DENISE MOREIRA DE ANDRADE COTRIM

**Estudo das interleucinas no processo inflamatório
na doença pulmonar obstrutiva crônica**

Tese apresentada ao Departamento de Cardio-
Pneumologia da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Pneumologia

Orientador: Prof. Dr. Alberto Cukier

São Paulo

2004

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cotrim, Denise Moreira de Andrade

Estudo das interleucinas no processo inflamatório na doença pulmonar obstrutiva crônica / Denise Moreira de Andrade Cotrim. -- São Paulo, 2004.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Pneumologia.

Orientador: Alberto Cukier.

Descritores: 1.DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA/fisiopatologia
2.CORTICOSTERÓIDES/uso terapêutico 3.PREDNISONA/uso terapêutico
4.MEDIADORES DA INFLAMAÇÃO 5.ESCARRO 6.INTERLEUCINA-4/química
7.INTERLEUCINA-6/química 8.INTERLEUCINA-8/química 9.SEGUIMENTOS

USP/FM/SBD-226/04

A meus pais, responsáveis por minha existência e formação.

A Marco e a meus filhos, Marco e Patrícia, pelo apoio,
compreensão e carinho.

A meu orientador, Prof. Dr. Alberto Cukier, responsável pelo meu retorno à vida acadêmica.

Ao Dr. Rafael Stelmach pelo estímulo e apoio.

Ao Dr. Marcos Ribeiro por sua colaboração no Ambulatório de DPOC.

À Dra. Maria do Patrocínio Tenório Nunes por sua participação na elaboração do projeto.

AGRADECIMENTOS

Avivia Marise Cukier

Beatriz Manguiera Saraiva Romanholo

Carine Savalli Redígolo

Kátia Sansivieri

Milena Marques Pagliarelli Ascêncio

Mônica Couto Machado

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Conceito de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	4
1.2. Escarro na DPOC	5
1.3. O Processo Inflamatório em DPOC	6
1.3.1. Fenótipos da Doença	7
1.3.2. Compartimentos pulmonares	7
1.3.3. Processo Inflamatório	8
1.3.4. Interleucinas no Escarro Induzido	9
1.4. Exacerbações em DPOC	11
1.5. Corticóide em DPOC	13
1.5.1. Corticóide nas Exacerbações	13
1.5.2. Corticóide na DPOC Estável	13
2. OBJETIVO	17
3. CASUÍSTICA E MÉTODO	19
3.1. Critérios de Inclusão	20
3.2. Critérios de Exclusão	21
3.3. Método	21
3.4. Escarro Induzido	25
3.5. Dosagem de Citocinas	27
3.6. Metodologia Estatística	29
4. RESULTADOS	31
4.1. Características da População Estudada	32
4.2. Comportamento das Variáveis nas Avaliações	35
4.2.1. Variáveis espirométricas	36
4.2.2. Celularidade do escarro	39
4.2.3. Dosagem de Interleucinas	49
4.2.4. Questionários de qualidade de vida	61
5. DISCUSSÃO	63
6. CONCLUSÕES	76
7. ANEXOS	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

LISTA DE ABREVIATURAS

DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

GOLD: Global Iniciativa for Chronic Obstructive Lung Disease

IL: Interleucina

TNF α : Fator de Necrose Tumoral α

VEF₁: Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo

CVF: Capacidade Vital Forçada

LTB-4: Leucotrieno B-4

EOS%: porcentagem de eosinófilos

NEUT%: porcentagem de neutrófilos

MACRO%: porcentagem de macrófagos

TX10⁶: total de células, multiplicado por 10⁶

Log: logarítimo

CRF: Capacidade Residual Funcional

CPT: Capacidade Pulmonar Total

VR: Volume Residual

CI: Capacidade Inspiratória

D/VA: Difusão/ Ventilação Alveolar

SAT O₂%: Porcentagem de Saturação de Oxigênio

V0: Visita Basal

V1: Visita em uso de 40 mg de prednisona

EXAC: Visita realizada por ocasião da exacerbação

APÓS: Visita realizada após tratamento

RDB: resposta ao broncodilatador

ECP: proteína eosinofílica catiônica

$\geq$: maior ou igual à

$<$: menor

% : porcentagem

n: número de pacientes

ID: identificação do paciente

RESUMO

Embora a utilização do corticóide oral não seja indicada no tratamento de manutenção na doença pulmonar obstrutiva crônica, identificamos em nosso ambulatório, um grupo de pacientes que fazem uso desta medicação de forma continuada e, nos quais, todas as tentativas anteriores de retirada da medicação, havia resultado em exacerbação dos sintomas. O objetivo deste estudo foi o de analisar os fenômenos inflamatórios associados à tentativa de redução progressiva do corticóide oral nesses doentes. Avaliamos o escarro induzido de 14 pacientes usuários crônicos de corticóide. Após a avaliação basal, realizada enquanto os pacientes faziam uso de sua dose habitual da medicação (V0), procedemos ao aumento da prednisona a 40 mg por dia, por duas semanas (V1). A seguir, reduzimos progressivamente a dose até que ocorresse uma exacerbação (EXAC), quando a dose de 40 mg de prednisona foi re-introduzida por duas semanas (APÓS). Comparamos os resultados deste grupo aos de um grupo de pacientes portadores de DPOC não-usuários de corticóide oral. Esses pacientes foram avaliados na condição basal (V0), quando exacerbaram (EXAC) e após o tratamento com 40 mg de prednisona, por duas semanas (APÓS). As variáveis analisadas no escarro foram: % de neutrófilos, % de eosinófilos, % de macrófagos, número total de células, interleucinas 4, 6 e 8. Constatamos que o grupo corticóide apresentou um aumento significativo na porcentagem de eosinófilos na exacerbação em relação a V0, e uma redução significativa em APÓS, em relação a EXAC. Isto não ocorreu no grupo não-corticóide. Ao compararmos os dois grupos, observamos que a concentração das interleucinas 4, 6 e 8, foi significativamente mais alta no grupo corticóide em V0 e na exacerbação em relação ao grupo não-corticóide. Quando analisamos o comportamento das interleucinas nas avaliações seqüenciais, dentro de cada grupo, observamos que a interleucina 4 tendeu à elevação na exacerbação, no grupo corticóide, sem atingir, entretanto, significância estatística. As interleucinas 6 e 8 aumentaram significativamente no grupo corticóide na visita APÓS. Concluimos que a retirada progressiva de corticóide oral induz a exacerbação em pacientes com DPOC corticóide-dependentes com um processo inflamatório eosinofílico, que tende à reversão após o aumento da dose do corticóide.

SUMMARY

Although in chronic obstructive lung disease the use of oral corticoid is not indicated in the maintenance treatment, we identified a group of patients that make use of this medication continuously. The objective of this study was to analyze the inflammatory phenomena associated to the attempt of progressive reduction of oral corticoids in these patients. We evaluated induced sputum of 14 patients on long-term use of oral corticoids. After the basal evaluation, accomplished while the patients made use of their habitual dose of the medication (V0), we increased the dose of prednisone to 40 mg daily for two weeks (V1). To proceed we reduced the dose progressively until an exacerbation occurred (EXAC), when the dose of prednisone 40 mg daily was reintroduced for two weeks (AFTER). We compared the results to a group of patients with COPD not on use of oral corticoids, that were appraised in the basal condition (V0), when they exacerbated (EXAC) and after the treatment with prednisone 40 mg daily for two weeks (AFTER). The variables analyzed in the sputum were: %, % of neutrophils, % of eosinophils, % of macrophages, total number of cells, interleukins 4, 6 and 8. We verified that the corticoid group presented a significant increase in the percentage of eosinophils at the exacerbation in relation to V0, and a significant reduction in AFTER in relation to EXAC. This didn't happen in the non corticoid group. When we compared the two groups we observed that the concentration of the interleukins was significantly higher in corticoid group in V0 and at the exacerbation in relation to the non corticoid group. When we analyzed the behavior of the interleukins along the evaluations in each group we observed that interleukin 4 tended to an elevation at the exacerbation in the corticoid group, without reaching statistical significance. Interleukins 6 and 8 increased significantly in the corticoid group in the visit AFTER. We concluded that the progressive reduction of oral corticoid induces exacerbation in patients with COPD on long-term use of prednisone with an eosinophilic inflammatory process that tends to reverse after the increase of the dose of the corticoid.

1. INTRODUÇÃO

A Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é importante causa de morbiletalidade. Tem incidência elevada, encontra-se ainda em ascensão e acredita-se que se tornará a terceira causa mais comum de morte e a quinta razão de incapacidade no mundo, em 2020. (1)

O principal fator associado ao desenvolvimento de DPOC é o tabagismo (2). Além deste, outros aspectos parecem estar relacionados ao desenvolvimento de DPOC: exposição ocupacional, deficiência de α_1 antitripsina, poluição ambiental, exposição passiva à fumaça do cigarro, infecções respiratórias virais, fatores sócio-econômicos, causas nutricionais, ingestão de álcool, sexo e relações familiares mal definidas (3).

Embora grandes avanços tenham ocorrido na compreensão e no tratamento da asma, em relação à DPOC, nenhuma terapia atual, exceto a cessação do tabagismo e o uso de oxigênio em pacientes hipóxicos, pode alterar o curso inexorável da doença, que evolui com limitação lentamente progressiva ao fluxo aéreo, levando à incapacidade e morte prematura.

DPOC é, na realidade, um termo impreciso que inclui pelo menos três situações clínicas reconhecidas, que ocorrem em adultos e que podem se superpor: bronquite crônica, bronquiolite crônica e enfisema (4). As duas primeiras situações são consideradas condições inflamatórias. No entanto, até recentemente, a definição da doença se baseava apenas em critérios

clínicos e funcionais. Com a introdução de métodos menos invasivos, como a broncoscopia flexível e o escarro induzido, o conceito de doença inflamatória foi estabelecido.

A constante mudança nas propostas de classificação das doenças obstrutivas crônicas, no decorrer dos anos, reflete a superposição entre elas, particularmente com a asma (5,6,7). Não surpreende, portanto, que o tratamento proposto para esta seja freqüentemente administrado para DPOC, mesmo sem evidências científicas definidas da existência de benefícios.

