

ROBERTO NOGUEIRA BOSCARDIN

O LAVADO BRONCOALVEOLAR NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE PULMONAR

Tese apresentada na conclusão do Curso
de Pós-Graduação em Medicina Interna,
em nível de Mestrado, pela Universida-
de Federal do Paraná.

CURITIBA

1 9 8 4

Dedico esta tese:

à minha esposa Lourencita e a meu filho que está por chegar;

ao Dr. Andrew Douglas, médico consultante do Departamento de Medicina da Universidade de Edimburgo/Escócia, que me recebeu, ajudou e estimulou, quando de minha estada em seu serviço.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. André Kajdacsy Balla, pesquisador nato, orientador desta tese, pelo apoio, estímulo e orientação recebidos.

Ao Dr. Hélio Brandão e funcionárias Irmã Elsa Nova, Irmã Lúcia Giacobbo e Sra. Elsa Cecília Crispilho, do serviço de endoscopia per-oral do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, pela realização das fibrobroncoscopias de nossos pacientes.

Ao Dr. Francisco Boscardim Netto, ex-diretor do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, a quem muito devemos de nossa formação científica.

Ao Dr. Odair de Floro Martins, atual diretor do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, pelo seu incentivo à pesquisa em nosso meio.

Ao corpo clínico do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, pela seleção e encaminhamento dos pacientes aqui estudados.

Ao Dr. Eurípedes Ferreira e suas bioquímicas Luíza Guilherme e Lorita Rebelatto, do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio no estudo de nosso material em seu laboratório.

Ao Dr. Valdir de Paula Furtado, Dr. Ricardo Pasquini e bioquímica Valderez Ravaglio Jamur, do Laboratório de Análises Clínicas da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba, pelo auxílio na interpretação de nosso material.

Ao Dr. José Fillus Neto, da disciplina de Patologia Geral da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio nas técnicas de coloração e documentação fotográfica de nosso material.

Ao Dr. Flávio Telles, da disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal do Paraná, pelas sugestões valiosas com relação ao nosso trabalho.

À Dra. Elisa Hacbarth e bióloga Kátia Döhler, do Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio nas técnicas de laboratório e estocagem do nosso material.

Ao Dr. Dirceu Rodrigues Dalledone, médico-radiologista do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, pela revisão da radiologia de nossos pacientes.

Ao Dr. Maurílio José Pinto, mestrando de Cardiologia da Universidade Federal do Paraná, pelas traduções que se fizeram necessárias de nosso levantamento bibliográfico.

Ao Dr. Paulo Roberto Marquetti, da disciplina de Cardiologia da Universidade Federal do Paraná, pela ajuda no preparo dos gráficos e ilustrações de nossa apresentação.

À Sr.^{ta} Suzana Guimarães Castilho, e suas auxiliares Marilene Cruz de Melo e Ruth Lobo dos Santos, da biblioteca do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pa-

ranã, pelo auxílio no levantamento bibliográfico necessário para a nossa pesquisa.

Ao Dr. Ênio Rogacheski, do Serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela revisão do texto.

Ao Dr. Neil Ferreira Novo, da Escola Paulista de Medicina, pelo estudo estatístico de nossa casuística; meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS	viii
	LISTA DE FIGURAS	ix
	LISTA DE ABREVIATURAS	x
	RESUMO	xi
	SUMMARY	xiii
I	<u>INTRODUÇÃO</u>	1
1	HISTÓRICO	2
2	CITOLOGIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR	3
2.1	Macrófago	3
2.2	Linfócito	4
2.3	Neutrófilo	5
2.4	Eosinófilo	6
3	O ESTUDO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR NAS DOENÇAS PULMONARES	6
4	PARACOCCIDIOIDOMICOSE	10
II	<u>PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS</u>	12
1	GRUPO DE PACIENTES	13
2	GRUPO DE CONTROLES	14
3	LAVADO BRONCOALVEOLAR	15
4	ESTUDO CITOLÓGICO	16

III	<u>CASUÍSTICA</u>	18
IV	<u>RESULTADOS</u>	25
1	GRUPO DE PACIENTES	26
2	GRUPO DE CONTROLES	27
3	MÉTODOS ESTATÍSTICOS	28
V	<u>DISCUSSÃO</u>	29
VI	<u>CONCLUSÕES</u>	38
VII	<u>TABELAS</u>	40
VIII	<u>MATERIAL FOTOGRÁFICO</u>	52
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE TABELAS

1	Dados da anamnese do grupo de pacientes	41
2	Dados da anamnese do grupo de controles	42
3	Topografia pulmonar e volume do LBA no grupo de pacientes	43
4	Topografia pulmonar e volume do LBA no grupo de controles	44
5	Contagem diferencial celular do LBA no grupo de pacientes	45
6	Contagem diferencial celular do LBA no grupo de controles	46
7	Hemograma com leucograma do grupo de pacientes	47
8	Hemograma com leucograma do grupo de controles	48
9	Padrão radiológico pulmonar do grupo de pacientes	49
10	Tipo de comprometimento da paracoccidioidomicose no grupo de pacientes	50
11	Diagnósticos do grupo de controles	51

LISTA DE FIGURAS

1	População celular no lavado broncoalveolar normal, com grande predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 100 X	53
2	População celular no lavado broncoalveolar de paciente com paracoccidioidomicose pulmonar, com grande predominância de neutrófilos, ao aumento de 100 X	53
3	População celular no lavado broncoalveolar normal, com grande predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 400 X	54
4	População celular no lavado broncoalveolar de paciente com paracoccidioidomicose pulmonar, com grande predominância de neutrófilos e evidência de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> em gemulação múltipla no citoplasma de um macrófago alveolar, ao aumento de 400 X	54
5	População celular no lavado broncoalveolar normal, com predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 1.000 X	55
6	População celular no lavado broncoalveolar de pacientes com paracoccidioidomicose pulmonar, com predominância de neutrófilos, ao aumento de 1.000 X	55

LISTA DE ABREVIATURAS

BAAR: Bacilo álcool-ácido resistente

FIP: Fibrose idiopática pulmonar

ICC: Imuno-complexos circulantes

LBA: Lavado broncoalveolar

PCD: Pneumonia crônica descamativa

TB: Tuberculose

RESUMO

A citologia do lavado broncoalveolar de seis pacientes com paracoccidioidomicose pulmonar progressiva é comparada com o mesmo material obtido de seis pulmões normais de seis pacientes-controle.

Os dados clínicos dos pacientes, com ênfase para a radiologia e endoscopia pulmonares, são estudados. O diagnóstico foi confirmado através da pesquisa do *Paracoccidioides brasiliensis* no exame direto do escarro. O padrão radiológico que predominou foi o de lesão mista, principalmente do tipo intersticial/alveolar/pneumônico pulmonar. Apesar de serem pacientes com a forma pulmonar progressiva da paracoccidioidomicose, havia grande variação quanto à duração da doença.

A citologia diferencial do lavado broncoalveolar na paracoccidioidomicose pulmonar progressiva demonstrou uma alveolite do tipo neutrofílica. A neutrofilia demonstrada ocorreu independente do tempo de evolução da paracoccidioidomicose, demonstrando ser esta alveolite de caráter crônico. A porcentagem de neutrófilos foi mais elevada na paracoccidioidomicose pulmonar do que nas demais alveolites neutrofílicas relatadas na literatura, evidenciando ser esta alveolite de alta densidade.

O grande componente de fibrose cicatricial pulmonar da paracoccidioidomicose pulmonar progressiva provavelmente seja atribuído à atividade enzimática de neutrófilos, à semelhança da fibrose idiopática pulmonar.

As dificuldades de implantação desta nova técnica são levantadas, tanto na colheita do material, como no seu preparo e interpretação. O lavado broncoalveolar demonstrou ser método alternativo para a identificação de fungos, em comparação com o exame direto do escarro.

SUMMARY

Bronchoalveolar fluid cytology from six progressive pulmonary paracoccidioidomycotic patients is compared with the same material from six normal controls.

Clinical data of patients was studied, with emphasis to radiologic and endoscopic pulmonary findings. Diagnosis was made with demonstration of *Paracoccidioides brasiliensis* in the direct smear of sputum. The most common pulmonary radiologic pattern found was that of mixed lesions, specially the interstitial/alveolar/pneumonic type. Although all patients studied had the progressive form of paracoccidioidomycosis, there was great variation in the stage of evolution of the disease.

Bronchoalveolar fluid differential cytology in progressive pulmonary paracoccidioidomycosis showed an alveolitis of neutrophilic pattern. This neutrophilic alveolitis was shown to be independent of the duration of the paracoccidioidomycosis, demonstrating to be an alveolitis of chronic pattern. The percentage of neutrophils in paracoccidioidomycotic alveolitis was higher than in other neutrophilic alveolitis, demonstrating that this alveolitis has a high intensity.

The great component of pulmonary scarring fibrosis that that develops in progressive pulmonary paracoccidioido-

mycosis is probably a consequence of neutrophilic enzymatic activity, as it is in pulmonary idiopathic fibrosis.

The problems of starting this new research method are emphasized, specially with bronchoalveolar fluid sampling, preparation and interpretation. Bronchoalveolar fluid demonstrated to be an alternative method of fungal identification in comparison with the direct smear of sputum.

I - INTRODUÇÃO

1 HISTÓRICO

A primeira linha de defesa pulmonar, representada por uma barreira de células ao nível do epitélio alveolar, até cerca de 20 anos atrás permanecia praticamente inacessível aos métodos de pesquisa. Sabia-se de sua existência, quer indiretamente através do estudo destas células marcadas com radioisótopos (62, 49), quer diretamente através do estudo histológico dos pulmões (48, 41).

Em 1961, MYRVIK e col. (73) pela primeira vez descreveram a técnica da colheita dessas células através da lavagem das porções mais distais da árvore respiratória de coelhos, com soluções salinas, método denominado de lavagem broncoalveolar.

Esta técnica já havia sido utilizada muito tempo antes com indicações outras, e com grande risco de alterações da função respiratória dos pacientes. Foi GREEN, em 1847 (*apud* 79), quem pela primeira vez descreveu o método, que não fora aceito, tendo em vista o grande risco de complicações que poderiam advir do seu uso. Mais tarde, já em 1922 (*apud* 9), o método foi utilizado na Universidade de Yale (EUA), no manejo de intoxicações por fosgênio. SALISBURG e col., em 1959 (89), tentaram utilizar o método para a diálise de doentes com insuficiência renal. RAMIREZ e col. (80), em 1963, trataram de pacientes acometidos por proteinose alveolar, através de grandes lavagens sob anestesia geral, via transtraqueal,

com o cateter sendo impulsionado dentro do brônquio segmentar sob controle radioscópico. KYLSTRA e col., em 1967 (53), utilizaram o método para desobstruir a árvore brônquica na asma.

VOISIN e col., em 1964 (98) em cobaias, bem como KEIMOWITZ (52), no mesmo ano em seres humanos, foram os que se seguiram nessa década utilizando o método para a obtenção das células alveolares, como também FINLEY e col. em 1967 (30) em humanos. O material colhido era bastante rico, mas o método era traumático, porque as lavagens broncoalveolares eram realizadas através de broncoscópios rígidos e com a ajuda de cateteres.

Após o advento do broncoscópio de fibra óptica, desenvolvido por IKEDA em 1969 (*apud* 75), houve uma grande evolução dos estudos dessa população celular, tendo as suas características sido facilmente determinadas nos indivíduos normais (44, 16). Os estudos do material colhido de várias regiões dos pulmões evidenciaram as mesmas características, isto é, o lavado broncoalveolar (LBA) de apenas um segmento pulmonar trazia células que refletiam os acontecimentos fisiopatológicos dos pulmões como um todo (99). Em indivíduos normais, com a infusão de 100 ml de solução salina, lavavam-se aproximadamente 10^6 alvéolos, com a obtenção em média de 150×10^3 células/ml de LBA (17).

