de dificuldade respiratória. A detecção de VRS, adenovírus, parainfluenza ou influenza

na secreção nasal pode ajudar a confirmar o diagnóstico. Esse exame pode ser realizado por imunofluorescência, ELISA ou por cultura viral (HUGHES, MANN, HAMPARIAN, 1988). Na radiografia de tórax é possível verificar hiperinsuflação, infiltrado peribrônquico, atelectasias e padrão intersticial (COLOM et al., 2006).

Uma avaliação detalhada deve ser feita para excluir outras doenças que podem apresentar-se como doença pulmonar obstrutiva crônica. Fibrose cística, tuberculose, deficiência de alfa 1 - antitripsina e imunodeficiências podem ter apresentações clínicas semelhantes. O teste do suor, Mantoux e a dosagem de alfa 1 - antitripsina são normais e os níveis de imunoglobulinas podem estar aumentados (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

Refluxo gastroesofágico com aspiração e lesão pulmonar pode estar associado a bronquiolite obliterante. Isso é mais frequente em pacientes com fístula traqueo-esofágica submetidos à correção cirúrgica e que desenvolvem acalásia com aspiração e sintomas respiratórios recorrentes. A avaliação por pHmetria e o lavado broncoalveolar, para pesquisa de corpo estranho e macrófagos com gordura, devem ser realizados para avaliar esta hipótese. Exames específicos como cultura de nasofaringe, ou de lavado broncoalveolar, ou sorologia, podem ser úteis para identificar a etiologia viral, principalmente em crianças (HARDY, 1994).

O lavado broncoalveolar pode ser um exame útil na avaliação de doenças bronquiolares. O fluido obtido contém material das vias aéreas, cuja contribuição depende do processo inflamatório dos brônquios e bronquíolos. É evidente que alterações imunológicas e inflamatórias não apenas do espaço alveolar, mas também das vias aéreas podem ser avaliadas com o lavado broncoalveolar. Algumas características de doenças bronquiolares estão apresentadas na tabela 4 (COSTABEL, 1994).

TABELA 4 – LAVADO BRONCOALVEOLAR EM DOENÇAS BRONQUIOLARES

NEUTR.	EOS.	CD4/CD8	MACRÓFAGOS	LINF.
		↑↑↑		↑
	↑			
		↓		
				↑↑↑
			ND	
				↑↑↑
	↑		ND	
				↑↑
		↑	↓	
				↑↑↑
				↑↑
	↑			
		↓		

FONTE: Costabel, U. Bronchoalveolar lavage characteristics of the bronchiolar diseases.

In: Epler GR (ed). **Diseases of the bronchioles**. Raven Press, 1994; pp. 59-76.

NOTAS: ND = não determinado; LINF. = linfócitos; NEUTR. = neutrófilos; EOS. = eosinófilos.

Bernardi et al. (1995) encontraram em pacientes com síndrome de Swyer James, um aumento do número de neutrófilos, menor número de linfócitos e uma relação CD4/CD8 diminuída. Além disso, o número de células CD19 estava aumentado na presença de tosse e episódios de dispnéia (BERNARDI et al., 1995).

2.1.7 Achados Radiológicos e Cintilografia

A radiografia de tórax geralmente é normal, ou apresenta sinais de hiperinsuflação em lesões bronquiolares puramente obstrutivas, como bronquiolite constrictiva. Turton, Willians e Green (1981) avaliaram 15 pacientes com diagnóstico de bronquiolite constrictiva e compararam os achados da radiografia de tórax com a tomografia computadorizada de alta resolução. Os principais achados na radiografia de tórax, em 10 pacientes, foram hiperinsuflação e diminuição da vascularização. A radiografia de tórax foi normal em 5 de 15 pacientes (TURTON, WILLIANS, GREEN,

1981). Em outras doenças bronquiolares, pequenos nódulos ou infiltrados retículo-nodulares podem ser observados. Os achados radiológicos apresentam ampla variação, como infiltrados intersticiais e/ou peribrônquicos e áreas de consolidação confluentes em segmentos localizados (GOSINK, FRIEDMAN, LIEBOW, 1973). Atelectasias podem ser encontradas no segmento pulmonar afetado ou mesmo no pulmão inteiro (DOSANJH, 1992). A broncografia foi abandonada com o uso da tomografia computadorizada de tórax, uma vez que muitos autores demonstraram boa correlação entre esses exames (WEBB et al., 1988).

A tomografia de tórax é uma técnica adequada para pacientes que são capazes de fazer uma inspiração profunda e segurar a respiração. Crianças pequenas, incapazes de fazer pausa inspiratória, devem ser anestesiadas e entubadas para realizar o exame.

A maioria dos protocolos de tomografia computadorizada de tórax usa cortes finos de 1 a 2mm, corte a corte ou contínua, com algoritmo de alta resolução, do ápice ao ângulo costo-frênico, na posição supina, com reconstrução da imagem (HARTMAN, SWENSEN, MULLER, 1994; HANSELL, 2001). A imagem na posição prona é obtida quando há necessidade de avaliar áreas de atelectasia por decúbito de doença pulmonar infiltrativa. A tomografia em expiração deve ser realizada de rotina, quando doença das vias aéreas é avaliada. Como a definição da tomografia é limitada às vias aéreas maiores que 2mm de diâmetro, bronquíolos normais não podem ser vistos na TCAR (HANSELL, 2001). Entretanto, doenças bronquiolares com dilatação ou espessamento das paredes podem ser visualizadas. Além de demonstrar doença bronquiolar, a TCAR é útil na avaliação de doenças pulmonares intersticiais e doenças das grandes vias aéreas (COLLINS, BLANKENBAKER, STERN, 1998). Os achados de doença bronquiolar na TCAR podem ser categorizados em diretos e indiretos. Os diretos incluem espessamento da parede

do brônquio, dilatação bronquiolar e impactação brônquica. Espessamento da parede brônquica pode ocorrer secundária à inflamação ou fibrose. Impactação brônquica, com secreção ou material fibrótico, apresenta-se na forma de nódulos de 2 a 4 mm e opacidades centro-lobulares. Padrão *tree-in-bud* representa uma forma de impactação bronquiolar nas ramificações bronquiolares. Sinais indiretos de doença

bronquiolar na TCAR são atelectasia subsegmentar e aprisionamento de ar. O aprisionamento de ar, secundário a doença das pequenas vias aéreas, resulta em padrão em mosaico ou atenuação pulmonar, que não é específico para doenças bronquiolares. Em doenças bronquiolares o padrão em mosaico é causado por hipoventilação do alvéolo distal à obstrução bronquiolar, o que leva a uma vasoconstrição secundária (diminuição da perfusão) e é observada na TCAR como áreas com diminuição da atenuação. Os segmentos não comprometidos do pulmão apresentam perfusão normal ou aumentada, o que resulta em atenuação normal ou aumentada (HARTMAN, SWENSEN, MULLER, 1994; HANSELL, 2001). A avaliação das imagens em inspiração e expiração é útil para diferenciar doença bronquiolar de doença vascular e, algumas doenças infiltrativas, que podem causar padrão em mosaico. Nas doenças bronquiolares, as regiões mais transparentes permanecem nos cortes em expiração, devido ao aprisionamento de ar e mostram um pouco de diminuição da transparência ou diminuição do volume nas doenças vasculares. A tomografia de tórax demonstra áreas de perfusão em mosaico, áreas com diminuição da vascularização e aprisionamento de ar, que ficam mais evidentes na expiração e presença de bronquiectasias (MARKOPOULO et al., 2002). Embora esses achados tomográficos não sejam específicos de bronquiolite obliterante (Figura 3), a associação das manifestações clínicas com os achados radiológicos é muito sugestiva. Os achados de perfusão em mosaico ou atenuação do parênquima

pulmonar podem ser observados em doenças vasculares e doenças difusas do parênquima pulmonar, bem como, em doenças das pequenas vias aéreas. Os cortes tomográficos realizados em expiração e, o uso de contraste, ajuda a separar estas entidades clínicas (STERN et al., 1995).

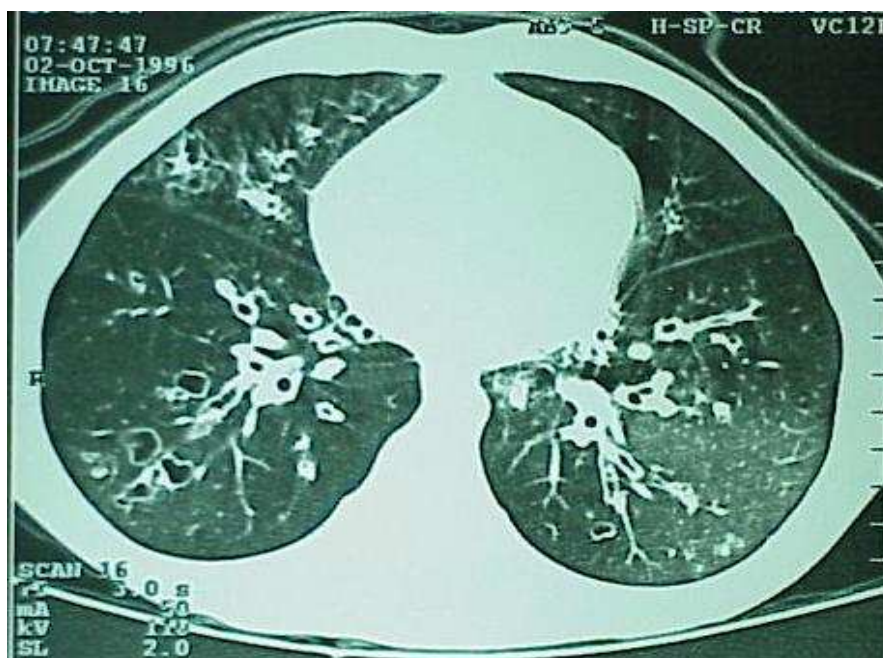


FIGURA 3 - TCAR DE TÓRAX DE PACIENTE COM BO. áreas de atenuação em mosaico, bronquiectasias, espessamento brônquico.

FONTE: SANTOS, R.V. et al. Bronquiolite obliterante pós-infecciosa: aspectos clínicos e exames complementares de 48 crianças. **J Bras Pneumol**, v.30, n.1, p.20-5, 2004.

Zhang et al. (2000) avaliaram 31 pacientes com diagnóstico de bronquiolite obliterante pós-infecciosa. Houve predomínio no gênero masculino (80,6%) com uma média de idade de 4,5 anos. A cintilografia de perfusão, realizada logo após o diagnóstico, evidenciou alterações de perfusão em todos os pacientes. Em 21 (67,8%) os defeitos de perfusão eram de um segmento ou subsegmento e, no restante, o padrão era lobar. Comparando a cintilografia com as radiografias de tórax, foi observado que os defeitos de perfusão, correspondiam às áreas de espessamento brônquico e bronquiectasias, evidentes na radiografia. A cintilografia

pulmonar não foi capaz de esclarecer a natureza das lesões broncopulmonares, mas permitiu avaliação objetiva da extensão e gravidade das lesões pulmonares (ZHANG et al., 2000).

2.1.8 Função Pulmonar

Alterações obstrutivas com aprisionamento de ar são geralmente observadas nas provas de função pulmonar. Testes de função pulmonar em lactentes têm mostrado um padrão semelhante. Pacientes com lesões pulmonares segmentares podem ter testes de função pulmonar normais. Os achados observados são de distúrbio ventilatório obstrutivo, padrão obstrutivo e restritivo associados à aprisionamento de ar (SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004; ZHANG et al., 2000).

Colom et al. (2006) fizeram análise de 109 pacientes com BO, dos quais 75 realizaram testes de função pulmonar. Os autores encontraram obstrução fixa ao fluxo aéreo, complacência diminuída e aumento da resistência. A média de resposta ao broncodilatador foi de 7%. A maioria dos pacientes fez uso de oxigênio após a alta hospitalar por um período médio de 17 meses. Houve melhora da hipoxemia e apenas 3% dos pacientes permaneceu em uso de oxigênio (COLOM et al., 2006).

Castro-Rodrigues et al. (2006) avaliaram 45 crianças internadas com pneumonia por adenovírus. Após 5 anos de evolução, 38 sobreviveram e destes, 47,4% desenvolveram BO pós-infecciosa. Estes apresentavam doença mais grave (internação em UTI, ventilação mecânica, oxigêniooterapia e uso de corticóides). Um achado interessante é que não houve diferença da resposta broncodilatadora entre o grupo com e sem BO (94% versus 80%, respectivamente) (CASTRO-RODRIGUEZ et al., 2006).

A hiperresponsividade brônquica (HRB) é uma das características da asma e também, em crianças e adultos com doença pulmonar obstrutiva crônica.

Yoo et al. (2006) avaliaram a HRB em crianças com diagnóstico de asma (n = 30), bronquiolite obliterante pós-infecciosa (n = 28) e crianças com história de infecção de vias aéreas inferiores (grupo controle, n = 25). Os testes de provocação brônquica foram realizados com metacolina e 5-monofosfato de adenosina. A metacolina age diretamente na musculatura brônquica, enquanto o monofosfato de adenosina, age de forma indireta pela liberação de mediadores pró-inflamatórios (De MEER, MARKS, POSTMA, 2004). A proposta do estudo foi comparar a provocação brônquica com metacolina e adenosina monofosfato em crianças com diagnóstico de bronquiolite obliterante pós-infecciosa pela medida dos valores de PC₂₀ (concentração que determina uma queda de 20% do VEF₁). A HRB à metacolina foi observada em todos os pacientes com asma, em 22 (78,6%) do grupo BO e em apenas 12% dos controles. Os resultados da provocação brônquica com monofosfato de adenosina foram: asma (93%), BO (28,5%) e grupo controle (16%). Os pacientes com BO pós-infecciosa, geralmente apresentam HRB à provocação brônquica por metacolina e não ao monofosfato de adenosina, o que sugere mecanismos diferentes do grupo de pacientes com asma (YOO et al., 2006).

2.1.9 Tratamento

Não existe um protocolo definido para o tratamento de BO pós-infecciosa. O uso de corticóide na fase precoce da doença é um tratamento proposto por Moran et al., com o objetivo de tentar modificar a resposta fibroblástica (MORAN, HELLSTROM, 1958).

KIM et al. (2001) ao avaliarem a resposta do tratamento da BO pós-infecciosa com corticóide oral em 17 pacientes, encontraram que 11 (64,7%) apresentaram melhora clínica. Quatro pacientes de 11, (com melhora ao uso de CTC) e 5 de 6 (sem melhora), realizaram espirometria com prova broncodilatadora. Entre os pacientes com melhora clínica ao uso de corticóide, 2 de 4 (50%)

apresentaram resposta funcional ao uso de beta-2 inalatório. Apesar do número pequeno da amostra, a resposta positiva ao uso de beta agonista parece ser um guia para o uso de corticóide sistêmico prolongado (KIM et al., 2001).

O uso de oxigênio ainda é a principal forma de tratamento para BVA (REYNOLDS, COOK, 1963; KIMPEM, SCHAAD, 1997). O uso de oxímetro de pulso geralmente é a única monitorização necessária nas formas leves. É importante o controle do balanço hídrico nas formas graves. O uso de broncodilatadores não muda a evolução clínica da doença e não há evidência para o uso de corticóide inalatório ou sistêmico. A ribavirina pode ser considerada em lactentes abaixo de 6 meses, recém-nascidos prematuros e pacientes com imunodeficiência, mas sua eficácia em prevenir, a longo prazo, as seqüelas de infecção por VRS não está estabelecida. Devido ao seu alto custo, a ribavirina geralmente não é disponível para tratamento nos países em desenvolvimento (KELLNER et al., 1996). Alguns pacientes com BO apresentam doença de caráter progressivo com pouca resposta ao corticóide (KINDT et al., 1989). A bronquiolite obliterante pós-infecciosa, em crianças, apresenta evolução diferente, alguns pacientes com evidente melhora clínica e nos níveis de saturação arterial (ZHANG et al., 2000; SANTOS, ROSÁRIO, RIEDI, 2004).

Gerhardt et al. (2003) avaliaram o uso de azitromicina em 6 pacientes com diagnóstico de BO submetidos a transplante pulmonar. Os pacientes usaram azitromicina na dose de 250mg, 3 vezes por semana, durante um tempo médio de 13,7 semanas (7 a 20,4 semanas). Destes, 5 apresentaram melhora significativa do VEF₁ (média = 17,1%), valor absoluto de 0,5 L (GERHARDT et al., 2003). Assim como em pacientes com fibrose cística, o uso de azitromicina durante 3 meses, mostrou-se eficaz na redução do número de neutrófilos e dos níveis de IL-8 no lavado broncoalveolar de pacientes submetidos a transplante pulmonar (VERLEDEN et al., 2006).

A BO é uma das principais complicações pós-transplante de pulmão e responsável por 30% dos óbitos no primeiro ano (TRULOCK et al., 2005).

Níveis elevados de fator de necrose tumoral (TNF- α), IL-6 e IL-8 estão associados com pior prognóstico de BO pós-adenovírus (MISTCHENKO et al., 1994). O infliximab, um anticorpo monoclonal para TNF- α , foi utilizado em um paciente com BO pós-transplante de pulmão e resultou em melhora clínica (tosse e fadiga), dos parâmetros de espirometria (capacidade vital forçada e VEF₁) e dos achados radiológicos na TCAR de tórax, o que abre uma nova perspectiva para o tratamento desta complicação grave pós-transplante (FULLMER et al., 2005).

2.2.10 Prevenção

Vacina para prevenção de VRS não apresenta eficácia comprovada, ao contrário, pacientes vacinados podem desenvolver formas mais graves da doença. Recentemente, imunoglobulina monoclonal humanizada para VRS está disponível, embora com alto custo, mesmo para pacientes de países desenvolvidos. O número de pacientes que devem receber imunoglobulina (NTT), para evitar uma internação, varia de 8 a 20, dependendo do estudo e da idade dos pacientes avaliados (PAES, 2003). Além disso, o vírus respiratório sincicial não é o principal vírus envolvido na patogênese da bronquiolite obliterante pós-infecciosa (COLOM et al., 2006).

Estratégias para prevenir infecção por adenovírus como o desenvolvimento de uma vacina, deveria ser motivo de pesquisa para prevenir uma doença com complicações tão graves. Até o momento, o diagnóstico precoce permite o isolamento destas crianças e tratamento agressivo (COLOM et al., 2006).

2.3 FIBROSE CÍSTICA

A fibrose cística é a doença genética fatal mais freqüente na etnia branca. Compromete principalmente indivíduos de origem européia e por isso, é relativamente freqüente no Sul do Brasil, devido à miscigenação que ocorre nesta população. Até 1930, a doença era reconhecida como uma síndrome clínica, mas as características clínicas são semelhantes com outras causas de má absorção e retardo de crescimento como a intolerância ao glúten (ANDERSEN, 1938).

A fibrose cística clássica pode ser diagnosticada pelo teste do suor. Cerca de 98% dos pacientes com fibrose cística apresentam concentrações de cloro e ou sódio elevados no suor (LeGRYS, 1996). No entanto, existem fenótipos de fibrose cística com teste do suor normal, onde outros métodos diagnósticos devem ser utilizados para o diagnóstico, como a pesquisa das mutações do gene *CFTR* e avaliação da diferença de potencial nasal (WALLIS, 2003).

De 22.301 pacientes com fibrose cística do Registro da Fundação de Fibrose Cística, 8.637 (38,7%) são maiores de 18 anos. Isso representa um aumento no número de adultos nos últimos 30 anos. Em 1970, eram apenas 700 pacientes.

Estas mudanças são atribuídas, em grande parte, ao aumento da sobrevida nos últimos 30 anos. A mediana de sobrevida, de 16 anos em 1970, aumentou para 32 anos atualmente. Para pacientes nascidos nos anos 90 a mediana prevista é superior a 40 anos. Entre os pacientes com fibrose cística, 64% estão entre 18 e 29 anos, 25% entre 30 e 39 anos, 10% entre 40 e 49 anos e 2% são maiores de 50 anos. Entre os adultos com fibrose cística, 53,9% são homens, o que reflete uma melhor sobrevida para o gênero masculino. A doença predomina nos caucasianos. Quase 90% dos adultos têm ensino secundário e mais de 25% completaram a universidade. Aproximadamente 1/3 dos pacientes adultos estão

¹casados. A função pulmonar de adultos com FC é muito variável. Se considerarmos a variável VEF₁, cerca de 36% dos pacientes têm função pulmonar normal ou levemente alterada, isto é, VEF₁ acima de 70% (WILFOND, TAUSSIG, 1999).

2.3.1 Conceito e Histórico

A FC é uma doença genética autossômica recessiva, grave, que acomete principalmente europeus e seus descendentes, secundária à alteração no transporte epitelial de ions. As principais manifestações clínicas comprometem o aparelho respiratório, digestório e reprodutor. A morbidade depende principalmente da doença do aparelho respiratório, que evolui para doença pulmonar obstrutiva crônica, mas outros problemas como insuficiência pancreática e má absorção, sinusite crônica, eletrólitos aumentados no suor e infertilidade podem ocorrer. Com menor frequência pode ocorrer diabetes, cirrose, pancreatite e polipose nasal. A gravidade e a expressão fenotípica varia muito, mesmo a taxa de declínio da função pulmonar (ROWE, MILLER, SORSCHER, 2005).

Em 1938, ANDERSEN², citada por MEARN (1993, p. 217) fez a descrição anátomo-patológica completa do que denominou “doença fibrocística do pâncreas”. Em 1943, FARBER³, citado por MEARS (1993, p. 217), chefe do Serviço de Patologia do Children's Hospital, Boston, com Harry Shwachman, concluíram ser

² ANDERSEN, D.H. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. **Am J Dis Child**, v.56, p.344-99, 1938.

³FARBER, S. Pancreatic insufficiency and the celiac syndrome. **N Engl J Med**, 1943; 229:653-82.

a doença generalizada e cunharam o nome “mucoviscidose”, que ressaltava o fato de essa doença caracterizar-se pelo aspecto espesso e viscoso das secreções.

Em 1946, ANDERSEN⁴, citado por QUINTON (1999, p. S4), sugeriu pela primeira vez o padrão de herança autossômico recessivo.

Um passo essencial para o diagnóstico foi dado em 1953, quando DI SANT'AGNESE et al.⁵, citado por QUINTON (1999, p. S4), demonstraram que pacientes com fibrose cística apresentavam teores elevados de cloreto de sódio no suor.

Em 1959, o desenvolvimento do teste do suor por iontoforese por pilocarpina resolveu muitos problemas diagnósticos e até hoje é o exame utilizado para o diagnóstico de fibrose cística (GIBSON e COOKE, 1959).

Em 1985, o gene que em sua seqüência normal protege os seres humanos de desenvolverem a doença, foi localizado no braço longo do cromossomo 7 (KNOWLTON et al., 1985); em setembro de 1989 foi clonado, seqüenciado e sua mutação mais freqüente identificada (KEREM et al., 1989; RIORDAN et al., 1989; ROMMENS et al., 1989).

2.3.2 Incidência

Sua incidência é, em média, de 1 caso em cada 2.500 nascimentos e o número de heterozigotos é estimado em 1 em cada 25 europeus. Calcula-se que

⁴ ANDERSEN, D.H.; HODGES, R.C. Celiac syndrome. V. Genetics of cystic fibrosis of the pancreas with a consideration of etiology. **Am J Dis Child**, v.72, p.62-80, 1946.

⁵ DI SANT'AGNESE, P.A.; DARLING, R.C.; PERERA, G.A.; SHEA, E. Abnormal electrolytic composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. **Pediatrics**, v.12, n.5, p. 549-63, 1953.

entre os afro-americanos a incidência de FC seja de 1 caso em cada 15.000 nascidos (HAMOSH et al., 1998) e de 1 caso em cada 90.000 orientais nascidos no Havaí (WRIGHT; MORTON, 1968).

Raskin, pela análise da frequência das principais mutações de FC no estado do Paraná, encontrou uma incidência estimada de 1:6.803 (IC de 95% = 1.103 - 41.270) e a probabilidade de um indivíduo ser portador do gene FC de 1:42, (IC de 95% = 17 - 102) (Tabela 5).

TABELA 5 - ESTIMATIVAS E LIMITE DE CONFIANÇA DE 95% DA FREQUÊNCIA DE HOMOZIGOTOS E DE HETEROZIGOTOS PORTADORES DE FIBROSE CÍSTICA, EM EURO E AFRO-BRASILEIROS

ESTADO	HOMOZIGOTOS			HETEROZIGOTOS PORTADORES		
	Incidência	Intervalo de Confiança		Frequência	Intervalo de Confiança	
EURO-BRASILEIROS						
Rio Grande do Sul	1 em 1 587	504 a	5 005	1 em 20	12 a	36
Santa Catarina	1 em 12 195	2 044 a	72 690	1 em 56	23 a	135
Paraná	1 em 6 803	1 103 a	41 720	1 em 42	17 a	102
São Paulo	1 em 32 258	3 281 a	318 549	1 em 90	29 a	282
Minas Gerais	1 em 21 277	2 895 a	156 449	1 em 73	27 a	198
TOTAL GERAL	1 em 7 576	3 633 a	15 802	1 em 44	31 a	63
COMBINADO	1 em 20 202	8 651 a	47 179	1 em 58	38 a	88
AFRO-BRASILEIROS	1 em 14 085	231 a	850 965	1 em 60	8 a	458

FONTE: RASKIN, S. **Estudo multicêntrico das bases de genética molecular e da epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras**. Curitiba 2001. Tese de doutorado - Universidade Federal do Paraná.

