

# O Pulmão Profundo em Laringectomizados

## Estudos Celulares

# The Deep Lung in Laryngectomized Patients

## Cellular Aspects

A.C. LOUREIRO <sup>(1)</sup>, JORGE MIGUÉIS <sup>(2)</sup>, A. MOTA PINTO <sup>(3)</sup>, C. ROBALO CORDEIRO <sup>(4)</sup>, M. JOÃO SANTOS <sup>(5)</sup>, ANTÓNIO CARLOS MIGUÉIS <sup>(6)</sup>, CELSO CHIEIRA <sup>(7)</sup>

SERVIÇO DE IMUNOALERGOLOGIA DOS HUC — SERVIÇO DE PNEUMOLOGIA  
(Director: Prof. Doutor A.J.A. Robalo Cordeiro)

SERVIÇO DE OTORRINOLARINGOLOGIA DOS HUC  
(Director: Prof. Doutor Diogo Paiva)

CENTRO DE IMUNOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DE COIMBRA  
(Director: Prof. Doutor M. A. Santos Rosa)

### RESUMO

As fossas nasais, durante a respiração, têm funções de acondicionamento do ar inspirado, traduzidas por processos de filtração, de aquecimento e de humidificação, constituindo, assim, um mecanismo de defesa inespecífico contra a penetração de agentes agressógenos às vias respiratórias inferiores. A exclusão desta barreira, em doentes laringectomizados por neoplasia laringea, poderá determinar, no pulmão profundo, uma maior sobrecarga inalatória e condicionar alterações celulares e humorais.

No presente trabalho procurou-se avaliar as repercussões celulares no pulmão profundo em doentes laringectomizados. Num total de 30 doentes (29 do sexo masculino e 1 do sexo feminino, com  $59,3 \pm 7,9$  anos de idade)

caracterizou-se no líquido de lavagem broncoalveolar a celularidade total e diferencial bem como as populações linfocitárias determinadas pelos anticorpos monoclonais CD2, CD4, CD8 e CD19. No sangue periférico foram também avaliadas as subpopulações linfocitárias pelos mesmos anticorpos.

A celularidade do LBA foi de  $444 \pm 307 \times 10^3/\text{ml}$  sendo, no grupo de controlo, (onze fumadores  $39,8 \pm 7,6$  anos de idade), de  $626 \pm 318 \times 10^3/\text{ml}$ . Ao comparar os grupos laringectomizado e fumador observaram-se diferenças significativas no valor percentual de macrófagos -  $70,4 \pm 17,8\%$  vs  $96,5 \pm 1,5\%$  - e de linfócitos -  $23,3 \pm 15,7\%$  vs  $2,9 \pm 1,07\%$  -.

As alterações observadas parecem estar mais relacionadas com a exposição ao fumo do tabaco do que com a exclusão das vias aéreas superiores.

(1) Assistente Hospitalar de Imunoalergologia - HUC.

(2) Assistente Hospitalar de Otorrinolaringologia dos HUC.

(3) Prof. Auxiliar de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra.

(4) Assistente Hospitalar de Pneumologia dos HUC.

(5) Assistente convidado de Imunologia da Faculdade de Medicina de Coimbra.

(6) Assistente Graduado de ORL dos HU. Professor Associado da Faculdade de Medicina de Coimbra.

(7) Chefe de Serviço de Imunoalergologia dos HUC.

## SUMMARY

In pulmonary respiration nasal cavities convey the air to the lungs, warm the breathed-in air, humidify it and cleanse it of fine dust, thus representing a non specific defense mechanism. The exclusion of this trap, in patients submitted to laryngectomy, means that inhaled air can convey a great amount of particles causing cellular and humoral changes in the deep lung.

We studied the cellular profiles of the deep lung in 30 patients submitted to laryngectomy (29 males, 1 female; mean age -  $59.3 \pm 7.9$  years). In Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) we analysed the total and differ-

ential cells and the lymphocyte population according to the monoclonal antibodies - CD2, CD4, CD8 and CD19. Peripheral lymphocyte populations were defined with the same antibodies.