2 CITOLOGIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR

2.1 Macrófago

A grande maioria das células em alvéolos normais é representada pelos macrófagos alveolares (MA), numa propor-

ção média de 90% (44). Estas células têm a sua origem a partir dos monócitos da medula óssea (10, 6, 87), vindo a se diferenciar nesta célula fagocítica apenas na intimidade dos órgãos. Com o início das técnicas de transplantes, alguns estudos em cobaios demonstraram que os MA poderiam subdividir-se e multiplicar nos pulmões, dependendo das necessidades locais de sua atividade (38).

Progressivamente, ficou demonstrado serem células que, além da atividade fagocítica, participavam ativamente dos fenômenos imunológicos com outras células imunoefetoras (46, 39, 96). Além disso, poderiam ser estimuladas por várias substâncias, dentre as quais as linfocinas (46, 38). Receptores de superfície Fc para imunoglobulinas ou para frações do complemento foram neles identificados (67). Também se demonstrou sua capacidade de secretar inúmeras substâncias capazes de ampliar a resposta imunológica frente a uma agressão local (43, 11, 77).

2.2 Linfócito

A população de linfócitos em alvéolos normais tem uma proporção média de 10% (44). Destes, também foi possível a sua caracterização em linfócitos T e B através de marcadores de membrana, estudando-se a sua participação nos eventos patológicos ao nível alveolar (18).

Ficou demonstrado serem células que poderiam ser ativadas ao nível pulmonar, bem como participavam da resposta celular local, ou eram capazes de secretar uma série de substâncias frente a estímulos locais (18). Na medida em que au-

mentava a sua proporção ao nível de alvéolos, demonstrava-se a sua participação ativa nas respostas imunológicas e ampliação dos mecanismos inflamatórios em cada doença (44,17). A caracterização dos linfócitos supressores e auxiliadores também foi possível de ser estudada através do LBA (22, 47, 18). No caso da sarcoidose, demonstrou-se um fenômeno de *compartmentalização* dos linfócitos ao nível dos pulmões, como que numa tentativa de bloquear algum estímulo desconhecido que se desencadeou a esse nível (22, 47, 18).

2.3 Neutrófilo

A população de neutrófilos em alvéolos normais tem uma proporção média de 1% (44, 17). São células de alta capacidade fagocítica, que respondem a estímulos quimiotáticos ao nível de alvéolos para o seu afluxo local, e liberam substâncias proteolíticas capazes de destruir tecidos, representadas pela elastase, colagenase e proteases neutras (44, 21).

Sabe-se que, na vigência de infecções agudas, participando da resposta local inespecífica, o grande afluxo de neutrófilos tem importância fundamental na defesa pulmonar inicial, de modo que muitas vezes os mecanismos de resposta imunológica nem são desencadeados, tal a eficácia destas células em defender o organismo contra agressões locais (100). Entretanto, quando o seu número está muito aumentado, as proteases liberadas podem causar grande dano ao colágeno e epitélio alveolares, destruindo-os e transformando-os gradativamente em tecido cicatricial desarranjado, conseqüentemente levando à fibrose e enfisema pulmonar a longo prazo (50).

2.4 Eosinófilo

A população de células restante no alvéolo pulmonar é representada pelos eosinófilos, numa proporção média de 1% (44). Entretanto, nas eventualidades do aumento do seu afluxo local, sabe-se terem também a capacidade de participar da defesa pulmonar, através da secreção de enzimas proteolíticas, que, à semelhança dos neutrófilos e MA, ampliam o grau de destruição local na vigência de doença (23, 24). Também na eventualidade de respostas alérgicas humorais, sabe-se que os eosinófilos são atraídos pela histamina localmente, estando presentes em grande quantidade em situações como a asma brônquica extrínseca (7).

3 O ESTUDO DO LAVADO BRONCOALVEOLAR NAS DOENÇAS PULMONARES

As doenças pulmonares inicialmente estudadas através do LBA foram as intersticiais difusas, representadas pela fibrose idiopática pulmonar (FIP) e a pneumonia crônica desquamativa (PCD) (85). Rapidamente, concluiu-se que a interpretação citológica do LBA não se prestava somente para o auxílio diagnóstico, mas trazia subsídios para o seu estadiamento, prognóstico e resposta terapêutica (44, 17, 85). Até então, a única maneira de estadiar as doenças intersticiais pulmonares era através da biópsia pulmonar, método agressivo, de difícil aceitação quando necessária a sua repetição (48, 41).

Com os conhecimentos obtidos através da citologia do LBA, ficou patente que o seu percentual e o seu estado atual espelhavam os acontecimentos fisiopatológicos ao nível de alvéolos (21). Quando as células obtidas através do LBA foram comparadas com a histologia de material de biópsia pulmonar em pacientes com FIP, observou-se excelente concordância entre os resultados obtidos (20, 41). Mais tarde, gradativamente foram incluídas em estudos com o LBA a histiocitose X, a sarcoidose, as collagenoses, as neoplasias e as doenças infecciosas. Na atualidade, as doenças pulmonares que estão sendo estudadas através do LBA estão subdivididas nos seguintes grupos (7, 44):

a) Doenças intersticiais: representadas pela FIP, PCD, as collagenoses e a sarcoidose.

b) Doenças infecciosas: representadas pela tuberculose e, principalmente, por infecções oportunistas, como é o caso das pneumonias por *Pneumocysti carinii*, *Aspergillus fumigatus* e *Cytomegalovirus*.

c) Doenças neoplásicas: representadas por aquelas neoplasias que fazem comprometimento alveolar, como é o caso dos linfomas e do carcinoma de células alveolares.

d) Doenças destrutivas: representadas principalmente pelo enfisema pulmonar secundário ao tabagismo.

e) Doenças iatrogênicas: representadas por aquelas pneumonias secundárias a drogas, como é o caso do metotrexate, silicone, etc.

Tendo como base a contagem diferencial celular do LBA destas várias doenças pulmonares, elas foram classificadas, de acordo com o seu padrão de alveolite, como se segue (7):

a) Alveolite neutrofílica: a doença que está mais implicada na atualidade com este tipo de alveolite é a FIP (17). Os estudos do LBA nesta doença têm evidenciado, entretanto, que a célula que tem maior implicação na sua gênese é o MA (17). Já foi demonstrado que, entre outros mecanismos, o MA, uma vez ativado nesta doença, secreta substância quimiotática para neutrófilos (17). Esta seria uma das razões pela qual o percentual dos neutrófilos está bastante elevado no LBA desta doença (em média de 20%) (17, 43). A grande população de neutrófilos conseqüentemente libera uma grande quantidade de enzimas proteolíticas, bem como produtos oxidativos como o peróxido de hidrogênio e ânion superóxido, que causam grande dano para o colágeno e epitélio alveolares, acarretando fibrose pulmonar progressiva (44, 17, 21).

Além da FIP, apenas infecções pulmonares agudas cursam com tal proporção de neutrófilos (95), sendo estes responsáveis pela resposta imunológica local inespecífica e desaparecendo na medida em que o agente causador é eliminado.

b) Alveolite linfocítica: neste tipo de alveolite tem-se como exemplo maior a sarcoidose. Nesta doença, demonstrou-se uma população celular elevada de linfócitos no LBA, em média de 40% (22, 47, 18). Mais tarde também se evidenciou uma linfopenia no sangue periférico, caracterizando-se um gradiente de linfocitose com direção aos pulmões (18). Além dis-

so, demonstrou-se que a maioria dos linfócitos que existiam ao nível pulmonar era do tipo T auxiliares, sendo que a predominância dos linfócitos do sangue periférico era do tipo T supressores (18). A interpretação atual destes achados é de que esta doença cursa com um desencadeamento da ativação dos linfócitos T pulmonares por estímulo desconhecido, e que, por falta de T supressores locais, se mantém indefinidamente em atividade, desta maneira lesando progressivamente os alvéolos pulmonares (18).

Outra doença intersticial pulmonar que tem sido estudada é o PCD, exemplo de alveolite linfocítica, caráter que a diferencia da FIP (85). Também a tuberculose se manifesta no pulmão através de uma alveolite linfocítica, apesar de que esse tipo de estudo em tuberculose tem sido contraindicado pelo risco de disseminação da doença (7, 60).

c) Alveolite eosinofílica: esta alveolite é caracterizada pelo aumento da população de eosinófilos nos alvéolos, numa média de 40% (7), podendo atingir cifras maiores, principalmente nos eventos de natureza alérgica, representados pela asma brônquica extrínseca.

Também as alveolites alérgicas extrínsecas podem fazer elevação da população de eosinófilos nos pulmões (7). A histiocitose X, quando com grande população de células no LBA, pode também determinar aumentos proporcionais dos eosinófilos, se bem que não na mesma proporção que as doenças de fundo alérgico (7).

4 PARACOCCIDIOIDOMICOSE

A paracoccidiodomicose é uma micose profunda sistêmica, na maioria das vezes adquirida via inalatória (71, 61). Foi pela primeira vez descrita por LUTZ em 1908 (68) (apud 55), sendo que SPLENDORE em 1912 classificou o seu fungo causador no gênero *Zymonema brasiliense* (94). Mais tarde, já em 1930, ALMEIDA (4) reclassificou o fungo causador como sendo do gênero *Paracoccidioides brasiliensis*, termo que ficou consagrado na literatura.

É uma micose profunda de grande incidência na América Latina, de uma maneira preferencial em nosso país (63), onde até a atualidade causa grande dano pulmonar, sendo muitas vezes confundida com a tuberculose, ou associando-se à mesma no comprometimento pulmonar (40, 28, 6a). Acomete principalmente indivíduos da raça branca, adultos jovens, na maioria das vezes do sexo masculino (6a, 91a).

É uma doença anergizante, que envolve também o sistema humoral (76, 74). Estudos imunológicos desta doença têm demonstrado que linfócitos T estão com função deprimida, e os linfócitos B, hiperativados. Isto foi possível com o desenvolvimento da pesquisa *in vitro* dos linfócitos T, bem como da comprovação da produção de grande quantidade de anticorpos nas fases mais agudas de sua evolução (84, 54). Imuno-complexos circulantes (ICC) já foram demonstrados nesta doença (15).

Entretanto, não existe até a atualidade estudo da dinâmica de funcionamento deste sistema imunoeletor celular ao nível de alvéolos pulmonares. Os estudos das células envol-

vidas no processo de inflamação pulmonar resumem-se aos de natureza anatomopatológica (28, 29, 32). Sabe-se que esta doença é adquirida através da inalação de fungos, que penetram na árvore respiratória e determinam uma extensa bronco-alveolite crônica (71, 29). A partir daí, a doença se dissemina, tanto através da via linfática, como através da via hematogênica, para o resto do organismo.

Carecem de explicação os mecanismos pelos quais o sistema imunoefetor celular alveolar tenta bloquear a invasão pelo fungo, e é por ele sobrepujado. Com o LBA, pretendemos contribuir para o entendimento dos mecanismos de inflamação e reparo existentes ao nível alveolar na paracoccidioidomicose progressiva (66), estudando-lhe o tipo e grau de alveolite.

II - PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS

1 GRUPO DE PACIENTES

Seis pacientes portadores de paracoccidioidomicose pulmonar progressiva (classificação clínica de LONDERO e col. (66)), diagnosticados através da presença do fungo no escarro (69), foram estudados. Todos eles apresentavam micose pulmonar em atividade, e não vinham fazendo uso de drogas fungistáticas ou fungicidas no momento de sua internação.

Exceto pelo caso 3, que estava sendo tratado de miocardiopatia hipertensiva, nenhuma outra doença associada foi encontrada.

De todos, pôde-se detectar, além do comprometimento pulmonar da paracoccidioidomicose, respectivamente os casos 1 e 6 com acometimento cutâneo, o caso 2 com forma ganglionar e comprometimento de orofaringe e o caso 5 com suspeita de insuficiência de supra-renais (Tabela 10).

Do ponto de vista radiológico pulmonar, todos os pacientes apresentavam-se com comprometimento misto, sendo que a lesão que predominou foi a intersticial/alveolar/pneumônica pulmonar. Além disso, no caso 4 houve associação com lesão cavitária e no caso 5, associação com lesão fibrótica. Nos outros, a lesão associada que predominou foi a alveolar pulmonar (Tabela 9).