A triagem neonatal para FC no estado do Paraná, Brasil, iniciou no ano de 2001 e, até abril de 2004, aproximadamente meio milhão (456.982) de crianças foram avaliadas. Foram identificadas 48 crianças com fibrose cística, o que permite estabelecer uma incidência de 1:9.520 nascimentos, mas os autores lembram que

esta incidência pode ser um pouco maior, se for considerado que algumas crianças não tinham completado o processo de investigação e, mesmo pela eventualidade de algum caso não ter sido identificado como conseqüência do resultado falso-negativo do teste de triagem neonatal (SANTOS et al., 2005). Se analisarmos a incidência de FC no Paraná pelo teste de triagem neonatal, a possibilidade de alguém ser portador de uma mutação do gene FC é de 1:49.

2.3.4 Aspectos Clínicos

Os critérios diagnósticos para fibrose cística estão apresentados no quadro 2, apesar da heterogeneidade clínica e das mais diversas épocas da vida em que é possível diagnosticar a doença (desde a fase intra-uterina até idade mais avançada). Houve 1 caso diagnosticado aos 69 de idade, em uma mulher com história de bronquite crônica. O diagnóstico foi realizado pela presença de uma história familiar sugestiva, esteatorréia, bronquiectasias, insuficiência respiratória e eletrólitos elevados no suor. Na pesquisa das mutações a paciente era heterozigota para a mutação DF 508 (Van BIEZEN, OVERBEEK, HILVERING, 1992).

QUADRO 2 - CRITÉRIOS PARA O DIAGNÓSTICO DA FIBROSE CÍSTICA

<p>PRESENÇA DE UMA OU MAIS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Doença sinuso-pulmonar crônica; 2 - Alterações gastrintestinais e nutricionais; 3 - Síndrome da perda de sal; 4 - Anomalias urogenitais no homem com azoospermia obstrutiva; 5 - História familiar positiva. <p>ASSOCIADOS (alteração da CFTR)</p> <ul style="list-style-type: none"> - concentração de cloreto no suor acima de 60 mEq/l e/ou; - Potencial nasal alterado e/ou; - Presença de duas mutações para fibrose cística.

FONTE: WALLIS, C. Diagnosis and presentation of cystic fibrosis. In: CHERNICK, V.; BOAT, T.F.; WILMOTT, R.W.; BUSH, A. (eds). **Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children**. 7th ed, Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006, p.866-72.

Os pacientes com FC apresentam, quase sempre, algum grau das diferentes anormalidades características da doença:

- a) concentração elevada de ions inorgânicos nas glândulas exócrinas, com níveis aumentados de sódio (Na^+) e cloro (Cl^-) no suor;
- b) viscosidade aumentada do muco das glândulas secretoras, associada a obstrução ou perda da função glandular;
- c) susceptibilidade aumentada à colonização brônquica por grupos específicos de bactérias.

QUADRO 3 - FORMAS ATÍPICAS DE APRESENTAÇÃO DA FIBROSE CÍSTICA

MANIFESTAÇÕES RESPIRATÓRIAS
Bronquiolite/asma Pneumonia estafilocócica Colonização do trato respiratório por <i>Pseudomonas</i> Pólipos nasais
MANIFESTAÇÕES GASTRINTESTINAIS
Prolapso retal/síndrome da rolha meconial Dor abdominal recorrente e/ou massa no quadrante inferior direito Icterícia neonatal prolongada/edema hipoprotéico Deficiência vitamínica (A, D, E, K)/Cirrose biliar com hipertensão portal Acrodermatite enteropática (tipo déficit de zinco e ácidos graxos) Volvo intra-uterino/pancreatite recorrente
MANIFESTAÇÕES GENITO-URINÁRIAS
Infertilidade masculina Infertilidade feminina
OUTRAS MANIFESTAÇÕES
Alcalose hipoclorêmica, hiponatrêmica Mãe com um filho afetado de fibrose cística

FONTE: WELSH, M.J. et al. Cystic fibrosis. In: SCRIVER, C.R; BEAUDET, A.L; SLY, W.S; VALLE, D. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**, 7. ed. New York: McGraw-Hill. 1995, p.3799-876.

A FC pode manifestar-se de diferentes formas, simulando várias entidades clínicas, conforme indicado no quadro 3. As manifestações mais comuns

incluem tosse persistente e presença de infiltrados pulmonares refratários ou recorrentes. Manifestações gastrintestinais, tais como íleo meconial, ocorrem em aproximadamente 10% dos afetados, assim como déficit de crescimento acompanhado de esteatorréia.

Afetados com história familiar de FC podem ser diagnosticados no início dos sintomas ou até antes, por meio das técnicas de biologia molecular. Para um número considerável de afetados, a FC pode ter seu diagnóstico retardado ou despercebido nas primeiras décadas de vida por causa de formas atípicas de apresentação ou por desconhecimento dos sinais da doença pelos profissionais da área de saúde (WALLIS, 2006).

2.3.4 CFTR

Em 1949, Lowe, May e Reed, estabeleceram que a fibrose cística poderia ser causada por um defeito genético (em um único gene e portanto, uma proteína) com um padrão autossômico recessivo (LOWE, MAY, REED, 1949). A caracterização do mecanismo molecular foi identificar qual proteína seria responsável. A presença de quantidade elevada de sódio e cloro no suor sugeria uma alteração no transporte de eletrólitos. Quinton (1986) sugeriu que o ducto das glândulas sudoríparas, dos pacientes com fibrose cística, seria impermeável ao cloro (QUINTON, 1986). Estudos do epitélio nasal e, posteriormente, das células epiteliais das vias aéreas de pacientes com fibrose cística, forneceram evidências conclusivas de um defeito na permeabilidade do cloro (WELSH, LIEDTKE, 1983; KNOWLES et al., 1983). Em seguida, Collins e Weissman, identificaram o gene responsável pela doença e denominaram de *CFTR* (COLLINS, WEISSMAN, 1984).

Rich et al. (1990) demonstraram que a expressão da CFTR em células sem canais de cloro levava ao aparecimento de outras formas de permeabilidade ao

cloro (RICH et al., 1990). Parece que o papel da CFTR na porção apical das células epiteliais pode ir além da permeabilidade ao canal de cloro. Em humanos e ratos, a ausência da CFTR influencia a expressão de outras proteínas responsáveis por transporte iônico, processo inflamatório e de resposta celular (XU et al., 2003). Estas outras proteínas são potenciais modificadores do fenótipo da fibrose cística e podem explicar os diferentes fenótipos e gravidade entre pacientes com as mesmas mutações para o *CFTR*. Algumas funções para a CFTR têm sido descritas por Rowe (2005), ROWE, MILLER, SORSCHER, 2005), como:

- diminui o transporte de sódio na célula epitelial;
- regulação canais de cloro ativado por cálcio;
- regula os canais de potássio;
- função de exocitose;
- formação de complexos moleculares.

A ausência de atividade normal da CFTR em pacientes com fibrose cística provoca obstrução nas vias aéreas do aparelho respiratório e em outros órgãos. No pulmão, a secreção espessa e viscosa provoca obstrução das vias aéreas distais e glândulas submucosas que expressam a CFTR (ENGELHARDT et al., 1992). A impactação de muco nos ductos pancreáticos ocasiona fibrose crônica, substituição da glândula por gordura ou ambos e a apresentação de formas frustras da doença em grupos de pacientes com diagnóstico prévio de pancreatite alcoólica ou idiopática (COHN et al., 1998; SHARER et al., 1998). Aproximadamente 10% dos pacientes com fibrose cística nascem com obstrução intestinal (íleo meconial), uma condição fatal, se não tratada. Homens com fibrose cística geralmente são inférteis, secundário a obstrução glandular *in utero*, o que causa involução do canal deferente, ductos de Wolff e estruturas associadas. As mutações do *CFTR* também

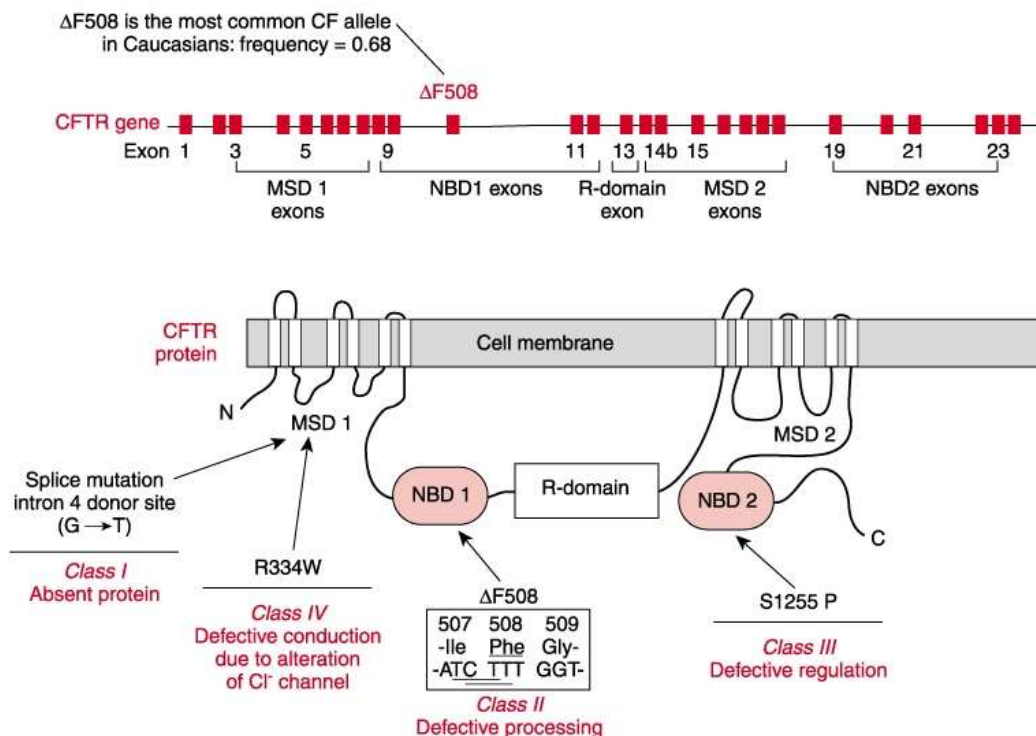
causam infertilidade como uma variante de fibrose cística denominada ausência congênita bilateral do ducto deferente (CHILLÓN et al., 1995).

De forma semelhante, a obstrução de canalículos biliares geralmente determina lesão hepática e, em alguns casos, cirrose biliar (ROWE, MILLER, SORSCHER, 2005). A CFTR é uma proteína multifuncional e a sua atividade como canal de cloro está entre outras a serem pesquisadas. Parece funcionar como uma “plataforma” que permite a localização do processo inflamatório na proximidade da membrana apical. Isto poderia “ligar” a função alterada da proteína CFTR com inflamação, por provocar uma alteração no metabolismo dos ácidos graxos. Embora especulativo, não é improvável que outras funções da CFTR (de controle e de proteína, não de controle de canal) podem ser importantes na patogênese da FC, assim como um melhor conhecimento das suas propriedades como proteína de transporte (MEHTA, 2005).

2.3.5 Mutações no Gene *CFTR*

As mutações associadas à FC não são aleatórias e se localizam mais freqüentemente na primeira metade do gene *CFTR*, principalmente na 1^a região NBF (*Nucleotide Binding Fold*), particularmente nos exons 10 e 11. A 1^a região MSD (*Membrane Spanning Domain*) revela um aglomerado de mutações nos exons 4 e 7. Poucas e raras mutações são encontradas na subunidade R e na 2^a região MSD. A 2^a região NBF, assim como a 1^a, é sítio de diversas mutações, principalmente nos exons 19 e 20 (figura 4).

A maioria das mutações na região codificante da CFTR envolvem transições do tipo G-A (24,1%) e C-T (14,7%), enquanto transversões G-T (11,9%) são o terceiro tipo mais comum. Entretanto, apenas 15,7% das mutações de ponto na região codificante ocorrem em sítios CG, em contraste com o que sucede em outros genes humanos (COOPER; KRAWCZAK, 1993; MORRAL et al., 1994).



W.B. Saunders Company items and derived items copyright © 2002 by W.B. Saunders Company

FIGURA 4. ESTRUTURA DO GENE *CFTR* E DA PROTEÍNA

FONTE: W.B. Saunders Company items and derived items copyright 2002 by W.B. Saunders Company (figura original).

Há atualmente 1502 mutações listadas nos dados da CFF (*CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION* - CFMDB Statistics). Cerca de 42% das mutações é modificação ou alteração do sentido devido à substituição de aminoácidos (*missense*); 15,6% é do tipo que desvia ou altera o quadro de leitura (*frameshift*); 14,7%, por variação da sequência; 12,5%, do tipo que impede o correto processamento (corte e reunião) do RNA mensageiro (*splicing*); 9,7%, do tipo que causa a terminação da cadeia (*nonsense*); 4,8%, deleções e 10%, são de outros tipos (Figura 5).

Extensas análises haplotípicas, utilizando marcadores extra e intragênicos, demonstram que a maioria das mutações está associada com haplótipos únicos, o

que indica que tais mutações são derivadas de um evento mutacional único (MORRAL et al.,1996). Enquanto em algumas populações é possível identificar praticamente todas as mutações do gene *CFTR* presentes nos afetados, em outras isso não é possível, o que mostra a importância dos polimorfismos extragênicos, KM19 e XV2C e intragênicos, como instrumento no aconselhamento genético. Já foram identificados polimorfismos intragênicos de repetições TA, CA, GT ou TTGA nos introns 1, 6a, 8 e 17b (ZIELENSKI et al., 1991; MOULIN, SMITH, HARRIS, 1997).

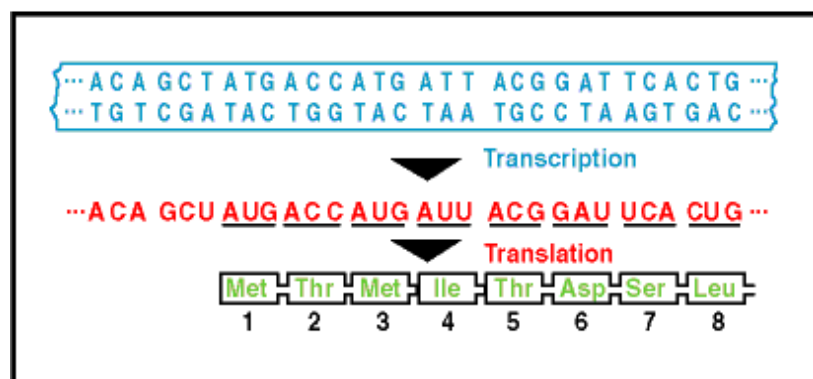
"Nonsense Mutation"

TAC	GTG	ATT	CCA	AAG	TAG	ACT
AUG	CAC	UAA	GGU	UUC	AUC	UGA
met	his	-	-	-	-	-

"Missense mutation"

TAC	GTG	ATA	GCA	AAG	TAG	ACT
AUG	CAC	UAU	CGU	UUC	AUC	UGA
met	his	tyr	arg	phe	ile	-

WILD TYPE



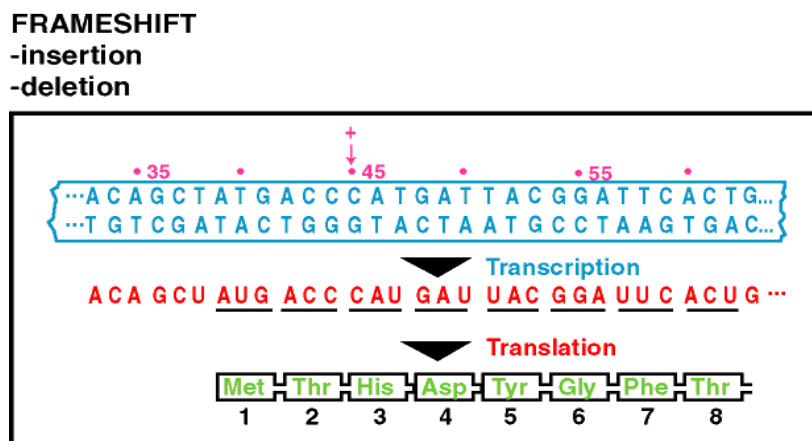


FIGURA 5. EXEMPLOS DE MUTAÇÕES NO GENE *CFTR*.

FONTE: CFF. **CFMDB Statistics**. Disponível em: <<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>> Acesso em 05 de set. 2006

Outras mutações são associadas com dois ou três haplótipos diferentes e portanto, não podem ser derivadas uma da outra por mecanismos moleculares simples (MORRAL, LLEVADOT, CASALS, 1994). Além disso, como algumas dessas mutações são detectadas em diferentes grupos continentais, provavelmente representam mutações recorrentes que se originaram independentemente em cromossomos com diferentes haplótipos. Poucas publicações descrevem novas mutações no gene *CFTR*, ambas paternas, uma ocorrendo em um dinucleotídeo CG e outra trocando T para G, demonstrando a taxa muito baixa de novas mutações no gene (CASALS et al., 1998).

O alelo 5T é um polimorfismo no intron 8 do *CFTR* que já foi demonstrado reduzir sua função, pela redução na transcrição do éxon 9. Este alelo ocorre em 10% dos indivíduos caucasianos. A figura 6 ilustra a representação detalhada do intron 8.

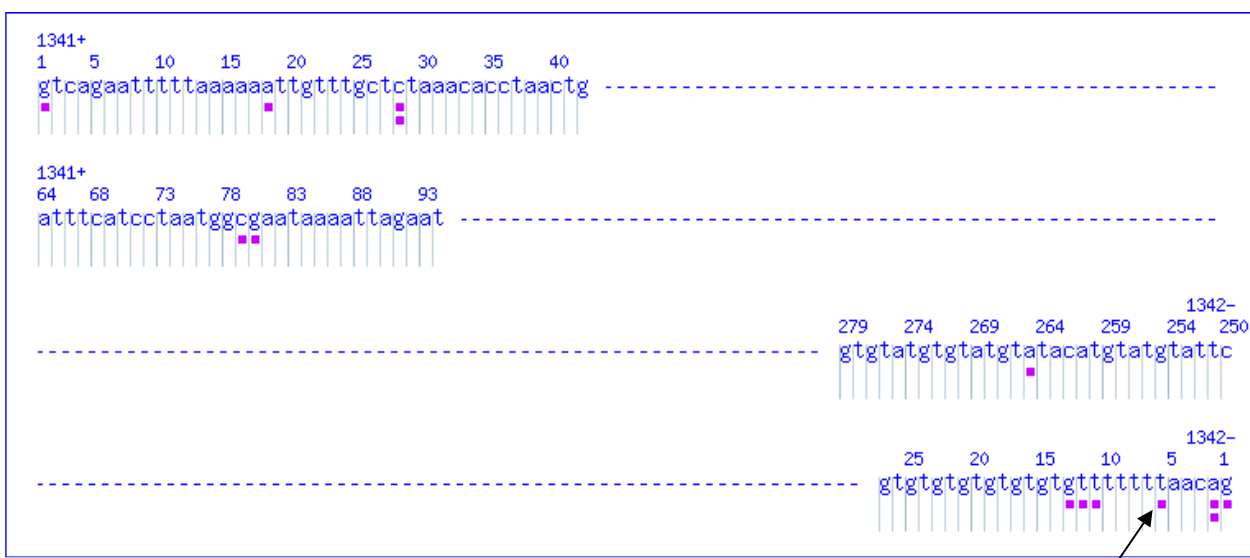


FIGURA 6. INTRON 8 COM A SEQUÊNCIA DE TIMIDINAS

FONTE: CFF. **CFMDB Statistics**. Disponível em: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cff/>> Acesso em 05 set. 2006.

Há um polimorfismo na sequência de timidinas ao final do íntron 8 do gene *CFTR*; três diferentes alelos podem ser encontrados na dependência do número de timidinas 5, 7 e 9 (CHU et al., 1991). O número de timidinas determina a eficiência pela qual o local de sobreposição do íntron 8 será utilizado. A eficiência diminui quando uma extensão de resíduos de timidina é menor. Uma maior proporção da *CFTR* transcrita com a falta da sequência do éxon 9, a qual codifica parte do NBD1, será encontrada quando uma sequência menor de timidinas estiver presente (CHU et al., 1993).

Se a mutação R117H estiver associada com o alelo 5T o paciente apresentará FC. Uma mutação R117H, associada ao alelo 7T, determina FC ou ACBDD. (KIESEWETTER et al., 1993)

Teng et al. (1997) observaram que o alelo 5T resulta em maior ineficiência da sobreposição do local de acesso. A maioria da CFTR transcrita de um alelo 5T resultará na falta do sequenciamento do éxon 9 (TENG et al., 1997).

2.3.6 Mutação DF508

A comparação da seqüência de bases nitrogenadas do gene mutado com a seqüência do alelo selvagem confirmou os resultados dos estudos genéticos com os marcadores extragênicos ligados ao gene, ou seja, de que a maioria dos afetados é portador da mesma mutação, a qual consiste em uma deleção de 3 pares de bases entre os nucleotídios 1652 e 1655 do éxon 10, tendo como consequência uma deleção do aminoácido fenilalanina no códon 508 (GELEHRTER, COLLINS, 1990) (Quadro 4).

QUADRO 4 - MUTAÇÃO DF508 DO GENE *CFTR*

SEQÜÊNCIA SELVAGEM DE PARTE DO ÉXON 10 DE <i>CFTR</i>								
DNA	GAA	AAT	ATC	ATC	TTT	GGT	GTT	TCC
Aminoácido	Glu	Asn	Ile	Ile	Phe	Gly	Val	Ser
Códon	504	505	506	507	508	509	510	511
SEQÜÊNCIA DE PARTE DO ÉXON 10 DE <i>CFTR</i> COM A MUTAÇÃO DF508								
DNA	GAA	AAT	ATC	AT-	--T	GGT	GTT	TCC
Aminoácido	Glu	Asn	Ile	Ile		Gly	Val	Ser
Códon	504	505	506	507	508	509	510	511

FONTE: GELEHRTER, T.D.; COLLINS, F.S. Anatomy of the human genome: gene mapping and linkage. In: **Principles of medical genetics**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990. p. 193-227. (Adaptado)

Essa deleção acontece em uma região chave da proteína CFTR, fazendo com que a proteína codificada com a mutação DF508, fique presa no citoplasma celular, no complexo de Golgi e no retículo endoplasmático, não atingindo portanto, a sua localização final e correta, que seria o ápice da membrana celular (KEREM et al., 1989).

É a mutação mais freqüente no *CFTR* na grande maioria das populações mundiais, tendo sido detectada em 66,6% de 11.378 cromossomos em diversos continentes (CFGAC, 1990). Entre as populações, porém, existem profundas variações nessa freqüência: desde 22% em Israel, 26% na Argélia e na Turquia, até 88% dos alelos mutados na Dinamarca (CFGAC, 1990).

As mutações mais freqüentes encontradas por Bernardino et al. (2000) e por Raskin et al (1997) foram semelhantes e observadas na mesma ordem de freqüência (DF508, G542X, R1162X, N1303K e R334W) (RASKIN et al., 1997; BERNARDINO et al., 2000). Na tabela 6 é apresentada a freqüência das mutações detectadas, classificadas por grupo continental e por Estado de nascimento dos afetados.

Entre os afetados euro-brasileiros, cinco das mutações testadas (DF508, G542X, N1303K, R553X e G551D) foram detectadas em 59,4% dos alelos, e 23 das 70 mutações pesquisadas foram detectadas em 80,7% dos alelos testados.

A mutação mais freqüente foi a deleção DF508 (48,7%) e a segunda mais freqüente foi G542X (7,1%).

2.3.7 Mutações *CFTR* e suas Consequências

O gene *CFTR* é formado por 180.000 pares de bases ao longo do cromossomo 7. A proteína contém 1480 aminoácidos. Mais de 1500 mutações associadas a doença foram descritas CFF. CFMDB Statistics. (Disponível em: <<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>> Acesso em 05 set. 2006). Estas mutações são classificadas em classes, de acordo com o mecanismo pelo qual ela provoca doença. A mais freqüente é a delta F 508 e, está presente em 47% dos pacientes com fibrose cística do Paraná e classificada como grau II (RASKIN, 2001) Quando sintetizada, a proteína é rapidamente degradada antes de atingir a parte apical da célula.