Não podemos dizer que a inflamação seja sempre deletéria e inevitavelmente prossiga para injúria tissular pois, paradoxalmente, a inflamação é a chave dos mecanismos de defesa e, pelo menos no curto prazo, ela tem ação protetora para o organismo. No entanto, na DPOC, por mecanismos ainda não bem compreendidos, não ocorre a resolução do processo inflamatório.

Embora hoje tenhamos compreensão dos mecanismos da inflamação aguda, pouco sabemos sobre a indução e o controle da inflamação crônica que ocorre nas vias aéreas e no parênquima pulmonar na DPOC.

A pesquisa de novas terapias tem estimulado a compreensão dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos na doença. O desenvolvimento ocorrido na Biologia Molecular e Celular forneceu novos conceitos e chaves para a investigação do processo inflamatório no pulmão.

Corticóides inalatórios são hoje a base do tratamento da asma persistente. Na DPOC sua utilidade é controversa, alguns estudos demonstram que a inflamação não é suprimida mesmo com o uso de altas

doses de corticóide inalado (8), outros estudos (9) relatam redução na atividade quimiotóxica nas secreções pulmonares e melhora na relação proteinase/antiproteinase com o seu emprego. A utilização de corticóides sistêmicos, eficientes no tratamento da asma grave, é contra-indicada na DPOC estável, embora se reconheça que aproximadamente 10% dos pacientes com DPOC mostram melhora sintomática e objetiva com o uso de corticóide oral (10).

Estes achados sugerem que existe uma subpopulação de pacientes com DPOC, com características inflamatórias que os relacionam ao processo inflamatório que ocorre na asma. Visando à melhor compreensão deste processo nessa população específica, delineou-se este estudo.

1.1. Conceito de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

A definição de DPOC é controversa e consensos internacionais tentaram uniformizá-la nos últimos anos.

DPOC é um estado de doença caracterizado pela limitação do fluxo aéreo que não é totalmente reversível. A limitação ao fluxo aéreo é geralmente progressiva e está associada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões a partículas ou gases nocivos (11).

A maior parte dos pacientes com DPOC apresenta os três mecanismos patológicos: bronquiolite obstrutiva crônica, enfisema e hipersecreção de muco, que ocorrem em menor ou maior grau (12)

1.2. Escarro na DPOC

Escarro é uma amostra de líquidos, normais ou alterados, da via aérea, e é formado por secreção de glândulas brônquicas, células caliciformes, células ciliadas e material exsudado da circulação brônquica.

Escarro induzido é a combinação de muco “residente”, secreções bronquiais frescas e, provavelmente, transudado vascular. O escarro induzido apresenta diferentes fases fluidas e maior viabilidade celular, quando comparado com escarro espontâneo. Isto sugere que células sanguíneas e outras substâncias possam ser recrutadas para o escarro durante a manobra de indução (13).

A técnica do escarro induzido foi utilizada inicialmente para diagnóstico de câncer de pulmão e, a seguir, na investigação da Tuberculose e de infecções oportunistas.

No início da década passada, o método foi modificado com o objetivo de aumentar a sua segurança e passou a ser utilizado no estudo das vias aéreas de asmáticos. Em meados da década de 90, o método foi adaptado para utilização em pacientes com DPOC, com maior segurança (14). A utilização do escarro induzido facilitou os estudos sobre inflamação das vias aéreas. Estudos recentes de celularidade no escarro demonstraram a consistência, responsividade e validade do método (15). Estudo realizado (16) com escarro induzido em doze pacientes portadores de DPOC moderada em três ocasiões diferentes, com intervalo de quatro semanas, mostrou que a estabilidade clínica está associada a estabilidade nos

marcadores inflamatórios do escarro, mesmo durante longos períodos de tempo. Estes dados sustentam a utilização da monitorização seriada dos marcadores inflamatórios no escarro induzido em pacientes com DPOC.

Estudo realizado por Belda (17) com 96 voluntários saudáveis mostra o comportamento celular no escarro desta população e confirma o predomínio de macrófagos (TABELA 1).

TABELA 1 - CELULARIDADE NO ESCARRO DE PACIENTES SAUDÁVEIS

<i>CÉLULA</i>	<i>PERCENTUAL (%)</i>
Macrófagos	58,8 ± 21,0
Neutrófilos	37,5 ± 20,1
Linfócitos	1,0 ± 1,1
Eosinófilos	0,4 ± 0,9
Basófilos/Mastócitos	0,0 ± 0,04
Células Epiteliais Brônquicas	1,6 ± 3,9

1.3. O Processo Inflamatório em DPOC

Neutrófilos, linfócitos, macrófagos e eosinófilos estão envolvidos no processo inflamatório da DPOC. No entanto, a célula predominante varia de publicação para publicação, geralmente dependendo do método utilizado ou da seleção do paciente. Três aspectos principais precisam ser considerados para melhor compreensão deste processo: fenótipo da doença, compartimentalização do pulmão e o processo inflamatório em si.

1.3.1. Fenótipos da Doença

Cosio (13) propõe a utilização da tabela abaixo descrita, com a utilização dos diferentes fenótipos da doença, permitindo que a análise dos dados do padrão inflamatório encontrado, em cada publicação, caracterize os diferentes grupos de doentes (TABELA 2).

TABELA 2 - FENÓTIPOS DAS DOENÇAS ASSOCIADAS AO TABAGISMO

-
- 1- Fumante saudável: função normal, sem Bronquite Crônica
 - 2- Bronquite Crônica: função normal
 - 3- DPOC
 - Sem Bronquite Crônica
 - Com Bronquite Crônica
 - 4- Em cada grupo: anos-maço de tabagismo
 - 5- Enfisema : presente, ausente, tipo
 - 6- Reatividade da via aérea
 - Resposta à broncoprovocação
 - Resposta ao broncodilatador
-

1.3.2. Compartimentos pulmonares

A inflamação pulmonar tem sido estudada através de três diferentes métodos: escarro (espontâneo ou induzido), lavado (bronquial ou broncoalveolar) e biópsias (por broncoscopia ou cirúrgica). Cada método, de forma esperada, identifica diferentes populações celulares, pois avalia diferentes partes do pulmão.

Os achados do lavado bronco-alveolar são diferentes do escarro pois, enquanto essa técnica faz amostragem, principalmente, do compartimento alveolar, o escarro faz amostragem do compartimento brônquico. De modo geral, o lavado costuma ter mais macrófagos, enquanto o escarro, mais neutrófilos. Parece haver boa correlação apenas para eosinófilos, entre o escarro, o lavado e biópsias pulmonares (18). No entanto, biópsias brônquicas não devem ser consideradas “padrão ouro” na comparação com o escarro e o lavado, visto que biópsias fazem amostragem de outro compartimento pulmonar.

1.3.3. Processo Inflamatório

Acredita-se hoje que as células envolvidas com o processo inflamatório em DPOC sejam: neutrófilos, macrófagos alveolares, linfócitos T (CD8) e eosinófilos.

Rutgers (19) avaliou o escarro induzido em pacientes com DPOC e em pacientes saudáveis. (TABELA 3):

TABELA 3 - CELULARIDADE NO ESCARRO DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS E PORTADORES DE DPOC

CÉLULA	NORMAL	DPOC
MACRÓFAGOS	57,3 (34,2-76,7)	19,4 (4,8-63,7)
NEUTRÓFILOS	35,7 (17,6-59,7)	77,3 (29,1-94,2)
LINFÓCITOS	3,5 (1-7,2)	1,9 (0,7-6)
EOSINÓFILOS	0,2 (0-3,1)	1,2 (0-8,5)
CÉLULAS EPIT. BRONQ.	1,8 (0,1-18,8)	0,1 (0-2,8)
TOTAL X 10 ⁶	1,2 (0,8- 3,2)	2,6 (0,4-29,3)

Hargreave (20) sugere que sejam considerados normais: eosinófilos < 3%, neutrófilos < 36% e linfócitos < 2%. Como o número total de células costuma variar, deve-se dar maior importância à proporção de cada tipo celular e não a seu número absoluto.

Na compreensão do processo inflamatório, deve-se considerar a relação dose/efeito ou o tempo na vida do paciente em que o estudo é realizado. Em jovens fumantes, a lesão característica encontrada é o acúmulo de macrófagos pigmentados em bronquíolos respiratórios (21).

1.3.4. Interleucinas no Escarro Induzido

A produção de citocinas pró-inflamatórias e sua influência sobre células inflamatórias nas doenças alérgicas, tais como asma e rinite, têm sido amplamente estudadas (22). Mais recentemente, o foco de interesse direcionou-se no papel das citocinas pró-inflamatórias, na patogênese de doenças não alérgicas, como a DPOC. Existem algumas diferenças encontradas entre o repertório celular e humoral envolvidos nestes dois processos (23,24) (TABELA 4)

TABELA 4 - PADRÃO INFLAMATÓRIO EM DPOC E EM ASMA

DPOC	ASMA
NEUTRÓFILOS	EOSÍNÓFILOS ATIVADOS
MACRÓFAGOS	BASÓFILOS
LINFÓCITOS CD 8	MASTÓCITOS
LEUCOTRIENO LTB4	LINFÓCITOS CD4 helper (Th2)
TNF α	LTB4, IGE, HISTAMINA
INTERLEUCINA 8	IL4, IL5, IL6 E IL13

No entanto, estudos recentes têm demonstrado uma significativa sobreposição entre Asma e DPOC, com elevado número de neutrófilos em formas graves de Asma (25) e elevado número de eosinófilos ativados em DPOC estável (26,27).

Os neutrófilos têm sido implicados na patogênese de uma série de doenças inflamatórias, incluindo DPOC, e contêm agentes capazes não só de causar injúria tissular, mas também de gerar novos agentes quimiotáticos. Entender os mecanismos que levam à neutrofilia das vias aéreas é muito importante, pois substâncias com atividade anti-quimiotática podem se tornar alvos no desenvolvimento de futuras drogas anti-inflamatórias, que reduziriam a taxa de declínio funcional desses pacientes, diminuindo a destruição induzida por neutrófilos.

Membros da superfamília das citocinas quimiotáticas parecem ser as mais potentes citocinas com ação quimiotática e podem ser divididas em alfa e beta, de acordo com a presença ou a ausência de aminoácidos entre os dois primeiros e o quarto resíduo de cisteína.