Total cells in BALF of laryngectomized patients was  $444 \pm 307 \times 10^3$  /ml whereas in the control group, of 11 male smokers, was  $626 \pm 318 \times 10^3$  /ml. Comparing the two groups significant differences were found in the percentage values of macrophages -  $70.4 \pm 17.8$  vs  $96.5 \pm 1.5$  - and of lymphocytes -  $23.3 \pm 15.7$  vs  $2.9 \pm 1.07$ .

The changes observed seem to be more related with smoke exposure than with the exclusion of nasal airways.

## INTRODUÇÃO

Em cada ciclo respiratório o pulmão profundo é potencialmente exposto a uma multiplicidade de agressógenos veiculados pelo ar inspirado. No entanto, existem vários mecanismos de defesa nas vias aéreas superiores e inferiores que, actuando de uma forma concertada, contribuem para a manutenção de um normal ambiente estéril das unidades respiratórias terminais.

Desde logo, a cavidade nasal constitui uma primeira barreira à penetração desses agressógenos, e desempenha outras funções de acondicionamento, designadamente as de humedificação e de aquecimento do ar inspirado [1].

Nos processos de filtração, as vibrissas, ao estarem colocadas na parte anterior das fossas nasais, desempenham o primeiro papel de filtro retirando ao ar inspirado as partículas de grandes dimensões. Também, pela sua morfologia, as fossas nasais condicionam a formação de um fluxo turbulento que condiciona o impacto de substâncias particuladas com dimensões compreendidas entre os 10 e os 15 micra, particularmente, nas superfícies do septo, dos cornetos e da parede posterior da faringe [2]. Posteriormente, o impacto de partículas ocorre a nível da carina e das primeiras divisões brônquicas [3].

Aliás, são também de referir, com efectiva importância nos processos de acondicionamento do ar inspirado, as funções das secreções nasais. São uma substância de composição complexa, constituída por glicoproteínas, produtos glandulares e proteínas plasmáticas [4]. Têm a capacidade de aprisionarem o material impactado e, de uma forma selectiva, impedirem o íntimo contacto de agressógenos com a superfície

mucosa. Por acção dos batimentos ciliares e pelas suas características reológicas, as secreções são deslocadas para a orofaringe, sendo posteriormente eliminadas.

Mas, além desta acção de barreira e de drenagem a partículas inaladas, agentes microbianos e de remoção de gases tóxicos solúveis [5], como o dióxido de enxofre, o formaldeído e o ozono, as secreções nasais desempenham funções de defesa, através de efeito microbicida da lisozima e da lactoferrina e de uma maneira mais específica das imunoglobulinas A e G [6, 7, 8].

A intervenção de mecanismos celulares dependentes da mucosa nasal é reconhecida em diversa patologia loco-regional e, mais recentemente, constitui uma área de investigação actual na adopção e desenvolvimento de estratégias de imunização específica [9].

Um outro mecanismo de eliminação de agressógenos do ar inalado, que pode ocorrer a nível nasal, é representado pelo reflexo esternutatório, desencadeado pela irritação das terminações nervosas do trigémio.

A exclusão das vias aéreas nasais pela laryngectomia, praticada habitualmente em doentes portadores de neoplasia da laringe, e a consequente neutralização desse mecanismo de defesa, sugere a existência de uma potenciação da agressão inalatória a nível do pulmão profundo, com repercussões humorais e celulares.

## METODOLOGIA

Este estudo incluiu um grupo de 30 doentes que foram submetidos a laryngectomia por carcinoma da

larínge. Um doente do sexo feminino e 29 do sexo masculino com média de idades de  $59,3 \pm 7,9$  anos. Nos seus antecedentes, regista-se a existência de uma carga tabágica de  $37 \pm 18$  maços/ano.

Nestes doentes foram efectuadas broncofibroscopias para colheita de secreções traqueobronquiais e lavagem broncoalveolar, com recolha e processamento do líquido de lavagem após filtração com gaze esterilizado, segundo técnica adoptada no Centro de Pneumologia da Universidade de Coimbra.

No aspirado das secreções traqueobronquiais foram efectuados exames micobacteriológicos.