TABELA 6 - FREQUÊNCIA DAS MUTAÇÕES *CFTR* DETECTADAS EM INDIVÍDUOS AFETADOS, POR GRUPO CONTINENTAL E ESTADO DE NASCIMENTO

MUTAÇÕES	EURO-BRASILEIROS								AFRO-BRASILEIROS		TOTAL		
	RS	SP	SC	PR	MG	Total ⁽¹⁾		SC, PR, MG ⁽²⁾		n	%	N	%
	n	n	n	n	n	n	%	n	%				
DF508	52	57	53	39	54	255	48,7	146	47,1	8	10,5	263	43,8
G542X	3	11	6	9	8	37	7,16	23	7,4	1	1,3	38	6,3
R1162X	NT	NT	9	2	4	15	4,8	2	2,6	17	4,4
N1303K	4	0	5	5	0	14	2,7	10	3,2	0	0	14	2,6
R334W	NT	NT	5	1	4	10	3,2	0	0	10	1,7
G85E	NT	NT	2	2	4	8	2,6	1	1,3	9	2,3
1717-1G→A	NT	NT	1	3	2	6	1,9	0	0	6	1,6
W1282X	NT	NT	4	1	1	6	1,9	0	0	6	1,6
3849+10kbC→T	NT	NT	1	3	1	5	1,6	0	0	5	1,3
R553X	0	2	0	2	0	4	0,8	2	0,7	0	0	4	0,7
1812-1G→A	NT	NT	0	1	3	4	1,3	1	1,3	5	1,3
2183AA→G	NT	NT	2	1	0	3	1,0	0	0	3	0,8
3120+1G→A	NT	NT	0	0	2	2	0,7	2	2,6	4	1,0
Y1092X	NT	NT	0	1	1	2	0,7	1	1,3	3	0,8
G551D	0	1	0	0	0	1	0,2	0	0	0	0	1	0,2
W1089X	NT	NT	0	0	1	1	0,3	0	0	1	0,3
621+1G→T	NT	NT	0	1	0	1	0,3	0	0	1	0,3
Q1238X	NT	NT	0	1	0	1	0,3	0	0	1	0,3
711-1G→T	NT	NT	0	1	0	1	0,3	0	0	1	0,3
R347P	NT	NT	1	0	0	1	0,3	0	0	1	0,3
1898+1G→A	NT	NT	1	0	0	1	0,3	0	0	1	0,3
S549R	NT	NT	1	0	0	1	0,3	0	0	1	0,3
I507	NT	NT	0	0	1	1	0,3	0	0	1	0,3
SUBTOTAL	59	71	91	73	86	311	59,45	250	80,7	16	21,1	397	
Mutações não-detectadas	47	37	5	27	28	213	40,7	60	19,4	60	79,0		
TOTAL GERAL	106	108	96	100	114	524	100,0	310	100,0	76	100,0	600	100,0
TAXA DE DETECÇÃO (%)													
5 mutações	50,9	65,7	66,7	55,0	54,4	59,4		58,4		13,2			
70 mutações	NT	NT	94,8	73,0	75,4	NT		80,7		21,1			

FONTE: RASKIN, S. **Estudo multicêntrico das bases de genética molecular e da epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras**. Curitiba 2001. Tese de doutorado - Universidade Federal do Paraná.

NOTA: NT=não-testadas.

(1) Frequências referentes apenas às 5 mutações assinaladas em negrito, testadas nos cinco Estados.

(2) Frequências referentes às 23 mutações detectadas das 70 testadas nesses três Estados. As seguintes mutações foram testadas mas não detectadas nas amostras: A455E, A559T, C524X, D1270N, E60X, G178R, G330X, 2307insA, I148T, K710X, P574H, Q493X, Q890X, R1158X, R117H, R347H, R352Q, R560T, S1196X, S1255X, S364P, S549N e V520.

Assim como a proteína codificada pela mutação DF508, outras proteínas são rapidamente degradadas, tais como as codificadas pelas N1303K, G85E e G91R. Cerca de 5 a 10% das mutações são classe I, como a 542X. Outras mutações codificam a CFTR completamente, mas sem atividade (classe III), por exemplo, a mutação G551D. A proteína resultante da mutação A455E (classe IV), possui uma atividade parcial no transporte de ions, o que confere o fenótipo mais leve (GAN, VEEZE, van den OUWELAND et al., 1995). As mutações de classe V configuram uma síntese reduzida da CFTR e, as de classe VI, uma estabilidade alterada da CFTR na superfície celular (WELSH, SMITH, 1993; HAARDT et al., 1999).

A fibrose cística é a principal causa de insuficiência pancreática na infância. A fibrose cística é causada por mutações no gene *CFTR* que codifica uma proteína expressada na parte apical das células epiteliais exócrinas. O aparelho gastrointestinal e os ductos pancreáticos apresentam semelhanças com o epitélio respiratório. A alteração do transporte de água, ions e nutrientes, pelo epitélio intestinal é responsável por sintomas como íleo meconial. Alterações semelhantes são observadas no epitélio pancreático, o que leva a síntese de secreção pancreática exócrina pobre em bicarbonato, com pH baixo e pequeno volume. As secreções espessas provocam obstrução do ducto pancreático, diminuição da secreção de enzimas pancreáticas, dilatação dos ductos e fibrose pancreática (TAYLOR, ASWANI, 2002).

Entre 10 e 15% dos pacientes com fibrose cística apresentam secreção pancreática normal (DOOLEY et al., 1956). O fenótipo mais leve destes pacientes com suficiência pancreática foi descrito em 1975 por Shwachman, que relatou em seus pacientes, ausência de complicações gastrointestinais, diabetes, doença hepática, prolapso retal e deficiência de vitaminas. Estes pacientes tinham melhor crescimento e desenvolvimento (SHWACHMAN, 1975). O grau de correlação entre o genótipo *CFTR* e o fenótipo de FC varia muito, mas é alto para as manifestações

pancreáticas e pobre para as manifestações pulmonares. O fenótipo de insuficiência pancreática ocorre em pacientes com duas mutações graves como $\Delta F508$, $\Delta 1507$, G551D e R553X (KRISITIDIS et al., 1992). Pacientes que possuem mutações leves (R117H, A455E, R334W) em um ou dois cromossomos têm fenótipo respiratório leve, melhor sobrevida e concentrações de cloro no suor mais baixa do que pacientes com insuficiência pancreática (GASKIN et al., 1982; HUANG et al., 1987).

Algumas condições podem estar associadas com uma frequência maior das mutações no gene *CFTR*, mas com evidências insuficientes para o diagnóstico de fibrose cística (WALLIS, 2006).

1. Pancreatite, aguda ou recorrente.
2. Bronquiectasias disseminadas
3. Azoospermia obstrutiva isolada
4. Aspergilose broncopulmonar alérgica
5. Panbronquiolite difusa
6. Colangite esclerosante
7. Hipertripsinogenemia neonatal
8. Rinossinusite
9. Exaustão pelo calor

2.3.7.1 Pancreatite crônica

Pacientes com diagnóstico de pancreatite idiopática podem apresentar maior frequência de mutações do gene *CFTR* (COHN et al., 1998). Os autores avaliaram 27 pacientes com diagnóstico de pancreatite crônica idiopática. A avaliação laboratorial incluiu 17 mutações para FC e também para o alelo 5T. Dez (37%) pacientes tinham a presença de pelo menos um alelo anormal para o gene *CFTR*; oito deles, uma mutação no gene *CFTR* com uma taxa de prevalência de

11:1; (IC de 95%: 0,05 - 0,23). Houve uma associação evidente entre pancreatite crônica e mutações no gene *CFTR*.

Sharer et al. (1998) relataram achados semelhantes em 134 pacientes com pancreatite crônica (SHARER et al., 1998). Vinte e duas mutações no gene *CFTR* foram analisadas. Dezoito (13,4%) tinham uma mutação em um dos alelos comparado com uma frequência de 5,3% entre 600 pessoas não aparentadas com história familiar de fibrose cística. O alelo 5T no íntron 8 (14 de 134) é duas vezes mais freqüente que o esperado para a população saudável (10,4%). Achados semelhantes foram relatados por outros autores (TRUNIGER et al., 2001).

Gomez Lira et al. (2000) postularam que as mutações no gene *CFTR* podem estar envolvidas na obstrução pancreática com manifestações de pancreatite idiopática ou hipertripsinemia neonatal. Com esta hipótese, os autores realizaram *screening* das mutações FC em 32 pacientes com pancreatite idiopática, dos quais 14 eram portadores da variante 5T ou tinham teste do suor limítrofe; os outros 18, não apresentavam mutações para FC ou qualquer característica para FC. Além disso, avaliaram 49 recém-nascidos com hipertripsinemia e teste do suor normal (32 apresentavam uma mutação FC). Entre as mutações raras, a mais freqüente foi a L997F, presente em 4 de 32 (12,5%) pacientes com pancreatite idiopática e, em 4 de 49 (8%) dos recém-nascidos com hipertripsinemia. Estes dados sugerem que a mutação L997F parece estar associada com um aumento da susceptibilidade da obstrução dos ductos pancreáticos (GOMEZ LIRA et al., 2000).

Scotet et al. (2001) avaliaram a freqüência de heterozigotos entre crianças com hipertripsinemia detectadas pelo programa de triagem neonatal em Brittany (França). Um total de 160.019 recém-nascidos foram avaliados. De 1964 com aumento de IRT, 60 tinham FC e 213 eram portadores. A freqüência de heterozigotos foi 12,8%, três vezes maior que o esperado para a população saudável (3,9%). Este estudo demonstra em neonatos com hipertripsinemia, uma

frequência maior de heterozigotos em relação à população saudável (SCOTET et al., 2001).

2.3.7.2 Rinossinusite crônica

A inflamação do epitélio das cavidades paranasais é uma condição comum nas infecções do trato respiratório superior (GWALTNEY et al., 1994). A forma persistente deste problema, a rinossinusite crônica (RSC), é uma doença crônica que afeta cerca de 14% da população dos EUA. Muitos fatores já foram considerados como contribuintes para a fisiopatologia deste problema, mas pouco se sabe sobre a sua base molecular (KALINER et al., 1997). A rinossinusite é um achado clínico frequente em pacientes com fibrose cística (GYSIN, ALOTHMAN, PAPSIN, 2000). O espectro fenotípico da fibrose cística é muito variável. Por exemplo, descobriu-se que pacientes portadores de FC atípica apresentam doença pulmonar com eletrólitos no suor normais e mutações nos dois genes de *CFTR* (HIGHSMITH et al., 1994). Recentemente, também foi demonstrado que pacientes com polipose nasal apresentam maior frequência de mutações no gene *CFTR* (KOSTUCH et al., 2005), assim como em indivíduos com pancreatite crônica isolada (COHN et al., 1998; SHARER et al., 1998) e aspergilose broncopulmonar (MILLER et al., 1996).

Pacientes portadores de uma mutação para fibrose cística podem expressar clinicamente sintomas da função diminuída da *CFTR* em algum órgão alvo (deferente, pulmão e pâncreas). No entanto, esses pacientes não apresentam manifestações clínicas de fibrose cística e têm teste do suor normal. Por exemplo, até 66% dos pacientes com ausência congênita bilateral do ducto deferente podem ter mutações do gene *CFTR* e acredita-se que um único alelo pode determinar uma alteração no canal do cloro no epidídimo e uma possível regressão precoce do ducto mesonéfrico (DOHLE et al., 1999). Em alguns indivíduos que são portadores de mutação no gene *CFTR*, a manifestação da doença pode ser precipitada por um

fator adicional como tabagismo, consumo de álcool ou atopia no caso de aspergilose broncopulmonar (RAMAN et al., 2002).

A RSC é uma causa de morbidade importante em crianças. Atopia e imunodeficiências, especialmente humorais, são fatores de risco para RSC e ocorrem em 40 a 55% dos casos. No restante, nenhum fator predisponente é encontrado. Considerando que RSC é um sintoma de FC e que FC atípica pode manifestar-se como RSC, Raman et al. (2002) avaliaram 58 crianças com manifestações de RSC e que não preenchiam critérios diagnósticos para FC. A presença de mutações FC foi encontrada em 12,1% dos pacientes para uma frequência esperada de 3 a 4%. A frequência do polimorfismo 5T no intron 8 foi igual à da população saudável. Estes achados sugerem a importância das mutações no gene *CFTR* como fatores predisponentes para o desenvolvimento de RSC em crianças (RAMAN et al., 2002).

A RSC é aspecto quase invariável da FC que apresenta um aspecto fenotípico amplo. Existem alterações nas cavidades paranasais que, quando presentes, são patognomônicas de FC (GYSIN, ALOTHMAN, PAPSIN, 2000). Wang et al. (2005) avaliaram se a presença de mutações no gene *CFTR* é fator predisponente para rinosinusite crônica. Realizaram um estudo caso controle em 147 pacientes com RSC onde foram pesquisadas 16 mutações para FC. Pacientes com uma mutação realizaram teste do suor, medida da diferença de potencial nasal e avaliação de DNA para outras mutações. Em onze pacientes foram encontradas mutações de FC (destes, 1 foi confirmado o diagnóstico de FC). A presença de uma mutação de FC em 10 pacientes com RSC (7%), foi estatisticamente superior aos controles (2%), o que demonstra que a presença de uma mutação FC pode estar associada com o desenvolvimento de RSC na população saudável (WANG, MOYLAN, LEOPOLD et al., 2000).

A etiologia da rinosinusite crônica sugere uma condição genética pela presença de casos em vários membros de uma mesma família. Se a presença de

uma mutação de FC é fator que predispõe para o desenvolvimento de RSC, então esta condição deve ser mais freqüente nos pais biológicos de pacientes com FC. Wang et al. (2005) avaliaram a frequência de rinosinusite em pacientes portadores de uma mutação para FC. Para avaliar esta hipótese os autores realizaram uma avaliação por meio de questionário que foi enviado aos pais dos pacientes com FC com o objetivo de identificar sinais e sintomas de RSC. Cinquenta e três (36%) de 147 que responderam ao questionário relataram a presença de sintomas de RSC (IC 95%, 28,3 a 44,4). A prevalência de sintomas de RSC em adultos, obtida por com o mesmo questionário e critérios usados neste estudo, tem sido estimada em 13 a 14% (IC de 95%, 11,4 a 15,8%). Então, portadores de uma mutação FC têm uma prevalência de RSC 2 a 3 vezes maior que a população geral e não há sobreposição dos IC, o que reforça a hipótese dos autores. Não houve diferença quanto ao tipo de mutação entre os pacientes com e sem sintomas de RSC (WANG et al., 2005).

2.3.7.3 Aspergilose broncopulmonar alérgica

Aspergilose broncopulmonar alérgica é um processo inflamatório das vias aéreas com a produção de IgE e IgG específicas para *Aspergillus* (GREENBERGER, 1997). Caracteriza-se por episódios recorrentes de inflamação eosinofílica das vias aéreas e eosinofilia sanguínea, níveis altos de IgE total, asma, impactação mucóide em brônquios e infiltrados pulmonares. O processo inflamatório persistente das vias aéreas pode evoluir para doença pulmonar obstrutiva crônica com bronquiectasias de distribuição central (MARCHAND et al., 2001).

Marchand et al. (2001) avaliaram 21 pacientes com diagnóstico de asma e aspergilose broncopulmonar alérgica. Encontraram uma mutação para fibrose cística em 6 de 21 pacientes (28,5%). O alelo 5T não foi observado em nenhum paciente. A frequência da mutação *CFTR* foi maior quando comparada com um

grupo de pacientes com asma ($p = 0,01$) e um grupo de pacientes que foram avaliados em aconselhamento genético ($p < 0,001$) (MARCHAND et al., 2001).

Uma prevalência maior de mutações no *CFTR* em pacientes com ABPA implica em 2 hipóteses. Primeiro, os pacientes heterozigotos poderiam apresentar uma forma atípica de fibrose cística, assim como poderiam ter uma segunda mutação, mais rara, não pesquisada no outro cromossomo. Estudos genéticos demonstraram que algumas mutações do *CFTR* estão associadas com fenótipos leves de FC com teste do suor normal (STEWART et al., 1995; HIGHSMITH et al., 1994).

Além das mutações do gene *CFTR*, polimorfismos genéticos de regiões não codificadoras podem ter um impacto no nível funcional da *CFTR* e no fenótipo da fibrose cística. Além disso, mutações de regiões não codificadoras da *CFTR* têm sido associadas com fenótipos de fibrose cística atípica. A seqüência do alelo 5T no intron 8 resulta na deleção do éxon 9 no RNA mensageiro, que leva a níveis menores da proteína. A combinação de uma mutação *CFTR* com alelo 5T tem sido relatada na patogênese de ausência congênita bilateral de ducto deferente e doença sinuso-pulmonar atípica (CHILLON et al., 1995; FRIEDMAN et al., 1997). Se o estado de portador da mutação *CFTR* está associado a um maior risco de desenvolver doença pulmonar, isso permanece matéria de debate. Uma prevalência maior de hiper-responsividade brônquica para metacolina, sibilância e doença pulmonar na infância, bem como, diminuição de volumes e fluxos têm sido observados em pacientes heterozigotos para FC (DAVIS, 1984; DAVIS, VARGO, 1987).

2.3.7.4 Bronquiectasias

Uma maior prevalência de asma em adultos heterozigotos para FC já foi relatada (DAHL et al., 1998). Há uma prevalência maior de mutações do gene *CFTR* em pacientes adultos com bronquiectasias de etiologia desconhecida com aumento

de cloretos no suor. (GERVAIS et al., 1993; PIGNATTI et al., 1995; NINIS et al., 2003).

Pela alteração do *clearance* mucociliar, as bronquiectasias poderiam levar à colonização crônica pelo *Aspergillus*, que parece ser um pré-requisito para a sensibilização ao *Aspergillus*. Outra possibilidade é que as mutações do *CFTR* podem contribuir para o aumento da resposta inflamatória e imunológica. Pacientes com FC têm alteração da produção de citocinas nas vias aéreas, como interferon gama, IL-8, IL-10, que poderia resultar em processo inflamatório e imunológico (BONFIELD et al., 1995; WARNER, KILBURN, 1996)

Em 9 de 16 casos de bronquiectasias disseminadas (56%), Pignatti et al. (1996) encontraram o alelo 5T no intron 8 (IVS8-5T) e/ou um gene *CFTR* com mutação. Estes resultados confirmam de forma molecular, uma ligação clínica entre FC, doença pulmonar obstrutiva crônica e, bronquiectasias disseminadas sem etiologia (PIGNATTI et al., 1996).

A análise dos exons do gene *CFTR* e suas regiões laterais demonstraram 13 mutações em 16 diferentes alelos em pacientes com bronquiectasias disseminadas (GIRODON et al., 1997). Mutações do gene *CFTR* podem ter um papel na doença pulmonar com bronquiectasias, possivelmente de forma multifatorial (GIRODON et al., 1997).

Ninis et al. (2003) avaliaram 77 crianças com diagnóstico de bronquiectasias sem etiologia definida, para pesquisa das mutações no gene *CFTR*. Vinte e oito crianças eram portadores de mutações FC, uma frequência maior que a esperada para a população saudável. O espectro das mutações encontradas era diferente daquela observada nos pacientes com FC. A frequência dos alelos 5T e 9T foram encontrados em uma frequência maior que a população saudável. Os autores sugerem que um gene modificador concomitante ao *CFTR* e polimorfismos, agem para expressar um fenótipo de bronquiectasias, ou o alelo 9T, age de forma a atenuar a expressão fenotípica de FC (NINIS et al., 2003).

Kostuch et al. (2000) avaliaram 41 pacientes com diagnóstico de bronquite crônica. Os pacientes foram investigados para as oito mutações mais frequentes do gene *CFTR* na Polônia: DF508, G542X, N1303K, 1717-1(G>A), W1282X, G551D, R553X e deltaI507 com o método de hibridização reversa. No grupo de 41 pacientes adultos com infecção respiratória crônica, dos quais 9 apresentavam também bronquiectasias, a mutação DF508 em um alelo foi encontrada em 6 casos (14,6%). Esta frequência é maior que a observada na população geral (2,2 a 2,8%). Estes resultados sugerem que portadores da mutação DF508 podem apresentar bronquite crônica, mas outros estudos são necessários para verificar o papel das mutações no gene *CFTR* em pacientes com bronquite crônica e bronquiectasias (KOSTUCH, SEMCZUK, SZAREWICZ-ADAMCZYK, 2000). Por outro lado, King et al. (2004) avaliaram 100 adultos com bronquiectasias sem etiologia definida para mutações de FC. Foram pesquisadas as 10 mutações mais frequentes para a população local e o alelo 5T. Neste grupo de pacientes, a frequência de heterozigotos encontrada foi igual ao esperado para a população saudável. Estes achados sugerem que mutações *CFTR* não apresentam influência no desenvolvimento de bronquiectasias (KING et al., 2004)

2.3.7.5 Ausência congênita bilateral de ducto deferente.

Entre os pacientes com ACBDD a presença do alelo 5T é 4 a 6 vezes maior que na população saudável. Teng et al. (1997) analisaram de forma qualitativa e quantitativa, a *CFTR* transcrita no epitélio nasal e em células do deferente. A proporção transcrita com falta do éxon 9 é diferente em diferentes tecidos e pode contribuir para o fenótipo observado em pacientes com ACBDD. Estes genes mutantes polivalentes poderiam explicar porque genes *CFTR*, aparentemente normais podem causar doença. Entretanto, eles podem ser responsáveis pela variação fenotípica das mutações *CFTR* (TENG et al., 1997).

Gervais et al. (1993) relataram que a mutação R117H estava presente em 4 de 23 pacientes com ACBDD. Três pacientes eram heterozigotos para R117H e DF508 e o quarto heterozigoto, para R117H e 2322 delG. Nenhum dos 23 pacientes tinham manifestações clínicas de FC. Cinco pacientes sem a mutação DF508 apresentavam agenesia renal unilateral e ACBDD.

Costes et al. (1995) estudaram o gene *CFTR* em 45 indivíduos com azoospermia e ACBDD. A presença de uma mutação *CFTR* foi observada em 86% dos cromossomos. Além disso, encontraram que 84% eram portadores do alelo 5T no íntron 8 (COSTES et al., 1995).

Dados semelhantes sobre a frequência de mutações no gene *CFTR* e da variante 5T no íntron 8 foram investigados em brasileiros. Bernardino et al. (2003) avaliaram 20 pacientes com diagnóstico de azoospermia, dos quais 17 com ACBDD. Entre os 17 pacientes, oito eram heterozigotos para mutações, ou para uma mutação e a variante 5T, e, dois pacientes eram portadores apenas do alelo 5T. Um maior número de mutações *CFTR* tem sido relatado em pacientes com ACBDD (CHILLON et al., 1995; CASALS et al., 2000). A maioria destas mutações corresponde à troca de aminoácidos ou *splice* (emenda) mutações e que provavelmente determinam fenótipos leves de FC. Por outro lado, a observação de que a maioria dos casos de ACBDD tem apenas uma mutação não é bem compreendida, uma vez que estudos da função da proteína CFTR mostram que apenas 6 a 10% dos níveis normais seriam suficientes para o transporte normal de ions (CHU et al., 1993). Ou seja, ser portador de uma mutação não deveria levar ao fenótipo de FC. Uma explicação possível é que a segunda alteração poderia localizar-se em um íntron não estudado, regiões promotoras ou regulatórias, que levariam à proteína CFTR com estrutura normal, mas baixos níveis de expressão, e assim, poderia alterar o desenvolvimento de tecidos suscetíveis como o deferente e epidídimo (BERNARDINO, LIMA, ZATZ, 2003).

2.3.7.6 Polipose nasal

A polipose nasal é uma doença inflamatória crônica que ocorre no nariz e cavidades paranasais, como consequência de diversos agentes etiológicos, inclusive fibrose cística. Kostuch et al. (2005) avaliaram 44 pacientes, com média de idade de 49 anos, com diagnóstico de polipose nasal e 70 controles. Foi realizada pesquisa para mutações de FC [DF 508, G542X, N1303 K, 1717-1 (G to A), W1282X, G551D, R553X e D1507]. Estas mutações podem detectar até 83% das mutações de FC na amostra avaliada. Nenhum paciente tinha história familiar de FC e o teste do suor foi normal em todos (18 a 40 nmol/L). A presença de uma mutação no *CFTR* (DF508) foi encontrada em 5 de 44 (11,4%) dos pacientes com polipose em comparação a apenas 1 de 70 (1,4%) do grupo controle. Estes achados sugerem que a presença de uma mutação DF508 pode ser a expressão fenotípica em um grupo selecionado de pacientes com polipose nasal, sem outras manifestações de FC (KOSTUCH et al., 2005),

3 MÉTODOS

3.1 DELINEAMENTO

Este é um estudo de corte transversal, descritivo de um grupo de pacientes com diagnóstico de Bronquiolite Obliterante (BO) pós-infecciosa, acompanhados no ambulatório de Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas, realizado no período de junho de 2004 a outubro de 2005.

3.2 CASUÍSTICA

3.2.1 Critérios de Inclusão:

Foram incluídos de forma consecutiva, pacientes não aparentados com diagnóstico de BO pós-infecciosa. Os critérios diagnósticos foram: pacientes previamente hígidos, com história de episódio de infecção aguda das vias aéreas inferiores e que evoluíram com persistência dos sinais e sintomas por mais de 6 semanas. As manifestações clínicas foram: tosse, sibilância, estertores, tiragem de grau variado, dependência de oxigênio. Na avaliação radiológica, os pacientes apresentavam alterações persistentes como atelectasias, diminuição da vascularização ou alteração volumétrica. Na TAC de alta resolução, achados consistentes de BO, como bronquiectasias, perfusão em mosaico, áreas de atelectasia e bandas fibrosas. Pouca ou nenhuma resposta ao tratamento com beta 2 adrenérgicos, corticóides inalatórios e corticóides sistêmicos foi observada.