Interleucina 8 (alfa citocina interleucina) é uma das mais potentes citocinas e tem importante ação na quimiotaxia e na ativação de neutrófilos. É provável que a IL-8 esteja envolvida no recrutamento e na ativação de neutrófilos nas vias aéreas de pacientes com DPOC. A fonte de IL8 podem ser macrófagos, neutrófilos ou células epiteliais (28).

Estudo realizado em pacientes com DPOC em exacerbação grave (29), por meio de biópsia brônquica, mostrou aumento no número de neutrófilos e de células expressando genes para substâncias quimiotáticas

de neutrófilos, entre as quais a CXCL5 e a CXCL8. CXCL 5 é uma citocina derivada de célula epitelial e com atividade quimiotática para neutrófilo, e a CXCL8 é a interleucina 8 que possui atividade quimiotática para neutrófilos e, em menor grau, para eosinófilos.

1.4. Exacerbações em DPOC

O curso progressivo da DPOC é complicado por exacerbações originadas por diversas causas e que tendem a ocorrer com maior frequência à medida que a doença progride (GOLD). As exacerbações estão associadas ao declínio do estado de saúde e levam, muitas vezes, a internações hospitalares que correspondem a grande parte do custo do tratamento da doença (30)

O diagnóstico da ocorrência de uma exacerbação é feito, geralmente, com base em determinados sintomas clínicos (aumento da tosse e da quantidade de secreção, aumento da purulência do escarro e piora da dispnéia) ou pela redução da função pulmonar (31,32). No entanto, em pacientes com DPOC, as alterações espirométricas associadas à exacerbação podem ser pequenas (32). Embora se presuma que as exacerbações estejam associadas a um aumento na inflamação, como ocorre em pacientes com asma, são poucas as informações sobre a natureza desses marcadores inflamatórios, principalmente quando estudados no início dos sintomas. A relação entre a gravidade das

alterações que ocorrem nas vias aéreas e a gravidade dos sintomas na exacerbação é desconhecida. Também não se sabe se o grau de inflamação afeta a gravidade da exacerbação (33).

Existem poucas informações sobre os marcadores inflamatórios na exacerbação em pacientes com DPOC moderada a grave. A coleta de biópsias destes pacientes durante uma exacerbação é um procedimento difícil. A técnica do escarro induzido permite estudar esses pacientes e demonstrou ser segura e bem tolerada (34).

Um estudo realizado com biópsia brônquica em pacientes com bronquite crônica, durante uma exacerbação (35), mostrou eosinofilia nas vias aéreas; no entanto, esses pacientes apresentavam VEF₁ médio de 76%.

Aaron (36) avaliou 14 pacientes portadores de DPOC, com VEF₁ médio de 37%, durante uma exacerbação, e observou um aumento no número de neutrófilos e de seus marcadores (Fator de Necrose Tumoral α - TNF α e Interleucina 8 - IL8) nas vias aéreas.

A influência das substâncias quimiotáticas e dos seus receptores no recrutamento e acúmulo tissular dos neutrófilos, durante a exacerbação, e a relação dessas alterações com infecção e sintomas são pouco compreendidas (37).

1.5. Corticóide em DPOC

1.5.1. Corticóide nas Exacerbações

O uso de corticóides orais ou intravenosos é recomendado no tratamento hospitalar das exacerbações (GOLD).

Em estudo realizado por Neiwoehner (38), foi administrado corticóide ou placebo, em pacientes exacerbados, por duas a oito semanas; houve melhora no grupo que recebeu corticóide, principalmente nas duas primeiras semanas. No grupo tratado houve menor índice de falência de tratamento, menor tempo de internação hospitalar e maior aumento do VEF₁ nas primeiras 24 horas.

Em estudo realizado por Wedzicha (39), pacientes portadores de DPOC que sofreram exacerbação foram tratados com prednisolona 30mg/dia, ou placebo, durante 14 dias. O VEF₁ pós-broncodilatador aumentou mais e, mais e de maneira mais rápida, no grupo tratado com corticóide; além disto, o tempo de internação hospitalar foi menor no grupo corticóide.

1.5.2. Corticóide na DPOC Estável

O uso de corticóides orais, a longo prazo, não é recomendado na DPOC, e a utilização de corticóides inalados é apropriada apenas para pacientes com DPOC sintomática, com uma resposta espirométrica documentada ao uso de corticóides inalados ou para aqueles com VEF₁

menor que 50% do previsto e com exacerbações repetidas que precisam de tratamento com antibióticos ou corticóides orais (GOLD).

Como a DOPC é uma doença pulmonar inflamatória, o uso de uma droga antiinflamatória poderia parecer indicado. Pacientes com DPOC têm evidência de obstrução bronquiolar devido à fibrose e infiltração das paredes bronquiolares por macrófagos e linfócitos. O lavado broncoalveolar e o escarro induzido desses pacientes apresentam aumento no número de macrófagos, neutrófilos e eosinófilos. Existe também o aumento na concentração de marcadores inflamatórios (particularmente: LTB-4, TNF α e IL8)(40). A gravidade da inflamação tem sido associada à gravidade da obstrução das vias aéreas. Suporte para o uso de corticóide poderia ser derivado do fato de existir evidência de hiper-reatividade das vias aéreas em DPOC. Em estudo realizado por Taskin e colaboradores (41) em portadores de DPOC, em mais de dois terços dos pacientes (n=5733) ocorreu broncoespasmo significativo após inalação com metacolina, e a resposta à metacolina foi um preditor importante da progressão da doença, independentemente do grau de obstrução basal. Mahler (42) encontrou que 65% dos pacientes com DPOC tinham broncodilatação positiva quando inalavam salbutamol (aumento maior que 200 cc e/ou $\geq 12\%$ no VEF₁).

Portanto, não somente existe evidência de inflamação persistente, como também existe evidência de hiper-reatividade das vias aéreas com algum grau de reversão da obstrução.

A maior parte dos estudos que avaliam o uso de corticóide, a curto prazo, focalizaram apenas mudanças na espirometria.

Dois grandes trabalhos analisaram o efeito de corticóide inalado em pacientes com DPOC moderada a grave: o ISOLDE e o *Lung Health Study* (43,44). Ambos demonstraram não haver diferença na taxa de declínio do VEF₁ no grupo tratado. No entanto, eles apresentaram outros benefícios clinicamente relevantes. O ISOLDE reportou redução no número de exacerbações, nas taxas de declínio do estado de saúde e de abandono do estudo em razão da doença respiratória. O *Lung Health Study* mostrou redução nos sintomas respiratórios, diminuição no uso de serviços de saúde e melhora na reatividade das vias aéreas. Outro dado que dá suporte ao uso de corticóide inalado em DPOC inclui dado relatado pelo ISOLDE na fase pré-estudo. Dos 272 pacientes envolvidos, 160 estavam em uso de corticóide inalado e, nesta fase, os pacientes tiveram de parar o procedimento. Nas sete semanas seguintes 38% destes pacientes sofreram exacerbação, contra 6% dos que não faziam uso anterior de corticóide.

Pizzichini e colaboradores (14) avaliaram o uso de prednisona 30mg/dia durante 14 dias em pacientes com DPOC grave e observaram que, em pacientes com aumento de eosinófilos no escarro (>3%), houve melhora na dispnéia de esforço, na qualidade de vida e discreta melhora no VEF₁. Além disso, após o tratamento, ocorreu declínio significativo no número de eosinófilos, na concentração de proteína eosinofílica catiônica e na concentração de fibrinogênio no escarro induzido.

Em outro estudo (45) foi avaliado o efeito de corticóide em 24 pacientes portadores de DPOC (VEF₁ médio 40,5%). Os pacientes receberam prednisona 20 mg/dia durante duas semanas. O número de

eosinófilos na situação basal se relacionou de forma significativa com o grau de reversibilidade de obstrução das vias aéreas, após o tratamento.

Visto que apenas um subgrupo de pacientes com DPOC estável responde a corticóide sistêmico, a dúvida é se existem bons parâmetros ou variáveis que identifiquem os mais prováveis respondedores (40).

2. OBJETIVO

Avaliar a evolução do processo inflamatório, no estado basal e durante a ocorrência de exacerbação, por meio do escarro induzido, em pacientes com DPOC.

3. CASUÍSTICA E MÉTODO

Avaliaram-se pacientes do ambulatório de DPOC do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, com idade superior a quarenta anos, fumantes ou ex-fumantes.

GRUPO 1: pacientes que faziam uso crônico de corticóide oral. Estes pacientes faziam uso contínuo de corticóide oral, havia, pelo menos 6 meses. O corticóide fora introduzido durante uma exacerbação e, a partir daí, não se conseguiu retirar a medicação. Todas as tentativas de retirada da droga haviam resultado em exacerbação dos sintomas.

GRUPO 2: pacientes do mesmo ambulatório e com as mesmas características clínicas, mas que não faziam uso contínuo de corticóide oral.

3.1. Critérios de Inclusão

Pacientes com idade superior a 40 anos, fumantes ou ex-fumantes que apresentam dispnéia e/ou tosse produtiva, ou não, há pelo menos dois anos, com $VEF_1/CVF < 0,70$. Para inclusão no grupo 1, os pacientes deveriam fazer uso do corticóide oral há pelo menos 6 meses. Tal caracterização foi feita por registro em prontuário e/ou relato do próprio paciente. Para inclusão no grupo 2, os pacientes não poderiam fazer uso crônico de corticóide oral.

3.2. Critérios de Exclusão

- Pacientes com história anterior ou atual compatível com asma.
- Pacientes com diagnóstico de bronquiectasias
- Pacientes com patologias que pudessem interferir nos resultados (neoplasias, cardiopatia grave, alcoolismo ativo, etc).
- Pacientes que haviam sofrido exacerbação há menos de 30 dias
- Pacientes em oxigenoterapia domiciliar
- Pacientes com dificuldade para comparecer ao ambulatório quando estivessem em exacerbação, por residirem muito longe
- No grupo 2, os pacientes não poderiam fazer uso crônico de corticóide nem ter recebido corticóide para tratamento de exacerbação nos últimos 30 dias.

3.3. Método

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas, e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Fase pré-estudo: pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram tratados de forma padronizada com associação ipatrópio/fenoterol ou ipatrópio/salbutamol, com uso de aerocâmara 3 jatos, 4 vezes ao dia (com

técnica de uso checada), teofilina de ação prolongada 200 mg, duas vezes ao dia. No grupo 1, o paciente foi avaliado a primeira vez com a dose habitual de corticóide, determinada pela análise do prontuário ou pela informação do paciente.