Além dos dados clínicos e do exame físico, os pacientes tiveram estudados o seu hemograma e o seu eletrocardiograma em preparação para a broncoscopia (Tabela 7).

Estes pacientes foram todos estudados nas enfermarias do Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão, hospital da Fundação Hospitalar do Paraná, órgão do Secretaria de Saúde e Bem-Estar Social do Estado do Paraná.

2 GRUPO DE CONTROLES

Seis pacientes internados em investigação de doença pulmonar foram estudados. Dentre estes, apenas o caso 7 teve diagnosticada tuberculose apical pulmonar isolada. Nos demais, afastaram-se todas as possibilidades de doença pulmonar através do exame clínico, radiologia de tórax e broncoscopia.

Os diagnósticos deste grupo de controles foram, respectivamente, de: caso 7 com tuberculose apical pulmonar esquerda, caso 8 em investigação de emagrecimento, caso 9 com infecção urinária e diabetes melito, caso 10 com tuberculose peritoneal, caso 11 com tuberculose óssea e o caso 12 com tuberculose pleural (Tabela 11).

Todos os pacientes, com assentimento prévio, submeteram-se à rotina do preparo e posterior broncoscopia com o LBA. Afora os casos 7 e 12, todos tiveram demonstrada radiologia de tórax completamente normal. Além dos dados clínicos e do exame físico, os pacientes tiveram estudados o seu hemograma e o seu eletrocardiograma, em preparação para a broncoscopia (Tabela 8).

3 LAVADO BRONCOALVEOLAR

As broncoscopias foram realizadas com o fibrobroncoscópio marca Olympus, modelo BFT 5B2 (Olympus Corporation of America, New York, EUA).

Pela manhã, após jejum de 6 h, era administrado 1 ml de medicação pré-anestésica de 600 mg de morfina endovenosamente.

Após preparo psíquico do paciente, era feita a anestesia tópica de orofaringe e laringe com solução a 2% de neotutocaína, numa dose média de 5 ml, para início da broncoscopia via nasal.

Em seguida, era feita inspeção de orofaringe e árvore brônquica alta, fixando-se o fibrobroncoscópio ao nível de brônquio segmentar, através do qual era feita a lavagem broncoalveolar.

De preferência, o lobo lavado foi o inferior direito por suas características anatômicas, sendo que, no caso do grupo de pacientes, procurou-se lavar o lobo mais comprometido pela doença, de modo a coletar o material mais representativo das alterações alveolares. Eram injetadas quatro alíquotas de 25 ml de solução salina isotônica, num total de 100 ml, que eram aspiradas logo após a sua infusão e coletadas em um frasco especial. Ressalte-se que, previamente ao LBA, era feita uma inspeção da árvore respiratória e aspiração do seu conteúdo, que era coletado em frasco em separado, de modo a não contaminar o LBA posteriormente. Logo após o término do procedimento era retirado o fibrobroncoscópio e o paciente era colocado em repouso sob observação.

4 ESTUDO CITOLÓGICO

O LBA era filtrado inicialmente em uma camada de gaze esterilizada, de modo a retirar eventuais grumos de muco que pudessem existir, e tinha então o seu volume medido. Este material era dividido em três alíquotas, respectivamente para estudo citológico, de proteínas e contagem diferencial de células, sendo que no caso das proteínas era usado o anti-coagulante EDTA.

Após centrifugação do material em centrífuga refrigerada a 4°C por 20 minutos a 1.500 x G, coletava-se o sobrenadante, que era estocado em geladeira a -70°C. O botão de células restante era ressuspenso em solução tampão de Hanks para citologia diferencial.

Para preparar esta lâmina, usava-se esta solução com uma concentração de aproximadamente 100×10^3 células/ml, que era colocada em citocentrífuga CYTOSPIN 2 (Shandon Southern Products Ltd., Asmoor, Reino Unido) a 300 x G por 5 minutos. O esfregaço era então corado pelo método de May Grünwald-Giemsa, para a contagem das células em microscópio com objetiva de imersão, sendo contadas 300 células. Usou-se como alternativa para a citocentrífuga câmaras de Suta, nas quais o material era colocado e permanecia por 24 h e, assim, depositavam-se as células por gravidade. Os dois métodos comparados mostraram igual rendimento, afora a habitual demora no preparo da lâmina pelo último.

O material para citologia diferencial em coloração de Papanicolaou era centrifugado a 900 x G durante 20 minutos,

sendo que o botão de células era fixado em lâmina de acordo com a técnica de PAPANICOLAOU (78).

Concomitantemente ao LBA, colheu-se o sangue periférico de todos os pacientes para a contagem diferencial dos leucócitos, bem como para o armazenamento de soro e plasma a -70°C para estudos posteriores. Todo o estudo do LBA aqui referido foi realizado no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

III - CASUÍSTICA

GRUPO DE PACIENTES (Tabela 1)

Caso 1

Registro 5.643 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

PJ, 45 anos, masculino, branco, natural de Irapê-SP e morador em Colombo-PR, servente de pedreiro, tabagista de 20 cigarros/dia.

Assintomático respiratório, sem antecedentes mórbitos pessoais, veio encaminhado por achado de radiografia de tórax alterada.

Exame físico com lesão ulcerada de face, e demais segmentos sem particularidades.

RX de tórax com lesão mista intersticial/alveolar/pneumônica pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

Caso 2

Registro 5.771 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

RJ, 36 anos, masculino, branco, natural de Papanduva-SC e morador em Mafra-SC, caldeirista, tabagista de 20 cigarros/dia.

Assintomático respiratório, com emagrecimento discreto e tosse sem expectoração, com evolução de 30 dias, com posterior aumento de volume do pescoço.

Exame físico com ausculta pulmonar normal, evidência de adenomegalias cervicais e submandibulares, de consistência firme, agrupadas, e lesão ulcerada de mucosa oral.

RX de tórax com lesão mista alveolar/pneumônica pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

Caso 3

Registro 5.808 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

AJ, 61 anos, masculino, branco, natural de Porto União-SC e morador em Coronel Vivida-PR, motorista, tabagista de 40 cigarros/dia.

Dispneia progressiva e tosse com expectoração escassa esbranquiçada, com evolução de 4 meses, antecedentes de miocardiopatia hipertensiva em tratamento.

Exame físico com estertores de finas bolhas e sibilos esparsos bilateralmente em ambos os hemitóraces.

RX de tórax com lesão mista intersticial/alveolar pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

Caso 4

Registro 6.093 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

JRH, 38 anos, masculino, branco, natural de Nova Trentim-SC e morador em Colombo-PR, lavrador, tabagista de 30 cigarros/dia.

Dispneia progressiva de início há 3 meses, acompanhada de tosse seca irritativa e emagrecimento de 10 kg, nesse período.

Exame físico com estertores de finas bolhas e subcrepitanes em ambos os hemitóraces.

RX de tórax com lesão mista alveolar/pneumônica/cavitária pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

Caso 5

Registro 6.181 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

BS, 46 anos, masculino, branco, natural de Iraí-RS e morador em Toledo-PR, carpinteiro, tabagista de 10 cigarros/dia.

Veio encaminhado com dispnéia importante, de evolução de mais de 3 anos, concomitantemente com emagrecimento discreto. Já vinha fazendo tratamento de paracoccidioidomicose pulmonar com anfotericina B desde longa data, mas com intolerância medicamentosa.

Ao exame físico, raros estertores de finas bolhas em ápices pulmonares, com diminuição importante do murmúrio vesicular em bases pulmonares. Pulso filiforme, com PA de 90 x 60 mmHg.

RX de tórax com lesão mista intersticial/fibrótica pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

Caso 6

Registro 6.353 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

FJ, 43 anos, masculino, branco, natural de Campos Novos-SP e morador em Altônia-PR, lavrador, não-tabagista.

Veio encaminhado de outro hospital para investigação de pneumopatia intersticial e relatava dispnéia discreta de início há 2 meses e aparecimento de lesões ulceradas de pele.

Exame físico com ausculta pulmonar normal, lesão ulcerada em face e região glútea.

RX de tórax com lesão mista intersticial/pneumônica/alveolar pulmonar e presença de *P. brasiliensis* no escarro.

GRUPO DE CONTROLES (Tabela 2)

Caso 7

Registro 5.978 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

JLR, 19 anos, masculino, branco, natural e morador em Curitiba-PR, contínuo, não-tabagista.

Assintomático respiratório, veio encaminhado ao hospital para investigação de lesão pulmonar detectada em RX de tórax de rotina.

Exame físico completamente normal.

RX de tórax com lesão apical pulmonar esquerda do tipo exsudativa, e presença de BAAR no escarro.

Caso 8

Registro 6.051 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

OSA, 49 anos, masculino, branco, natural e morador em Curitiba-PR, funcionário público, tabagista de 20 cigarros/dia.

Veio encaminhado ao hospital por quadro clínico de emagrecimento acentuado, de cerca de 10 kg/2 meses, sem outros sintomas.

Exame físico sem particularidades.

RX de tórax com pulmões normais.

Caso 9

Registro 6.288 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

FRMA, 23 anos, feminina, branca, natural e moradora em Curitiba-PR, do lar, tabagista de 10 cigarros/dia.

Assintomática respiratória, diabética tipo juvenil, fazendo uso de insulina subcutânea a longo prazo, veio encaminhada ao hospital com sintomas urinários e suspeita de infecção pulmonar.

Exame físico sem particularidades.

RX de tórax com pulmões normais.

Caso 10

Registro 6.190 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

CSJ, 22 anos, masculino, branco, natural de Rio Branco do Sul-PR e morador em Curitiba-PR, cobrador de ônibus, veio encaminhado com o diagnóstico de tuberculose peritoneal, relatando ascite de longa evolução, cujo diagnóstico foi confirmado por biópsia de peritônio.

Exame físico sem particularidades, afora cicatriz cirúrgica abdominal supra-umbilical.

RX de tórax com pulmões normais.

Caso 11

Registro 6.311 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

FAA, 15 anos, feminina, negra, natural e moradora em Jacarezinho-PR, lavradora, não-tabagista.

Assintomática respiratória, veio encaminhada ao hospital com o diagnóstico de tuberculose óssea vertebral, com evolução de 3 meses.

Exame físico sem particularidades.

RX de tórax com pulmões normais.

Caso 12

Registro 6.500 (Sanatório Médico-Cirúrgico do Portão).

RCRM, 38 anos, feminina, branca, natural de Reserva-PR e moradora em Ponta Grossa-PR, do lar, não-tabagista.

Assintomática respiratória, veio encaminhada ao hospital com o diagnóstico de pleurite tuberculosa em tratamento com drogas de 1ª linha e com antecedentes de intolerância medicamentosa.

Exame físico sem particularidades, afora discreta diminuição do murmúrio vesicular em base de hemitórax direito.

RX de tórax com discreto apagamento de seio costofrênico em hemitórax direito.

IV - RESULTADOS

1 GRUPO DE PACIENTES

Seis LBA em seis pulmões de seis pacientes com paracoccidioidomicose progressiva foram obtidos. Procurou-se fazer o LBA na região mais comprometida pela doença, tomando como parâmetro a radiologia de tórax. Lavou-se o segmento basal posterior do lobo inferior direito pulmonar dos casos 1, 3 e 6, o segmento basal posterior do lobo inferior esquerdo pulmonar dos casos 2 e 4, e o segmento basal medial do lobo inferior direito do caso 5 (Tabela 3).

Procurou-se padronizar a quantidade de 100 ml de solução salina para o LBA, pois com esta quantidade obtinha-se em média 60% do aspirado, volume suficiente para a realização dos exames citológicos desejados e armazenamento do material para estudo de proteínas. Nos casos 3, 4 e 6 utilizou-se 100 ml de solução salina; nos casos 1 e 2, cerca de 60 ml, e no caso 5, apenas 20 ml, pelo fato de o mesmo ter desenvolvido dificuldade respiratória (Tabela 3).