3.2.2 Critérios de Exclusão:

Os diagnósticos de asma grave, tuberculose, fibrose cística, deficiência de alfa 1 - antitripsina, imunodeficiência e displasia broncopulmonar, foram excluídos de acordo com a apresentação clínica, resultados laboratoriais e achados radiológicos.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Foi obtido o

termo de consentimento livre e esclarecido, assinado por um dos pais ou responsável, antes da colheita da amostra de sangue para pesquisa das mutações. Os responsáveis foram esclarecidos quanto à natureza do estudo e os possíveis benefícios da pesquisa. Foi esclarecido o procedimento da colheita de material biológico e informado a ausência de riscos do procedimento.

3.3 AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

Os dados clínicos estavam registrados no prontuário médico de cada paciente. Foram colhidos dados demográficos (gênero, idade, etnia), idade de início da doença, tempo de acompanhamento e número de internações após o episódio agudo. Também foram obtidos do prontuário, os resultados de exames laboratoriais referentes ao teste cutâneo alérgico, teste do suor, sorologia para HIV, dosagem de imunoglobulinas, alfa 1 - antripsina, radiografia de tórax, TCAR de tórax e espirometria.

Os exames laboratoriais foram realizados pelo Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

A dosagem de imunoglobulinas foi realizada por nefelometria e utilizou-se como valores de normalidade os dados obtidos por Fujimura (1996). Considerou-se níveis elevados de IgG, valores acima do percentil 97, e níveis diminuídos, se abaixo do percentil 3.

Os dados obtidos foram armazenados em planilha eletrônica *Microsoft Excel*[®] (AXEXO 1).

3.3.1 Teste cutâneo alérgico

O teste foi realizado na região anterior de um dos antebraços, com a aplicação de extratos alergênicos, controle positivo e controle negativo. Os extratos utilizados para a realização do teste foram: *Dermatophagoides pteronissynus*,

Blomia tropicalis, *Felix domesticus* (gato), *Canis familiaris* (cão), *Blattella germanica* (barata), Fungos III (Af + Pn + Aa + Ch), Histamina 10mg/mL (controle positivo) e solução salina a 0,9% (controle negativo), obtidos do laboratório IPI ASAC do BRASIL[®].

A técnica do exame consiste na aplicação do extrato alergênico e dos controles, com distância mínima de 3 cm e puntura com agulha de insulina num ângulo de 45°, com leitura após 20 minutos dos diâmetros ortogonais das pápulas em milímetros. Foram considerados testes positivos, a presença de pápulas com diâmetro médio ≥ 3 mm em comparação ao controle negativo. Os pacientes não poderiam ter feito uso de anti-histamínicos, nos últimos 7 dias.

3.3.2 Teste do suor

O teste do suor foi realizado pelo método de iontoforese por pilocarpina com dosagem quantitativa dos eletrólitos no suor, conforme descrito por Gibson e Cookie, em 1959. Os valores foram considerados normais quando a dosagem quantitativa foi menor de 40 mEq/L.

3.3.3 Exame radiológico

A tomografia computadorizada de tórax foi realizada no Serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas da UFPR, com tomógrafo SOMATON AR[®], com técnica de alta resolução (algoritmo para osso, com cortes de 1 a 2mm a cada 5mm, seguido por cortes realizados em expiração). A análise dos exames foi realizada sempre pelo mesmo radiologista, sem o conhecimento dos dados clínicos dos pacientes.

3.3.4 Espirometria

As espirometrias foram realizadas no Laboratório de Função Pulmonar do Hospital de Clínicas da UFPR, de acordo com os critérios da ATS (1995) (*American Thoracic Society*), em aparelho Collins GS 4G[®]. A classificação da gravidade do distúrbio ventilatório e da presença de resposta broncodilatadora, foi considerada após a inalação de 400µg de salbutamol, conforme as Diretrizes para Teste de Função Pulmonar (2002). Os valores espirométricos avaliados CVF, VEF₁ e VEF₁/CVF, foram expressos em percentual do previsto, de acordo com os valores de referência de Polgar e Promadhat (1971).

3.4 COLHEITA DE SANGUE PERIFÉRICO

No procedimento de consulta, após a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, 4 mL de sangue periférico de 42 crianças com diagnóstico de BO, foram colhidos com anticoagulante EDTA. Após a colheita, o sangue foi congelado a -20°C e posteriormente extraído o DNA, para proceder a análise molecular por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e, quando necessário, digestão com enzimas de restrição específicas.

3.5 EXTRAÇÃO DE DNA DE LEUCÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO

Foi realizada a extração de DNA conforme o método descrito por Woodhead et al. (1986), com algumas modificações, no Laboratório de Genética Molecular, Departamento de Genética Médica, Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP.

A amostra de sangue periférico, colhida em tubo de *vacutainer* com EDTA a 15% para impedir a coagulação sangüínea, foi descongelada, centrifugada por 10 minutos a 2.000 r.p.m., em temperatura ambiente, para a separação e retirada do plasma. Em seguida, uma alíquota de 500 µL do sedimento foi transferida para um tubo *ependorf* de 1,5 mL. A essa alíquota foi adicionado 1,0 mL de solução tampão

de lise celular (Sacarose 320mM, Tris - HCl pH7,5 10mM, MgCl₂ 5mM, Triton 100X). A solução foi então homogeneizada por 10 a 15 segundos e levada à centrífuga, a 8000 r.p.m. por 5 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi cuidadosamente descartado, por inversão do tubo e esse processo repetido por duas vezes. Ao precipitado formado foram adicionados 395µL de solução tampão de digestão (Tris - HCl pH 7,5 EDTA 10mM, 10mM, NaCl 10mM, SDS 0,5%) e 5µL de proteinase K (20mg/mL). A reação então foi homogeneizada e incubada em banho-maria à temperatura de 55°C. Após 2 horas, foram adicionados 200µL de LiCl 7,5N em cada amostra e as soluções foram levadas à temperatura de -20°C por 15 minutos. Após esta etapa, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 13.000 r.p.m. e o sobrenadante transferido cuidadosamente para novos tubos. Após a transferência, foi adicionado 1 mL de etanol absoluto, gelado, e, o tubo foi invertido até a formação de um precipitado visível. Foi realizada uma centrifugação a 13000 r.p.m. por 5 minutos e o sobrenadante foi desprezado por inversão do tubo. Ao precipitado foi adicionado 1mL de etanol a 70% e nova centrifugação realizada (13000 r.p.m./5 min). O sobrenadante foi novamente descartado. O DNA obtido foi deixado em temperatura ambiente para a evaporação do etanol residual e suspenso em água estéril. A eficiência da extração foi avaliada em gel de agarose a 0,8%.

3.5.1 Reação em Cadeia da Polimerase

A análise das mutações no gene *CFTR* foi realizada pela técnica da PCR. (Reação em Cadeia da Polimerase - do inglês, *Polymerase Chain Reaction*). Esta técnica descrita por Mullis et al. (1986), possibilita a amplificação de uma pequena seqüência de DNA por meio do uso de dois iniciadores – *primers*, que flanqueiam a região do DNA a ser amplificada, onde se hibridizam devido à complementaridade de bases. A reação foi então colocada em um aparelho ciclador de temperatura, onde repetidos ciclos de desnaturação térmica do DNA, anelamento dos iniciadores

em temperaturas adequadas e a extensão dos iniciadores promovida pela enzima Taq DNA polimerase, levam ao acúmulo exponencial da seqüência de DNA alvo.

Os produtos de PCR foram analisados em gel de poliacrilamida a 12%, corados com brometo de etídio e visualizados em transiluminador ultravioleta.

O procedimento utilizado em cada uma das reações está resumido na Tabela 7. Os iniciadores, os tamanhos dos fragmentos e as enzimas de restrição específicas, estão descritos na tabela 8.

No éxon 10 encontra-se a mutação $\Delta F508$, que por se tratar de uma deleção, possibilita analisar o resultado direto da reação da PCR. De acordo com os iniciadores descritos (Tabela 9), o indivíduo saudável gera um fragmento de 50pb e, o que apresenta a mutação, um de 47pb. Os indivíduos heterozigotos, portanto, apresentam fragmentos de 50 e 47pb. Nos heterozigotos aparece ainda uma banda com migração mais tardia, referente aos heteroduplexes, ou seja, fragmentos de DNA formados por uma fita de 47pb e outra de 50pb (Figura 7).

TABELA 7 - CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NA REAÇÃO DE PCR PARA AS MUTAÇÕES DA FIBROSE CÍSTICA

REAGENTES	ÉXON 10	ÉXON 11	ÉXON 19	ÉXON 21
	$\Delta F 508$	G542X, G551D e R553X	R1162X	N1303K
DNA (μL)	1,0	1,0	1,0	1,0
Tris-HCl pH 8,4 (10,0 mM)	2,5	2,5	2,5	2,5
KCl (25,0 mM)	2,5	2,5	2,5	2,5
MgCl ₂ (1,0mM)	2,0	4,0	1,0	2,0
dNTP (0,025 mM-cada)	1,0	1,0	0,8	2,0
iniciadores (0,2 pMoles-cada)	1,0	1,0	0,8	1,0
Taq polimerase (5 Unidades)	1,0	1,0	1,0	1,0
Água qsp (μL)	25,0	50,0	50,0	50,0
Programas	94°C/5' 94°C/1' 52,5°C/1' 72°C/2' 72°C/7'	95°C/1' 50°C/1' 74°C/2' 74°C/9'	94°C/3' 94°C/1' 56°C/1' 72°C/2' 72°C/7'	94°C/5' 94°C/30'' 53°C/30'' 72°C/30'' 72°C/7'
Nº Ciclos	35	35	35	35

TABELA 8 - DESCRIÇÃO DA SEQÜÊNCIA DOS INICIADORES UTILIZADOS NA PCR DOS EXONS 11, 19 E 21, TAMANHO DOS FRAGMENTOS RESULTANTES DESTA REAÇÃO E ENZIMAS DE RESTRIÇÃO ESPECÍFICAS

ÉXON	MUTAÇÃO	SEQÜÊNCIA 5'- 3'	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb)	ENZIMA DE RESTRIÇÃO
11	G542X	M11e-5: CAgAgAAAgACAATATAgTTCC	112	<i>Bstn I</i>
	G551D	11i-3B: AAATgCTTgCTAgACCAAT		<i>Hinc II</i>
	R553X			
19	R1162X	S: gCCGgACAAATAACCAAgTgA	454	<i>Dde I</i>
		AS: gCTAACACATTgCTTCAggCT		
21	N1303K	S: CCACTgTTCATAgggATCCA	59	<i>Bstn I</i>
		AS: AgAAAgTATTTATTTTCTggAAC		

TABELA 9 - DESCRIÇÃO DA SEQÜÊNCIA DOS INICIADORES UTILIZADOS NA PCR DO ÉXON 10 E TAMANHO DO FRAGMENTO RESULTANTE DESTA REAÇÃO

ÉXON	MUTAÇÃO	SEQÜÊNCIA 5'- 3'	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb) NORMAL	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb) MUTANTE
10	Δ F508	S: ggC ACC ATT AAA gAA AAT ATC AS: CTA TAT TCA TCA Tag gAA AC	50	47

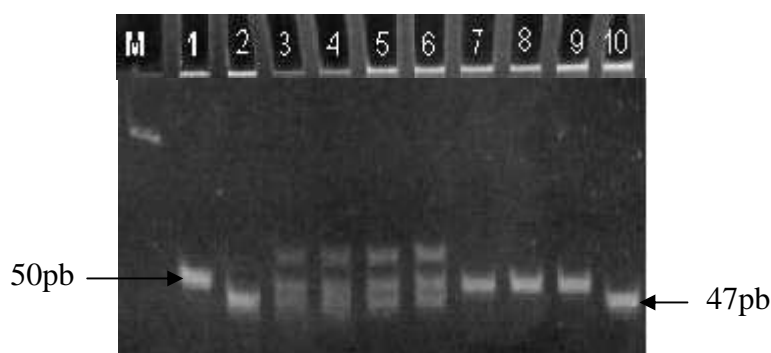


FIGURA 7 - Eletroforese de gel de poliacrilamida a 12%: na coluna M marcador de peso molecular de 100pb; colunas 1, 7, 8 e 9 indivíduos homocigotos normais – 50pb; colunas 2 e 10 indivíduos homocigotos mutantes – 47pb e colunas 3, 4, 5 e 6 indivíduos heterocigotos – heteroduplex, 47 e 50 pb.

3.5.2. Digestão Enzimática

Para os exons 11, 19 e 21, após a PCR, foi realizada a digestão enzimática específica, segundo orientações do fabricante (Tabela 10). Ainda no éxon 11, quando detectada a presença de mutações, foi necessária uma segunda digestão enzimática para diferenciar G551D e R553X (Tabela 11).

A análise da mutação G542X, no éxon 11, utilizou digestão com a enzima *Bstn I* após a PCR. O sítio de restrição para essa enzima foi criado com o auxílio do iniciador modificado M11e-5 e ocorre quando a mutação está ausente. Ou seja, o fragmento de 112pb produzido pela PCR é digerido em dois fragmentos de 90 e 112pb na ausência desta mutação, e permanece com 112 pb na presença desta (Figura 8).

Quando realizada a digestão com a enzima *Hinc II*, para detecção das mutações G551D e R553X, também localizadas no éxon 11, quando a mutação G551D está presente o sítio dessa enzima é suprimido. Entretanto, a mutação R553X, por se localizar próxima à mutação G551D, também abole o sítio. Portanto, indivíduos que possuem essas mutações, geram fragmentos de 58 e 54pb. Indivíduos sem essas mutações geram fragmento de 112pb (Figura 8).

Deste modo, a digestão com a enzima *Hinc II* indica a ausência ou a presença destas mutações, porém não especifica qual é. A identificação destas mutações é realizada com uma segunda digestão enzimática utilizando a enzima *Mbo I*. A mutação G551D cria um sítio de restrição que cliva o produto da PCR em 50 e 62pb. Já a mutação R553X não possui sítio de reconhecimento para essa enzima permanecendo com o tamanho da PCR (112pb).

Para a análise da mutação R1162X, no éxon 19, utilizou-se a enzima *Dde I*. A ausência da mutação cria um sítio de reconhecimento da enzima que cliva o produto da PCR em dois fragmentos de 275 e 179pb. Já a presença da mutação reconhece mais um sítio de restrição, que cliva o fragmento de 179 em dois

fragmentos, um de 143 e outro de 132pb. Assim, os indivíduos que possuem a mutação apresentam os fragmentos de 179, 143 e 132pb (Figura 9).

Para estudar o éxon 21, onde está localizada a mutação N1303K, foi utilizada a enzima *Bstn* I. A presença dessa mutação abole o sítio de reconhecimento desta enzima. Portanto, os indivíduos que possuem essa mutação permanecem com o fragmento da PCR (59pb). Já nos indivíduos que não possuem a mutação, a enzima reconhece um sítio específico e cliva o fragmento em fragmentos de 40 e 19pb (Figura 10).

TABELA 10 - DESCRIÇÃO DAS CONDIÇÕES PARA REALIZAÇÃO DA DIGESTÃO ENZIMÁTICA PARA INVESTIGAÇÃO DAS MUTAÇÕES DE FIBROSE CÍSTICA.

ÉXON	MUTAÇÃO	ENZIMA DE RESTRIÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA (°C)	TAMANHO DO FRAGMENTO NORMAL (pb)	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb) MUTANTE
11	G542X	<i>Bstn</i> I	60	90, 22	112
	G551D	<i>Hinc</i> II	37	58, 54	112
	R553X				
19	R1162X	<i>Dde</i> I	37	275, 179	179, 143, 132
21	N1303K	<i>Bstn</i> I	60	40, 19	59

TABELA 11 - DESCRIÇÃO DAS CONDIÇÕES PARA REALIZAÇÃO DA DIGESTÃO ENZIMÁTICA PARA DIFERENCIAÇÃO DAS MUTAÇÕES G551D E R553X.

ÉXON	MUTAÇÃO	ENZIMA DE RESTRIÇÃO	TEMPERATURA ÓTIMA (°C)	TAMANHO DO FRAGMENTO (pb)
11	R553X	<i>Mbo</i> I	37	112
	G551D			62, 50

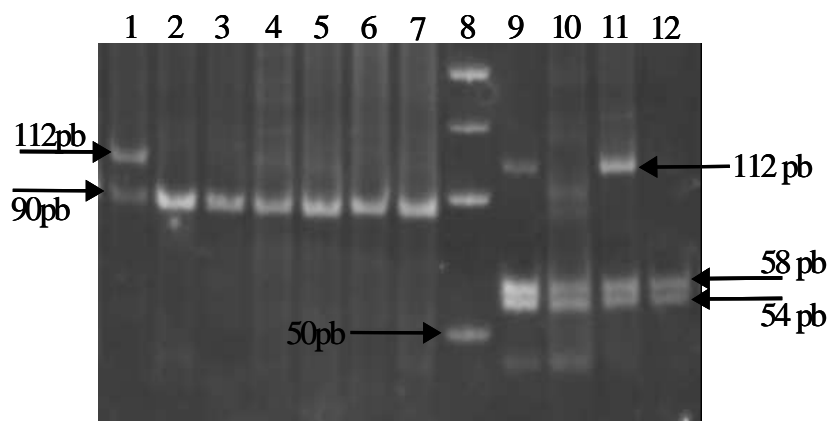


FIGURA 8 - Eletroforese em gel de poliacrilamida a 12%: na coluna 8 – Marcador de peso molecular de 50pb. Nas colunas de 1 a 7 - detecção da mutação G542X. Na coluna 1 – digestão do produto da PCR – indivíduo heterozigoto – 112 e 90pb; nas colunas 2, 3, 4, 5, 6 e 7 - digestão do produto da PCR – indivíduos normais - 90pb; nas colunas de 9 a 12 - detecção das mutações G551D e R553X através da digestão com a enzima *Hinc II*. Nas colunas 9 e 11 - digestão do produto da PCR – indivíduos heterozigotos – 112, 58 e 54pb; nas colunas 10 e 12 – digestão do produto da PCR – indivíduos normais – 58 e 54pb.

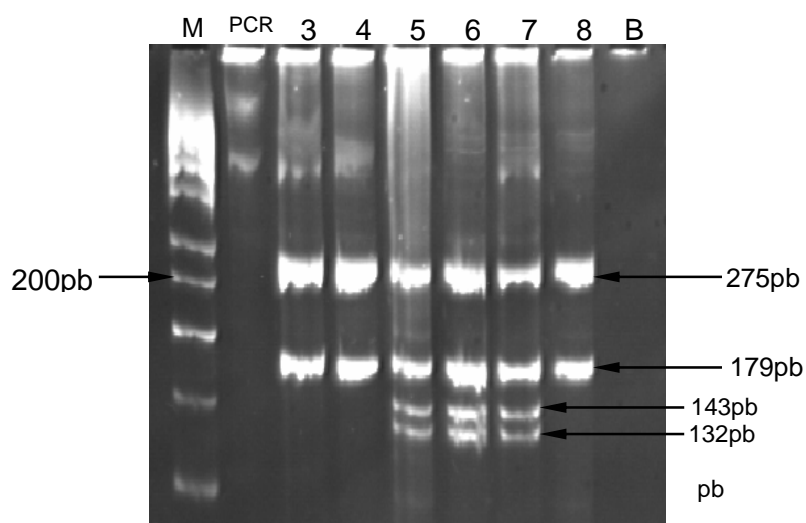


FIGURA 9 - Eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% para detecção da mutação R1162X: na coluna 1 – marcador de peso molecular de 50 pb; na coluna 2 - produto da PCR – 454pb; nas colunas 3, 4 e 8 – digestão do produto da PCR – indivíduos normais - 275 e 179pb; nas colunas 5, 6 e 7 – da digestão do produto da PCR – indivíduos heterozigotos - 275, 179, 143 e 132pb.

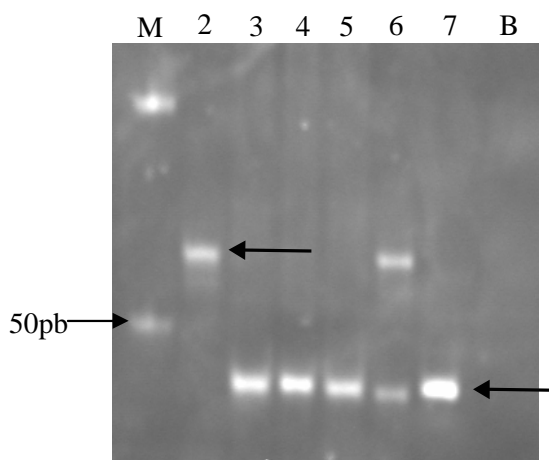


FIGURA 10 - Eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% para detecção da mutação N1303K: na coluna 1 – marcador de peso molecular de 50 pb; na coluna 2 - produto da PCR – 59pb; nas colunas 3, 4, 5 e 7 – digestão do produto da PCR – indivíduos normais – 49pb; na coluna 6 – digestão do produto da PCR – indivíduo heterozigoto – 59 e 40pb.

3.6 CONTROLES

Para comparação da frequência das mutações de FC nos pacientes com BO foram utilizados os dados obtidos por Raskin (Tabela 5) (RASKIN, 2001). A frequência de heterozigotos de 1:49 foi calculada pelo número de casos de FC detectados pela triagem neonatal no Paraná, com uma incidência estimada de FC 1:9.520 (SANTOS et al., 2005).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram armazenados em planilha eletrônica (*Microsoft Excel*)[®] e transportados para o programa STATISTIC 5.0[®] para análise estatística.

Os resultados de variáveis contínuas foram expressos com média e desvio padrão, mediana, variação e intervalo de confiança de 95%. Diferenças entre proporções foram testadas pelo teste do qui quadrado de Pearson. Diferenças entre médias (variáveis independentes) foram avaliadas pelo Teste t de Student e para dados não paramétricos, não pareados, utilizou-se o teste Mann Whitney. O valor de

"p" foi considerado de forma bilateral e quando menor de 0,05, foi considerado como significância estatística.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES

Dos 42 pacientes com diagnóstico clínico-radiológico de BO, 29 (69%) eram do gênero masculino com uma relação masculino-feminino de 2,2:1. A média da idade do início da doença foi de 8,4 meses (1-24 meses). A idade de início de acompanhamento variou de 3 a 126 meses, com uma média de 30,5 meses. Todos os pacientes foram internados por ocasião do episódio agudo, 19 de 42 (45%) deles em UTI, dos quais 13 de 42 (31%) submetidos à ventilação mecânica. Na evolução, todos apresentaram quadro de exacerbação pulmonar e 40 de 42 pacientes (95%) reinternaram por pneumonia ou por insuficiência respiratória. O número de reinternações variou de 1 a 20. Houve associação com significância estatística, entre o gênero e a presença de doença mais grave (internação em UTI, reinternações, ventilação mecânica) ($p < 0,05$), (Tabela 12).

TABELA 12 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DOS PACIENTES COM BO PÓS-INFECCIOSA (n = 42)

CARACTERÍSTICAS	MASCULINO	FEMININO	<i>p</i>
Número pacientes (%)	29 (69)	13 (31)	0,0008*
Idade em meses (mediana e variação)	94 (18 - 211)	98 (24 - 191)	NS**
Idade em meses (média ± DP)	97 ± 58	96 ± 67	NS***
Idade de início dos sintomas (mediana e variação)	6 (1 - 24)	6 (1 - 18)	NS**
Internação na fase aguda (n, %)	29 (69)	13 (31)	0,0008*
Internação na UTI (n,%)	15 (36)	04 (9,5)	0,005*
Ventilação mecânica (n,%)	10 (24)	03 (7,1)	0,036*
Reinternações (n,%)	29 (69)	11 (26)	0,0002*

* Teste exato de Fisher

** Teste de Mann Whitney

*** Teste t de Student independente

Os achados clínicos observados com maior frequência (70%) foram tosse, sibilos, estertores bolhosos, taquidispnéia e aumento do diâmetro antero-posterior do tórax. Hipocratismo digital foi encontrado em 12 pacientes e 8 pacientes fizeram uso de oxigênio domiciliar.

4.2 DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS

Os valores encontrados (média \pm 2DP) para IgG, IgA e IgM no soro foram, 1064 \pm 362, 127 \pm 85 e 155 \pm 84 mg/dL, respectivamente. Observou-se aumento dos níveis de IgG em 8 de 41 (19,5%) dos pacientes. Os níveis séricos de IgG estavam aumentados, especialmente em pacientes com história de 2 ou mais interações após o evento agudo 7 de 8 (87,5%), mas esta associação não foi significativa ($p = 0,77$).

4.3 TESTE DO SUOR

O teste do suor foi normal em todos os pacientes ($Cl^- < 60$ mEq/L). Apenas três pacientes apresentaram resultados considerados "duvidosos" (entre 40 e 60mEq/L).

4.4 TESTE CUTÂNEO ALÉRGICO

Teste cutâneo alérgico positivo a um dos alérgenos foi encontrado em 3 de 29 (10,3%) dos pacientes testados.