Os pacientes do grupo 1 foram avaliados em 4 visitas:

- Visita Basal 1: paciente estável; portanto, sem sintomas de exacerbação e em uso de sua dose habitual de corticóide
- Visita 2 : avaliação após 14 dias de 40 mg de prednisona
- Visita 3: paciente em redução de corticóide, apresentando exacerbação
- Visita 4: paciente tratado com 40 mg de prednisona por 14 dias

Os pacientes do grupo 2 foram avaliados em 3 visitas:

- Visita 1: avaliação inicial, paciente não exacerbado.
- Visita 2: paciente exacerbado
- Visita 3: paciente tratado com 40 mg de prednisona por 14 dias

Após caracterização inicial e alocação no grupo, o paciente foi submetido à seguinte avaliação:

- Anamnese e exame físico
- Teste de função pulmonar completo (espirometria, volumes pulmonares, capacidade de difusão)
- Radiografia de tórax, para afastar patologias associadas

- Hemograma
- Questionário de qualidade de vida (Saint George's Respiratory Questionnaire), Questionário de Mahler para a avaliação de dispnéia, Diagrama de Custo de Oxigênio
- Amostra de Escarro Induzido (citologia e dosagem de interleucinas)

Após avaliação inicial, os pacientes do grupo 1 foram orientados a utilizar prednisona 40 mg/dia durante 14 dias, quando fizeram a visita 2. Nos dias subseqüentes, o paciente foi orientado a reduzir a dose de corticóide a cada 14 dias, até que ocorresse exacerbação. Quando a dose habitual que controlava o paciente era inferior a 10 mg, a redução foi de 40 mg para 20 mg; depois, de 20 para 10 mg e, a seguir, 2,5 mg a cada 2 semanas, até que ocorresse a exacerbação. Se a dose habitual que controlava o paciente estava entre 10 e 15 mg/dia, a redução foi de 40 para 20 mg; depois, de 20 para 15 mg e, a seguir, 2,5 mg a cada 2 semanas. Se a dose habitual que controlava o paciente fosse superior a 15 mg, reduziu-se de 40 para 20 mg e, a seguir, 2,5 mg a cada 2 semanas. Realizou-se contato telefônico semanal, e os pacientes foram orientados a procurar o ambulatório caso ocorresse piora da tosse, da dispnéia ou aumento da quantidade ou da purulência do escarro, por 2 dias, pelo menos. Na exacerbação o paciente foi submetido à visita 3. Após esta avaliação, o paciente recebeu 40 mg de corticóide durante 14 dias, quando realizou a visita 4.

Os pacientes do grupo 2 fizeram a avaliação inicial (visita 1). Em seguida os pacientes foram orientados a entrar em contato se tivessem piora

da tosse, da dispnéia ou aumento da quantidade ou da purulência do escarro, por 2 dias, pelo menos. Houve contato telefônico a cada 7 dias para identificar sintomas de exacerbação. Assim que esta ocorreu, o paciente realizou a visita 2, sendo tratado com 40 mg de prednisona por 14 dias; a seguir, realizou a visita 3.

FLUXOGRAMA DO GRUPO CORTICÓIDE (FIGURA 1).

FLUXOGRAMA DO GRUPO NÃO CORTICÓIDE (FIGURA 2)

3.4. Escarro Induzido

O escarro foi induzido pela metodologia modificada de POPOV et al. (1995). Os indivíduos foram pré-medicados com 2 *puffs* de 200µg de salbutamol e, após um período de aproximadamente 15 minutos, foi medido o pico de fluxo basal do paciente; recebendo inalação com solução salina fisiológica, seguida de salina hipertônica 3%, num total máximo de 3 inalações. Ao final de cada ciclo, a boca foi enxaguada com água e o nariz, assoado para minimizar a contaminação do expectorado com saliva e secreção pós-nasal, respectivamente (PIZZICHINI et al., 1996b).

Neste estudo usou-se um nebulizador ultrassônico *DeVilbiss Ultraneb 99* (DeVilbiss Corp., Somerset, PA, USA).

Todo o material obtido ao final de cada inalação foi colhido num mesmo recipiente estéril (CAI et al., 1998; TWADDELL et al., 1996).

Ao final de cada inalação, os pacientes foram submetidos à reavaliação do pico de fluxo expiratório e à avaliação clínica (exame físico e medida da saturação de O₂). A indução seria interrompida caso ocorresse uma queda de 20% ou mais no pico de fluxo expiratório e/ou piora clínica significativa, a critério médico.

Após obtenção da secreção pulmonar, as amostras foram transferidas para uma placa de Petri, onde as porções mais densas foram selecionadas. O material coletado foi separado da saliva utilizando-se um microscópio invertido, de acordo com GIBSON et al. (1989).

A porção da amostra selecionada foi transferida para um tubo de polipropileno (15mL), utilizando-se um bisturi descartável. O material mucoso foi tratado com volume de DTT (dithiothreitol) igual a até quatro vezes o peso da amostra, em miligramas (PIZZICHINI et al., 1996c; PIZZICHINI et al., 1996a). A solução foi diluída em 0,1% com tampão fosfato (PBS) (KANAZAWA et al., 1997).

O material foi homogeneizado e posto em banho-maria a 37°C, por 20 minutos, novamente homogeneizado no Vortex por 15 segundos e filtrado com um filtro de “nylon” com poros de 48µm (BBSH Thompson, Scarborough, Ontário) para remover os restos celulares e o muco remanescente (PIZZICHINI et al., 1996a).

O número total e absoluto de células por mililitro de escarro foi calculado por meio de uma câmara de Neubauer (PIZZICHINI et al., 1996b; KANAZAWA et al., 1997).

A viabilidade celular foi obtida pelo método de exclusão usando-se o corante azul de Trypan e considerando-se as células coradas em azul como mortas ou não viáveis (PIZZICHINI et al., 1996b).

A suspensão celular foi ajustada para uma concentração de $1,0 \times 10^6$ /mL (PIZZICHINI et al., 1998a; GIBSON et al., 1999).

Foram colocados 100µL do material nos copos de uma centrífuga Shandon III (*Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA*) para realização do esfregaço pela técnica de *cytospin*. A lâmina, após secar ao ar livre, recebeu o corante de Leishman (MORROW, 1958).

O material restante foi centrifugado sob uma rotação de 790 x g por 10 minutos e o sobrenadante, aspirado e armazenado em tubos *ependorf* a -70°C para análises posteriores (FAHY et al., 1995a; FAHY et al., 1993).

A contagem celular foi feita em um microscópio óptico comum, em aumento de 1000 vezes. Foram contadas pelos menos 200 células (eosinófilos, linfócitos, neutrófilos, macrófagos, células planas, células caliciformes e células ciliadas).

3.5. Dosagem de Citocinas

Para dosagem de IL4 IL-6 EIL-8 foi utilizado o método ELISA (*enzyme-linked immunoabsorbent assay*) de captura (R&D System, Inc., Minneapolis, USA).

Placas com 96 poços (Costar/Corning, Inc., Cambridge, USA) foram sensibilizadas com 100 µL de anticorpo monoclonal anti-humano e incubadas por 18 horas, a 4°C.

Posteriormente, para evitar ligações inespecíficas, a placa foi bloqueada, com 300 µL de solução de bloqueio (BSA 2%) e incubada por 2 horas, a 37°C.

Após o bloqueio, foram adicionados 100 µL por poço de amostras e dos padrões diluídos previamente em PBS. Em dois poços foram colocados somente PBS para caracterização do branco.

Em seguida, a placa foi incubada por 18 horas a 4°C.

Após a incubação, foram adicionados 100 µL do anticorpo conjugado (Anticorpo *Anti-human* Biotinilado), na concentração estabelecida e fez-se a incubação por 3 horas a 37°C.

Posteriormente, foram adicionados 100 µL de Streptavidina HRP (1:250) por poço e fez-se nova incubação por 30 minutos a 37°C.

A cada etapa a placa foi lavada com Tampão de Lavagem (PBS + *Tween* 20) por 6 vezes.

A revelação foi realizada pela adição de 100 µL da Solução de Revelação (H₂O₂ + Tetramethylbenzidine) por poço, seguida de incubação por 5 a 60 minutos, a 37°C, de acordo com cada citocina.

A reação foi parada com a adição de 50 µL de H₂SO₄ 30% por poço e, a seguir, fez-se a agitação vagarosamente.

A leitura foi realizada em leitor de ELISA (*Power Wave, Bio-tek*) utilizando filtro de 450 nm.

Concentrações dos anticorpos utilizados no método ELISA

Citocinas	Anticorpo de Captura (Sensibilização) (µg/mL)	Padrões (pg/mL)	Anticorpo de Detecção (ng/mL)
IL-8	4	31,25 – 2000	20
IL-6	2	2,34 – 300	200

BSA = Albumina Bovina

PBS = *Phosphate Buffered Saline*

3.6. Metodologia Estatística

Foram analisados 16 pacientes no grupo corticóide dependente. Dois pacientes foram excluídos: um por não ter exacerbado e outro, por falta de material suficiente para a dosagem das citocinas. Foram analisados 9 pacientes no grupo não-corticóide (Grupo 2). O tamanho da amostra foi considerado satisfatório para a análise dos dados.

A análise das variáveis EOS%, NEUT%, MACRO% e TX10⁶, ao longo das avaliações, foi feita de duas maneiras. A primeira abordagem foi não-paramétrica. Assim, para cada variável em cada grupo, os momentos de avaliação foram comparados pelo teste de Friedman e, em cada avaliação, os Grupos 1 e 2 foram comparados pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon para amostras independentes. A segunda abordagem foi classificá-las em normal/alterado, segundo critérios da literatura, usando o método de Equações de Estimação para comparar a proporção do paciente com a variável alterada ao longo das quatro avaliações. Para modelar a dependência existente entre as medidas feitas em um mesmo indivíduo, assumiram-se todas as correlações entre os momentos 2 a 2 iguais.