No líquido de lavagem broncoalveolar caracterizou-se a celularidade total e diferencial e fenotipagem linfocitária - CD2, CD4, CD8 e CD19.

Procedeu-se também à recolha de sangue periférico para caracterização dos fenótipos linfocitários referidos.

Diferindo 6 meses desta primeira avaliação, foi efectuada, em 12 dos doentes estudados (1 do sexo feminino e 11 do sexo masculino), uma nova avaliação dos fenótipos linfocitários - CD3, CD4, CD8 e CD19 - no líquido de lavagem broncoalveolar e no sangue periférico.

Num grupo controlo constituído por 11 fumadores do sexo masculino ( $39,8 \pm 7,6$  anos de idade e com uma carga tabágica de  $34 \pm 16$  maços/ano) foi avaliada, no líquido de lavagem broncoalveolar, a celularidade total e diferencial, bem como a marcação dos fenótipos CD2, CD4, CD8 e CD19. Caracterizaram-se, também, por estes anticorpos, as populações linfocitárias de sangue periférico.

De acordo com as variáveis existentes, a análise estatística incidiu sobre a distribuição de frequências, cálculo de média geométrica e aritmética e teste t de Student [10].

## RESULTADOS

A celularidade total no LBA foi de  $626 \pm 318 \times 10^3/\text{ml}$  no grupo de indivíduos fumadores, sendo de  $444 \pm 307 \times 10^3/\text{ml}$  no grupo de laringectomizados (Fig.1). A comparação dos valores das contagens diferenciais evidenciou diferenças significativas nestes

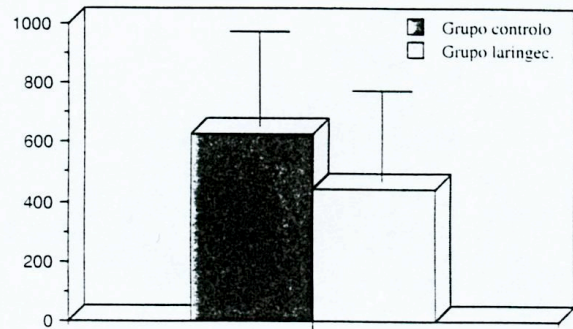


Fig. 1 - Celularidade do LBA, no grupo de controlo e no de doentes laringectomizados.

dois grupos, no que diz respeito, respectivamente ao valor percentual de linfócitos -  $2,9 \pm 1,07\%$  VS  $23,3 \pm 15,7\%$  - e de macrófagos -  $96,1 \pm 1,5$  VS  $70,4 \pm 17,8\%$  - (Fig.2).

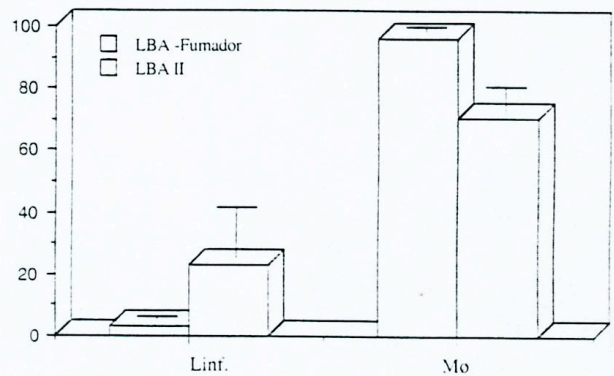


Fig. 2 - Valor percentual de linfócitos e macrófagos no LBA do grupo de controlo e de doentes laringectomizados.

Na caracterização fenotípica dos linfócitos do LBA registaram-se, nos dois grupos considerados (controlo e laringectomizados), os seguintes valores: CD2 -  $88,5 \pm 7,4$  e de  $78,7 \pm 8,1$ ; CD4 -  $41,3 \pm 17,9$  e de  $48,5 \pm 14,8$ ; - CD8 -  $36 \pm 15,7$  e de  $31,2 \pm 15,1$ ; - CD19 - de  $6,3 \pm 4,8$  e de  $6,4 \pm 7,1$  (Fig.3).