4.5 EXAMES RADIOLÓGICOS

Todos os pacientes apresentaram alterações radiológicas (radiografia e/ou tomografia de tórax). A radiografia de tórax foi realizada em todos os pacientes e os achados mais encontrados foram: alterações (aumento ou redução) volumétricas em 31 (74%); sinais de comprometimento brônquico em 15 (36%); alterações de perfusão em 13 (31%) ou atelectasias em 10 (24%). Os achados

radiológicos (TCAR) mais frequentes, observados em 40 pacientes que realizaram o exame foram: perfusão em mosaico, 34 (85%); bronquiectasias, 24(60%) e atelectasias, 23 (57,5%). A associação mais frequente foi alteração da perfusão com bronquiectasias 21 (50%) e a presença dos três achados foi observada em 14 (35%) das tomografias.

A radiografia de tórax foi normal em 5 pacientes, mas todos estes apresentaram alterações de perfusão na TCAR. Por outro lado, dos 24 pacientes com bronquiectasias na tomografia de tórax, apenas 5 apresentaram este achado na radiografia de tórax.

4.6 ECOCARDIOGRAMA

Seis pacientes de 25 (24%) apresentavam hipertensão pulmonar leve (pressão sistólica estimada na artéria pulmonar ≥ 35 mmHg). Entre os pacientes que apresentaram hipertensão pulmonar, 4 de 6 (67%) apresentavam concomitante distúrbio ventilatório obstrutivo moderado. Porém, não houve associação entre hipertensão pulmonar e a presença de distúrbio ventilatório obstrutivo moderado e grave ($p = 0,38$) e a presença de bronquiectasias ($p = 0,28$).

4.7 ESPIROMETRIA

A espirometria pode ser realizada em 20 pacientes, pelas limitações da idade ou impossibilidade técnica. Os resultados obtidos foram: normal: 01; DVO leve: 10; DVO moderado: 07; DVO grave:01; DVR leve: 01. Cinco pacientes com DVO apresentavam concomitante CVF reduzida. Resposta broncodilatadora positiva foi observada em apenas 3 de 20 (15%) pacientes, um dos quais apresentava teste cutâneo alérgico positivo. Os valores observados em percentual do predito (média \pm 2DP) foram: CVF (L) = $(87,4 \pm 19)$, VEF₁ (L) = $(65,7 \pm 17)$, VEF₁/CVF $(70,2 \pm 12,7)$ e FEF_{25-75%} (L/s) = $(42,9 \pm 22,2)$.

4.8 PESQUISA MUTAÇÕES FC

As mutações G551D, R553X, R1162X e N1303K não foram encontradas na amostra dos 42 pacientes com BO pós-infecciosa avaliados. Quatro pacientes de 42 (9,5%) (IC de 95% = 0,007 a 0,18), apresentaram uma mutação no gene *CFTR*, dos quais três (mutação DF508) e um (mutação G542X).

5 DISCUSSÃO

Este é primeiro trabalho que procura estabelecer uma associação entre bronquiolite obliterante pós-infecciosa e a presença de mutações no gene *CFTR*. Os portadores de uma de mutação FC geralmente não apresentam doença. Ao contrário, estes pacientes parecem ter maior resistência à tuberculose, cólera e febre tifóide (GRIESENBACH, GEDDES, ALTON, 1999). Por outro lado, foi demonstrado que pacientes com polipose nasal, sem manifestações de fibrose cística, apresentam maior frequência de mutações no gene *CFTR* em um dos alelos (KOSTUCH et al., 2005), assim como em indivíduos com pancreatite crônica isolada (COHN, FRIEDMAN, NOONE, 1998; SHARER et al., 1998), aspergilose broncopulmonar (MARCHAND et al., 2001; MILLER et al., 1996) e bronquiectasias sem etiologia definida (GERVAIS et al., 1993; PIGNATTI et al., 1995; NINIS et al., 2003). Na tabela 13 estão apresentados alguns estudos relacionados à presença de mutação FC.

A FC é uma doença genética autossômica recessiva que não apresenta predileção por gênero, mas o prognóstico é melhor no gênero masculino até os 20 anos, por razões não conhecidas (DAVIS, 1999).

O número de casos de BO pós-infecciosa nesta avaliação foi maior no gênero masculino (69%). Colom et al. (2006), em um estudo caso-controle, avaliaram 109 crianças com diagnóstico de BO e encontraram uma frequência de 68% no gênero masculino (COLOM et al., 2006). Resultados semelhantes foram recentemente observados por Castro-Rodriguez em pacientes internados por pneumonia secundária ao adenovírus e que desenvolveram bronquiolite obliterante. Dos 18 pacientes com BO avaliados, 12 (66,6%) eram do gênero masculino (CASTRO-RODRIGUEZ et al., 2006).

TABELA 13 - ESTUDOS COM DOENÇAS RELACIONADAS AO CFTR

	DIAGNÓSTICO	N	MUTAÇÕES (n)	FREQ PORTADOR CFTR (%)	FREQ NORMAL CFTR (%)	MUTAÇÃO MAIS FREQUENTE
Bernardino, A.L.F. et al., 2003	Azoospermia obstrutiva	20	27 exons CFTR	25	2 - 3	DF508
Bernardino, A.L.F. et al., 2003	Pancreatite crônica	82	27 exons CFTR	6,1	2 - 2,5 [§]	DF508
Bernardino, A.L.F. et al., 2003	Pancreatite crônica idiopática	16	27 exons CFTR	18,7	2 - 2,5 [§]	DF508
Chillon, M. et al., 1995	ACBDD	102	27 exons CFT, 5T,7T,9T	53	3 - 4 [#]	DF508
Cohn, J.A. et al., 1998	Pancreatite idiopática	27	16 e 5T	22,2	3-4	DF508
Divac, A. et al., 2004	DPOC	31	27 exons CFTR	19,4	--	R75Q DF508
Kostuch, M. et al., 2005	Polipose nasal	44	8	11,4	1,7	DF508
Marchand, E. et al., 2001	ABPA	21	13	28,5	4	DF508
Ninis, V.N. et al., 2003	Bronquiectasias idiopáticas	77	27 exons CFTR 5T, 7T, 9T	23,3	2	K68E e T9
Raman, V. et al., 2002	Rinossinusite crônica, crianças	58	87	12,1	3 - 4	DF508
Sharer, N. et al., 1998	Pancreatite crônica idiopática	134	22 e 5T, 7T, 9T	13,4	5,3	DF508
Wang, X. et al., 2000	Rinossinusite crônica	147	16 e (5T,7T,9T)	7	2	DF508

FONTE: O AUTOR

Cohn, J.A. et al., 1998. (3 homozigotos para FC). Frequência de 14,8 (excluídos os homozigotos)

[#] Obtido pela frequência esperada de FC em pacientes da França, Bélgica, EUA, que participaram do estudo.

[§] Obtido pela frequência de FC esperada de FC na população de São Paulo

Neste estudo, houve associação significativa entre o gênero masculino e variáveis sugestivas de doença mais grave (internação em UTI, ventilação mecânica, reinternações) (Tabela 12). Em geral, pacientes do gênero masculino apresentam infecções respiratórias de vias aéreas inferiores com maior frequência e gravidade, mas as razões para estas diferenças não são conhecidas. Pode estar

relacionado ao tamanho da via aérea, ao sistema imunológico e à função da via aérea, mas isto pouco ajuda no tratamento destas crianças. (DENNY Jr, 1999; TSAI et al., 2001). No grupo de pacientes avaliados por Colom et al. (2006), houve predomínio dos pacientes do gênero masculino, mas este achado não teve importância significativa como fator de risco para o desenvolvimento de BO (COLOM et al., 2006).

O quadro agudo responsável por BO pós-infecciosa, geralmente ocorre no primeiro ano de vida em um lactente saudável. A média da idade dos pacientes foi de 8,4 meses (6-24meses), achado que corrobora o descrito por outros autores (KIM et al., 2001; ZHANG, ABREU E SILVA, 2000). No grupo de pacientes com BO pós-infecciosa avaliados por Colom et al. (2006), o episódio de bronquiolite aguda ocorreu antes dos 6 meses em 67% dos casos e 93% eram menores de 1 ano, mas a idade não foi um fator de risco para o desenvolvimento da doença.

Vários fatores têm sido descritos para o desenvolvimento de BO (infecções, HLA, resposta imunológica). A infecção de vias aéreas inferiores por adenovírus na infância provoca doença mais grave, manifestações extrapulmonares e, maior risco para o desenvolvimento de BO pós-infecciosa (FARNG et al., 2002). Se for considerada a gravidade dos casos (internações em UTI, necessidade de ventilação mecânica, reinternações), é possível inferir a provável infecção por adenovírus neste grupo de 42 pacientes com BO pós-infecciosa.

A história de bronquiolite aguda grave, com necessidade de ventilação mecânica, deve ser considerada como fator de risco para o desenvolvimento de BO pós-infecciosa. Colom et al. (2006) avaliaram 109 pacientes para identificar fatores de risco para BO pós-infecciosa. As variáveis que apresentaram significância estatística foram infecção por adenovírus, encontrado em 72% de 70 pacientes testados e necessidade de ventilação mecânica em 34%. No grupo controle, a

infecção por adenovírus e o tratamento com ventilação mecânica foi apenas 3%. A maioria (95%) necessitou reinternar por infecção de vias aéreas inferiores (COLOM et al., 2006). Resultados semelhantes foram observados neste estudo, onde 95% reinternaram, 19/42 (45%) em UTI e destes, 13/42 (31%) necessitaram de ventilação mecânica. A internação na fase aguda, a evolução com reinternações frequentes, internações em UTI, demonstram a gravidade da doença no quadro agudo e na evolução da doença. O uso de ventilação mecânica nas unidades de terapia intensiva é indispensável para o tratamento de pacientes com insuficiência respiratória e tem permitido a sobrevivência de pacientes gravemente doentes e de BO. Nos pacientes avaliados por Colom et al, o uso de ventilação mecânica foi um fator de risco significativo para o desenvolvimento de BO. No entanto, não foi possível estabelecer se esta variável aumenta o risco ou se é apenas um indicador de doença (COLOM et al., 2006).

Castro-Rodriguez et al. (2006) avaliaram 45 pacientes com infecção por adenovírus. Destes, 38 (84%), apresentaram BO e os fatores de risco foram maior tempo de hospitalização, admissão em UTI, ventilação mecânica e complicações extrapulmonares. Durante o seguimento de 5 anos, os pacientes com BO necessitaram de oxigênio domiciliar com maior frequência, apresentaram maior número de pneumonias e hospitalizações (CASTRO-RODRIGUEZ et al., 2006).

Zhang, Abreu e Silva (2000) avaliaram 31 pacientes com diagnóstico de BO pós-infeciosa. Destes, 24 (77,4%) internaram no quadro agudo e 8 (33%) em UTI. Os pacientes que apresentaram melhor evolução foram aqueles que não internaram na fase inicial, o que sugere que a gravidade da doença está relacionada com a gravidade do quadro agudo e possivelmente com o agente etiológico (ZHANG, ABREU E SILVA, 2000).

Durante as últimas décadas houve um aumento crescente no número de publicações sobre pacientes com BO pós-infecciosa (KURLAND, MICHELSON, 2005). Interessante, é que esta doença ocorre em certos como Brasil, Argentina, Chile, Canadá, Nova Zelândia e Koréia e há poucos relatos na Europa e EUA (CHANG, MASEL, MASTERS, 1998; KIM et al., 2001; ZHANG et al., 2000). Os motivos para estas diferenças não são conhecidos, mas a infecção por adenovírus e a predisposição genética são fatores determinantes. Apesar de ser rotina a investigação viral por imunofluorescência no Hospital de Clínicas - UFPR, neste estudo não foi possível avaliar o tipo de infecção viral, porque a maioria dos pacientes foi encaminhada por outro serviço e atendidos fora da fase aguda da doença. Pacientes com infecção grave por adenovírus apresentam imunocomplexos associado ao vírus no pulmão e aumento dos níveis de IL-6, IL-8 e TNF- α (MISTCHENKO et al., 1994). Estes fatores indicam que a resposta imunológica específica pode ser importante para o desenvolvimento de BO pós-infecciosa por adenovírus. Outros vírus, como VRS e influenza, têm sido relatados, de forma isolada ou associados ao adenovírus, mas a patogênese de BO pós-infecciosa nestes pacientes não está bem esclarecida (KURLAND, MICHELSON, 2005).

O aumento de imunoglobulinas séricas (IgG) foi encontrado em 8 pacientes e ocorreu em 7 (87,5%) pacientes que reinternaram 2 ou mais vezes. Este achado sugere processo inflamatório, infeccioso, crônico e persistente. Infecção adenoviral latente pode ser confirmada pela presença da proteína 5E1A do adenovírus no núcleo de células epiteliais nos pulmões de animais infectados. Esta partícula de DNA, que é expressa na superfície do epitélio da via aérea, é responsável pelo aumento da resposta inflamatória e apresenta capacidade de inibir a resposta esteróide pela interação com fatores de transcrição (XU, KLEIN-HITPASS, BAGCHI, 2000). Zhang, Abreu e Silva (2000) observaram na evolução

do grupo de BO com sintomas persistentes, que as alterações na radiografia de tórax e na cintilografia foram persistentes ou pioraram; havia na histologia, presença de processo inflamatório persistente em atividade, apesar do intervalo entre a doença aguda e a biópsia (2 meses a 6,4 anos); a função pulmonar e a tolerância ao exercício estavam reduzidas nas crianças de maior idade (ZHANG, ABREU E SILVA, 2000). Com estes achados é possível inferir que o processo inflamatório na vias aéreas não só pode persistir, mas progredir e resultar em destruição do tecido pulmonar, com o aumento da resposta imunológica e aumento de imunoglobulinas séricas. Neste estudo não foi possível fazer uma avaliação evolutiva da função pulmonar e verificar a melhora ou piora funcional da doença. Entretanto, os pacientes com idade acima da mediana e, portanto, com mais tempo de doença, não apresentaram distúrbio ventilatório mais grave se comparados àqueles com idade abaixo da mediana. Estes dados não foram observados por Zhang, Abreu e Silva (2000), mas de forma semelhante, houve melhora clínica dos pacientes na evolução (ZHANG, ABREU E SILVA, 2000).

A biópsia pulmonar é considerada o padrão ouro para o diagnóstico de BO. No entanto, se for considerado que a doença não é difusa e o resultado pode ser falso negativo; que há dificuldade em se obter o consentimento dos pais, uma vez que não há tratamento específico e que o resultado pode ser inconclusivo, o diagnóstico baseia-se nos achados clínicos e exames complementares (SANTOS, RIEDI, ROSÁRIO, 2004).

O diagnóstico de BO em 2 pacientes que não realizaram TCAR de tórax foi feito de acordo com os critérios clínicos, associados às alterações na radiografia de tórax, conforme descrito por Hardy (sintomas desproporcionais aos achados radiológicos, pulmão hiperlucente e ou sinais localizados de hiperaeração) (HARDY, 1994).

Kim et al. (2001) avaliaram 31 pacientes com diagnóstico de BO, a maioria (n = 24) de etiologia pós-infecciosa. Em 10 de 31, (45%) dos pacientes, a radiografia de tórax apresentou achados sugestivos de BO com pulmão hiperlucente unilateral. Os achados tomográficos em 29 de 30 pacientes foram: aumento localizado da transparência pulmonar (90%), bronquiectasias (76,7%) e atenuação vascular (63,3%). A biópsia pulmonar a céu aberto foi realizada em 9 pacientes e 7 apresentaram alterações histológicas (bronquiectasias, obstrução de pequenas vias aéreas com células inflamatórias, tecido fibroso ou de granulação, atelectasias, redução do número e tamanho dos vasos), sugestivas de BO (KIM et al., 2001).

Neste trabalho, 40 pacientes foram submetidos a TCAR e os achados mais frequentes foram perfusão em mosaico (85%) e bronquiectasias (60%). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Colom et al., 2006, que avaliaram 62 pacientes com BO pós-infecciosa e encontraram perfusão em mosaico (60%) e bronquiectasias (58%) (COLOM et al., 2006). A frequência maior de alteração de perfusão (85% versus 60%), observada neste grupo de pacientes, provavelmente ocorreu pela realização de TCAR com cortes em expiração, onde esse achado fica mais evidente. No grupo de pacientes de Kim et al., os achados tomográficos mais frequentes foram hiperlucência (90%), bronquiectasias (63,3%) e diminuição da vascularização (63,3%). Estes dados diferem dos observados neste estudo. Entretanto, o grupo de pacientes não era exclusivamente de BO pós-infecciosa, foram avaliados grupos étnicos diferentes e a média da idade do início dos sintomas foi maior (46,4 versus 8,2 meses), o que poderia explicar as diferenças observadas.

Estudos funcionais em lactentes e crianças com BO pós-infecciosa, revelam redução dos fluxos expiratórios. A bronquiolite obliterante com padrão constrictivo caracteriza-se por obstrução fixa, com pouca ou nenhuma resposta à administração de corticóides e broncodilatadores (MYERS, COLBY, 1993).

Neste estudo, foram avaliados 20 pacientes e a média da idade foi de 12 anos (7,6 a 19 anos). O distúrbio ventilatório observado com maior frequência em 18 de 20 pacientes (90%), na espirometria, foi obstrutivo. Destes, 10 leves, 7 moderados e 1 grave. Três pacientes apresentaram prova broncodilatadora positiva e um destes, tinha um teste cutâneo alérgico positivo, o que poderia indicar um provável quadro de asma associada. A maioria apresentou distúrbio ventilatório obstrutivo leve (50%), o que contrasta com os achados de função pulmonar publicados em pacientes com BO (Tabela 14). Uma hipótese seria a idade maior dos pacientes, e com isto, maior diâmetro das vias aéreas, menor repercussão nos valores de espirometria; outra, formas mais leves da doença. Na evolução, estes pacientes melhoram (ZHANG, ABREU E SILVA, 2000). Sabe-se que o diâmetro das vias aéreas é pequeno na infância, o que contribui para um aumento da resistência total das vias aéreas. Na medida em que a criança cresce, ocorre aumento do diâmetro das vias aéreas com diminuição dos sinais e sintomas (WHOL, 1998). Neste aspecto, a melhora clínica observada em pacientes com BO pós-infecciosa pode representar o crescimento da via aérea e não a regressão das lesões brônquicas (ZHANG, ABREU E SILVA, 2000).

Os principais estudos de função pulmonar em pacientes com BO pós-infecciosa estão apresentados na tabela 14. Todos apresentam padrão obstrutivo com gravidade variada, mas há pacientes com doença restritiva e outros com valores normais. O estudo de Castro-Rodriguez avaliou 18 pacientes e usou técnica de oscilometria de impulso. A maioria (94,4%) dos pacientes apresentou resposta broncodilatadora, apesar da gravidade da BO pós-infecciosa. Este achado não foi anteriormente descrito e pode ter duas explicações prováveis. Primeiro, a prevalência alta (82,4%) de história de episódios de sibilância, que pode estar

associada à hiper-responsividade brônquica. Segundo, a técnica empregada pode ser mais sensível para medir anormalidades de função pulmonar nestes pacientes.

Os achados deste estudo, onde apenas três pacientes apresentaram prova broncodilatadora positiva, são similares aos referidos por outros autores (Tabela 14) e representam a expressão funcional dos achados histológicos de pacientes com BO pós-infecciosa.

TABELA 14 - PRINCIPAIS ESTUDOS DE FUNÇÃO PULMONAR EM PACIENTES COM BO PÓS-INFECCIOSA

AUTOR	Nº DE PACIENTES	IDADE DOS PACIENTES	MÉTODO	RESULTADOS
Teper (Buenos Aires , Argentina)	13	3 a 14 m	manobras expiratórias forçadas em lactentes	obstrução grave em todos
Jones (Porto Alegre, Brasil), 2002	14	3m a 3 a	manobras expiratórias forçadas em lactentes	13 - padrão obstrutivo moderado e grave, 1 padrão misto
Zhang (Porto Alegre, Brasil)	8	5 a 7 a	espirometria	4 padrão obstrutivo, 3 misto e 1 normal, 3 resposta BD
Colom (Buenos Aires, Argentina), 2002a	7	7 a	espirometria e volumes pulmonares	obstrução moderada sem resposta ao BD
Hardy (Philadelphia, EUA)	7	4 a 15 a	espirometria e volumes pulmonares	6 padrão obstrutivo e 1 restritivo
Kim (Coréia do Sul e EUA)	14	> 7 a	espirometria e volumes pulmonares	7 obstrutivos grave, 3 resposta BD acima de 10%
Chang (South Brisbane, Austrália)	9	> 7 a	espirometria	7 obstrutivos, 2 normais sem resposta a BD
Colom (Buenos Aires, Argentina), 2006	75	1 a 26 m	manobras expiratórias forçadas em lactentes	padrão obstrutivo resposta BD média de 7%
Castro-Rodriguez (Chile)	18	5,6 a	oscilometria de impulso	maior resistência e presença de resposta BD.

BD: broncodilatador

Fonte: adaptado de ZHANG, L.; ABREU E SILVA, F.A. Bronchiolitis obliterans in children. **J Pediatr (Rio J)**, v.76, n.3, 185-92, 2000.

A HRB à metacolina é uma característica de pacientes com asma e doenças pulmonares crônicas, enquanto HRB ao monofosfato de adenosina, que causa degranulação de mastócito, está presente apenas na asma (AVITAL, SPRINGER et al., 1995). Com a hipótese de que pacientes com BO pós-infecciosa não apresentariam HRB ao monofosfato de adenosina. Yoo et al. (2006) avaliaram crianças com BO (n = 28), com asma (n = 30) e controles (n = 30). Os pacientes foram submetidos à provocação brônquica com as duas drogas, com o objetivo de determinar a PC₂₀ (concentração da droga que determina uma diminuição de 20% do VEF₁ basal). A presença de HRB foi menos frequente nos pacientes com BO principalmente com o uso de monofosfato de adenosina. Estes achados sugerem que a HRB, nos pacientes com BO pós-infecciosa, tem características diferentes dos pacientes com asma e pode ser utilizada como forma de distinguir estas duas entidades (YOO et al., 2006). Neste estudo não foram realizados testes de provocação brônquica para diferenciar asma de BO, mas as manifestações clínicas persistentes após um quadro de bronquiolite aguda, os achados radiológicos e falta de resposta ao tratamento auxiliam no diagnóstico de BO. Além disso, a presença de atopia é uma outra variável útil para o diagnóstico de asma.

O teste cutâneo alérgico foi realizado em 29 pacientes e apenas 3 (10,3%) foram positivos. A sensibilização atópica em escolares e adultos, na cidade de Curitiba, foi avaliada por Esteves et al. (1999). Os testes cutâneos alérgicos foram realizados com *D. pteronyssinus* e *Lolium* em 3271 escolares (13 a 14 anos). A frequência de positividade ao teste cutâneo foi de 31,3% para *D. pteronyssinus* em escolares, valor três vezes maior aos observados no grupo de pacientes com BO-pós-infecciosa (ESTEVES et al., 1999). A sensibilização atópica baixa pode ser atribuída à diferença de idade entre os dois grupos, ou ao episódio de infecção grave no primeiro ano de vida, fator determinante da resposta imunológica.

A asma e atopia são caracterizadas pela presença de um processo inflamatório do tipo T_H2 . A hipótese da higiene sugere que a exposição precoce às toxinas bacterianas, a parasitas, o BCG, o sarampo e, viver em fazendas, reduz o risco de atopia (RACILA, KLINE, 2005). A presença de uma infecção grave, no primeiro ano de vida, como a que determina BO, pode ser o estímulo para a resposta imunológica, padrão T_H1 e diminuir a atopia nestas crianças. Esta relação, entre a infecção e os sintomas de asma, tem sido motivo de debate entre clínicos e epidemiologistas. A hipótese da higiene, proposta por Strachan em 1989, sugere uma relação inversa entre infecções respiratórias e sensibilização alérgica (STRACHAN, 1989). Entretanto, 13 anos antes esta hipótese poderia ser atribuída a Gerrard et al. (1976), que avaliaram a média de IgE sérica de 876 indivíduos de etnia branca, residentes na região central de Saskatchewan (Canadá) e 276 (indígenas) residentes no norte. A média geométrica de IgE sérica em brancos (81,3 UI/mL) foi menor que na comunidade de Metis (275,4 UI/mL). A prevalência de asma, eczema e urticária foi maior na comunidade branca e, na comunidade indígena, houve maior frequência de infestação por helmintos e infecções virais e bacterianas não tratadas. Os autores sugeriram que *"doença atópica é o preço pago por alguns membros da comunidade branca por sua relativa liberdade das doenças provocadas por vírus, bactérias e helmintos"* (GERRARD et al., 1976).

A presença de uma mutação no gene *CFTR* pode estar associada com um fenótipo atípico de FC no trato sinuso-pulmonar, pâncreas, aparelho genital masculino, com uma função reduzida da proteína CFTR. Embora alterações no gene *CFTR* podem ter um papel na patogênese da asma, sinusite e ABPA em alguns pacientes, estas doenças resultam predominantemente de fatores genéticos (não *CFTR*) e fatores não genéticos (ambientais) (Tabela 15). Não é surpresa que alguns pacientes têm fibrose cística como uma síndrome clínica ("variante de fibrose

cística"), que reflete influências ambientais e genéticas, que não mutações no gene *CFTR* (NOONE, KNOWLES, 2001).