A análise das Interleucinas foi feita de duas maneiras: a primeira abordagem foi classificá-las em normal/alterado, segundo critérios da literatura, e utilizar o método de Equações de Estimação para comparar a proporção de pacientes com a variável alterada ao longo das quatro avaliações. Para modelar a dependência existente entre as medidas feitas em um mesmo indivíduo, assumiram-se todas as correlações entre os

momentos 2 a 2 iguais. E a segunda, através de transformação logarítmica, após a correção da concentração do Log IL para a celularidade total. Desta forma, obtivemos uma nova variável cuja distribuição mostrou-se contínua, mas assimétrica. Assim a estratégia de análise utilizada foi descrever os resultados do Log_IL com intuito de normalizar essa nova variável. Uma segunda estratégia de análise foi também aplicada onde se considerou uma distribuição assimétrica para os dados de Log_IL, chamada “Gama”, e as conclusões obtidas das comparações de interesse foram as mesmas da primeira estratégia. Portanto, apresentamos aqui a primeira abordagem

$$(Log_IL = \frac{\log(IL)}{Total\ de\ cédulas})$$

Para correlacionar as variáveis IL4xEOS, IL6/IL8xNEUT e IL4/IL6/IL8x Tx10⁶ utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman.

4. RESULTADOS

4.1. Características da População Estudada

Foram estudados 25 pacientes portadores de DPOC: 14 (quatorze) em uso crônico de corticóide oral (Grupo 1) e 9 (nove) não usuários de corticóide (Grupo 2). Estes pacientes estavam em seguimento no ambulatório de DPOC do Instituto dos Ambulatórios do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. No total foram realizadas 92 coletas de escarro induzido acompanhadas de espirometria e avaliação clínica.

Dez pacientes iniciaram o estudo no Grupo não-corticóide-dependente, porém um paciente não conseguiu escarro durante a manobra de escarro induzido e foi retirado do estudo. Dos dezesseis pacientes do Grupo corticóide que iniciaram o projeto, dois precisaram ser excluídos, um por não ter exacerbado durante a retirada do corticóide; outro, por não ter conseguido material suficiente para a dosagem de Interleucinas.

Dos quatorze pacientes do Grupo 1,, quatro eram mulheres e dez eram homens. No Grupo 2 havia uma mulher e sete homens. A idade média dos pacientes do Grupo 1 foi 63,9 anos (idade mínima de 54 anos e máxima de 82 anos). No Grupo 2 a idade média foi 66,7 anos (idade mínima 59 anos e máxima de 76 anos)($p=0,38$) . Não houve diferença significativa nos dados demográficos entre os dois Grupos. No Grupo 1, treze haviam parado e um

continuava fumando um número reduzido de cigarros. No Grupo 2 todos haviam parado de fumar. Todos apresentavam uma história importante de tabagismo: no Grupo 1, média: 51,5 anos/maço e, no Grupo 2, média de 57,7 anos/maço. Não houve diferença significativa na história de tabagismo entre os dois Grupos ($p=0,54$). Tempo médio de cessação de tabagismo: 11,5 anos no Grupo 1 e 8,22, no Grupo 2 ($p=0,50$). O Grupo 1 apresentava uma relação VEF_1/CVF média de 0,48 e o Grupo 2, de 0,44 ($p=0,5$). O valor médio do VEF_1 do Grupo 1 foi 1,03L (44% do esperado) e, no Grupo 2, de 1,2L (47% do esperado), $p=0,3$. Os demais dados estão descritos na Tabela 5.

TABELA 5 - DADOS DEMOGRÁFICOS E FUNCIONAIS DOS GRUPOS 1 E 2

VARIÁVEL	Média		Erro- padrão		Mediana		Valor de p
	Grupo1	Grupo2	Grupo1	Grupo2	Grupo1	Grupo2	
Idade	63,93	66,67	2,06	2,12	63	63	0,38
Tabagismo (anos/maço)	51,57	57,78	12,20	11,99	43,50	60	0,54
VEF ₁ /CVF	0,48	0,44	0,04	0,05	0,45	0,38	0,56
VEF ₁ (L)	1,03	1,20	0,12	0,14	0,86	1,34	0,32
VEF ₁ %	44,07	47,33	5,22	5,22	37	44	0,40
CVF (L)	2,18	2,72	0,17	0,21	2,03	2,39	0,06
CVF %	71,07	78,56	5,97	5,45	63,5	85,0	0,28
VEF ₁ (L) pós Bd	1,20	1,32	0,12	0,16	1,11	1,42	0,52
CVF (L) pós Bd	2,56	3,04	0,16	2,79	2,72	2,79	0,07
Variação VEF ₁ pós Bd	18,79	9,89	5,21	2,29	11,50	9,00	0,43
Variação CVF pós Bd	20,64	12,11	6,64	2,74	13,50	11,00	0,72
CRF (L)	4,99	4,58	0,28	0,31	4,80	4,23	0,15
CRF%	171,43	140,67	11,81	7,53	163,50	134,00	0,06
CPT (L)	6,67	6,65	0,32	0,40	6,39	6,14	0,97
CPT %	131,50	117,78	6,25	5,18	128	120	0,13
VR (L)	4,34	3,78	0,28	0,34	4,27	3,25	0,25
VR (%)	223,71	176,78	15,62	13,50	212,50	173,00	0,04*
VR/CPT	0,65	0,57	0,02	0,04	0,64	0,61	0,04*
CI	1,66	2,08	0,16	0,19	1,42	1,98	0,06
CI %	74,86	86,78	6,03	7,20	68,50	97,00	0,22
DSB	66,38	54,78	8,01	11,99	62	45	0,41
D/VA	2,98	2,33	0,39	0,44	2,84	2,47	0,29
D/VA%	67,62	55,33	8,58	10,54	58	47	0,37
SAT O ₂ %	93,5	91,1	0,59	1,30	93,50	92,00	0,07

* p<0,05

Abreviações em anexo.

Anexos 1, 2 e 3 descrevem as características individuais de cada paciente da amostra, bem como dados individuais obtidos em cada visita do estudo.

4.2. Comportamento das Variáveis nas Avaliações

Foi feita a análise do comportamento das variáveis do escarro induzido, dosagem de interleucinas e espirometria em quatro momentos de interesse no Grupo 1 e em três momentos de interesse no Grupo 2.

GRUPO 1

Visita Zero (**V0**): paciente em uso de sua dose habitual de corticóide oral (prednisona).

Visita 1 (**V1**): todos os pacientes estavam em uso de 40 mg de prednisona (a partir daí, houve a redução gradativa da dose até que ocorresse a exacerbação).

EXAC: exacerbação

APÓS visita duas semanas após a exacerbação, em tratamento com 40 mg de prednisona.

GRUPO 2

Visita 1 (**V1**): todos os pacientes em seu estado basal.

EXAC: exacerbação

APÓS: visita duas semanas após a exacerbação, em tratamento com 40 mg de prednisona.

O tempo médio entre V0 e Exacerbação foi de $56,1 \pm 29,6$ (média $\pm$ desvio padrão) para o Grupo 1 e de $30,3 \pm 26,6$ dias para o Grupo 2.

4.2.1. Variáveis espirométricas

VEF₁

Não houve diferença significativa no valor médio do VEF₁(L) entre os dois Grupos (TABELA 5). Nas avaliações, observamos uma redução estatisticamente significativa do VEF₁ no grupo corticóide, na exacerbação, com recuperação após a introdução da prednisona. No grupo não-corticóide não houve variação significativa do VEF₁, nos três momentos analisados (GRÁFICO 1 E TABELA 6).

GRÁFICO 1: PERFIL MÉDIO DA VARIÁVEL VEF₁ (L) NOS DOIS GRUPOS, DURANTE AS VISITAS

* $p < 0,05$

TABELA 6 - COMPARAÇÃO DA VARIÁVEL $VEF_{1(L)}$ NOS DIFERENTES MOMENTOS

<i>Comparações de interesse</i>	<i>p</i>
Momentos- Grupo 2	0,2816
Momentos-Grupo 1	0,0511
V0xV1- Grupo 1	0,1040
V0xEXAC- Grupo 1	0,8477
V0xAPÓS- Grupo 1	0,0364
V1xEXAC- Grupo 1	0,0701
EXACxAPÓS- Grupo 1	0,0230

CVF

Não houve diferença significativa no valor de CVF entre os dois Grupos (TABELA 5). O comportamento do CVF, nas diferentes avaliações, demonstra uma redução na exacerbação. A análise estatística registrou diferença significativa no Grupo corticóide entre V1 e EXAC e, no Grupo não-corticóide, entre EXAC e APÓS (GRÁFICO 2 E TABELA 7).

GRÁFICO 2: PERFIL MÉDIO DA VARIÁVEL CVF (L) NOS DOIS GRUPOS, DURANTE AS VISITAS

* $p < 0,05$

TABELA 7 - COMPARAÇÃO DA VARIÁVEL CVF(L) NOS DIFERENTES MOMENTOS

<i>Comparações de interesse</i>	<i>p</i>
Momentos - Grupos 2	0,0786
V0xEXAC- Grupo 2	0,0824
V0xAPÓS- Grupo 2	0,6925
EXACxAPÓS- Grupo 2	0,0344
Momentos - Grupo 1	0,1135
V0XV1- Grupo 1	0,1011
V0xEXAC-Grupo 1	0,7050
V0xAPÓS-Grupo 1	0,1606
V1xEXAC-Grupo 1	0,0452
EXACxAPÓS- Grupo 1	0,0767

4.2.2. Celularidade do escarro

EOSINÓFILOS

A análise da variável EOS% indica que os Grupos 1 e 2 não diferem nos três momentos V0, EXAC e APÓS. O teste de Friedman para a comparação dos momentos de avaliação em cada grupo indica que, no Grupo 1, houve alterações com significância estatística, no número de eosinófilos, nos diferentes momentos, sendo a diferença significativa nos momentos V1xEXAC e EXACxAPÓS e que, no Grupo 2, não houve alteração importante ao longo das avaliações (TABELA 9).