A contagem diferencial de células é o dado mais importante a ser avaliado. As células que normalmente estão em predominância no LBA, que são os MA, estiveram numa proporção de 2 a 31% (14% em média). Os neutrófilos, que normalmente existem no LBA num percentual muito pequeno, estiveram numa proporção de 57 a 95% (80% em média), evidenciando-se, portanto, uma grande neutrofilia. A proporção de linfócitos variou de 1 a 14% (5% em média) (Tabela 5). Não foram evi-

denciados eosinófilos em nosso material.

A técnica de Papanicolaou é mais adequada para a citologia esfoliativa, não se prestando para o estudo da população de células alveolares, onde predominam macrófagos, linfócitos e neutrófilos, que são células melhor estudadas através da coloração de May Grünwald-Giemsa. Apesar de termos utilizado ambos os métodos, os resultados expostos são os obtidos pelo último.

2 GRUPO DE CONTROLES

Seis LBA em seis pulmões normais de seis pacientes-controle foram obtidos. O único que era portador de pneumopatia, o caso 7, teve o seu pulmão contralateral lavado. Lavou-se o segmento basal posterior do lobo inferior direito pulmonar dos casos 9, 10 e 11, o segmento anterior do lobo superior direito pulmonar dos casos 7 e 8, e o segmento posterior do lobo superior direito pulmonar do caso 12 (Tabela 4). Infundiu-se em todos a quantidade de 100 ml de solução salina, com a recuperação de 60% deste material, em média (Tabela 4).

Quanto à contagem diferencial celular do material, foram os seguintes os resultados: a proporção de MA variou de 52 a 92% (79% em média). Com os neutrófilos, obtivemos proporções de 1 a 8% (5,5% em média). Os linfócitos variaram numa proporção de 6 a 39% (13,5% em média), sendo que encontramos apenas 2% de eosinófilos nos casos 9 e 10 e 1% no caso 12 (Tabela 6).

Salientamos aqui algumas dificuldades técnicas na realização do LBA: muitas vezes, tornava-se impossível evitar o muco, pois o LBA invariavelmente transita por 5 cm de mucosa brônquica segmentar. As tentativas de digestão do muco com substâncias como a tripsina acabavam por eliminar mecanicamente o mesmo, conseqüentemente eliminando também as células que estavam ali aderidas, bem como a população normal de células do LBA. O muco pode estar presente na lâmina e as células ao seu redor fazem parte da população celular que nos interessa.

Também se torna difícil evitar as hemácias no LBA, uma vez que a técnica da fibrobroncoscopia é cruenta, e a tentativa de evitá-las está no cuidado da cateterização do brônquio segmentar, sem muitas manobras que possam romper a mucosa brônquica. Devem-se também evitar técnicas de lise das hemácias após a coleta, pois estas acabam por alterar também as células alveolares que nos interessam.

3 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Devido ao número das amostras e por não ser possível satisfazer todas as suposições do modelo estatístico paramétrico, resolvemos utilizar testes não-paramétricos.

Para comparação de amostras independentes, foi utilizada a prova U de Mann-Whitney. O nível de significância pré-estabelecida foi de 0,05 ou 5%.

Resultados do Teste de Mann-Whitney:

U calculado: 0 ($p < 0,001$)
U crítico: 7,0

V - DISCUSSÃO

A demonstração do grande percentual de neutrofilia (80% em média) em nosso material foi, de certa maneira, paradoxal. Tendo como base os estudos do LBA em outras doenças granulomatosas como a sarcoidose, pneumonia crônica descamativa e tuberculose, observa-se que as três doenças cursam sempre com uma alveolite do tipo linfocítica, com maior ou menor grau de linfócitos, dependendo do tipo de enfermidade ou de sua intensidade. As três entidades, entretanto, em nenhum momento cursam com algum grau de neutrofilia, mesmo nas suas fases mais agudas, o que difere bastante dos achados na paracoccidioidomicose. Na literatura, somente as pneumonias em fases mais agudas cursam com tal grau de neutrofilia relativa (95). São poucos os autores que estudaram as micoses profundas através do LBA na literatura mundial, destacando-se apenas LENZINI e col. (60), que, num estudo de um grupo de pneumopatias, incluíram dois casos de aspergilose pulmonar, tendo também evidenciado nestes uma alveolite neutrofílica de alta intensidade.

É importante que se destaquem três aspectos da alveolite identificada em nosso material. O primeiro é o de que a alveolite caracterizada é do tipo neutrofílica. O segundo é o de que se trata de alveolite de alta intensidade, tomando-se por base o número de neutrófilos no LBA. O terceiro é o de que a alveolite é do tipo crônica, uma vez que os vários casos em fases evolutivas diferentes do início da doença cursaram sempre com neutrofilia importante e persistente. Outro

aspecto importante é o de que, justamente no paciente que já havia sido tratado (caso 5), evidenciou-se uma neutrofilia de menores proporções. Isto talvez signifique que a neutrofilia é diretamente proporcional à fase evolutiva da doença, apesar de que um número maior de casos deverá ser estudado, para que isto se confirme.

O granuloma da paracoccidioidomicose tem morfologia comum aos granulomas de outras micoses profundas. É um granuloma epitelióide, que pode ser compacto ou frouxo, e que, caracteristicamente, evolui para a necrose e supuração locais, com grande afluxo de neutrófilos (32). A presença de neutrófilos, além disso, é caracteristicamente importante nas fases inicial e final do granuloma (32, 14). Na fase inicial, principalmente nas primeiras 36 h, a neutrofilia toma conta da reação local (32). Nos estudos experimentais em camundongos tem-se evidenciado uma intensa alveolite inespecífica pulmonar, que vai até o 15º dia de infecção (14, 71), para então se iniciar a formação do granuloma. Também nas fases finais do processo, quando ocorre afrouxamento do granuloma, concomitante à depressão da imunidade celular, torna-se evidente o afluxo de neutrófilos, observado a partir do 70º dia de infecção em pulmões de hamsters infectados experimentalmente (14). Além disso, uma característica comum a todas as micoses profundas é que o granuloma poderá involuir para as suas formas mais primitivas, graças à multiplicação local de fungos, com liberação crônica de novos esporos, que perpetuam a neutrofilia local, como consequência da estimulação crônica e aguda persistente no decorrer da evolução da doença (1, 31, 27).

Os macrófagos têm-se mostrado impotentes isoladamente na defesa contra a invasão por fungos. Em estudos experimentais com MA de macacos, demonstrou-se que fungos do gênero *Coccidioides immitis* eram por eles fagocitados, mas na verdade não eram eliminados, acabando por servirem como substrato para a sua proliferação e multiplicação intracelulares (8). Observou-se que o fungo aparentemente bloqueava a união fagolisossomial da célula, evitando assim a produção de substâncias oxidativas de grande potencial destrutivo, que fazem parte dos mecanismos de atuação dos fagócitos, na eliminação de organismos estranhos.

Por outro lado, estudos comparativos entre os neutrófilos e monócitos *in vitro*, na defesa contra a invasão por fungos, demonstraram a maior efetividade dos neutrófilos via mieloperoxidase, na eliminação dos mesmos (26). Além disso, outros trabalhos já demonstraram que os neutrófilos deficientes em mieloperoxidase são ineficientes contra a invasão por fungos (58). Ainda estudos *in vitro* da ação dos neutrófilos contra a infecção pelo *P. brasiliensis* demonstraram a sua importante eficácia na fagocitose e destruição dos mesmos (37). Estes estudos demonstram a grande importância dos neutrófilos no contexto de infecções por fungos, comparados aos monócitos.

Permanecem obscuros os mecanismos pelos quais os neutrófilos são atraídos aos focos de infecção por fungos. LACAZ e col., em 1949 (57), em estudo experimental em cobaias, evidenciaram o seguinte achado histológico num dos animais infectados com esporos do *P. brasiliensis* via traqueal, 60 dias após a sua administração:

Cobaio nº 69 (Pulmão direito) - A luz da maioria dos alvéolos está ocupada por grandes células mononucleadas, células gigantes tipo Langhans e leucócitos polimorfonucleares. É variável, para cada alvéolo, o número destas células, sendo em uns os polimorfonucleares os elementos principais, quase exclusivamente, e noutros as células macrofágicas, com raros leucócitos.

Também FIALHO (28, 29) relatava as lesões produtivas e exsudativas da doença, destacando ser a primeira célula de defesa o neutrófilo. BARBOSA, em 1969 (6a), em sua tese de Doença-Livre, chama também a atenção para o caráter dimórfico da lesão anatomopatológica da doença.

No caso de infecções por *Candida*, já ficou demonstrado o papel da fração C3 do complemento, que é a que desencadeia o processo (93). Na paracoccidioidomicose já ficou demonstrado que C3 pode ser ativado, porém não toma parte na quimiotaxia para os neutrófilos (13). Também ficou demonstrado que o fungo, por si só, não é capaz de determinar quimiotaxia para neutrófilos (13). Em outras doenças que cursam com formação de imuno-complexos circulantes (ICC), já se demonstrou a quimiotaxia para os neutrófilos, desencadeada por eles pela estimulação de C5C6C7 (1, 17). Na alveolite neutrofílica da FIP, já se demonstrou a secreção de substância quimiotática para neutrófilos pelos MA, células de grande participação nas reações locais alveolares desta entidade (43, 45, 46).

Desde que ficou demonstrada a via inalatória do contágio e disseminação da paracoccidioidomicose, seja por estudos de experimentação em animais (71), seja pela evidênciação do complexo primário pulmonar (5, 90, 91), vários são os

trabalhos que enfatizam o percentual de comprometimento pulmonar da doença (12, 36, 88, 90, 91a), que varia de 95 a 100%, demonstrando assim a grande participação deste órgão na sua gênese. Entretanto, os estudos clínicos e funcionais pulmonares desta doença têm demonstrado certa disparidade, uma vez que os doentes pulmonares apresentam, em geral, sintomas respiratórios nas fases avançadas, enquanto que a função pulmonar está alterada precocemente, inclusive nos assintomáticos (2, 59). Estes dados sugerem que a lesão pulmonar é diagnosticada tardiamente, apesar de seu comprometimento precoce.

Permanece obscura até a atualidade a gênese da fibrose cicatricial pulmonar que se instala nesta doença, com ou sem tratamento. FIALHO (28) já chamava a atenção em 1946 para este aspecto, na época atribuído à cura com seqüela. Vários trabalhos têm evidenciado o intenso comprometimento da função pulmonar na paracoccidioidomicose, que freqüentemente evolui para a destruição pulmonar, fibrose cicatricial, hipertensão pulmonar e *cor pulmonale* (2, 12, 56, 90).

No caso da alveolite neutrofílica da FIP, vários dados já puderam ser estudados através do LBA. Nesta alveolite o papel fundamental na reação local pulmonar parece ser desempenhado pelos MA (17). O estímulo pelo qual eles são ativados seriam linfocinas secretadas pelos linfócitos, quando expostos a frações antigênicas das fibras de colágeno tipo I, que faz parte da matriz do colágeno pulmonar (17). Além disso, ICC já foram identificados na circulação sangüínea e nos pulmões da FIP, nestes últimos aderidos à membrana alveolar, ou fagocitados pelos MA (17, 35). Sabe-se que também os ICC têm o potencial de ativar macrófagos a secretarem substância

quimiotática para neutrófilos (17). Sabemos que ICC já foram identificados na paracoccidiodomicose (15), mas até que ponto eles têm participação na neutrofilia da doença ainda está por ser demonstrado.

Uma vez aumentado o afluxo de neutrófilos aos pulmões, já conhecemos o seu potencial em produzir enzimas proteolíticas e substâncias oxidativas, de grande capacidade destrutiva. Devemos salientar ainda que, apesar de existirem sistemas bloqueadores enzimáticos que defendem os pulmões contra a proteólise, como é o caso da alfa 1 antitripsina (19), estes sistemas são sobrepujados pelo excesso de enzimas proteolíticas secretadas no local. Além disso, sabemos que as proteases neutras e a collagenase, secretadas em grande quantidade pelos neutrófilos e MA, não são inativadas por este sistema (33). Sabe-se que todas estas enzimas têm a capacidade de clivar o colágeno tipo I, em estudos já demonstrados na FIP (17, 34, 42).