A BO compartilha sinais e sintomas de FC (Tabela 1) e a presença da mutação no *CFTR*, pode ser um fator predisponente para o desenvolvimento da doença.

TABELA 15 - HIERARQUIA DE ASSOCIAÇÕES COM MUTAÇÕES NO GENE *CFTR*

FENÓTIPOS ASSOCIADOS COM MUTAÇÕES <i>CFTR</i>	GENÉTICA/OUTRAS INFLUÊNCIAS		
	<i>CFTR</i>	GENES MODIFICADORES NÃO <i>CFTR</i>	AMBIENTE
FC ATÍPICA			
ACBDD	+++	+	+
Doença Pulm Leve	+++	+	+
Pancreatite CI	+++	+	+
ASSOCIADO COM MUTAÇÕES <i>CFTR</i>			
Sinusite	+	++	+
ABPA	+	++	+++
Asma	+/-	+++	++

FONTE: NOONE, P.G.; KNOWLES, M.R. 'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. **Respir Res**, v.2, n.6, p.328-32, 2001.

NOTAS: FC é associada com duas mutações *CFTR* (geralmente uma leve e uma grave).

A representação "+" indica a intensidade da associação

CI=pancreatite crônica idiopática

ABPA= Aspergilose broncopulmonar alérgica

ACBDD= ausência congênita bilateral do ducto deferente.

Um amplo espectro de anormalidades moleculares pode ocorrer no gene *CFTR* e, mutações não frequentes, que resultam na função parcial da proteína *CFTR*, podem estar associadas com apresentações não clássicas da doença (ROWNTREE, HARRIS, 2003).

Este é o primeiro estudo a avaliar a presença de mutações *CFTR* em pacientes com BO pós-infecciosa. Pacientes portadores de uma mutação para

fibrose cística podem expressar clinicamente sintomas da função diminuída da CFTR em algum órgão alvo (deferente, pulmão e pâncreas). No entanto, esses pacientes não apresentam manifestações clínicas de fibrose cística e têm teste do suor normal. Por exemplo, até 66% dos pacientes com ausência congênita bilateral do ducto deferente podem ter mutações no gene *CFTR* e acredita-se que um único alelo pode determinar uma alteração no canal do cloro no epidídimo e uma possível regressão precoce do ducto mesonéfrico (DOHLE, VEEZE, OVERBEEK, 1999). Em alguns indivíduos que são portadores de mutação *CFTR*, a manifestação da doença pode ser precipitada por um fator adicional como tabagismo, consumo de álcool, ou atopia na aspergilose broncopulmonar (RAMAN et al., 2002).

Neste trabalho foram avaliados pacientes com fenótipo (BO pós-infecciosa) e 6 mutações frequentes no gene *CFTR*, o qual pode determinar manifestações de doença pulmonar leve e bronquiectasias. A frequência de portador heterozigoto para 1 das 6 mutações avaliadas nos pacientes com BO pós-infecciosa foi de 4:42, (IC de 95%; 0,007 a 0,18). Esta frequência de portador heterozigoto é 4,8 vezes maior que o esperado para a população saudável (IC de 95%; -0,02 a 0,06). A incidência de FC no Paraná é de 1 caso para aproximadamente 10.000 nascimentos (SANTOS et al., 2005). Se considerarmos a frequência de heterozigotos encontrados neste grupo de pacientes com BO pós-infecciosa, a incidência de FC seria de 1 caso para 441 nascimentos, ou seja, uma frequência muito acima do esperado, mesmo para outros países onde a FC é mais frequente.

Esta frequência de portador heterozigoto pode ser ainda maior se for considerado que há mais de 1500 mutações conhecidas para o gene *CFTR* (*CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATABASE. CFMDB Statistics, 2006*) e foram analisadas apenas seis. Estas 6 mutações correspondem à taxa de detecção de 55% de pacientes com FC no estado do Paraná (RASKIN, 2001). Isto significa que

uma análise ampliada das mutações FC resultaria na frequência de 7 (16,7%) portadores heterozigotos para os 42 casos de BO pós-infecciosa, (IC de 95%; 0,05 a 27,9), $p = 0,007$. Isto representa uma frequência 8 vezes maior que o esperado na população saudável. Além disto, é possível que mutações associadas ao fenótipo de BO pós-infecciosa, sejam diferentes das mutações mais frequentes responsáveis pelo fenótipo FC, como foi observado por Ninis et al. em pacientes com bronquiectasias (NINIS et al., 2003) e por Bernardino, Lima e Zatz em pacientes brasileiros com ACBDD (BERNARDINO, LIMA, ZATZ, 2003).

Ninis et al. (2003) avaliaram 77 crianças com diagnóstico de bronquiectasias sem etiologia definida, para pesquisa de mutações de FC. Vinte e oito crianças eram portadoras de mutações no gene *CFTR*, uma frequência maior que a esperada para a população saudável. O espectro das mutações encontrado era diferente daquele observado nos pacientes com FC. Por exemplo, a mutação DF508 não foi encontrada em nenhum paciente com bronquiectasia idiopática e no entanto, estava presente em 23,5% dos pacientes com FC. Da mesma forma, três mutações observadas em pacientes com bronquiectasias não foram observadas nos pacientes com FC. A mutação mais frequente foi a K68E, uma mutação rara entre pacientes com FC. (NINIS et al., 2003).

Groman et al. (2002) avaliaram 74 pacientes com manifestações clínicas sugestivas de FC. Entre 34 pacientes com uma mutação identificada, a análise por sequenciamento permitiu identificar uma segunda mutação (IVS8-5T) em 24 pacientes. Então, em pacientes com sinais e sintomas de FC, uma análise detalhada permitiu identificar a presença de uma outra mutação mais rara, ou então, de um polimorfismo (GROMAN et al., 2002). É possível, que neste grupo de pacientes, a realização de pesquisa ampliada, poderia identificar mutações que não foram encontradas na análise inicial (KNOWLES, DURIE, 2002).

Uma outra hipótese seria que além das mutações do gene *CFTR*, polimorfismos genéticos de regiões não codificadoras podem ter um impacto no nível funcional da *CFTR* e no fenótipo da fibrose cística (NOONE, KNOWLES, 2001; ROWNTREE, HARRIS, 2003). Mutações de regiões não codificadoras da *CFTR* têm sido associadas com fenótipos atípicos de fibrose cística. A seqüência do alelo 5T no íntron 8 resulta na deleção do éxon 9 no RNA mensageiro do *CFTR*, o que leva a níveis menores da proteína normal. A combinação de uma mutação *CFTR* com alelo 5T tem sido relatada na patogênese de ausência congênita bilateral de ducto deferente e doença sinuso-pulmonar atípica (CHILLON et al., 1995; FRIEDMAN et al., 1997). Se o estado de portador da mutação *CFTR* está associado a um maior risco de desenvolver doença pulmonar, isso permanece matéria de debate. Uma prevalência maior de hiper-responsividade brônquica para metacolina, sibilância e doença pulmonar na infância, bem como, fluxos e volumes diminuídos, têm sido observados em portadores heterozigotos para FC (DAVIS, 1984; DAVIS, VARGO, 1987). Neste grupo de pacientes não foi avaliada a presença de outras mutações FC e de polimorfismos capazes de alterar a expressão da proteína *CFTR*.

A frequência dos alelos 5T e 9T foram encontrados em uma frequência maior que a população saudável em pacientes com bronquiectasias idiopáticas. Isto sugere que genes modificadores, concomitante ao *CFTR* e polimorfismos, agem para expressar um fenótipo de bronquiectasias, ou, o alelo 9T, age de forma a atenuar a expressão fenotípica da FC (NINIS et al., 2003).

Estes achados realçam a importância do alelo 9T, que nunca foi relatado estar associado a qualquer doença. Este alelo resulta em transcrição normal da proteína *CFTR* e não é o alelo mais frequente observado na população saudável. Uma frequência maior do alelo 9T não pode ser atribuído a possível associação com defeitos em um gene não identificado. Poderia ser um genótipo que não leva a doença, mas leva a bronquiectasia, quando associado a defeitos em genes não

identificados. Alternativamente, 9T poderia ser um atenuador na FC, ao invés de mutação com papel na etiologia de bronquiectasias. Uma atividade maior da proteína CFTR, conferida por 9T, poderia diminuir o efeito da mutação e manifestar formas mais leves de FC (NINIS et al., 2003). Neste estudo não foi avaliada a presença dos alelos 5T e 9T que poderiam estar associados com o desenvolvimento de BO pós-infecciosa. Alterações que poderiam estar localizadas em introns e que não foram avaliados, regiões promotoras ou regulatórias responsáveis pela síntese de proteína CFTR normal mas com baixos níveis de expressão, podem alterar tecidos suscetíveis como deferente e epidídimo (CASALS et al., 2000), ou então, o epitélio respiratório.

É possível, que se for avaliado um número maior de pacientes com BO pós-infecciosa, encontrar frequência maior de mutações no gene *CFTR*. A frequência esperada de heterozigotos para FC na população saudável é 1:42 (RASKIN, 2001). Assim, para uma amostra de 42 pacientes seria necessário encontrar 8 pacientes com uma mutação *CFTR* (19%) para se obter um (IC de 95% 0,07 a 0,31) que não apresente sobreposição com o esperado para a população saudável (IC de 95% -0,02 a 0,06). Para uma amostra 3 vezes maior (n = 126), o percentual seria apenas de 11%, ou seja, muito próximo ao encontrado neste estudo de 9,5%. Este percentual provavelmente está subestimado, se for considerado que apenas 6 mutações foram pesquisadas.

Os mecanismos pelos quais uma mutação no gene *CFTR* poderia determinar ou facilitar o desenvolvimento de doença não são bem conhecidos; especialmente em BO pós-infecciosa, onde não se tem o conhecimento de que uma mutação (heterozigoto) para FC pode estar associada ao desenvolvimento dessa doença.

Há evidência que a FC está associada com aumento da produção de citocinas nas vias aéreas, como interferon γ , IL-8 e IL-10, e isto poderia resultar em

processo imunológico e inflamatório exacerbado. Células T CD4+, de pacientes com FC, produzem menos IL-10, que tem potente ação antiinflamatória por diminuir a liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias (MILLER et al., 1996). Isto poderia potencializar o processo inflamatório determinado pela infecção viral e resultar em doença mais grave com presença de sequelas.

A resposta imune aumentada nas células epiteliais de pacientes com FC não ocorre por ação direta da CFTR, mas de efeitos indiretos da ausência da função do canal de cloro. A perda de cloro, bicarbonato e secreção de *glutation* provocam redução de volume e aumento da oxidação do líquido na superfície da via aérea. Estas alterações provocam aumento da concentração de mediadores pró-inflamatórios, reduz *clearance* mucociliar e ativa sinais celulares. A falta da CFTR apical leva ao aumento do Ca^{++} intracelular e recruta $NF\kappa\beta$, que pode ser intensificado na presença de *P. aeruginosa* (MACHEN, 2006).

Em humanos e ratos, a ausência da CFTR influencia a expressão de outras proteínas responsáveis por transporte iônico, processo inflamatório e de resposta celular. Estas outras proteínas são potenciais modificadores do fenótipo da FC e podem explicar os diferentes fenótipos e gravidade entre pacientes com as mesmas mutações para o gene *CFTR* (XU et al., 2003).

A relação entre o defeito básico na FC (alteração no transporte de ions Na^+ e Cl^-) e a fisiopatologia da doença não está bem estabelecido. Para a doença pulmonar, uma hipótese simples seria a alteração do *clearance* mucociliar. A secreção diminuída de cloro e o aumento da absorção de sódio levam a uma diminuição da quantidade de líquido na superfície da via aérea, que por sua vez dificulta o batimento ciliar, aumenta a colonização bacteriana e infecções de repetição. Entretanto, outros fatores do hospedeiro podem estar presentes, como aumento da aderência bacteriana (SAIMAN et al., 1992), ingestão diminuída das bactérias pelas células epiteliais (PIER et al., 1996) e atividade reduzida

antibacteriana das defensinas (SMITH et al., 1996). A secreção de citocinas alteradas detectadas nos pulmões de fibrocísticos pode explicar parcialmente a inflamação encontrada em pacientes com diagnóstico precoce e com ausência de infecção bacteriana (BONFIELD et al., 1995). Estes mecanismos, isolados ou associados, secundários à presença de uma mutação *CFTR*, podem ser fatores "facilitadores" para o desenvolvimento de formas graves de bronquiolite com evolução para bronquiolite obliterante. Além disso, genes modificadores e polimorfismos, em conjunto com uma mutação *CFTR*, ou a presença de alelos (5T, 9T), agem de forma a alterar a ação da proteína CFTR e podem propiciar o desenvolvimento de BO pós-infecciosa.

A presença de mutações do gene *CFTR* neste grupo de pacientes amplia o espectro de doenças consideradas "CFTR patias" e gera a necessidade de estudos para uma maior compreensão do papel deste gene na etiologia da bronquiolite obliterante. É possível que a proteína CFTR, de forma quantitativa e qualitativa, apresente diferentes mecanismos de resposta do hospedeiro o que explicaria a variedade de expressões fenotípicas da fibrose cística e o número de doenças CFTR relacionadas.

6 CONCLUSÃO

1. A frequência de portador heterozigoto para uma das 6 mutações do gene *CFTR* avaliadas (DF508, G542X, N1303K, R1162X, R553X e G551D) foi 4 de 42 (9,5%). Esta frequência é aproximadamente 5 vezes maior que a esperada para a população saudável.

2. Esta frequência está subestimada se for considerado que:

- as 6 mutações estão presentes em apenas 55% dos pacientes com FC.

- as mutações *CFTR* em pacientes com BO pós-infecciosa podem ter espectro diferente dos pacientes com FC.

3. Entre as 6 mutações avaliadas, a DF508 foi a mais frequente (3 portadores heterozigotos) e 1 heterozigoto para G542X.

4. A BO pós-infecciosa:

- tem início precoce, geralmente no primeiro ano de vida;

- ocorre com maior frequência no gênero masculino e nestes, têm apresentação mais grave;

- determina menor sensibilização atópica;

- apresenta sequelas pulmonares irreversíveis (bronquiectasias, atelectasias, perfusão em mosaico);

- é uma doença pulmonar obstrutiva que não responde à administração de broncodilatadores.

7 REFERÊNCIAS

ABERNATHY, E.C.; HRUBAN, R.H.; BAUMGARTNER, W.A.; REITZ, B.A.; HUTCHINS, G.M. The two forms of bronchiolitis obliterans in heart-lung transplant recipients. **Hum Path**, v.22, n.11, p.1102-10, 1991.

AMERICAN THORACIC SOCIETY STATEMENT. Respiratory health hazards in agriculture. **Am J Respir Crit Care Med**, v.158, n.5, p.S1-S76, 1998.

AVITAL, A.; SPRINGER, C.; BAR-YISHAY, E.; GODFREY, S. Adenosine, methacholine, and exercise challenges in children with asthma or paediatric chronic obstructive pulmonary disease. **Thorax**, v.50, n.5, p.511-6, 1995.

BERNARDI, F.; CAZZATO, S.; POLETTI, V.; TASSINARI, D.; BURNACCINI, M.; ZOMPATORI, M.; CACCIARI, E. Swyer-James Syndrome: bronchoalveolar lavage findings in two patients. **Eur Respir J**, v.8, n.4, p.654-7, 1995.

BERNARDINO, A.L.F.; FERRI, A.; PASSOS-BUENO, M.R.; KIM, C.E.; NAKAIE, C.M.; GOMES, C.E.; DAMACENO, N.; ZATZ, M. Molecular analysis in Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. **Genet Test**, v.4, n.1, p.69-74, 2000.

BERNARDINO, A.L.F.; GUARITA, D.R.; MOTT, C.B.; PEDROSO, M.R.A.; MACHADO, M.C.C.; LAUDANNA, A.A.; TANI, C.M.; ALMEIDA, F.L.; ZATS, M. CFTR, PRSS1, and SPINK1 mutations in the development of pancreatitis in brazilian patients. **JOP**, v.4, n.5, p.169-177, 2003.

BERNARDINO, A.L.F.; LIMA, C.E.; ZATZ, M. Analysis of mutations in the cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene in patients with obstructive azoospermia. **Genet Mol Biol**, v.26, n.1, p.1-3, 2003.

BOEHLER, A.; VOGT, A.; SPEICH, R.; WEDER, W.; RUSSI, E.W. Bronchiolitis obliterans in a patient with localized scleroderma treated with D-penicillamine. **Eur Respir J**, v.9, n.6, p.1317-9, 1996.

BONFIELD, T.L.; PANUSKA, J.R.; KONSTAN, M.W.; HILLIARD, K.A.; GHNAIM, H.; BERGER, M. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. **Am J Respir Crit Care Med**, v.152, n.6, p.2111-8, 1995.

BUSTAMANTE-CALVILLO, M.E.; VELAZQUEZ, F.R.; CABRERA-MUNOZ, L; TORRES, J.; GOMEZ-DELGADO, A.; MORENO, J.A; MUNOZ-HERNANDEZ, O. Molecular detection of respiratory syncytial virus in postmortem lung tissue samples from Mexican children deceased with pneumonia. **Pediatr Infect Dis J**, v.20, n.5, p.495-501, 2001.

CASALS, T.; BASSAS, L.; EGOZCUE S.; RAMOS, M.D.; GIMÉNEZ, J.; SEGURA, A.; GARCIA, F.; CARRERA, M.; LARRIBA, S.; SARQUELLA, J.; ESTIVILL, X. Heterogeneity for mutations in the CFTR gene and clinical correlations in patients with congenital absence of the vas deferens. **Hum Reprod**, v.15, n.7, p.1476-83, 2000.

CASALS, T.; RAMOS, M.D.; GIMENEZ, J.; NADAL, M.; NUNES, V.; ESTIVILL, X. Paternal origin of a de novo novel CFTR mutation (L1065R) causing cystic fibrosis. **Hum Mutat**, suppl.1, p.S99-102, 1998.

CASTRO-RODRIGUEZ, J.A.; DASZENIES, C.; GARCIA, M.; MEYER, R.; GONZALES, R. Adenovirus pneumonia in infants and factors for developing bronchiolitis obliterans: A 5 year follow-up. **Pediatric Pulmonol**, Published Online: 26 Jul 2006; [Epub ahead of print].

CFF. **CFMDB Statistics**. Disponível em: <<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>> Acesso em 05 set. 2006.

CFGAC. World survey of the delta F508 mutation: report from the Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. **Am J Hum Genet**, v.48, n.2, p.354-9, 1990.

CHANG, A.B; MASEL, J.P.; MASTERS, B. Post-infectious bronchiolitis obliterans: clinical, radiological and pulmonary function sequelae. **Pediatr Radiol**, v.28, n.1, p.23-9, 1998.

CHANOCK, R.; FINBERG, L. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. **Am J Hyg**, v.66, n.3, p.291-300, 1957.

CHILLON, M.; CASALS, T.; MERCIER, B.; BASSAS, L.; LISSENS, W.; SILBER, S.; ROMÉY, M.C.; RUIZ-ROMERO, J.; VERLINGUE, C.; CLAUSTRES, M.; NUNES, V.; FEREC, C. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. **N Engl J Med**, v.332, n.22, p.1475-80, 1995.

CHU, C.S.; TRAPNELL, B.C.; CURRISTIN, S.; CUTTING, G.R.; CRYSTAL, R.G.: Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. **Nature Genet**, v.3, n.2, p.151-6, 1993.

CHU, C.S.; TRAPNELL, B.C.; MURTAGH JR, J.J.; MOSS, J.; DALEMANS, W; JALLAT, S.; MERCENIER, A.; PAVIRANI, A.; LECOCQ, J.P.; CUTTING, G.R.; GUGGINO, W.B.; CRYSTAL, R.G.: Variable detection of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. **EMBO J**, v.10, n.6, 1355-63, 1991.

COHN, J.A.; FRIEDMAN, K.J.; NOONE, P.G.; KNOWLES, M.R.; SILVERMAN, L.M.; JOWELL, P.S. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. **N Engl J Med**, v.339, n.10, p.653-8, 1998.

COLBY, T.V. Bronchiolitis: pathologic considerations. **Am J Clin Pathol**, v.109, n.1, p.101-9, 1998.

COLLINS, F.S.; WEISSMAN, S.M. Directional cloning of DNA fragments at a large distance from an initial probe: a circularization method. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.81, n.21, p.6812-6, 1984.

COLLINS, J.; BLANKENBAKER, D.; STERN, E.J. CT patterns of bronchiolar disease: what is "tree-in-bud"? **Am J Roentgenol**, v.171, n.2, p.365-70, 1998.

COLOM, A.J.; MAFFEY, A.F.; NAVARRA, F.; TEPER, A. Pulmonary function in children with post-viral chronic pulmonary disease (PCPD). In: **ATS International Conference. Atlanta**, p.A159, 2002a.

COLOM, A.J.; TEPER, A.M.; VOLLMER, W.M.; DIETTE, G.B. Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans syndrome in children with bronchiolitis [abstract]. **Am J Respir Crit Care Med**, v.169, p.381, 2002b.

COLOM, A.J.; TEPER, A.M.; VOLLMER, W.M.; DIETTE, G.B. Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans in children with bronchiolitis. **Thorax**, v.61, n.6, p.503-6, 2006.

COOPER, D.N.; KRAWCZAK, M. Mutation rates in humans. In: BIOS Scientific Publishers. **Human gene mutation**, Oxford: St. Thomas House, 1993, p.321-9.

COOPER, J.D.; BILLINGHAM, M.; EGAN, T.; HERTZ, M.I.; HIGENBOTTAM, T.; LYNCH, J.; MAUER, J.; PARADIS, I.; PATTERSON, G.A.; SMITH, C.; TRULOK, E.B.; VREIM, C.; YOUSEN, S. A working formulation for the standardization of nomenclature and for clinical staging of chronic dysfunction in lung allografts. **J Heart Lung Transplant**, v.12, n.5, p.713-6, 1993.

COSTABEL, U. Bronchoalveolar lavage characteristics of the bronchiolar diseases. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. Raven Press, Ltd. 1994, p.59-76.

COSTES, B.; GIRODON, E.; GHANEM, N.; FLORI, E.; JARDIN, A.; SOUFIR, J.C.; GOOSSENS, M. Frequent occurrence of the CFTR intron 8 (TG)_n 5T allele in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. **Eur J Hum Genet**, v.3, n.5, p.285-93, 1995.

CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATABASE. **CFMDB Statistics**. Disponível em: <<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/StatisticsPage.html>> acesso em: 20 set. 2006.

DAHL, M.; TYBJAERG-HANSEN, A.; LANGE, P.; NORDESTGAARD, B.J. DeltaF508 heterozygosity in cystic fibrosis and susceptibility to asthma. **Lancet**, v.351, n.9120, p.1911-3, 1998.

DAVIS, P.B. Autonomic and airway reactivity in obligate heterozygotes for cystic fibrosis. **Am Rev Respir Dis**, v.129, n.6, p.911-4, 1984.

DAVIS, P.B. The gender gap in cystic fibrosis survival. **J Gen Specific Med**, v.2, n.2, p.47-51, 1999.

DAVIS, P.B.; VARGO, K. Pulmonary abnormalities in obligate heterozygotes for cystic fibrosis. **Thorax**, v.42, n.2, p.120-5, 1987.

De MEER, G.; MARKS, G.B.; POSTMA, D.S. Direct or indirect stimuli for bronchial challenge testing: what is the relevance for asthma epidemiology? **Clin Exp Allergy**, v.34, n.1, p.9-16, 2004.

DENNY JR, F.W. Acute lower respiratory tract infections: general considerations. In: TAUSSIG, L.M.; LANDAU, L.I. (eds). **Pediatric Respiratory Medicine**. 6th ed., St Louis: Mosby. 1999, p.556-72.

DI SANT'AGNESE, P.A.; DARLING, R.C.; PERERA, G.A.; SHEA, E. Abnormal electrolytic composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. **Pediatrics**, v.12, n.5, p. 549-63, 1953.

Diretrizes para teste de função pulmonar. **J Pneumol**, 28 (Supl.3): S1-S238, 2002.

DIVAC, A.; NIKOLIC, A.; MITIC-MILIKIE, M.; NAGORNI-OBRAĐOVIC, L.; PETROVIC-STANOJEVIC, N.; DOPUDJA-PANTIC, V.; NADASKIC, R.; SAVIC, A.; RADOJKOVIC, D. High frequency of the R75Q CFTR variation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **J Cyst Fibros**, v.3, n.3, p.189-91, 2004.

DOHLE, G.R.; VEEZE, H.J.; OVERBEEK, S.E.; van den OUWELAND, A.M.W.; HALLEY, D.J.J.; WEBER, R.F.A.; NIERMEIJER, M.F. The complex relationships between cystic fibrosis and congenital bilateral absence of the vas deferens: clinical, electrophysiological and genetic data. **Human Reproduction**, v.14, n.2, 371-4, 1999.

DOOLEY, R.R.; GUILMETTE, F.; LEUBNER, H.; PATTERSON, P.R.; SHWACHMAN, H.; WEIL, C. Cystic fibrosis of the pancreas with varying degrees of pancreatic insufficiency. **AMA J Dis Child**, v.92, n.4, p.347-68, 1956.