GRÁFICOS 3A E 3B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL EOS% NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

3A GRUPO 1

3B GRUPO 2

TABELA 8 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL EOS

<i>Variável Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>média</i>	<i>mediana</i>	<i>se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>Intervalo Interquartil</i>
EOS_ Grupo 2	V0	9	1,29	0,60	0,54	0,00	4,60	2,63
	Exacerbação	9	8,47	0,50	5,43	0,22	50,15	10,50
	Após	9	1,97	0,91	1,15	0,00	10,60	2,63
Grupo 1	V0	14	7,56	1,64	4,78	0,00	68,43	4,96
	V1	14	1,61	0,83	0,65	0,00	7,84	1,94
	Exacerbação	14	13,57	5,70	5,09	0,00	68,20	17,93
	Após	14	3,31	1,07	1,91	0,00	27,50	3,18

TABELA 9 - COMPARAÇÃO DOS EOSINÓFILOS EM CADA GRUPO, EM MOMENTOS DIFERENTES E ENTRE OS DOIS GRUPOS

Comparação	p
Momentos de avaliação no Grupo 2	0,641 ⁽¹⁾
Momentos de avaliação no Grupo 1	<0,001 ⁽¹⁾
V0 x V1	Ns
V0 x EX	Ns
V1 x EX	*
EX x APÓS	*
V1 x APÓS	Ns
Grupo1 x Grupo 2 na V0	0,229 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na Exacerbação	0,186 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na visita APÓS	0,520 ⁽²⁾

(1) Teste de Friedman

(2) Teste de Wilcoxon para amostras independentes

* indica um resultado significativo $p < 0,05$ e "ns" indica não significativo

Na análise da proporção de pacientes com EOS% alterados nas avaliações de interesse no Grupo 1, observa-se uma diminuição significativa na proporção de pacientes com EOS% alterados da visita 0 para a visita 1. Na visita em que foi constatada a exacerbação, essa proporção estava significativamente maior que na visita 1 e, após o uso de prednisona 40mg/dia por 14 dias, essa proporção de pacientes com EOS% alterados diminuiu, retornando aos valores próximos aos da visita 1.

GRÁFICO 4: PROPORÇÃO DE PACIENTES COM EOSINÓFILOS ALTERADOS ($\geq 3\%$) NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE (N=14) – GRUPO 1

TABELA 10 - COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES MOMENTOS DA PROPORÇÃO DE PACIENTES COM EOS% ALTERADOS NO GRUPO 1

<i>Momento</i>	<i>Proporção</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Comparações de interesse</i>	<i>p</i>
V0	42,9%	13,2%	V0 x V1	0,0180
V1	14,3%	9,3%	V1 x EX	0,0002
EX	64,3%	12,8%	EX x APÓS	0,0286
APÓS	28,6%	12,1%	V1 x APÓS	0,1266

- Devido aos desvios da suposição da normalidade essa variável foi analisada após ser categorizada em normal/alterada.
- Assumiram-se todas as correlações entre os momentos 2 a 2 iguais.

A dependência existente nas medidas feitas no mesmo indivíduo foi incorporada por meio do método de Equações de Estimação. Entretanto, observou-se que essa dependência não foi expressiva nesses dados nem afetou as estimativas da proporção de pacientes alterados, ao longo das avaliações.

GRÁFICO 5: PERFIL MÉDIO DA PORCENTAGEM (%) DE EOSINÓFILOS DURANTE AS VISITAS, NOS DOIS GRUPOS

* $p < 0,05$

NEUTRÓFILOS

A análise não-paramétrica da variável NEUT% indica que os dois grupos diferem na avaliação V0. O teste de Friedman, para comparação dos momentos de avaliação em cada grupo, indica que em nenhum dos dois ocorreram alterações significativas (TABELA 12).

GRÁFICO 6 A E 6 B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL NEUT% NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE.

6 A - Grupo 1

6 B - Grupo 2

TABELA 11 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL NEUT%

<i>Variável</i>	<i>Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>Média</i>	<i>mediana</i>	<i>se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>Intervalo Interquartil</i>
NEUT_	Grupo 2	V0	9	81,65	86,10	5,47	49,70	96,90	24,38
		Exacerbação	9	81,93	87,30	6,98	29,36	98,30	15,15
		Após	9	84,24	82,46	2,71	74,54	99,00	12,15
	Grupo 1	V0	14	64,75	75,29	6,79	20,00	89,98	42,94
		V1	14	74,69	83,74	5,81	28,23	97,18	29,78
		Exacerbação	14	70,56	72,14	5,45	23,10	98,70	21,04
		Após	14	76,27	78,06	4,21	40,00	97,85	23,64

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DA VARIÁVEL NEUT% EM CADA GRUPO, EM MOMENTOS DIFERENTES, E ENTRE OS DOIS GRUPOS

Comparação	p
Momentos de avaliação no Grupo 2	0,717 ⁽¹⁾
Momentos de avaliação no Grupo 1	0,096 ⁽¹⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na V0	0,038 ⁽²⁾
Grupos 1 x Grupo 2 na Exacerbação	0,059 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na visita APÓS	0,231 ⁽²⁾

(1) Teste de Friedman

(2) Teste de Wilcoxon para amostras independentes

Apesar de aumentar progressivamente a proporção de pacientes com NEUT% alterado ao longo das avaliações de interesse, as comparações dos tempos consecutivos mostram que esse aumento não é significativo.

GRÁFICO 7: PROPORÇÃO DE PACIENTES COM NEUTRÓFILOS ALTERADOS ($\geq 56,7\%$) NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE – GRUPO 1

TABELA 13 - COMPARAÇÃO DA PROPORÇÃO DE PACIENTES COM NEUT% ALTERADOS, NOS DIFERENTES MOMENTOS, NO GRUPO 1

<i>Momento</i>	<i>Proporção</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>Comparações de interesse</i>	<i>p</i>
V0	71,4%	12,1%	V0 x V1	0,2994
V1	78,6%	11,0%	V1 x EX	1,000
EX	78,6%	11,0%	EX x APÓS	0,1266
APÓS	92,9%	6,9%	V1 x APÓS	0,1266

- Devido aos desvios suposição da Normalidade essa variável foi analisada após ser categorizada em normal /alterada.
- Assumiram--se todas as correlações entre os momentos 2 a 2 iguais.

A dependência existente entre as medidas feitas no mesmo indivíduo foi incorporada por meio do método de Equações de Estimação. Entretanto, observou-se que essa dependência não foi expressiva nem afetou as estimativas da proporção de pacientes alterados ao longo das avaliações.

GRÁFICO 8: PERFIL MÉDIO DA PORCENTAGEM DE NEUTRÓFILOS NOS GRUPOS, NAS DIFERENTES VISITAS

MACRÓFAGOS

Não ocorreram diferenças significativas para a variável MACRO%, entre os dois grupos e, nos diferentes momentos, para o mesmo grupo.

TABELA 14 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL MACRO%

Comparação	p
Momentos de avaliação no Grupo 2	0,459 ⁽¹⁾
Momentos de avaliação no Grupo 1	0,120 ⁽¹⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na V0	0,131 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na Exacerbação	0,284 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na visita APÓS	0,257 ⁽²⁾

1. Teste de Friedman

2. Teste de Wilcoxon para amostras independentes

TABELA 15 - MACRO% - COMPARAÇÃO DOS MOMENTOS DE INTERESSE ENTRE OS DOIS GRUPOS E PARA O MESMO GRUPO

Variável	Grupo	Momento	n	média	mediana	Se	mínimo	máximo	Intervalo Interquartil
MACRO_ Grupo 2	V0		9	12,43	9,30	3,96	1,51	40,40	12,97
		Exacerbação	9	8,99	5,00	2,65	1,40	22,70	14,15
		Após	9	12,25	13,64	2,39	0,89	22,40	12,39
Grupo 1	V0		14	25,23	20,53	22,54	4,00	75,00	26,77
		V1	14	20,40	9,91	19,42	2,82	68,23	25,31
		Exacerbação	14	12,51	10,82	9,11	0,40	31,30	13,25
		Após	14	16,62	17,47	9,73	1,67	29,14	20,17

GRÁFICO 9 A E 9 B: "BOX-PLOTS" DA VARIÁVEL MACRO% NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

9 A - Grupo 1

9 B - Grupo 2

CELULARIDADE TOTAL

Não ocorreram diferenças significativas, na celularidade total, entre os dois grupos e nos diferentes momentos dentro de cada um.

TABELA 16 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL TXE⁶

<i>Variável</i>	<i>Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>média</i>	<i>mediana</i>	<i>se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>	<i>Intervalo Interquartil</i>
EOS_	Grupo 2	V0	9	7,30	6,00	5,57	1,50	16,50	9,75
		Exacerbação	9	9,58	4,50	6,93	2,90	20,30	12,65
		Após	9	5,22	3,50	4,11	0,64	13,60	5,55
	Grupo 1	V0	14	4,81	2,80	4,94	0,40	15,30	7,41
		V1	14	7,19	3,05	8,73	0,48	23,80	8,27
		Exacerbação	14	7,72	4,20	8,78	1,20	28,90	8,75
		Após	14	5,73	4,50	6,33	0,24	25,20	6,84

TABELA 17 - TXE⁶ COMPARAÇÃO DOS MOMENTOS DE INTERESSE ENTRE OS DOIS GRUPOS E NO MESMO GRUPO

Comparação	<i>p</i>
Momentos de avaliação no Grupo 2	0,105 ⁽¹⁾
Momentos de avaliação no Grupo 1	0,503 ⁽¹⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na V0	0,115 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na Exacerbação	0,231 ⁽²⁾
Grupo 1 x Grupo 2 na visita APÓS	0,950 ⁽²⁾

1. Teste de Friedman

2. Teste de Wilcoxon para amostras independentes

GRÁFICO 10 A E 10 B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL TXE⁶ NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

10 A - Grupo 1

10 B - Grupo 2

4.2.3. Dosagem de Interleucinas

INTERLEUCINA 4

A análise da variável IL4 indica que os grupos Controle e Tratado diferem nos momentos V0 e EXAC e não há diferença, após o tratamento, entre os dois grupos. A comparação dos diferentes momentos de avaliação em cada grupo indica que não ocorreram diferenças significativas (TABELA 19).

GRÁFICO 11 A E 11 B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL IL4 NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

11 A - Grupo 1

11 B - Grupo 2

Medidas descritivas da variável IL4.