Os MA ativados na FIP secretam fator de crescimento e fibronectina, que estimulam os fibroblastos a se proliferarem e produzirem grande quantidade de colágeno tipo I, responsável pelo intenso grau de fibrose que se instala nesta doença (17, 83). A fibronectina e produtos de degradação do colágeno já foram identificados no LBA da FIP (81, 82). A destruição dos pneumócitos tipo I, que compõem 90% do epitélio alveolar, leva a uma substituição dos mesmos pelos pneumócitos tipo II, sabidamente de qualidades elásticas diminuídas (17, 51), o que parece contribuir substancialmente para a diminuição progressiva da complacência pulmonar que se observa nesta doença (17). Todos estes mecanismos podem ser

levantados com relação à alveolite neutrofílica da paracoccidioidomicose. Deve-se acrescentar ainda que a magnitude da neutrofilia demonstrada na paracoccidioidomicose pulmonar é muitas vezes superior à da FIP, sendo provavelmente a razão para o grau progressivo de fibrose cicatricial pulmonar que se instala na paracoccidioidomicose.

Além do LBA, também a cintilografia pulmonar com gálio 67 tem sido utilizada para estadiamento da FIP (49). Na paracoccidioidomicose pulmonar estudos preliminares já têm sido realizados com o mesmo método (72), e resultados iniciais parecem demonstrar que tal método é também utilizável com a mesma finalidade, e portanto poderá complementar-se com o LBA no estudo desta doença.

Com relação ao tabagismo, compete aqui comentar que este vício altera a população de células alveolares, sem, no entanto, modificar substancialmente as suas proporções (86). No nosso material, não foi possível demonstrar alterações significativas dos dois grupos de pacientes, pois sua contagem diferencial permaneceu praticamente inalterada nos tabagistas e não-tabagistas.

Cabe aqui ressaltar que em 5 dos 6 pacientes identificou-se o *P. brasiliensis* aderido ao muco, ou fagocitado por MA no LBA, demonstrando-se, assim, que esta metodologia pode ser utilizada como alternativa para a pesquisa de fungos, em comparação com o exame direto do escarro.

Finalmente, compete aqui informar que este estudo, com ênfase aos achados do LBA na paracoccidioidomicose pulmonar, está apenas iniciando, devendo ser complementado posteriormente com o estudo das proteínas deste material, principal-

mente a dosagem das imunoglobulinas, frações do complemento, alfa 1 antitripsina e proteína C reativa.

Creemos que a análise citológica do LBA deve ser ainda estudada no futuro, com ênfase principalmente nos pacientes em tratamento, nos pacientes em fases evolutivas diferentes da doença, para possível estadiamento, e ainda naquelas formas da paracoccidioidomicose progressiva sem aparente lesão pulmonar, a fim de se estudar com mais detalhes a via de contágio inalatória.

Esperamos ter contribuído com o nosso trabalho para o melhor entendimento dos mecanismos imunológicos que se desencadeiam ao nível do alvéolo pulmonar na paracoccidioidomicose e, talvez, ter aberto caminho para um novo campo de pesquisa em pneumologia em nosso meio, o da imunocitologia alveolar, sob os aspectos diagnóstico, fisiopatológico e de seguimento.

VI - CONCLUSÕES

1 - A citologia diferencial do lavado broncoalveolar na paracoccidioidomicose pulmonar progressiva demonstrou uma alveolite do tipo neutrofílica.

2 - A neutrofilia demonstrada ocorreu independente do tempo de evolução da paracoccidioidomicose, demonstrando ser esta alveolite de caráter crônico.

3 - A porcentagem de neutrófilos demonstrada foi mais elevada na paracoccidioidomicose pulmonar do que nas demais alveolites neutrofílicas relatadas na literatura, evidenciando ser esta alveolite de alta intensidade.

4 - O grande componente de fibrose cicatricial pulmonar da paracoccidioidomicose provavelmente seja atribuído à atividade enzimática de neutrófilos, à semelhança da fibrose idiopática pulmonar.

5 - O lavado broncoalveolar demonstrou ser método alternativo para a identificação dos fungos na paracoccidioidomicose pulmonar progressiva, em comparação com o exame direto de escarro.

VII - TABELAS

TABELA 1
DADOS DA ANAMNESE DO GRUPO DE PACIENTES

CASO	IDADE (anos)	SEXO	COR	TABAGISMO (cigarros/dia)	PROFISSÃO
1	45	masc.	branca	20	servente
2	36	masc.	branca	20	caldeirista
3	61	masc.	branca	40	motorista
4	38	masc.	branca	30	lavrador
5	46	masc.	branca	10	carpinteiro
6	43	masc.	branca	não	lavrador

TABELA 2
DADOS DA ANAMNESE DO GRUPO DE CONTROLES

CASO	IDADE (anos)	SEXO	COR	TABAGISMO (cigarros/dia)	PROFISSÃO
7	19	masc.	branca	não	contínuo
8	49	masc.	branca	20	func.público
9	23	fem.	branca	10	do lar
10	22	masc.	branca	não	cobrador
11	15	fem.	preta	não	lavrador
12	38	fem.	branca	não	do lar

TABELA 3
TOPOGRAFIA PULMONAR E VOLUME DO LBA NO GRUPO DE PACIENTES

CASO	SEGMENTO	LOBO	QUANTIDADE INFUNDIDA (ml)	QUANTIDADE OBTIDA (ml)
1	basal posterior	inferior direito	60	35
2	basal posterior	inferior esquerdo	60	40
3	basal posterior	inferior direito	100	60
4	basal posterior	inferior esquerdo	100	60
5	basal medial	inferior direito	20	5
6	basal posterior	inferior direito	100	50

TABELA 4
TOPOGRAFIA PULMONAR E VOLUME DO LBA NO GRUPO DE CONTROLES

CASO	SEGMENTO	LOBO	QUANTIDADE INFUNDIDA (ml)	QUANTIDADE OBTIDA (ml)
7	posterior	superior direito	100	60
8	anterior	superior direito	100	60
9	basal posterior	inferior direito	100	60
10	basal posterior	inferior direito	100	60
11	basal posterior	inferior direito	100	60
12	posterior	superior direito	100	60

TABELA 5
CONTAGEM DIFERENCIAL CELULAR DO LBA NO GRUPO DE PACIENTES

CASO	% MACRÓFAGOS (média de 14)	% NEUTRÓFILOS (média de 80)*	% LINFÓCITOS (média de 5)	% EOSINÓFILOS (média de 0)
1	4	89	7	0
2	2	95	3	0
3	14	85	1	0
4	7	91	2	0
5	31	57	11	0
6	27	65	6	0

* Teste de Mann-Whitney:

U calculado: 0 ($p < 0,001$)

U crítico: 7,0

TABELA 6
CONTAGEM DIFERENCIAL CELULAR DO LBA NO GRUPO DE CONTROLES

CASO	% MACRÓFAGOS (média de 79)	% NEUTRÓFILOS (média de 5,5)	% LINFÓCITOS (média de 13,5)	% EOSINÓFILOS (média de 0,8)
7	90	4	1	0
8	92	1	7	0
9	72	6	20	2
10	52	7	39	2
11	78	8	13	0
12	90	8	1	1

TABELA 7
HEMOGRAMA COM LEUCOGRAMA DO GRUPO DE PACIENTES

CASO	1	2	3	4	5	6
Eritrócitos (células/mm ³)	5.500.000	4.500.000	5.300.000	4.900.000	6.300.000	5.000.000
Volume globular (%)	49	40	48	44	57	45
Leucócitos (células/mm ³)	15.800	31.000	8.000	14.200	11.000	8.800
Linfócitos (%)	25	18	23	22	30	13
Monócitos (%)	4	2	5	4	8	6
Bastonetes (%)	5	11	6	7	2	5
Segmentados (%)	56	69	61	63	56	67
Eosinófilos (%)	10	0	5	5	4	9

TABELA 8
HEMOGRAMA COM LEUCOGRAMA DO GRUPO DE CONTROLES

CASO	7	8	9	10	11	12
Eritrócitos (células/mm ³)	5.200.000	4.500.000	4.300.000	5.000.000	4.000.000	5.500.000
Volume globular (%)	46	42	39	43	36	36
Leucócitos (células/mm ³)	6.300	6.500	8.300	5.000	8.000	6.000
Linfócitos (%)	17	20	26	29	30	30
Monócitos (%)	7	7	5	5	8	4
Bastonetes (%)	3	2	8	8	6	4
Segmentados (%)	65	69	55	56	53	56
Eosinófilos (%)	8	2	6	2	1	6

TABELA 9
PADRÃO RADIOLOGICO PULMONAR DO GRUPO DE PACIENTES

CASO	INTERSTICIAL	ALVEOLAR	PNEUMÔNICO	FIBRÓTICO	CAVITÁRIO
1	+	+	+		
2		+	+		
3	+	+			
4		+	+		+
5	+			+	
6	+	+	+		

TABELA 10
 TIPO DE COMPROMETIMENTO DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE
 NO GRUPO DE PACIENTES

CASO	1	2	3	4	5	6
Paracoccidioidomicose cutânea	+					+
Paracoccidioidomicose pulmonar	+	+	+	+	+	+
Paracoccidioidomicose ganglionar		+				
Paracoccidioidomicose de orofaringe		+				
Paracoccidioidomicose de supra-renais					+	

TABELA 11
DIAGNÓSTICOS DO GRUPO DE CONTROLES

CASO	7	8	9	10	11	12
Emagrecimento		+				
Tb pulmonar	+					
Tb óssea					+	
Tb peritoneal				+		
Tb pleural						+
Diabete melito			+			

VIII - MATERIAL FOTOGRÁFICO

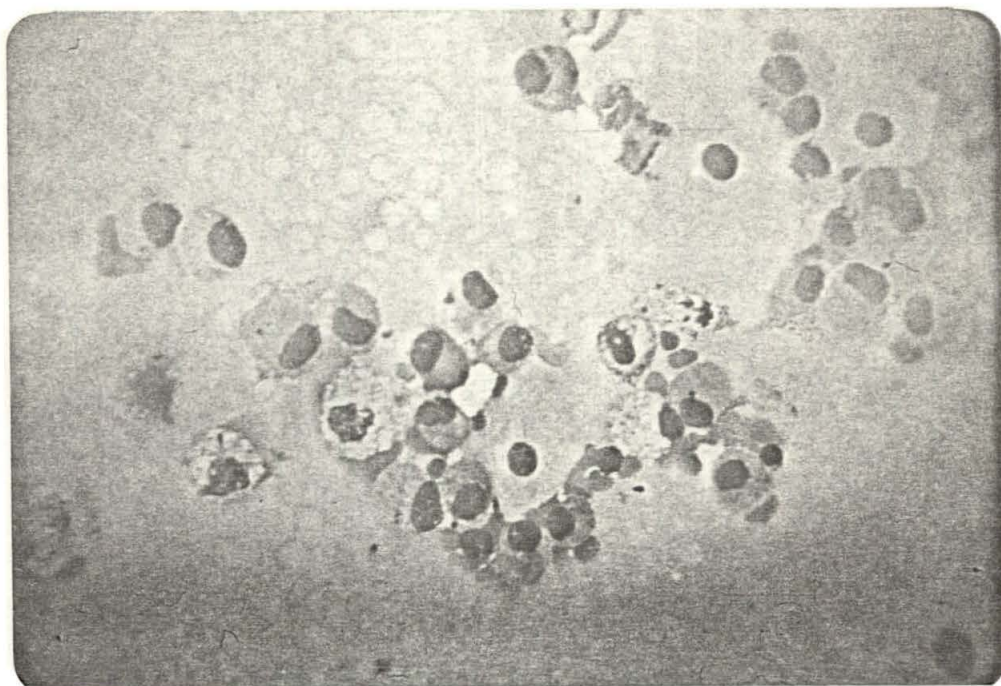


FIGURA 3: População celular no lavado broncoalveolar normal, com grande predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 400 X.