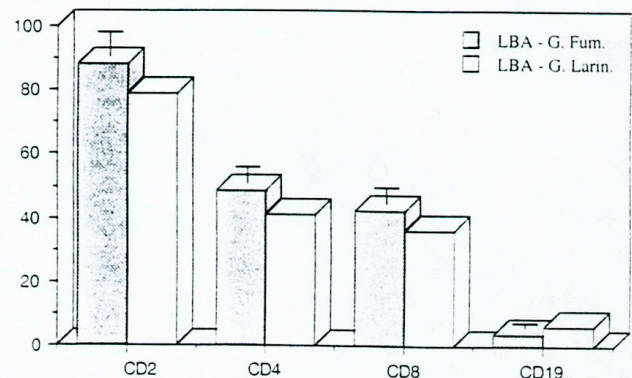


Fig. 3 - Caracterização fenotípica de linfócitos no LBA, no grupo de controlo e no de doentes laringectomizados.

Em relação à marcação linfocitária de sangue periférico não foram observadas diferenças significativas nos grupos estudados (Fig.4). Os valores de CD2 foram, respectivamente para o grupo de fumadores e de laringectomizados, de  $75,5 \pm 13,1$  vs  $80,5 \pm 15,6$ , para CD4 de  $42 \pm 8,9$  vs  $39,7 \pm 12,3$ , para o CD8 de  $34,3 \pm 7,8$  vs  $31,6 \pm 9,2$  e para CD19 de  $9,7 \pm 11,5$  vs  $11,9 \pm 14,3$ .

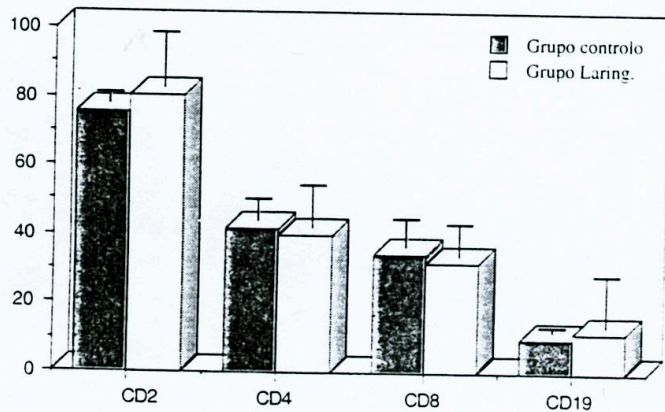


Fig. 4 - Fenótipos linfocitários no sangue, no grupo de controlo e no de doentes laringectomizados.

Na fig. 5 apresentam-se os resultados da segunda marcação linfocitária, do LBA e do sangue periférico, de doentes laringectomizados.

No exame micobacteriológico do aspirado traqueobrônquico foi identificada a presença de *Staphylococcus aureus* em 2 amostras, *Candida albicans* em 2 e em 3 a presença de flora polimicrobiana.

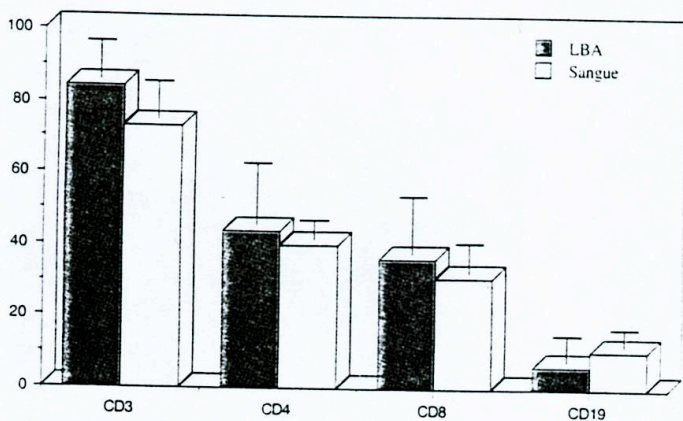


Fig. 5 - Fenótipos linfocitários no LBA e no sangue periférico de doentes laringectomizados, 6 meses após a primeira avaliação.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A exposição ao fumo do tabaco parece ter sido o factor que mais influência teve nos resultados obtidos. Com efeito, a agressão pelo fumo do tabaco determina, particularmente, a nível do pulmão profundo, uma estimulação da linha macrofágica e da população linfocitária CD8 [11,12] e que foi observado no grupo de controlo estudado.