TABELA 18 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL IL4

<i>Variável</i>	<i>Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>média</i>	<i>mediana</i>	<i>Se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>
Log(IL4)/Tx	Grupo 2	V0	9	0,30	0,19	0,08	0,07	0,76
		Exacerbação	9	0,33	0,25	0,08	0,06	0,68
		Após	9	0,61	0,33	0,25	0,08	2,08
	Grupo 1	V0	14	0,72	0,46	0,21	0,07	2,84
		V1	14	0,75	0,47	0,26	0,05	3,57
		Exacerbação	14	1,06	0,41	0,29	0,04	2,98
		Após	14	0,71	0,25	0,32	0,05	4,74

TABELA 19 - COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES MOMENTOS ENTRE OS DOIS GRUPOS PARA A VARIÁVEL IL4 (LOG)

Resultados da Análise de Medidas Repetidas na variável transformada $\log(\text{Log(IL4)/Tx})$

Comparações de interesse	p
Grupo 1 x Grupo 2-V0	0,0382
Grupo 1 x Grupo 2-EXAC	0,0138
Grupo 1 x Grupo 2-APÓS	0,5123
Momentos-Grupo 2	0,6343
Momentos-Grupo 1	0,6746

GRÁFICO 12: PROPORÇÃO DE PACIENTES COM IL4 ALTERADO NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE – GRUPO 1

A dependência existente nas medidas feitas no mesmo indivíduo foi incorporada através do método de Equações de Estimação. Entretanto, observou-se que essa dependência não foi expressiva nesses dados nem afetou as estimativas da proporção de pacientes alterados ao longo das avaliações.

GRÁFICO 13: VALORES MÉDIOS DE IL4 (LOG) PARA GRUPOS 1 E 2 NAS DIFERENTES VISITAS

* $p < 0,05$

INTERLEUCINA 6

A análise da variável IL6 indica que os grupos Controle e Tratado diferem nas avaliações V0 e EXAC. A comparação dos momentos de avaliação em cada grupo indica que no Grupo corticóide não ocorreram alterações significativas nos diferentes momentos, mas no Grupo não-corticóide há diferença significativa entre os momentos EXAC e APÓS (TABELA 21).

GRÁFICO 14 A E 14 B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL IL6 NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

14 A - Grupo 1

14 B - Grupo 2

TABELA 20 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL IL6

<i>Variável</i>	<i>Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>média</i>	<i>mediana</i>	<i>se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>
Log(IL6)/Tx	Grupo 2	V0	9	0,42	0,21	0,13	0,06	1,11
		Exacerbação	9	0,23	0,22	0,07	0,05	0,70
		Após	9	0,68	0,32	0,25	0,09	2,30
	Grupo 1	V0	14	1,18	0,68	0,34	0,06	4,13
		V1	14	0,82	0,68	0,22	0,04	2,80
		Exacerbação	14	0,79	0,63	0,18	0,04	1,89
		Após	14	1,16	0,57	0,44	0,06	6,53

TABELA 21 - COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES MOMENTOS ENTRE OS DOIS GRUPOS PARA A VARIÁVEL IL6 (LOG)

Resultados da Análise de Medidas Repetidas na variável transformada $\log(\text{Log(IL6)/Tx})$

Comparações de interesse	p
Grupo 1 x Grupo 2-V0	0,0075
Grupo 1 x Grupo 2-EXAC	0,0025
Grupo 1 x Grupo 2-APÓS	0,1445
Momentos-Grupo 2	0,0972
V0 x EXAC -Grupo 2	0,2517
V0 x APÓS-Grupo 2	0,3013
EXAC x APÓS-Grupo 2	0,0316
Momentos-Grupo 1	0,6193

GRÁFICO 15: PROPORÇÃO DE PACIENTES COM IL6 ALTERADO NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE – GRUPO 1

GRÁFICO 16: VALORES MÉDIOS DE IL6 (LOG) PARA GRUPO 1 E 2 NAS DIFERENTES VISITAS

* $p < 0,05$

INTERLEUCINA 8

A análise da variável IL8 indica que os Grupos 1 e 2 diferem nas avaliações V0 e EXAC. A comparação dos momentos de avaliação em cada grupo indica que, no Grupo Corticóide, não ocorreu variação significativa e, no Grupo não- corticóide, a diferença foi significativa entre EXAC e APÓS (TABELA 23).

GRÁFICOS 17 A E 17B: “BOX-PLOTS” DA VARIÁVEL IL8 NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

17 A - Grupo 1

17 B - Grupo 2

TABELA 22 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIÁVEL LOG(IL8)/TX.

<i>Variável</i>	<i>Grupo</i>	<i>Momento</i>	<i>n</i>	<i>média</i>	<i>mediana</i>	<i>se</i>	<i>mínimo</i>	<i>máximo</i>
Log(IL8)/Tx	Grupo 2	V0	9	1,50	0,57	0,50	0,22	4,08
		Exacerbação	9	0,92	0,76	0,27	0,19	2,41
		Após	9	2,84	0,98	1,15	0,42	10,35
	Grupo 1	V0	14	4,32	2,81	1,28	0,29	16,58
		V1	14	3,18	2,19	1,06	0,14	14,16
		Exacerbação	14	2,47	1,76	0,56	0,12	5,53
		Após	14	3,89	1,67	1,67	0,27	24,66

TABELA 23 - COMPARAÇÃO DOS MOMENTOS DE INTERESSE ENTRE OS DOIS GRUPOS E NO MESMO GRUPO

Comparações de interesse	p
Grupo 1 x Grupo 2-V0	0,0035
Grupo 1 x Grupo 2-EXAC	0,0082
Grupo 1 x Grupo 2-APÓS	0,3585
Momentos-Grupo 2	0,0665
V0 x EXAC- Grupo 2	0,3779
V0 x APÓS-Grupo 2	0,1471
EXAC x APÓS-Grupo 2	0,0216
Momentos -Grupo 1	0,4938

GRÁFICO 18: PROPORÇÃO DE PACIENTES COM IL8 ALTERADO NAS AVALIAÇÕES DE INTERESSE

A dependência existente nas medidas feitas no mesmo indivíduo foi incorporada através do método de Equações de Estimação. Entretanto, observou-se que essa dependência não foi expressiva nesses dados nem afetou as estimativas da proporção de pacientes alterados ao longo das avaliações.

GRÁFICO 19: ANÁLISE DO LOG(IL8)/TX AO LONGO DAS AVALIAÇÕES

Procuramos estabelecer correlação entre os valores de IL4 e os valores dos EOS%, nos diferentes momentos. Como pode ser observado na Tabela abaixo, não houve correlação entre essas variáveis.

TABELA 24 - ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE EOS% E IL4, SEPARADAMENTE, PARA CADA VISITA

	<i>IL4_V0 x EOS_V0</i>	<i>IL4_V1 x EOS_V1</i>	<i>IL4_EX x EOS_EXAC</i>	<i>IL4_AP x EOS_APÓS</i>
Grupo 2	0,56	—	-0,30	0,29
	0,119		0,425	0,46
	9		9	9
Grupo 1	-0,09	0,004	0,29	-0,03
	0,757	0,988	0,310	0,925
	14	14	14	14

Coeficiente de Correlação de Spearman (1^a. linha), nível descritivo para o teste se a correlação for zero (2^a. linha) e número de observações para cada combinação de 2 variáveis (3^a. linha).

Foi realizada uma análise de correlação entre a variação no número de eosinófilos e a variação da IL4 da visita V0 para a visita EXAC; porém, como ocorreram variações negativas para EOS, não foi possível fazer esta correlação. No Anexo 4 podemos observar os dados individuais.

Realizou-se análise para identificar se o aumento na IL4 estava relacionado ao tabagismo (anos/maço), à resposta ao broncodilatador (RBD) e ao tempo sem fumar (TABELAS 25 e 26). Não houve correlação entre o aumento da IL4 e estas variáveis. No Anexo 5 estão apresentados os dados individuais.

TABELA 25 - MEDIDAS DESCRITIVAS DA VARIAÇÃO PERCENTUAL DO IL4 DA V0 PARA A VISITA EXACERBAÇÃO, DE ACORDO COM A RBD

GRUPO	RBD	n	média	mediana	se	mínimo	máximo	p
Grupo 2	15	1	392,63	392,63	–	392,63	392,63	
Grupo 2	<15	6	133,83	65,38	73,54	0,00	451,60	0,466 ⁽¹⁾
Grupo 2	>15	2	75,44	75,44	75,44	0,00	150,89	
Grupo 1	<15	8	331,09	227,19	141,94	0,00	1158,12	0,154 ⁽²⁾
Grupo 1	>15	6	544,72	566,19	127,05	34,62	957,40	

(1) Teste de Kruskal-Wallis

(2) Teste de Wilcoxon para amostras independentes

A análise da relação entre o RBD e a variação do IL4 foi feita, separadamente, para cada grupo.

TABELA 26 - CORRELAÇÃO ENTRE IL4 ANOS/MAÇO E TEMPO SEM FUMAR

		Anos/Maço	Tempo sem fumar
Grupo 2	Variação% do IL4	-0.24	-0.06
		0.524	0.876
		9	9
Grupo 1	Variação% do IL4	-0.06	-0.14
		0.851	0.623
		14	14

Coeficiente de Correlação de Spearman (1ª. linha), nível descritivo para o teste, se a correlação for zero (2ª. linha), e número de observações para cada combinação de 2 variáveis (3ª. linha).

Foi realizada uma análise para observar se havia correlação entre a variação entre NEUT e IL8 para cada visita, nos 2 grupos. Não se observou correlação. Fez-se análise da associação entre a variação de IL8 e a variação de NEUT% da V0 para a visita EXAC, no grupo 1. Não houve associação entre essas variações (TABELA 27). Os dados individuais podem ser vistos no Anexo 6.

TABELA 27 - ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE NEUT% E IL8, SEPARADAMENTE, PARA CADA VISITA

	<i>IL8_V0 x NEUT_V0</i>	<i>IL8_V1 x NEUT_V1</i>	<i>IL8_EX x NEUT_EX</i>	<i>IL8_AP x NEUT_AP</i>
Grupo 2	-0.71	—	-0.50	-0.08
	0.031		0.166	0.831
	9		14	9
Grupo 1	-0.19	-0.50	-0.29	-0.27
	0.503	0.071	0.306	0.358
	14	14	14	14

Coeficiente de Correlação de Spearman (1^a. linha), nível descritivo para o teste, se a correlação for zero (2^a. linha), e número de observações para cada combinação de 2 variáveis (3^a. linha).

4.2.4. Questionários de qualidade de vida

ST. GEORGE

Observou-se uma piora significativa da qualidade de vida nos domínios Atividade, Impacto e Total, durante a exacerbação.