DORNELES, N.A.; ROSÁRIO N.A.; RIEDI C.A.; BOGUSZEWSKI, M.C.; BARROS, J.A. Spirometric values in children and adolescents with short stature. **J Pneumol**, v.29, n.4, 182-7, 2003.

DOSANJH, A. Unilateral bronchiolitis obliterans: a case report. **Clin Pediatr (Phila)**, v.31, n.5, p.319-20, 1992.

ENGELHARDT, J.F.; YANKASKAS, J.R.; ERNST, S.A.; YANG, Y.; MARINO, C.R.; BOUCHER, R.C.; COHN, J.A.; WILSON, J.M. Submucosal glands are the predominant site of CFTR expression in the human bronchus. **Nat Genet**, v.2, n.3, p.240-8, 1992.

EPLER, G.R. The clinician's classification of the disease of the bronchioles. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. New York: Raven Press, Ltd. 1994, p.27-41.

ESTENNE, M.; HERTZ, M.I. Bronchiolitis obliterans after human lung transplantation. **Am J Respir Crit Care Med**, v.166, n.4, p.440-4, 2002.

ESTEVEZ, P.C.; ROSÁRIO-FILHO, N.A.; TRIPPIA, S.G.; CALEFFE, L.G. Sensibilização atópica em escolares e adultos de Curitiba, Paraná. **Rev Bras Alerg Imunopatol**, v.22, n.5, p.156-60, 1999.

EVERARD, M.L. Acute bronchiolitis and pneumonia in infancy resulting from the respiratory syncytial virus. In: TAUSSIG, L.M.; LANDAU, L.I. (eds). **Pediatric Respiratory Medicine**. 6th ed. St Louis: Mosby, 1999, p.580-95.

FARNG, K.T.; WU, K.G.; LEE, Y.S.; LIN, Y.H.; HWANG, B.T. Comparison of clinical characteristics of adenovirus and non-adenovirus pneumonia in children. **J Microbiol Immunol Infect**, v.35, n.1, p.37-41, 2002.

FISCHER, G.B. **Prognostic factores in acute viral bronchiolitis in Porto Alegre**. Porto Alegre, 1996. Tese doutorado - Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas.

FISCHER, G.B.; TEPER, A.; COLOM, A.J. Acute viral bronchiolitis and its sequelae in developing countries. **Pediatr Respir Rev**, v.3, n.4, p.298-302, 2002.

FISHAUT, M.; TUBERGEN, D.; McINTOSH, K. Cellular response to respiratory viruses with particular reference to children with disorders of cell-mediated immunity. **J Pediatr**, v.96, n.2, p.179-86, 1980.

FRIEDMAN, K.J.; HEIM, R.A.; KNOWLES, M.R.; SILVERMAN, L.M. Rapid characterization of the variable length polythymidine tract in the cystic fibrosis (CFTR) gene: association of the 5T allele with selected CFTR mutations and its incidence in atypical sinopulmonary disease. **Hum Mutat**, v.10, n.2, p.108-15, 1997.

FUJIMURA MD. **Níveis séricos das subclasses de imunoglobulina G em crianças normais e nefróticas**. São Paulo, 1996. Tese doutorado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

FULLMER, J.J.; FAN, L.L.; DISHOP, M.K.; RODGERS, C.; KRANCE, R. Successful treatment of bronchiolitis obliterans in a bone marrow transplant patient with tumor necrosis factor-alpha blockade. **Pediatrics**, v.116, n.3, p.767-70, 2005.

GAN, K.H.; VEEZE, H.J.; van den OUWELAND, A.M.; HALLEY, D.; SCHEFFER, H.; van der HOUT, A.; OVERBEEK, S.E.; de JONGSTE, J.C.; BAKKER, W.; HEIJERMAN, H. A cystic fibrosis mutation associated with mild lung disease. **N Engl J Med**, v.333, n.2, p.95-9, 1995.

GASKIN, K.; GURWITZ, D.; DURIE, P.; COREY, M.; LEVISON H.; FORSTER, G. Improved respiratory prognosis in patients with cystic fibrosis with normal fat absorption. **J Pediatr**, v.100, n.6, p.857-62, 1982.

GAULTIER, C. Development anatomy and physiology of the respiratory system. In: TAUSSIG, L.M.; LANDAU, L.I. (eds). **Pediatric Respiratory Medicine**, 6th ed., St Louis: Mosby. 1999, p.18-36.

GELEHRTER, T.D.; COLLINS, F.S. Anatomy of the human genome: gene mapping and linkage. In: **Principles of medical genetics**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990. p. 193-227.

GERHARDT, S.G.; McDYER, J.F.; GIRGIS, R.E.; CONTE, J.V.; YANG, S.C.; ORENS, J.B. Maintenance azithromycin therapy for bronchiolitis obliterans syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, v.168, n.1, p.121-5, 2003.

GERRARD, J.W.; GEDDES, C.A.; REGGIN, P.L.; GERRARD, C.D.; HORNE, S. Serum IgE levels in white and Metis communities in Saskatchewan. **Ann Allergy**, v.37, n.2, p.91-100, 1976.

GERVAIS, R.; LAFITTE, J.J.; DUMUR, V.; KESTELOOT, M.; LALAU, G.; HOUDRET, N.; ROUSSEL, P. Sweat chloride and delta F508 mutation in chronic bronchitis or bronchiectasis. **Lancet**, v.342, n.8877, p.997, 1993.

GIBSON, L.E.; COOKE, R.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, v.23, n.3, p. 545-9, 1959.

GIRODON, E.; CAZENEUVE, C.; LEBARGY, F.; CHINET, T.; COSTES, B.; GHANEM, N.; MARTIN, J.; LEMAY, S.; SCHEID, P.; HOUSSET, B.; BIGNON, J.; GOOSSENS, M. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. **Eur J Hum Genet**, v.5, n.3, p.149-55, 1997.

GOMEZ LIRA, M.; BENETAZZO, M.G.; MARZARI, M.G.; BOMBIERI, C.; BELPINATI, F.; CASTELLANI, C.; CAVALLINI, G.C.; MASTELLA, G.; PIGNATTI, P.F. High frequency of cystic

fibrosis transmembrane regulator mutation L997F in patients with recurrent idiopathic pancreatitis and in newborns with hypertrypsinemia. (Letter) **Am J Hum Genet**, v.66, n.6, p.2013-4, 2000.

GOSINK, B.B.; FRIEDMAN, P.J.; LIEBOW, A.A. Bronchiolitis obliterans: roentgenologic-pathologic correlation. **AJR**, v.117, n.4, p.816-32, 1973.

GREENBERGER, P.A. Immunologic aspects of lung diseases and cystic fibrosis. **JAMA**, v.278, n.22, p.1924-30, 1997.

GRIESENBACH, U.; GEDDES, D.M.; ALTON, E.W.F.W. The pathogenic consequences of a single mutated CFTR gene. **Thorax**, v.54, suppl:2, p.S19-S23, 1999.

GROMAN, J.D.; MEYER, M.E.; WILMOTT, R.W.; ZEITLIN, P.L.; CUTTING, G.R. Variant cystic fibrosis phenotypes in the absence of *CFTR* mutations. **N Engl J Med**, v.347, n.6, p.401-7, 2002.

GWALTNEY JR, J.M.; PHILLIPS, C.D.; MILLER, R.D.; RIKER, D.K. Computed tomographic study of the common cold. **N Engl J Med**, v.330, n.1, p.25-30, 1994.

GYSIN, G.; ALOTHMAN, G.A.; PAPSIN, B.C. Sinonasal disease in cystic fibrosis: clinical characteristics, diagnosis, and management. **Pediatr Pulmonol**, v.30, n.6, p.481-9, 2000.

HAARDT, M.; BENHAROUGA, M.; LECHARDEUR, D.; KARTNER, N.; LUKACS, GL. C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis: a novel class of mutation. **J Biol Chem**, v.274, n.31, p.21873-7, 1999.

HAMOSH, A.; FITZ-SIMONS, S.; MACEK JR, M.; KNOWLES, M.R.; ROSENSTEIN, B.J.; CUTTING, G.R. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. **J. Pediatr**, v.132, n.2, p. 255-9, 1998.

HANSELL, D.M. Small airways diseases: detection and insights with computed tomography. **Eur Respir J**, v.17, n.6, p.1294-313, 2001.

HARDY, K.A. Childhood bronchiolitis obliterans. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. New York: Raven Press Ltd. 1994, p.415-26.

HARDY, K.A.; SCHIDLOW, D.V.; ZAERI, N. Obliterative bronchiolitis in children. **Chest**, v.93, n.3, p.460-6, 1988.

HARTMAN, T.E.; SWENSEN, S.J.; MULLER, N.L. Bronchiolar diseases: Computed tomography. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. New York: Raven Press, 1994, p. 43-57.

HIGHSMITH, W.E.; BURCH, L.H.; ZHOU, Z.; OLSEN, J.C.; BOAT, T.E.; SPOCK, A.; GORVOY, J.D.; QUITTELL, L.; FRIEDMAN, K.J.; SILVERMAN, L.M.; BOUCHER, R.C.; KNOWLES, M.R. A

novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. **N Engl J Med**, v.331, n.15, p.974-80, 1994.

HUAG, N.N.; SCHIDLOW, D.V.; SZATROWSKI, T.H.; PALMER, J.; LARAYA-CUASAY, L.R.; YEUNG, W.; HARDY, K.; QUITELL, L.; FIEL, S. Clinical features, survival rate, and prognostic factors in young adults with cystic fibrosis. **Am J Med**, v.82, n.5, p.871-9, 1987.

HUGHES, J.H.; MANN, D.R.; HAMPARIAN, V.V. Detection of respiratory syncytial virus in clinical specimens by viral culture, direct and indirect immunofluorescence, and enzyme immunoassay. **J Clin Microbiol**, v.26, n.3, p.588-91, 1988.

ISLES, A.F.; MASEL, J.; O' DUFFY, J. Obliterative bronchiolitis due to *Mycoplasma pneumoniae* infection in a child. **Pediatr Radiol**, v.17, n.2, p.109-11, 1987.

JAY, H.; JEFFREY, L.; MYERS, L.; SWENSEN, S.J. State of the art. Bronchiolar Disorders. **Am J Respir Crit Care Med**, v.168, n.11, p.1277-92, 2003.

JONES, M.H.; DELFIM, M.L.; KALLFELZ, M.L.; VITOLA, L.; PITREZ, P.M.C.; STEIN, R. Pulmonary function in infants with post-infectious bronchiolitis obliterans. In: **ATS International Conference**. Atlanta, 2002, p.A673.

KAJON, A.E.; LARRANAGA, C.; SUAREZ, M.; WADELL, G.; AVENDANO, L.F. Genome type analysis of Chilean adenovirus strains isolated in a children's hospital between 1988 and 1990. **J Med Virol**, v.42, n.1, p.16-21, 1994.

KALINER, M.A.; OSGUTHORPE, J.D.; FIREMAN, P.; ANON, J.; GEORGITIS, J.; DAVIS, M.L.; NACLERIO, R.; KENNEDY, D. Sinusitis: bench to bedside. Current findings, future directions. **J Allergy Clin Immunol**, v.99, n.6, p.S829-48, 1997.

KAREN, H. Childhood bronchiolitis obliterans. In: EPLER, G.R. (ed). **Diseases of the bronchioles**. New York: Raven Press, Ltd. 1994, p.415-26.

KELLNER, J.D.; OHLSSON, A.; GADOMSKI, A.M.; WANG, E.E. Efficacy of bronchodilator therapy in bronchiolitis. A meta-analysis. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v.150, n.11, p.1166-72, 1996.

KEREM, B.; ROMMENS, J.M.; BUCHANAN, J.A.; MARKIEWICZ, D.; COX, T.K.; CHAKRAVARTI, A.; BUCHWALD, M.; TSUI, L.C. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. **Science**, v.245, n.4922, p.1073-80, 1989.

KIESEWETTER, S.; MACEK JR, M.; DAVIS, C.; CURRISTIN, S.M.; CHU, C.S.; GRAHAM, C.; SHRIMPTON, A.E.; CASHMAN, S.M.; TSUI, L.C.; MICKLE, J.; AMOS, J.; HIGHSMITH, W.E.; SHUBER, A.; WITT, D.R.; CRYSTAL, R.G.; CUTTING, G.R.: A mutation in CFTR produces

different phenotypes depending on chromosomal background. **Nature Genet**, v.5, n.3, 274-8, 1993.

KIM, C.K.; KIM, S.W.; KIM, J.S.; KOH, Y.Y.; COHEN, A.H.; DETERDING, R.R.; WHITE, C.W. Bronchiolitis obliterans in the 1990s in Korea and the United States. **Chest**, v.120, n.4, p.1101-6, 2001.

KIM, M.R.; LEE, H.R.; LEE, G.M. Epidemiology of acute viral respiratory tract infections in Korean children. **J Infect**, v.41, n.2, p.152-8, 2000.

KIMPEN, J.L.; SCHAAD, U.B. Treatment of respiratory syncytial virus bronchiolitis: 1995 poll of members of the European Society for Paediatric Infectious Diseases. **Pediatr Infect Dis J**, v.16, n.5, p.479-81, 1997.

KINDT, G.C.; WEILAND, J.E.; DAVIS, W.B.; GADEK, J.E.; DORINSKY, P.M. Bronchiolitis in adults. A reversible cause of airway obstruction associated with airway neutrophils and neutrophil products. **Am Rev Respir Dis**, v.140, n.2, p.483-92, 1989.

KING, P.T.; FREEZER, N.J.; HOLMES, P.W.; HOLDSWORTH, S.R.; FORSHAW, K.; SART, D.D. Role of CFTR mutations in adult bronchiectasis. **Thorax**, v.59, n.4, p.357-8, 2004.

KNOWLES, M.; GATZY, J.; BOUCHER, R. Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium. **J Clin Invest**, v.71, n.5, p.1410-7, 1983.

KNOWLES, M.R.; DURIE, P.R. What is cystic fibrosis? **N Engl J Med**, v.347, n.6, p.439-42, 2002.

KNOWLTON, R.G.; COHEN-HAGUENAUER, O.; van CONG, N.V.; FREZAL, J.; BROWN, V.A.; BARKER, D.; BRAMAN, J.C.; SCHUMM, J.W.; TSUI, L.C.; BUCHWALD, M.; DONIS-KELLER, H. A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. **Nature**, v.318, n.6044, p. 380-2, 1985.

KOSTUCH, M.; KLATKA, J.; SEMCZUK, A.; WOJCIEROWSKI, J.; KULCZYCKI, L.; OLESZCZUK, J. Analysis of most common CFTR mutations in patients affected by nasal polyps. **Eur Arch Otorhinolaryngol**, v.262, n.12, p.982-6, 2005.

KOSTUCH, M.; SEMCZUK A.; SZAREWICS-ADAMCZYK W.; GASOWSKA-GISZCAK U.; WOJCIEROWSKI J.; KULCZYCKI, L. . Detection of CFTR gene mutations in patients suffering from chronic bronchitis. **Arch Med res**, v.31, n.1, p.97-100, 2003.

KRAFT, M.; MORTENSON, R.L.; COLBY, T.V.; NEWMAN, L.; WALDRON JR, J.A.; KING JR, T.E. Cryptogenic constrictive bronchiolitis. A clinicopathologic study. **Am Rev Respir Dis**, v.148, n.4, p.1093-101, 1993.

KRISTIDIS, P.; BOZON, D.; COREY, M.; MARKIEWICS, D.; ROMMENS, J.; TSUI, L.C.; DURIE, P. Genetic determination of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. **Am J Hum Genet**, v.50, n.6, p.1178-84, 1992.

KURLAND, G.; MICHELSON, P. Bronchiolitis obliterans in children. **Pediatr Pulmonol**, v.39, n.3, p.193-208, 2005.

LARAYA-CUASAY, L.R.; DeFOREST, A.; HUFF, D.; LISHNER, H.; HUANG, N.H. Chronic pulmonary complications of early influenza virus infection in children. **Am Rev Respir Dis**, v.116, n.4, p.617-25, 1977.

LeGRYS, V.A. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. **J Pediatr**, v.129, n.6, p.892-7, 1996.

LOWE, C.U.; MAY, C.D.; REED, S.C. Fibrosis of the pancreas in infants and children: a statistical study of clinical and hereditary features. **Am J Dis Child**, v.78, p.349-74, 1949.

MACHEN T.E. The innate immune response in CF airway epithelia hyperinflammatory? **Am J Physiol Cell Physiol**, v.291, n.2, p.218-30, 2006.

MACLEOD, W.M. Abnormal transradiancy of one lung. **Thorax**, v.9, n.2, p.147-53, 1954.

MARCHAND, E.; VERELLEN-DUMOULIN, C.; MAIRESSE, M.; DELAUNOIS, L.; BRANCALEONE, P.; RAHIER, J.F.; VANDENPLAS, O. Frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations and 5T allele in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. **Chest**, v.119, n.3, p.762-7, 2001.

MARKOPOULO, K.D.; COOL, C.D.; ELLIOT, T.L.; LYNC, D.A.; NEWELL JR, J.D.; HALE, V.A.; BROWN, K.K.; SCHWARZ, M.I.; TUDER, R.M. Obliterative bronchiolitis: varying presentations and clinicopathological correlation. **Eur Respir J**, v.19, n.1, p.20-30, 2002.

MAUAD, T.; DOLHNIKOFF, M.; São Paulo Bronchiolitis Obliterans Study Group. Histology of childhood bronchiolitis obliterans. **Pediatr Pulmonol**, v.33, n.6, p.466-74, 2002.

MAUAD, T.; Van SCHADEWIJK, A.; SCHRUMPF, J.; HACK, C.E.; FERNEZLIAN, S.; GARIPPO, A.L.; EJZENBERG, B.; HIEMSTRA, P.S.; RABE, K.F.; DOLHNIKOFF, M.; and São Paulo BO Study Group. Lymphocytic inflammation in childhood bronchiolitis obliterans. **Ped Pulmonol**, v.38, n.3, p.233-9, 2004.

MEAD, J. Dysanapsis in normal lungs assessed by the relationship between maximal flow, static recoil and vital capacity. **Am Rev Respir Dis**, v.121, n.2, p.339-42, 1980.

MEARS, M.B. Cystic fibrosis: the first 50 years. A review of the clinical problems and their management. In: DODGE, J.A.; BROCK, D.J.H.; WIDDICOMBE, J.H. (Ed.) **Cystic Fibrosis**. Current topics. John Wiley & Sons Ltd, 1993, p.217-50.

MEHTA, A. CFTR: More than just a chloride channel. **Pediatr Pulmonol**, v.39, n.4, p.292-8, 2005.

MERKUS, P.J.; ten HAVE-OPBROEK, A.A.; QUANJER, P.H. Human lung growth: a review. **Pediatr Pulmonol**, v.21, n.6, p.383-97, 1996.

MERKUS, P.J.F.M. Effects of childhood respiratory diseases on the anatomical and functional development of the respiratory system. **Paediatr Respir Rev**, v.4, n.1, p.28-39, 2003.

MILLER, P.W.; HAMOSH, A.; MACEK, M.J.; GREENBERGER, P.A.; MACLEAN, J.; WALDEN, S.M.; SLAVIN, R.G.; CUTTING, G.R. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. **Am J Hum Genet**, v.59, n.1, p.45-51, 1996.

MISTCHENKO, A.S.; DIEZ, A.R.; MARIANI, A.L.; ROBALDO, J.; MAFFEY, A.F.; BAYLEY-BUSTAMANTE, G.; GRINSTEIN, S. Cytokines in adenoviral disease in children: association of interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha levels with clinical outcome. **J Pediatr**, v.124, n.5, p.714-20, 1994.

MISTCHENKO, A.S.; KOCH, E.R.R.; KAJON, A.E.; TIBALDI, F.; MAFFEY, A.F.; DIEZ, R.A. Lymphocyte subsets and cytokines in adenoviral infection in children. **Acta Paediatr**, v.87, n.9, p.933-9, 1998.

MORAN, T.J.; HELLSTROM, H.R. Bronchiolitis obliterans: an experimental study of the pathogenesis and the use of cortisone in modification of the lesions. **AMA Arch Pathol**, v.66, n.6, p.691-707, 1958.

MORRAL, N.; DÖRK, T.; LLEVADOT, R.; DZIADEK, V.; MERCIER, B.; FÉREC, C.; COSTES, B.; GIRODON, E.; ZIELENSKI, J.; TSUI, L.C.; TUMMLER, B.; ESTIVILL, X. Haplotype analysis of 94 cystic fibrosis mutations with seven polymorphic CFTR DNA markers. **Hum Genet**, v.8, n.2, p.149-59, 1996.

MORRAL, N.; LLEVADOT, R.; CASALS, T.; GASPARINI, P.; MACEK JR, M.; DÖRK, T.; ESTIVILL, X. Independent origins of cystic fibrosis mutations R334W, R347P, R1162X and 3849+10kbC→T provide evidence of mutation recurrence in the CFTR gene. **Am J Hum Genet**, v.55, n.5, p.890-8, 1994.

MOULIN, D.S.; SMITH, A.N.; HARRIS, A. A CA repeat in the first intron of the CFTR gene. **Hum Hered**, v.47, n.5, p.295-7, 1997.

MULLER, N.L. Advances in imaging. **Eur Respir J**, v.18, n.5, p.867-71, 2001.

MULLER, N.L.; MILLER, R.R. Diseases of the bronchioles: CT and histopathologic findings. **Radiology**, v.196, n.1, p.3-12, 1995.

MULLIS, K.; FALOONA, F.; SCHARF, S.; SAIKI, R.; HORN, G.; ERLICH, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol**, v.51, n.1, 263-73, 1986.

MURTAGH, P.; KAJON, A. Chronic pulmonary sequela of adenovirus infection. **Pediatr Pulmonol**, v.16, Suppl, p.150-1, 1997.

MYERS, J.L.; COLBY, T.V. Pathologic manifestations of bronchiolitis, constrictive bronchiolitis, cryptogenic organizing pneumonia, and diffuse panbronchiolitis. **Clin Chest Med**, v.14, n.4, p.611-22, 1993

NINIS, V.N.; KYLYNC, V.; KANDEMIR, E.; DAOLY, E.; TOLUN, A. High frequency of T9 and CFTR mutations in children with idiopathic bronchiectasis. **J Med Genet**, v.40, n.7, p.530-5, 2003.

NOONE, P.G.; KNOWLES, M.R. 'CFTR-opathies': disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. **Respir Res**, v.2, n.6, p.328-32.

NOUSARI, H.C.; DETERDING, R.; WOJTCZACK, H.; AHO, S.; UITTO, J; HASHIMOTO, T.; ANHALT, G.J. The mechanism of respiratory failure in paraneoplastic pemphigus. **N Engl J Med**, v.341, n.11, p.1406-10, 1999.

PAES, B.A. Current strategies in the prevention of respiratory syncytial virus disease. **Paediatr Respir Rev**, v.4, n.1, p.21-7, 2003.

PENN, C.C.; LIU, C. Bronchiolitis following infection in adults and children. **Clin Chest Med**, v.14, n.4, p.645-54, 1993.

PIER, G.B.; GROUT, M.; ZAIDI, T.S.; OLSEN, J.C.; JOHNSON, L.G.; YANKASKAS, J.R.; GOLDBERG, J.B. Role of mutant CFTR in hypersusceptibility of cystic fibrosis patients to lung infections. **Science**, v.271, n.271, p.64-7, 1996.

PIGNATTI P.F.; BOMBIERI C.; BENETAZZO, M.; CASARTELLI, A.; TRABETTI, E.; GILE, L.S.; MARTINATI, L.C.; BONER, A.L.; LUISETTI, M. CFTR gene variant IVS8-5T in disseminated bronchiectasis (Letter). **Am J Hum Genet**, v.58, n.4, p.889-92, 1996.

PIGNATTI, P.F.; BOMBIERI, C.; MARIGO, C.; BENETAZZO, M.; LUISETTI, M. Increased incidence of cystic fibrosis gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. **Hum Mol Genet**, v.4, n.4, p.635-9, 1995.

PIPAVATH, S.J.; LYNCH, D.A.; COOL, C; BROWN, K.K.; NEWELL, J.D. Radiologic and pathologic features of bronchiolitis. **AJR**, v.185, n.2, p.354-63, 2005.

POLGAR, G.; PROMADHAT, V. **Pulmonary function testing in children: standards and techniques**. Philadelphia: W. B. Saunders; 1971.

QUINTON, P.M. Missing Cl conductance in cystic fibrosis. **Am J Physiol**, v.251, n.4, p.649-52, 1986.

QUINTON, P.M. Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective. **Physiol Rev**, v.79, n.1 suppl, p.S3-S22.

RACILA, D.M.; KLINE, J.N. Perspectives in asthma: Molecular use of microbial products in asthma prevention and treatment. **J Allergy Clin Immunol**, v.116, n.6, p.1202-5, 2005.

RAMAN, V.; CLARY, R.; SIEGRIST, K.L.; ZEHNBauer, B.; CHATILA, T.A. Increased prevalence of mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in children with chronic rhinosinusitis. **Pediatrics**, v.109, n.1, p.1-4 2002.