A suspensão dos hábitos tabágicos ( $37 \pm 18$  maços/ano), pelos indivíduos laringectomizados, desde os três meses que antecederam a realização dos estudos, poderá explicar os valores de celularidade observados. De facto, a eliminação da estimulação, representada pela inalação de tabaco, determina uma diminuição da população macrofágica, ditada pela fagocitose e também pela eliminação directa de macrófagos carregados de material particulado nas secreções brônquicas. Este facto representado pela redução do número de macrófagos explica, por outro lado, a linfocitose observada nos doentes laringectomizados.

No pulmão os macrófagos são uma população morfológica e funcionalmente heterogénea, de acordo com a sua localização alveolar, intersticial, intravascular ou nas vias de condução [13]. Teria sido importante esclarecer se a redução do número de macrófagos se acompanhou de alterações de funcionalidade, nomeadamente pelo doseamento de neoptina [14].

A presença de neutrófilos no líquido de lavagem broncoalveolar correlacionou-se com a presença de microorganismos evidenciada nas secreções traqueobrônquicas.

De referir que a laringectomia determina nestes doentes traços psicológicos com implicações sócio-familiares e integração no meio profissional, com alterações do seu *modus vivendi*, e eventual redução de exposição a ambientes poluídos.

Por outro lado, a integridade de mecanismos de defesa inespecíficos, a nível das vias aéreas inferiores, particularmente os representados pelo tapete mucociliar e pelos reflexos da tosse e/ou da broncoconstrição, pode assegurar eficazmente a eliminação de material particulado.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Arthur C Guyton. Ventilación pulmonar. In: Tratado de Fisiología Médica. Ed. Importecnica SA. 1977; 525.
- [2] Newhouse M, Sanchis J, Bienenstock J. Lung defense mechanisms. *N Engl J Med* 1976, 295; 18 : 990 - 8.
- [3] Hoffman RA, Billingham J. Effect of altered G levels on deposition of particulates in the human respiratory tract. *J Appl Physiol* 1975, 38: 955-60.
- [4] Kaliner M, Shelhamer JH, Borson B, Nadel J, Patow C, Maron Z. Human respiratory mucus. *Am Rev Respir Dis* 1986, 134: 612-21.
- [5] Landahl HD, Herrmann RG. Retention of vapors and gases in the human nose and lung. *Arch Ind Hyg* 1950, 1: 36-45.
- [6] Kaliner MA. Human nasal host defense and sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992,90, 3: 424-30.
- [7] Brandtzaeg P. Immune functions of human nasal mucosa and tonsils in health and disease. In: Bienenstock J, Ed. *Immunology of the lung and upper respiratory tract*. New York: McGraw Hill, 1984: 28-95.
- [8] Meredith SD, Raphael GD, Baraniuk JN, Banks SM, Kaliner MA. The pathogenesis of rhinitis. Iii. The control of IgG secretion. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 920-30.
- [9] Jerry R, Hiroshi K. Effective mucosal immunity. Current concepts for vaccine delivery and immune response analysis. *Intl J Technology Assessment in Heealth Care* 1994, 10; 1: 93-106.
- [10] Armitage P, Berry G. *Statistical methods in medical research* (2nd edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1987.
- [11] Costabel U, Bross KJ, Reuter C, Ruhle KH, Mattys H. Alterations in immunoregulatory T-cell subsets in cigarette smokers. A phenotypic analysis of broncho-alveolar and blood monocytes. *Chest* 1986, 90: 39-44.
- [12] Fells AOS, Conh ZA. The alveolar macrophage. *J Appl Physiol* 1986,60: 353-69.
- [13] Yves S, Herbert YR. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am Rev Respir Dis* 1990, 141: 471-501.
- [14] Mota Pinto A, Santos Rosa MA, Leite CP, Robalo Cordeiro AJA. Estudos de neoptrina na sarcoidose. *Via Pneumológica* 1989, vol II (nº2): 117-20.