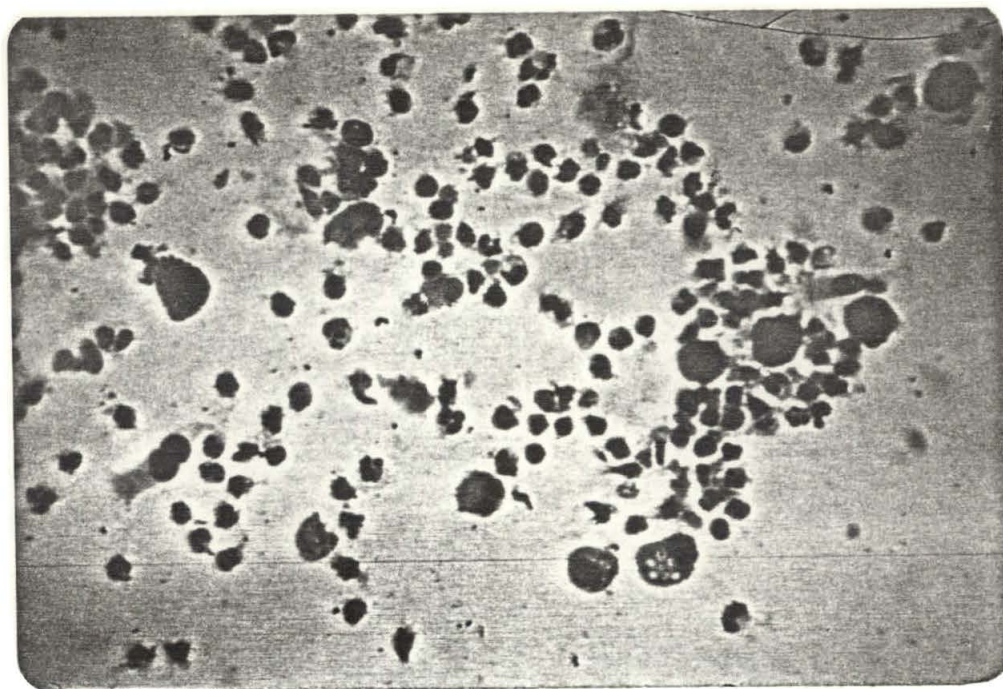


FIGURA 4: População celular no lavado broncoalveolar de paciente com paracoccidioidomicose pulmonar, com grande predominância de neutrófilos e evidência de *Paracoccidioides brasiliensis* em gemulação múltipla no citoplasma de um macrófago alveolar, ao aumento de 400 X.

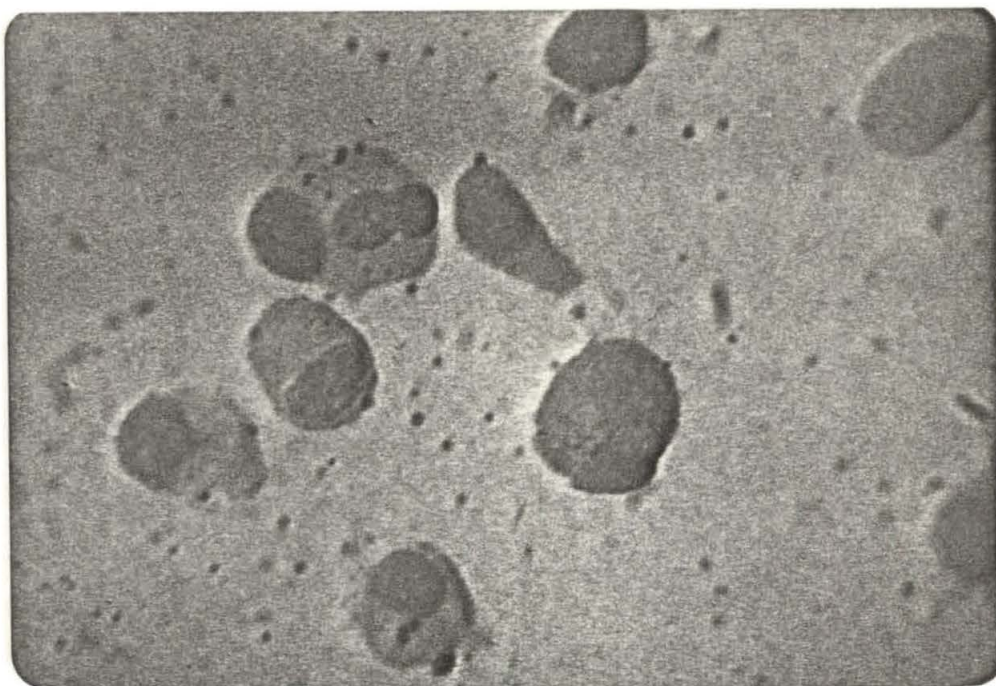


FIGURA 5: População celular no lavado broncoalveolar normal, com predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 1.000 X.

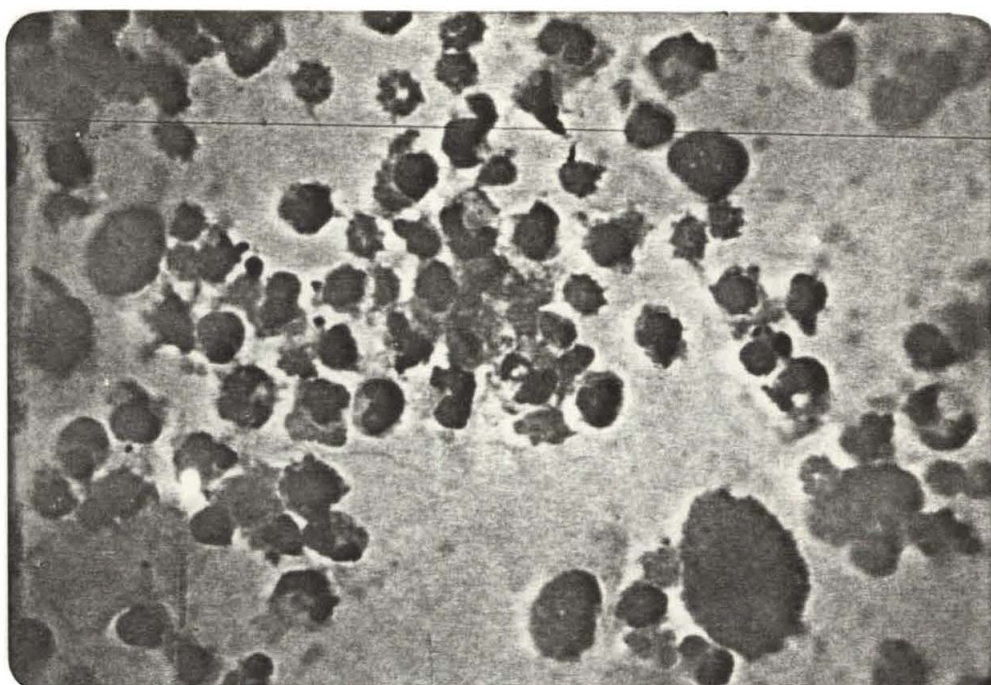


FIGURA 6: População celular no lavado broncoalveolar de paciente com paracoccidioidomicose pulmonar, com predominância de neutrófilos, ao aumento de 1.000 X.

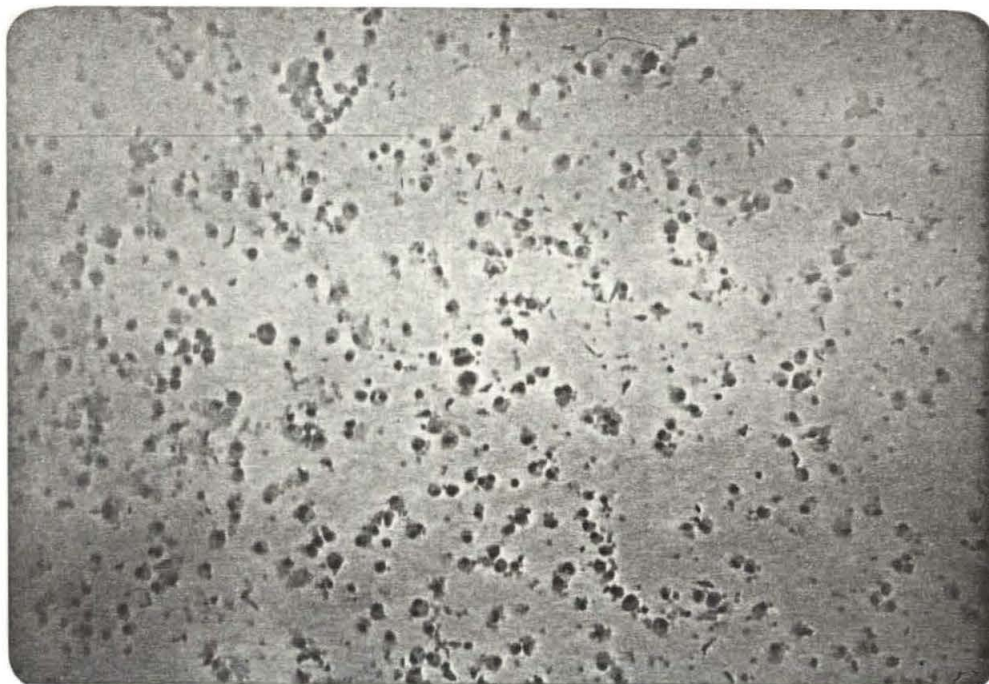


FIGURA 1: População celular no lavado broncoalveolar normal, com grande predominância de macrófagos alveolares, ao aumento de 100 X.

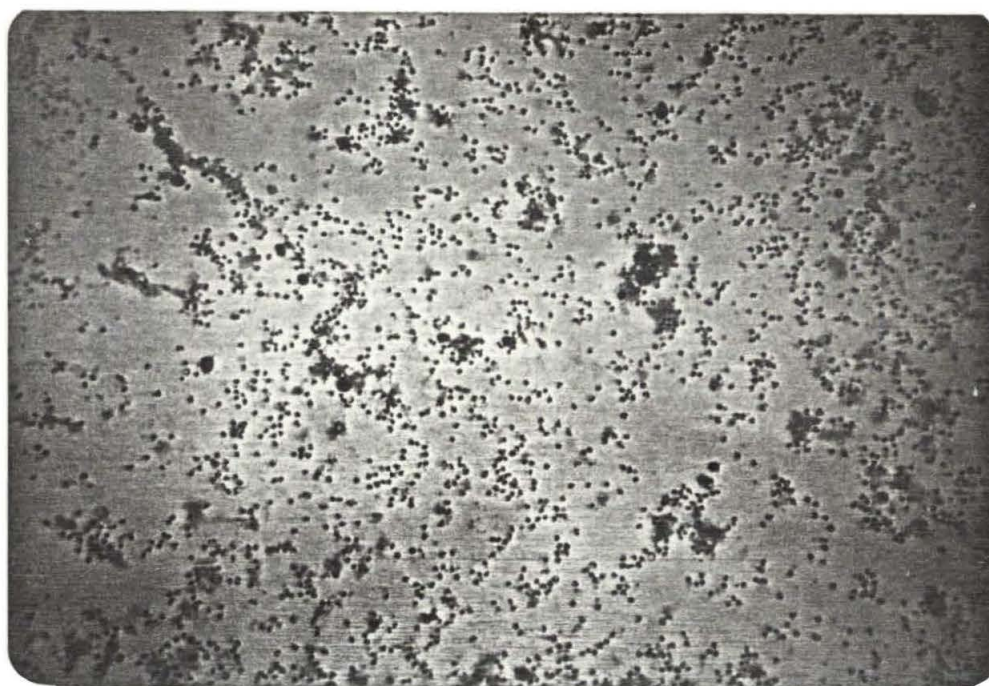


FIGURA 2: População celular no lavado broncoalveolar de paciente com paracoccidioidomicose pulmonar, com grande predominância de neutrófilos, ao aumento de 100 X.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ADAMS, D.O. The granulomatous response. *Am.J.Pathol.*, Philadelphia, 84: 164-91, 1976.
- 2 AFONSO, J.E.; NERY, L.E.; ROMALDINI, H.; BOGOSSIAN, M.; RATTO, R.O. Função pulmonar na paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana. *Rev.Inst.Med.Trop. São Paulo*, São Paulo, 21:269-80, 1979.
- 3 ALMEIDA, A.S.; TRAMUJAS, A.; MACHADO, S.M.; BRANDÃO, H. Considerações sobre 16 casos de localização pulmonar da blastomicose sul-americana. *Rev.Bras.Tuberc.*, Rio de Janeiro, 25:1395-402, 1958.
- 4 ALMEIDA, F.P. Estudos comparativos de granuloma coccidioidico nos Estados Unidos e no Brasil; novo gênero para o parasito brasileiro. *An.Fac.Med.São Paulo*, São Paulo, 5:125-41, 1930.
- 5 ANGULO-ORTEGA, A. Calcification in paracoccidioidomycosis; are they the morphological manifestation of subclinical infections? In: PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *Paracoccidioidomycosis*; proceedings of the First Pan American Symposium, Medellin, Colombia, 1971. Washington, 1972. p.129-33. (Scientific Publication, 254).
- 6 AXLINE, S.G. Functional biochemistry of the macrophage. *Semin.Hematol.*, New York, 7:142-60, 1970.
- 6a BARBOSA, W. *Blastomicose sul-americana*; contribuição ao seu estudo no Estado de Goiás. Goiás, 1968. 256 p. Tese, Docência Livre, Universidade Federal de Goiás.
- 7 BASSET, F.; BERNAUDIN, J.F.; SOLER, P.; CHOLLET, S.; Lavage broncho-alveolaire d'exploration. In: ENCICLOPEDIE medico-chirurgicale. Paris, 1983. 6000 M⁵⁰ -11.