RASKIM, S. **Estudo multicêntrico das bases de genética molecular e da epidemiologia da fibrose cística em populações brasileiras**. Curitiba 2001. Tese de doutorado - Universidade Federal do Paraná.

RASKIN, S.; PHILLIPS III, J.A.; KRISHNAMANI, M.R.S.; VNENCAK-JONES, C.; PARKER, R.A.; ROZOV, T.; CARDIERI, J.M.; MAROSTICA, P.; ABREU, F.; GIUGLIANA, R.; REIS, F.; ROSARIO, N.A.; LUDWIG, N.; CULPI, L. Cystic fibrosis in the Brazilian population: DF508 mutation and KM-19/XV-2C haplotype distribution. **Hum Biol**, v.69, n.4, p.499-508, 1997.

REYNAUD-GAUBERT, M.; MARIN, V.; THIRION, X.; FARNARIER, C.; THOMAS, P.; BADIÉ, M.; BONGRAND, P.; GIUDICELLI, R.; FUENTES, P. Upregulation of chemokines in bronchoalveolar lavage fluid as a predictive marker of post-transplant airway obliteration. **J Heart Lung Transplant**, v.21, n.7, p.721-30, 2002.

REYNOLDS, E.O.; COOK, C.D. The treatment of bronchiolitis. **J Pediatr**, v.63, p.1205-7, 1963.

RICH, D.P.; ANDERSON, M.P.; GREGORY, R.J.; CHENG, S.H.; PAUL, S.; JEFFESON, D.M.; McCANN, J.D.; KLINGER, K.W.; SMITH, A.E.; WELSH, M.J. Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in cystic fibrosis airway epithelial cells. **Nature**, v.347, n.6291, p.358-63, 1990.

RIORDAN, J.R.; ROMMENS, J.M.; KEREM, B.; ALON, N.; ROZMAHEL, R.; GRZELCZAK, Z.; ZIELENSKI, J.; LOK, S.; PLAVSIC, N.; CHOU, J.L.; DRUMM, M.L.; IANNUZZI, M.C.; COLLINS,

F.S.; TSUI, L.C. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. **Science**, v.245, n.4925, p.1066-73, 1989.

ROMMENS, J.M.; IANNUZZI, M.C.; KEREM, B.; DRUMM, M.L; MELMER, G.; DEAN, M.; ROZMAHEL, R.; COLE, J.L.; KENNEDY, D.; HIDAKA, N.; ZSIGA, M.; BUCHWALD, M.; RIORDAN, J.R.; TSUI, L.C.; COLLINS, F.S. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. **Science**, v.245, n.4922, p.1059-65, 1989.

ROSÁRIO, N.A.; KANTOR-JR. O. Síndrome de Swyer-James-Macleod: Relato de 9 Casos. **J Pneumol**, v.22, n.5, p.319-22, 1998.

ROSENTHAL, M.; BUSH, A. The growing lung: normal development, and the long-term effects of pre- and postnatal insults. **Eur Respir Mon**, v.1, p.19-24, 2002.

ROWE, S.M.; MILLER, S.; SORSCHER, E.J. Mechanisms of disease: Cystic Fibrosis. **N Engl J Med**, v.35, n.19, 1992-2001, 2005.

ROWNTREE, R.K.; HARRIS, A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. **Ann Hum Genet**, v.67, n.5, p.471-85, 2003.

SAIMAN, L.; CACALANO, G.; GRUENERT, D.; PRINCE, A. Comparison of adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to respiratory epithelial cells from cystic fibrosis patients and healthy subjects. **Infect Immun**, 1992; v.60, n.7, p.2808-14.

SANTOS, G.P.; DOMINGOS, M.T.; WITTIG, E.O.; RIEDI, C.A.; ROSÁRIO, N.A. Neonatal cystic fibrosis screening program in the state of Parana: evaluation 30 months after implementation. **J Pediatr (Rio J)**, v.81, n.3, p.240-3, 2005.

SANTOS, R.V.; ROSÁRIO, N.A.; RIEDI, C.A. Bronquiolite obliterante pós-infecciosa: aspectos clínicos e exames complementares de 48 crianças. **J Bras Pneumol**, v.30, n.1, p.20-5, 2004.

SCHLESINGER, C.; MEYER, C.A.; VEERARAGHAVAN, S.; KOSS, M.N. Constrictive (obliterative) bronchiolitis: diagnosis, etiology, and a critical review of the literature. **Ann Diagn Pathol**, v.2, n.5, p.321-34, 1998.

SCHWARTZMAN, K.J.; BOWIE, D.M.; YEADON, C.; FRASER, R.; SUTTON, E.D.; LEVY, R.D. Constrictive bronchiolitis obliterans following gold therapy for psoriatic arthritis. **Eur Respir J**, v.8, n.12, p.2191-3, 1995.

SCOTET, V.; De BRAEKELEER, M.; AUDREZET, M.P.; LODE, L.; VERLINGUE, C.; QUERE, I.; MERCIER, B.; DUGUEPEROUX, I.; CODET, J.P.; MOINEAU, M.P.; PARENT, P.; FEREC, C. Prevalence of CFTR mutations in hypertrypsinaemia detected through neonatal screening for cystic fibrosis. **Clin. Genet**, v.59, n.1, p.42-7, 2001.

SHARER, N.; SCHWARZ, M.; MALONE, G.; HOWARTH, A.; PAINTER, J.; SUPER, M.; BRAGANZA, J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. **N Engl J Med**, v.339, n.10, p.645-52, 1998.

SHARER, N.; SCHWARZ, M.; MALONE, G.; HOWARTH, A.; PAINTER, J.; SUPER, M.; BRAGANZA, J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. **N Engl J Med**, v.339, n.10, p.645-52, 1998.

SHWACHMAN, H. Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis. **Ped Clin North Am**, v.22, n.4, p.787-805, 1975.

SMITH, J.J.; TRAVIS, S.M.; GREENBERG, E.P.; WELSH, M.J. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. **Cell**, v.85, n.2, p.229-36, 1996.

SPEICH, R.; NICOD, L.P.; AUBERT, J.D.; SPILIOPOULOS, A.; WELLINGER, J.; ROBERT, J.H.; STOCKER, R.; ZALUNARDO, M.; GASCHE-SOCCAL, P.; BOEHLER, A.; WEDER, W. Ten years of lung transplantation in Switzerland: results of the Swiss Lung Transplant Registry. **Swiss Med Wkly**, v.134, n.1-2, p.18-23, 2004.

STANDARDIZATION OF SPIROMETRY, 1994 Update. American Thoracic Society **Am J Respir Crit Care Med**, v.152, n.3, p.1107-36, 1995.

STERN, E.J.; MULLER, N.L.; SWENSEN, S.J.; HARTMAN, T.E. CT mosaic pattern of lung attenuation: etiologies and terminology. **J Thorac Imaging**, v.10, n.4, p.294-7, 1995.

STEWART, B.; ZABNER, J.; SHUBER, A.P.; WELSH, M.J.; McCRAY JR, P.B. Normal sweat chloride values do not exclude the diagnosis of cystic fibrosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.151, n.3, p.899-903, 1995.

STRACHAN, D.P. Hay fever, hygiene, and household size. **BMJ**, v.299, n.6710, p.1259-60, 1989.

SWYER, P.R.; JAMES, G.C. A case of unilateral pulmonary emphysema. **Thorax**, v.8, n.2, p.133-6, 1953.

TAYLOR, C.J.; ASWANI, N. The pancreas in cystic fibrosis. **Paediatr Respir Rev**, v.3, n.1, 77-81, 2002.

TENG, H.; JORISSEN, M.; Van POPPEL, H.; LEGIUS, E.; CASSIMAN, J.J.; CUPPENS, H. Increased proportion of exon 9 alternatively spliced CFTR transcripts in vas deferens compared with nasal epithelial cells. **Hum Molec Genet**, v.6, n.1, p.85-90, 1997.

TEPER, A.; FISCHER, G.B.; JONES, M.H. Respiratory sequelae of viral diseases: from diagnosis to treatment. **J Pediatr (Rio J)**, v.78, suppl.2, p.S187-S194, 2002.

TEPER, A.M.; KOFMAN, C.D.; MAFFEY, A.F.; VIDAURRETA, S.M. Lung function in infants with chronic pulmonary disease after severe adenoviral illness. **J Pediatr**, v.134, n.6, p.730-3, 1999.

TEPER, A.M.; MARCOS, C.Y.; THEILER, G.; COLOM, A.J; FAINBOIM, L. Association between HLA and the incidence of bronchiolitis obliterans in Argentina [abstract]. **Am J Respir Crit Care Med**, v.169, p.382, 2004.

THURLBECK, W.M. Postnatal human lung growth. **Thorax**, v.37, n.8, p.564-71, 1982.

THURLBECK, W.M. Smoking, airflow limitation and the pulmonary circulation. **Am Rev Respir Dis**, v.122, p.183-6, 1980.

TRISOLINI, R.; BANDINI, G.; STANZANI, M.; CHILOSI, M.; CANCELLIERI, A.; BOARON, M.; POLETTI, V. Morphologic changes leading to bronchiolitis obliterans in a patient with delayed non-infectious lung disease after allogeneic bone marrow transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v.28, n.12, p.1167-70, 2001.

TRULOCK, E.P.; EDWARDS, L.B.; TAYLOR, D.O.; BOUCEK, M.M.; KECK, B.M.; HERTZ, M.I. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult heart-lung transplant report – 2005. **J Heart Lung Transplant**, v.24, n.8, p.956-67, 2005.

TRUNIGER, K.; MALIK, N.; AMMANN, R.W.; MUELLHAUPT, B.; SEIFERT, B.; MULLER, H.J.; BLUM, H.E. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. **Am J Gastroenterol**, v.96, n.9, p.2657-61, 2001.

TSAI, H.P.; KUO, P.H.; LIU, C.C.; WANG, J.R.; Respiratory viral infections among pediatric inpatients and outpatients in Taiwan from 1997 to 1999. **J Clin Microbiol**, v.39, n.1, p.111-8, 2001.

TURTON, C.W.; WILLIAMS, G.; GREEN, M. Cryptogenic obliterative bronchiolitis in adults. **Thorax**, v.36, n.11, p.805-10, 1981.

van BIEZEN, P.; OVERBEEK, S.E.; HILVERING, C. Cystic fibrosis in a 70 year old woman. **Thorax**, v.47, n.3, p.202-3, 1992.

VERLEDEN, G.M.; VANAUDENAERDE, B.M.; DUPONT, L.J.; Van RAEMDONCK, D.E. Azithromycin reduces airway neutrophilia and interleukin-8 in patients with bronchiolitis obliterans syndrome. **Am J Respir Crit Care Med**, v.174, n.5, p.566-70, 2006. epub 2006 Jun 1.

WALLIS, C. Atypical cystic fibrosis - diagnostic and management dilemmas. **J R Soc Med**, v.96, suppl.43, p.2-10, 2003.

WALLIS, C. Diagnosis and presentation of cystic fibrosis. In: CHERNICK, V.; BOAT, T.F.; WILMOTT, R.W.; BUSH, A. (eds). **Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children**. 7th ed, Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006, p. 866-72.

WANG, X.; KIM, J.; Mc WILLIAMS, R.; CUTTING, G.R. Increased prevalence of chronic rhinosinusitis in carriers of a cystic fibrosis mutation. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v.131, n.3, p.237-40, 2005.

WANG, X.; MOYLAN, B.; LEOPOLD, D.A.; KIM, J.; RUBENSTEIN, R.C.; TOGIAS, A.; PROUD, D.; ZEITLIN, P.; CUTTING, G.R. Mutation in the gene responsible for cystic fibrosis and predisposition to chronic rhinosinusitis in the general population. **JAMA**, v.284, n.14, p.1814-9, 2000.

WARNER, J.O.; KILBURN, S.A. Cystic fibrosis and allergy. **Pediatr Allergy Immunol**, v.7, suppl 9, p.67-9, 1996.

WEBB, W.R.; STEIN, M.G.; FINKBEINER, W.E.; IM, J.G.; LYNCH, D.; GAMSU, G. Normal and diseased isolated lungs: high resolution CT. **Radiology**, v.166, n.1, p.81-7, 1988.

WELSH, M.J.; LIEDTKE, C.M. Chloride and potassium channels in cystic fibrosis airway epithelia. **Nature**, v.322, n.6078, p.467-70, 1986.

WELSH, M.J.; SMITH, A.L. Molecular mechanism of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. **Cell**, v.73, n.7, p.1251-4, 1993.

WELSH, M.J.; TSUI, L.C.; BOAT, T.F.; BEAUDET, A.L. Cystic fibrosis. In: SCRIVER, CR; BEAUDET, AL; SLY, WS; VALLE, D. **The metabolic and molecular bases of inherited disease**, 7. ed. New York: McGraw-Hill. 1995, p.3799-876.

WENMAN, W.M.; PAGTAKHAN, R.D.; REED, M.H.; CHERNICK, V.; ALBRITTON, W. Adenovirus bronchiolitis in Manitoba: epidemiologic, clinical, and radiologic features. **Chest**, v.81, n.5, p.605-9, 1982.

WHOL, M.E.B. Bronchiolitis. In: CHERNICK, V.; BOAT, T.F.; KENDIG JR, E.L. (eds). **Disorders of the Respiratory Tract in Children**, 6th ed, Philadelphia: WB Saunders Co. 1998, p.473-85.

WILFOND, B.S.; TAUSSIG, L.M. Cystic Fibrosis: General overview. In: TAUSSIG, L.M., LANDAU, L.I. (Ed). **Pediatric Respiratory Medicine**. Mosby, Inc. 1999, p. 982-990.

WOHL, M.E.B. Developmental physiology of the respiratory system. In: CHERNICK, V.; BOAT, T.F.; WILMOTT, R.W.; BUSH, A. (eds). **Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children**, 7th ed, Philadelphia: Saunders Elsevier. 2006, p.23-8.

WOODHEAD, J.L.; FALLON, R.; FIGUERED, H.; LONGDALE, J.; MALCON, A.D.B. Alternative methodology of gene diagnosis. In: Daves, K.E. **Human Genetic Disease - A practical approach**. Oxford.: IRL Press Limited, 1986, pp51- 64.

WRIGHT, J.L.; CAGLE, P.; CHURG, A.; COLBY, T.V.; MYERS, J. Diseases of the small airways. **Am Rev Respir Dis**, v.146, n.1, p.240-62, 1992.

WRIGHT, S.W.; MORTON, N.E. Genetic studies on cystic fibrosis in Hawaii. **Am J Hum Genet**, v.20, n.2, p.157-69, 1968.

XU, Y.; CLARK, J.C.; ARONOW, B.J.; DEY,C.R.; LIU, C.; WOOLDRIDGE, J.L.; WHITSETT, J.A. Transcriptional adaptation to cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficiency. **J Biol Chem**, v.278, n.9, p.7674-82, 2003.

XU, Y.; KLEIN-HITPASS, L.; BAGCHI, M.K. E1A-mediated repression of progesterone receptor-dependent transactivation involves inhibition of the assembly of a multisubunit coactivation complex. **Mol Cell Biol**, v.20, n.6, p.2138-46, 2000.

YOO, Y.; YU, J.; KIM, D.K.; CHOI, S.H.; KIM, C.K.; KOH, Y.Y. Methacholine and adenosine 5'-monophosphate challenges in children with post-infectious bronchiolitis obliterans. **Eur Respir J**, v.27, n.1, p.36-41, 2006.

ZHANG, L.; ABREU E SILVA, F.A. Bronchiolitis obliterans in children. **J Ped (Rio J)**, v.76, n.3, 185-92, 2000.

ZHANG, L.; IRION, K.; KOZAKEWICH, H.; REID, L.; CAMARGO, J.J.; da SILVA PORTO, N.; ABREU e SILVA, FA. Clinical course of postinfectious bronchiolitis obliterans. **Pediatr Pulmonol**, v.29, n.5, p.341-50, 2000.

ZIELENSKI, J.; MARKIEWICZ, D.; RININSLAND, F.; ROMMENS, J.; TSUI, L.C. A cluster of highly polymorphic dinucleotide repeats in intron 17b of the cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene. **Am J Hum Genet**, v.49, n.6, p. 1256-62, 1991.

APÊNDICE

RELAÇÃO DOS 42 PACIENTES COM BO PÓS-INFECCIOSA

ANEXO

TERMO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

REGISTRO	SEXO	IDADE	inicio SINT (m)	Reintern	2 ou + reintern	intern UTI	VENT MEC	TCA	HIV	TESTE SUOR	IMUNOGLOBULINAS			ANTI-TRIP
											IgG	IgA	IgM	
18643600	F	3a 10m	6	não	não	não	não	neg	neg	20	719	44,5	56,1	145
19193241	M	3a 9m	13	sim	não	sim	não	neg	neg	24 e 28	980	55	155	160
18681757	M	3a 11m	3	sim	não	não	não		neg	20	754	113	145	50
19255514	F	13a 7m	12	sim	sim	não	não	pos	neg	31	1267	311	203	186
19363945	M	2a 6m	3	sim	não	sim	não		neg	20	965	77	81	116
19555895	F	2a	1	não	não	não	não		neg	24	590	30	58	
19631400	M	8a	6	sim	sim	não	não	neg	neg	30	1070	147	220	164
19850242	F	2a 5m	13	sim	sim	sim	sim		neg	10	1430	48	101	134
17025198	M	7a8m	5	sim	sim	sim	sim	neg	neg	20	685	77	228	117
17423320	M	12a 8m	8	sim	sim	não	não	neg	neg	42	1781	204	150	
17676504	M	9a4m	8	sim	sim	não	não	neg	neg	12 e 11				78
17895559	M	5a 7m	3	sim	não	sim	não		neg	28	1170	55	88	88
17634151	M	16a 4m	6	sim	sim	não	não	neg	neg	22	1221	242		262
17702491	F	6a	2	sim	sim	não	não	neg	neg	20	630	66	186	
17767135	M	6a, 7m	8	sim	sim	sim	sim	neg	neg	30	1580	102	116	247
16237779	M	10	6	sim	sim	não	não	neg	neg	22 e 40	1279	251	203	166
16277584	M	8a,9m	4	sim	sim	sim	não	neg	neg	27 e 20	1127	118	118	134
16507423	M	7a, 10m	1	sim	não	sim	sim	pos		38, 44	1000	143	141	
16646105	M	16a,10m	3	sim	sim	não	não	neg	neg	12 e 9	975	136	196	118
16681326	F	8a,7m	3	sim	sim	não	não	neg	nao	18	1160	156	88	115
16713163	F	15a,11m	12	sim	não	sim	sim	neg	neg	32	1330	97	137	132
16734691	M	9a,1m	12	sim	sim	não	não	pos	neg	32	973	151	47	206
7412088	M	17a,7m	3	sim	sim	não	não	neg	neg	46 e 22	1940	155	380	
12643063	M	16a,	24	sim	não	sim	sim	neg	neg	28	1640	428	132	190
14314148	M	11a7m	9	sim	não	não	não	neg	neg	40	1040	31	105	138
14436758	F	19a	4	sim	sim	não	não	neg	neg	21,6	1710	237	259	
15197730	F	9a9m	4	sim	sim	não	não	neg		28	1170	230	117	140
15594241	F	10a,5m	18	sim	não	não	não	neg	neg	40	1030	275	157	119
15929120	M	10a,5m	22	sim	sim	sim	não	neg	neg	48	786	70	248	455
16277681	M	8a,3m	5	sim	sim	sim	sim	neg	neg	9,1	1370	145	84	106
16677744	F	8a,2m	18	sim	sim	não	não	neg		29	1222	125	127	219
17682490	M	5a,10	12	sim	sim	sim	não			7,4	801	76	85	87
18608472	M	5a,5m	10	sim	sim	não	sim	neg	neg	7,4	1170	102	152	162
12712626	M	15a,2m	12	sim	sim	não	não	neg	neg	21	1170	123	147	154
2322668	M	2a,4m	2	sim	sim	sim	sim		neg	10	980	75	325	90
2317630	F	2a,4m	1	sim	sim	sim	não		neg	22	1156	98		112
2451786	M	2a,8m	18	sim	sim	sim	sim	neg	neg	11	976	90		78
23926410	M	1a,9m	2	sim	sim	não	não		neg	9,7	1069	60	81	
2433095	F	2a,5m	17	sim	sim	sim	sim		neg	12,6	490	114	352	119
2376091	M	2a,1m	18	sim	sim	sim	sim		neg	6,9	721	73	308	106
16681326	M	1a,6m	3	sim	não	sim	sim		neg	25	673	24	113	193
19813134	M	5a,5m	8	sim	sim	não	não	neg	neg	24	804	63,2	52,7	

Reintern= reinternações; VENT MEC= Ventilação mecânica; TCA= Teste cutâneo alérgico; ANTI-TRIP= Deficiência de alfa-1 antitripsina

RADIOGRAFIA DE TÓRAX					TOMOGRAFIA TÓRAX ALTA RESOLUÇÃO					Ecocardiograma	CVF	VEF1	VEF1/CVF	FEF 25-75%	Resposta BD	MUT. <i>CFTR</i>
alt perfusão	alt volume	atelec	compr bronq	bronquiec	mosaico	bronquiec	atelectasia	estrias, bandas								
nl	nl	nl	nl	nl	sim	não	sim	não	nl							
sim	sim	nl	sim	nl	nl	não	não	não	nl							
nl	nl	nl	nl	nl	sim	não	sim	sim	nl							
nl	nl	nl	nl	nl	sim	sim	sim	não	nl		114	93	77	66	SIM	
sim	nl	nl	sim	nl	nl	não	não	não	nl							
sim	sim	nl	sim	nl	sim	sim	não	não	nl							
sim	nl	nl	nl	nl	nl	não	sim	não	nl							
nl	sim	nl	nl	nl	sim	não	não	não	nl		100	87	75	51	NÃO	
nl	sim	nl	sim	nl	sim	sim	não	não	nl							
sim	sim	nl	sim	nl	sim	sim	não	não	HP leve		105	62	56	22	SIM	
nl	sim	sim	nl	nl	sim	não	sim	sim	nl							
nl	sim	nl	nl	sim	sim	sim	sim	sim			52	41	75	27	NÃO	DF508
nl	nl	nl	nl	nl	sim	sim	não	não								
sim	sim	nl	sim	nl	nl	não	n	não	HP leve							
nl	sim	nl	nl	sim	sim	sim	sim	não	HP leve		80	66	78	41	NÃO	
nl	sim	nl	nl	nl	sim	sim	sim	não	nl		65	41	59	17	NÃO	
nl	sim	nl	nl	nl	sim	não	não	não	nl							
nl	sim	sim	sim	nl	sim	sim	sim	não	nl		110	75	64	41	NÃO	
sim	sim	nl	nl	sim	sim	sim	sim	sim	nl		126	79	61	31	NÃO	G542X
nl	nl	sim	nl	nl	sim	sim	não	não	HP leve		104	77	75	53	NÃO	
nl	sim	nl	sim	nl	sim	não	sim	não	nl		77	54	64	23	NÃO	
sim	sim	sim	sim	nl	sim	sim	sim	sim	nl		70	61	82	55	NÃO	
nl	sim	sim	nl	nl	sim	sim	sim	não	nl		83	77	75	47	NÃO	
nl	sim	nl	nl	nl	sim	sim	não	não	HP leve		83	73	86	72	NÃO	
nl	sim	nl	sim	nl	sim	sim	não	não			68	72	90	73	NÃO	
sim	sim	nl	nl	nl	sim	sim	não	sim			88	64	65	52	NÃO	
nl	nl	nl	nl	nl	sim	não	não	não			63	45	68	45	NÃO	
nl	nl	sim	sim	nl	sim	sim	sim	não			94	63	60	25	NÃO	
nl	sim	nl	nl	nl	sim	sim	não	não	nl		98	64	59	27	SIM	DF508
nl	nl	sim	nl	nl	sim	sim	sim	não	nl		74	40	55	18	NÃO	
nl	sim	nl	sim	nl	sim	não	não	não	nl							
nl	sim	nl	nl	sim	sim	sim	sim	não								DF508
nl	sim	nl	sim	nl	sim	sim	sim	não	HP leve		81	46	51	14	NÃO	
nl	sim	sim	nl	sim	sim	sim	sim	não	nl							
nl	sim	sim	nl	nl	sim	sim	sim	não								
nl	sim	nl	sim	nl	sim	nl	sim	não								
sim	sim	nl	sim	nl	sim	sim	sim	sim	nl							
nl	sim	nl	sim	nl	sim	sim	sim	não								
nl	sim	nl	nl	nl	nl	não	não	não								
sim	sim	sim	sim	nl	nl	não	não	não								
sim	sim	nl	nl	nl	sim	não	não	não								

Alt perfusão= alteração perfusão; Alt volume= Alteração volume; Compr bronq= comprometimento brônquico; Bronquiec= bronquiectasias; VEF1= Volume expiratório forçado no primeiro segundo
CVF= Capacidade vital forçada; FEF 25-75%= Fluxo espiratório forçado entre 25 e 75% da capacidade vital; BD= broncodilatador; MUT. *CFTR* = mutação gene *CFTR*