- 8 BEAMAN, L. & HOLMBERG, C.A. In vitro response of alveolar macrophages to infection with *coccidioides immitis*. *Infect.Immun.*, Washington, 28:594-600, 1980.
- 9 BERNARD, J.; GEE, L.; FICK, C.K. Bronchoalveolar lavage. *Thorax*, London, 35: 1-8, 1980.
- 10 BLUSSE, A. & VAN FURTH, R. Origen, kinetics, and characteristics of pulmonary macrophages in the normal steady state. *J.Exp.Med.*, New York, 149:1504-18, 1979.
- 11 BRAIN, J.D.; GOLDE, D.W.; GREEN, G.M.; MASSARO, D.J.; VALBERG, P.A.; WARD, P.; WERE, Z. Biologic potential of pulmonary macrophage. *Am.Rev.Respir.Dis.*, New York, 118:435-43, 1978.
- 12 BRASS, K. Observaciones sobre la anatomia patológica, patogenesis y evolution de la paracoccidioidomicosis. *Mycopathologia*, The Hague, 37:119-38, 1969.
- 13 CALLICH, V.L.G.; KIPNIS, T.L.; MARIANO, M.; FAVA NETO, C.; SILVA, W.D. The activation of the complement system by *Paracoccidioides brasiliensis* in vitro; its opsonic effect and possible significance for in vivo model of infection. *Clín.Immunol.Immunopathol.*, New York, 12:20-30, 1979.
- 14 COELHO, K.I.R.; DEFATERI, J., IWASSO, M.T.R.; PERAÇOLI, M.T.; MOTA, N.G.S. Paracoccidioidomicose experimental. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. p.69-84.
- 15 COSTA, J.C.; CARVALHO, I.F.; ROSSI, B.C.; MARTINEZ, R.; FIORILLO, A.M. Detecção de imuno-complexos circulantes em pacientes portadores de paracoccidioidomicose. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 17., Caldas Novas, 1981. *Resumos*. p.131-2. Citado por DEL NEGRO, G. et alii. p.115 (25).
- 16 CRAPO, J.D.; BARRY, B.E.; GEHR, P.; BACHOFEN, M.; WEIBEL, E.R. Cell number and cell characteristics of the normal human lung. *Am.Rev.Respir.Dis.*, New York, 126: 332-7, 1982.

- 17 CRYSTAL, R.G.; BITTERMAN, P.B.; RENNARD, S.I.; HANCE, A.J.; KEOGH, B.A. Interstitial lung diseases of unknown cause (First of two parts). *N.Engl.J.Med.*, Boston, 310: 154-66, 1984.
- 18 _____. Interstitial lung diseases of unknown cause (second of two parts). *N.Engl.J.Med.*, Boston, 310:235-44, 1984.
- 19 CRYSTAL, R.G.; FULMER, J.D.; BAUM, B.J. Cells collagen and idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung*, Heidelberg, 155:199-224, 1978.
- 20 CRYSTAL, R.G.; FULMER, J.D.; ROBERTS, W.C.; MOSS, M.L.; LINE, B.R.; REYNOLDS, H.Y. Idiopathic pulmonary fibrosis; clinical, histologic, radiographic, physiologic, scintigraphic, cytologic and biochemical aspects. *Ann.Intern.Med.*, Philadelphia, 85:769-88, 1976.
- 21 CRYSTAL, R.G.; GADEK, J.E.; FERRANS, V.J.; FULMER, J.D.; LINE, B.R.; HUNNINGHAKE, G.W. Interstitial lung disease; current concepts of pathogenesis, staging and therapy. *Am.J.Med.*, New York, 70:542-68, 1981.
- 22 CRYSTAL, R.G.; ROBERTS, W.C.; HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; FULMER, J.D.; LINE, B.R. Pulmonary sarcoidosis; a disease characterized and perpetuated by activated lung T lymphocytes. *Ann.Intern.Med.*, Philadelphia, 94:73-94, 1981.
- 23 DAVIS, W.B.; GADEK, J.E.; FELLOWS, G.A.; CRYSTAL, R.G. Role of eosinophils in connective tissue destruction. *Am.Rev.Respir.Dis.*, New York, 123:55, 1981.
- 24 DAVIS, W.B.; SUN, X.H.; GADEK, J.E.; JAURAND, J.; BIGNON, J.; CRYSTAL, R.G. Cytotoxicity of eosinophils for lung parenchymal cells. *Am.Rev.Respir.Dis.*, New York, 125: 178, 1982.
- 25 DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomycose; blastomycose sul-americana*: São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. 283 p.

- 26 DIAMOND, R.D.; ROTT, R.K.; BENNETT, J.E. Factors influencing killing of *Cryptococcus neoformans* by human leukocytes in vitro. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 125: 367-76, 1972.
- 27 DRUTZ, D.J. & CATANZARO, A. *Coccidioidomycosis*; part 1. *Am. Rev. Respir. Dis.*, New York, 117:559-85, 1978.
- 28 FIALHO, A. Localizações pulmonares da micose de Lutz. Anatomia patológica e patogenia. Importância do seu estudo na patologia pulmonar. Rio de Janeiro, 1946. Tese, Cátedra, Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Citado por DEL NEGRO et alii. p.4 (25).
- 29 _____. Patogenia da blastomicose pulmonar. *Rev. Bras. Tuberc.*, Rio de Janeiro, 24:1531-52, 1956.
- 30 FINLEY, T.N.; SWENSON, E.W.; CURRAN, W.S.; HUBER, J.L.; LADMAN, A.J. Bronchopulmonary lavage in normal subjects and patients with obstructive lung diseases. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, 66:651-8, 1967.
- 31 FORBUS, W.D. & BESTEBREURTJE, A.M. *Coccidiomycosis*; study of 95 cases of the disseminated type with special reference to the pathogenesis of the disease. *Milit. Surg.*, Washington, 99:653-719, 1946.
- 32 FRANCO, M.F. & MONTENEGRO, M.R.G. Anatomia patológica. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. p.97-115.
- 33 GADEK, J.E.; FELLOWS, G.A.; RENNARD, S.I.; ZIMMERMAN, R.L.; CRYSTAL, R.G. Evaluation of the anti-collagenase screen of the human lower respiratory tract; implications for the expression of collagenase activity in patients with neutrophilic alveolitis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, New York, 119:167, 1979.
- 34 GADEK, J.E.; FELLOWS, G.A.; ZIMMERMAN, R.L.; MARTIN, P.G.; KEOGH, B.A.; CRYSTAL, R.G. A role for oxidative products of neutrophils in both fibrotic and destructive lung disease. *Clin. Res.*, Thorofare, N.J., 30:429a, 1982.

- 35 GADEK, J.E.; HUNNINGHAKE, G.; LAWLEY, T.; KELMAN, J.;
FULMER, J.; CRYSTAL, R.G. Role of immune complexes in
amplifying the alveolitis of idiopathic pulmonary fi-
brosis. *Clin.Res.*, Thorofare, N.J., 26:446a, 1978.
- 36 GIRALDO, R.; RESTREPO, A.; GUTIERREZ, F.; ROBLEDO, M.;
LONDONO, F.; HERNANDEZ, Z.H.; SIERRA, F.; CALLE, C.
Pathogenesis of paracoccidioidomycosis; a model base
on study of 46 patients. *Mycopathologia*, The Hague,
58:63-70, 1976.
- 37 GOIHMAN-YAHR, M.; ESSENFELD-YAHR, E.; ALBORNOZ, M.C.;
YARZÁBAL, L.; GOMEZ, M.H.; SAN MARTIN, B.; OCANTO, A.;
CONVIT, J. New method for stimulating digestion of para-
coccidioides brasiliensis by phagocytic cells in
vitro. *J.Clin.Microbiol.*, Washington, 10:365-70, 1979.
- 38 GOLDE, D.W. Kinetics and function of the human alveolar
macrophage. *J.Reticulo-endothel.Soc.*, Wiston-Salem,
22:223-30, 1977.
- 39 GREEN, G.M. In defense of the lung. *Am.Rev.Respir.Dis.*,
New York, 102: 691-703, 1970.
- 40 HACK, W.; STECHMAN, A.; OLIVEIRA, C.M.; OLIVEIRA, A.R.;
SAMPAIO, M.S. Sobre três casos de coexistência da pa-
racoccidioidose brasileira pulmonar e tuberculose.
Rev.Bras.Tuberc., Rio de Janeiro, 26:843-52, 1968.
- 41 HASLAM, P.L.; TURTON, C.W.G.; HEARD, B.; LUKOSZEK, A.;
COLLINS, J.V.; SALSBURY, A.J.; TURNER-WARNICK, M.
Bronchoalveolar lavage in pulmonar fibrosis; compari-
son of cells obtained with lung biopsy and clinical
features. *Thorax*, London, 35:9-18, 1980.
- 42 HORWITZ, A.L.; HANCE, A.J.; CRYSTAL, R.G. Granulocyte
collagenase; selective digestion of type I relative to
type III collagen. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*,
Washington, 74:897-901, 1977.
- 43 HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; FALES, H.M.; CRYSTAL,
R.G. Human alveolar macrophage derived chemotatic
factor for neutrophils. *J.Clin.Invest.*, New Haven, Ct.,
66:473-83, 1980.

- 44 HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; KAWANAMI, O.; FERRANS, V.J.; CRYSTAL, R.G. Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease; evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am.J.Pathol.*, Philadelphia, 97:149-202, 1979.
- 45 HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; LAWLEY, T.J.; CRYSTAL, R.G. Mechanisms of neutrophil accumulation in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.*, New Haven, Ct., 68:259-69, 1981.
- 46 HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; SZAPIEL, S.V. The human alveolar macrophage. *Methods Cell. Biol.*, New York, 21A:95-105, 1980.
- 47 HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; YOUNG, JR., R.C.; KAWANAMI, O.; FERRANS, V.J.; CRYSTAL, R.G. Maintenance of granuloma formation in pulmonary sarcoidosis by T lymphocytes within the lung. *N.Engl.J.Med.*, Boston, 302:594-8, 1980.
- 48 HUNNINGHAKE, G.W.; KAWANAMI, O.; FERRANS, V.J.; YOUNG, JR., R.C.; ROBERTS, W.C.; CRYSTAL, R.G. Characterization of the inflammatory and immune effector cells in the lung parenchyma of patients with interstitial lung disease. *Am.Rev.Respir.Dis.*, New York, 123: 407-12, 1981.
- 49 HUNNINGHAKE, G.W.; LINE, B.R.; SZAPIEL, S.V.; CRYSTAL, R.G. Activation of inflammatory cells increases the localization of gallium 67 at sites of disease. *Clin. Res.*, Thorofare, N.J., 29:171A, 1981.
- 50 JANOFF, A.; WHITE, R.; CARP, H.; HAREL, S.; DEARING, R.; LEE, D. Lung injury induced by leukocytic proteases. *Am.J.Pathol.*, Philadelphia, 97:111-29, 1979.
- 51 KAWANAMI, O.; FERRANS, V.J.; CRYSTAL, R.G. Structure of alveolar epithelial cells in patients with fibrotic lung disorders. *Lab. Invest.*, Baltimore, 46: 39-53, 1982.
- 52 KEIMOWITZ, R.I. Immunoglobulins in normal human tracheo-bronchial washings: a qualitative and quantitative study. *J.Lab.Clin.Med.*, St. Louis, 63:54-9, 1964.

- 53 KYLSTRA, J.A.; BAEZ-GARCIA, J.E.; HALL, K.D.; SALTZMAN, H.A. Bronchopulmonary lavage in patients with bronchial asthma. *J.Clin.Invest.*, New Haven, Ct., 46: 1081, 1967.
- 54 LACAZ, C.S. Contribuição brasileira para o estudo da blastomicose sul-americana; granulomatose paracoccidílica. *Hospital*, Rio de Janeiro, 28:249-60, 1945.
- 55 _____. Evolução dos conhecimentos sobre a paracoccidíomicose; um pouco de sua história. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidíomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. 1-9 p.
- 56 _____. Lesões pulmonares na paracoccidíomicose; inquérito pulmonar realizado com a paracoccidíomicose. *Hospital*, Rio de Janeiro, 39:405-22, 1951.
- 57 LACAZ, C.S.; IARIA, S.T.; FERREIRA, M.; MARTINS, A.A.; VEGA, V.S. Blastomicose experimental. *Hospital*, Rio de Janeiro, 36:341-9, 1949.
- 58 LEHRER, R.I. & CLINE, M.J. Leukocyte myeloperoxidase deficiency and disseminated candidiasis; the role of myeloperoxidase in resistance to candida infection. *J.Clin.Invest.*, New Haven, Ct., 48:1478-88, 1969.
- 59 LEMLE, A. Lung function studies in pulmonary South American blastomycosis. *Am. J. Med.*, New York, 4:434-42, 1970.
- 60 LENZINI, L.; HEATHER, C.J.; ROTTOLI, L.; ROTTOLI, P. Studies on bronchoalveolar cells in humans. *Respiration*, Basel, 36:145-52, 1978.
- 61 LINARES, L.I. & FRIEDMAN, L. Experimental paracoccidíomycosis in mice. *Infect.Immun.*, Washington, 5: 681-7, 1972 a.
- 62 LINE, P.R.; FULMER, J.D.; REYNOLDS, H.Y. Gallium - 67 citrate scanning in the staging of idiopathic pulmonary fibrosis; correlation with physiologic and morphologic features and bronchoalveolar lavage. *Am.Rev.Respir. Dis.*, New York, 118:355-65, 1978.

- 63 LONDERO, A.T. Epidemiologia. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. p.85-90.
- 64 LONDERO, A.T. The lung in paracoccidioidomycosis. In: PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *Paracoccidioidomycosis; proceedings of the First Pan American Symposium*, Medellin, Colombia, 1971. Washington, 1972. p. 109-18. (Scientific Publication, 254).
- 65 LONDERO, A.T. & RAMOS, C.D. Paracoccidioidomycosis; a clinical and mycologic study of forty-one cases observed in Santa Maria, RS, Brasil. *Am.J.Med.*, New York, 52:771-5, 1972.
- 66 LONDERO, A.T.; RAMOS, C.D.; LOPES, J.O. Paracoccidioidomicose; classificação das formas clínicas. *Rev.Urug. Patol.Clin.Microbiol.*, Montevideo, 14:3-9, 1976.
- 67 LOY, W.H. & NUSSENZWEIG, V. CA^{++} dependent binding of antigen 195 antibody complexes to macrophages. *J. Immunol.*, Baltimore, 102:1172-8, 1969.
- 68 LUTZ, A. Uma micose pseudo-coccidica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hyphoblastomycoses americanas. *Brasil Med.*, Rio de Janeiro, 22:141-4, 1908.
- 69 MACHADO, S.M. O diagnóstico da blastomicose pelo exame direto do escarro em sanatório para tuberculosos. *Rev. Bras.Tuberc.*, Rio de Janeiro, 24:1715-8, 1956.
- 70 MACHADO FILHO, J. & MIRANDA, J.L. Considerações relativas a blastomicose sul-americana. Evolução, resultados terapêuticos e moléstias associadas em 394 casos consecutivos. *Hospital*, Rio de Janeiro, 60:375-412, 1961.
- 71 MACKINNON, J.E. Pathogenesis of South American blastomycosis. *Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, London, 53:487-94, 1959.

- 72 MELO, F.A.F.; CAMPOS NETO, J.S.; THOM, A.F.; ALMEIDA, M.L.D.; MORRONE, N.; QUILICI, B. Mapeamento com gálio 67 em paracoccidioidomicose. *J.Pneumol.*, São Paulo, 8 (supl.):194, 1982.
- 73 MIRVIK, O.N.; LEAKE, E.S.; FARISS, B. Studies on pulmonary alveolar macrophages from the normal rabbit; a technique to procure them in a high state of purity. *J.Immunol.*, Baltimore, 86:128-32, 1961.
- 74 MOK, P.W.Y. & DREER, D.L. Cell mediated immune responses in patients with paracoccidioidomycosis. *Clin. Exp. Immunol.*, Oxford, 28:89-98, 1977.
- 75 MONTANER, L.J.G. Lavado broncoalveolar; tecnica y resultados. *Rev.Arg.Tuberc.Enf.Salud Publ.*, Buenos Aires, 44:41-51, 1983.
- 76 MUSATTI, C.C.; REZKALLAH, M.T.; MENDES, E.; MENDES, N.F. In vivo and in vitro evaluation of cell mediated immunity in patients with paracoccidioidomycosis. *Cell. Immunol.*, New York, 24:365-78, 1976.
- 77 PAGE, R.C. The macrophage as a secretory cell. *Int.Rev. Cytol.*, New York, 52:119-51, 1978.
- 78 PAPANICOLAOU, G.M. Technique. In: _____. *Atlas of exfoliative cytology*. Cambridge, Harward University Press, 1963. p.3-12.
- 79 PATTERSON, E.J. History of bronchoscopy and esophagoscopy for foreign body. *Laryngoscope*, St. Louis, 36: 157-75, 1926.
- 80 RAMIREZ, J.; SCHULTZ, R.B.; DUTTON, R.E. Pulmonary alveolar proteinosis; a new technique and rationale for treatment. *Arch.Intern.Med.*, Chicago, 112:419-31, 1963.
- 81 RENNARD, S.I. & CRYSTAL, R.G. Fibronectin in human bronchopulmonary lavage fluid; elevation in patients with interstitial lung disease. *J.Clin.Invest.*, New Haven, Ct., 69:113-22, 1982.

- 82 RENNARD, S.I.; FERRANS, V.J.; BRADLEY, K.H.; CRYSTAL, R.G. Lung connective tissue. In: WITSCHI, H., ed. *Mechanisms in respiratory toxicology*. Boca Raton, Fla., CrC Reviews, 1982. v.2, p.115-53.
- 83 RENNARD, S.I.; HUNNINGHAKE, G.W.; BITTERMAN, P.B.; CRYSTAL, R.G. Production of fibronectin by human alveolar macrophage; mechanism for the recruitment of fibroblasts to sites of tissue injury in interstitial lung diseases. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, Washington, 78:7147-51, 1981.
- 84 RESTREPO, A.M. Imunidade humoral. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. p.127-32.
- 85 REYNOLDS, H.Y.; FULMER, J.D.; KAZMIEROWSKI, J.A.; ROBERTS, W.C.; FRANK, M.M.; CRYSTAL, R.G. Analysis of cellular and protein content of bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. *J. Clin. Invest.*, New Haven, Ct., 59:165-75, 1977.
- 86 REYNOLDS, N.Y. & NEWBALL, H.H. Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lung by bronchial lavage. *J.Lab.Clin.Med.*, St. Louis, 84:559-73, 1974.
- 87 ROSS, R. The fibroblast and wound repair. *Biol.Rev.*, London, 43:51-96, 1968.
- 88 SALFELDER, K.; DOEHNERT, G.; DOEHNERT, H.R. Paracoccidioidomycosis; anatomic study with complete autopsies. *Virchow's Arch. Pathol. Anat.*, Berlin, 348:5176, 1969.
- 89 SALISBURG, P.F.; BRIGGS, J.N.; HAMEL, N.D.; GROSS, G.E.; RIEBEN, P.A. Pulmonary lavage; the use of lung, in situ, as an artificial kidney. *Trans.Am.Soc.Artif. Intern.Organs.*, Washington, 5:32-49, 1959.
- 90 SEVERO, L.C. *Paracoccidioidomicose; estudo clínico e radiológico das lesões pulmonares e seu diagnóstico*. Porto Alegre, 1979. 89 p. Tese, Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- 91 SEVERO, L.C.; GEYER, G.R.; LONDERO, A.T.; PORTO, N.S.;
RISSON, C.F.C. The primary pulmonary lymph node complex in paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia*, The Hague, 62:115-8, 1979.
- 91a SILVA, A.F.da. *Contribuição ao estudo da paracoccidioidomicose no Paraná e das lesões ósseas e articulares paracoccidioidídicas*. Curitiba, 1976. 273 p. Tese, Livre Docência, Universidade Federal do Paraná.
- 92 SIQUEIRA, A.M. Diagnóstico imunológico de paracoccidioidomicose. In: DEL NEGRO, G.; LACAZ, C.S.; FIORILLO, A.M. *Paracoccidioidomicose; blastomicose sul-americana*. São Paulo, Sarvier/EDUSP, 1982. p.253-64.
- 93 SOHNCE, P.G.; FRANK, M.M.; KIRPATRICK, C.H. Mechanisms involved in elimination of organisms from experimental cutaneous *Candida albicans* infectious in Guinea pigs. *J.Immunol.*, Baltimore, 117:523-30, 1976.
- 94 SPLENDORE, A. Zymonematosi con localizzazione nella cavità della boca, osservate in Brasile. *Bull.Soc. Pathol.Exot.*, Paris, 5:313-9, 1912.
- 95 TONNEL, A.B. VOISIN, C.; LAFITTE, J.J.; RAMON, P.; AERTS, C. Variations de populations cellulaires recueillies par lavage bronchoalveolaire en fonction de la topographie des lesions et de l'etage explore. *Bull.Eur.Physiopathol.Respir.*, Oxford, 15:30, 1979.
- 96 UNANUE, R.S. & CEROTTINI, J.C. The function of macrophages in the immune response. *Semin.Hematol.*, New York, 7:225-43, 1970.
- 97 VELEZ, A.; RESTREPO, J.M.; LONDONO, P.F. Pulmonary function in paracoccidioidomycosis. In: PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. *Paracoccidioidomycosis; proceedings of the First Pan American Symposium, Medellin, Colombia, 1971*. Washington, 1972. p.170-6. (Scientific Publication, 254).

- 98 VOISIN, C.; GUILLAUME, J.; AERTS, C.; VAN MORLEGHEN, C.; GERNEZRIEUX, C. Culture in vitro de macrophages alveolaires de cobaye. Aspects morphologiques en microcinematographie. Activités phagocytaire et metabolique. C.R.Acad.Sci., Paris, 256:3504 - 6, 1963.
- 99 WEINBERGER, S.E.; KELMAN, J.A.; ELSON, N.A. Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Ann. Intern.Med.*, Philadelphia, 89:459-66, 1978.
- 100 WINTROBE, M.M. Leukocytes, the phagocytic and immunologic systems. In: _____. *Clinical hematology*. 8.ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1981. p.192-208.