TABELA 28 - DOMÍNIOS DO ST. GEORGE AFERIDOS NOS MOMENTOS BASAL E EXACERBAÇÃO, NOS GRUPOS 1 E 2

		<i>MÉDIA</i>	<i>ERRO-PADRÃO</i>	<i>MEDIANA</i>	<i>VALOR DE P</i>
		GRUPO1	GRUPO2	GRUPO1	GRUPO2
SINTOMA	BASAL	70,04	70,62	16,69	26,35
	EXACERBAÇÃO	72,49	69,87	16,25	16,76
	VALOR DE P	0,44			
ATIVIDADE	BASAL	69,04	67,35	17,09	22,58
	EXACERBAÇÃO	80,53	78,15	16,38	19,18
	VALOR DE P	0,004			
IMPACTO	BASAL	53,89	49,81	21,94	30,02
	EXACERBAÇÃO	63,24	61,56	12,97	23,95
	VALOR DE P	0,002			
TOTAL	BASAL	61,31	58,58	16,58	23,71
	EXACERBAÇÃO	70,08	67,97	10,87	20,55
	VALOR DE P	0,006			

MAHLER E DIAGRAMA CUSTO DE O₂

No momento da exacerbação, os parâmetros que medem a intensidade da dispnéia apresentam piora significativa em relação ao momento basal.

TABELA 29 - QUESTIONÁRIO DE MAHLER

		MÉDIA	ERRO-PADRÃO	MEDIANA		VALOR DE P		
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	
BDI	BASAL	5,71	6,11	1,59	2,93	6,00	6,00	0,43
TDI	EXACERBAÇÃO	-5,07	-3,22	1,14	5,04	-5,00	-4,00	
VALOR DE P		<0,001						

TABELA 30 - DIAGRAMA CUSTO DE O₂

	MÉDIA		ERRO-PADRÃO		MEDIANA		VALOR DE P
	Grupo1	Grupo2	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	
							0,43
BASAL	3,44	4,61	1,08	1,97	2,90	4,40	
EXACERBAÇÃO	2,86	2,52	0,71	1,65	2,70	2,80	
VALOR DE P	0,008	0,04					

5. DISCUSSÃO

Neste estudo constatamos que pacientes portadores de DPOC, usuários crônicos de corticóide oral, apresentam um processo inflamatório eosinofílico, apesar do uso do corticóide; este padrão citológico está associado ao aumento do nível de interleucinas 4, 6 e 8. A retirada progressiva da medicação induz a exacerbação com aumento da eosinofilia, revertida após a reintrodução de doses maiores de corticóide. Este padrão sugere que estes pacientes caracterizem um subgrupo de doentes com DPOC com características inflamatórias semelhantes às observadas em asmáticos.

Não há estudos publicados, de nosso conhecimento, que tenham utilizado a metodologia de retirada progressiva do corticóide oral com o intuito de induzir uma exacerbação em pacientes com DPOC. Gibson e colaboradores, em 1992, (46) descreveram o método, retirando corticóide inalado em asmáticos. Posteriormente este método foi empregado em outros estudos em asma com corticóides sistêmicos ou inalados (47,48). Em DPOC, este modelo foi utilizado apenas para a avaliação de retirada de corticóide inalado (49). Existe ainda a descrição de um caso clínico avaliando a retirada de corticóide oral em um paciente com limitação crônica de vias aéreas e bronquiectasias (50).

Escarro induzido é um método seguro e não-invasivo para investigar doenças inflamatórias das vias aéreas, tais como asma e DPOC. Medidas da composição celular são válidas e responsivas às mudanças de condições (51,52). O uso de nebulizador ultra-sônico e de solução salina hipertônica não altera os achados, quando comparado com o uso de solução salina normal (52,45). A avaliação seriada dos marcadores do escarro ao longo do tempo já foi avaliada em pacientes com DPOC (16). Observou-se que há boa reprodutibilidade para percentual de neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, linfócitos e concentração de IL8, mas não do total de células. Portanto, a estabilidade clínica de pacientes com DPOC está associada à mesma estabilidade dos marcadores inflamatórios do escarro, mesmo por longos períodos de tempo; por isso, as variações registradas em nosso estudo, nos marcadores inflamatórios no escarro, nas diferentes situações, correspondem a variações do processo inflamatório, ocorrendo nas vias aéreas.

Nos pacientes por nós avaliados, os valores médios, percentuais, de neutrófilos no escarro apresentaram-se elevados em todas as visitas, nos dois grupos de pacientes, sugerindo sua relação com a gravidade dos pacientes da amostra. Os valores mais altos ocorreram no Grupo não-corticóide dependente. O neutrófilo é o arquétipo da célula inflamatória, primeira célula a migrar para um local inflamado; uma série de eventos inflamatórios, incluindo a migração de monócitos e a geração de edema, dependem desta resposta inicial (53). Não existem dúvidas de que os neutrófilos recrutados para a via aérea estão ativados e possuem maior

concentração de grânulos de mieloperoxidase e de lipocaína neutrofílica humana (26). O aumento da contagem absoluta ou relativa de neutrófilos está relacionado à redução do VEF₁ (31) e a um aumento na taxa de declínio do VEF₁, sugerindo que a inflamação neutrofílica é funcionalmente importante (54). Estudos mostram um aumento do número de neutrófilos ativados no escarro e no lavado de pacientes com DPOC (28,55,56,57), embora ocorra apenas um discreto aumento no parênquima pulmonar. Isto pode refletir a rápida passagem dos neutrófilos através das vias aéreas e do parênquima.

Estudos experimentais sugerem que exista uma redução significativa na quimiotaxia de neutrófilos humanos quando expostos a concentrações crescentes de dexametasona (58). É possível que a inibição na quimiotaxia, no grupo corticóide-dependente, seja um fator contributivo para a diferença observada no percentual de neutrófilos entre os dois grupos.

Durante a retirada progressiva de corticóide oral, 14 de 15 pacientes desenvolveram uma exacerbação definida pelo protocolo em termos clínicos e confirmada, posteriormente, pela piora significativa dos escores de qualidade de vida e dos índices de dispnéia. Nos dois grupos de pacientes avaliados não ocorreu variação significativa no número de neutrófilos, na visita de exacerbação. Embora alguns estudos tenham demonstrado aumento no número de neutrófilos no escarro durante uma exacerbação, outros não confirmaram este achado (18,35).

Em nosso estudo alguns pacientes apresentavam níveis de eosinófilos no escarro superior a 3% na avaliação basal. O achado é

concordante com os dados reportados na literatura (10,14,58,59); estes pacientes são, em outros aspectos, idênticos a pacientes que não apresentam eosinofilia. Chama a atenção que a eosinofilia ocorreu em 40% dos pacientes da nossa população corticóide- dependente, quando em uso de suas doses habituais de corticóide e em 14% deles, mesmo após a administração de 40 mg de prednisona por 2 semanas.

Balzano e colaboradores (27), ao avaliarem a celularidade e a concentração de ECP no escarro induzido de pacientes com DPOC estável, observaram um aumento no número de eosinófilos e na concentração de ECP, sugerindo que os eosinófilos possam estar envolvidos na patogênese da DPOC. Outros autores (61) demonstraram um aumento significativo dos níveis de triptase no escarro de pacientes portadores de DPOC com concentração de eosinófilos, no escarro, > que 3%.

Demonstramos que na exacerbação há um aumento na concentração de eosinófilos, estatisticamente significativo apenas nos usuários crônicos de corticóide. Outros autores já demonstraram que pacientes com bronquite crônica desenvolvem eosinofilia do escarro durante exacerbações (35,60). Há questionamentos na literatura sobre o significado dos eosinófilos em DPOC. Lacoste e colaboradores (60) demonstraram que, em DPOC, embora o número de eosinófilos estivesse aumentado, eles não estariam degranulados, uma vez que os níveis de proteína catiônica eosinofílica (ECP) encontravam-se em níveis normais. Por outro lado, outros estudos demonstram a importância dos eosinófilos na patogênese da DPOC. Zhu e colaboradores (62) sugerem que a presença de eosinófilos durante

exacerbações de bronquite crônica constituam um padrão alérgico de inflamação, uma vez que demonstraram em seus pacientes a expressão de RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*).

Este é o primeiro estudo que avalia o padrão evolutivo de citocinas no escarro de pacientes com DPOC e compara o padrão dos marcadores em situação basal, exacerbação e após tratamento em pacientes corticóide-dependentes e não-corticóide dependentes.

Observamos que o grupo corticóide-dependente apresenta níveis significativamente mais elevados de IL-4, IL-6 e IL-8 na avaliação basal e na exacerbação. Embora houvesse tendência ao aumento de IL-4 na exacerbação no grupo corticóide, esta elevação não apresentou significado estatístico.

Há poucos relatos na literatura referentes ao comportamento de marcadores biológicos no escarro em exacerbações de DPOC (63). Brownik e colaboradores (33) determinaram a concentração de IL-6 e IL-8 no escarro de pacientes com DPOC estável e sugeriram que pacientes com concentrações basais mais elevadas destas citocinas apresentam maior frequência de exacerbação. O estudo também mostrou aumento de IL6 durante a exacerbação, enquanto a IL8 apresentou comportamento variável.

Não observamos correlação entre o número de neutrófilos e a concentração de IL-6 e IL-8, nem entre o número de eosinófilos e IL-4. Estes dados estão de acordo com outros estudos da literatura, em que não se constatou associação entre % eosinófilos e IL-5 (64), % eosinófilos e IL-4 e IL-5 (62), e percentual de neutrófilos ou celularidade total com níveis de IL-8 (16).

A administração de 40 mg de prednisona nas duas semanas seguintes à exacerbação foi acompanhada de uma redução da concentração de eosinófilos, atingindo significância estatística apenas no grupo corticóide. Não houve variação significativa na concentração de neutrófilos nem de IL-4. As interleucinas 6 e 8 aumentaram significativamente, após o tratamento, no grupo não-corticóide.

Alguns fatores que podem ter interferido em nossos resultados devem ser considerados.

O delineamento ideal de um estudo para a avaliação do efeito do corticóide oral em DPOC seria um ensaio prospectivo aleatorizado e controlado. Nosso objetivo não foi avaliar a eficácia do corticóide oral em DPOC estável; os dados da literatura sugerem que ele não deveria ser indicado para estes pacientes (11), mas provavelmente existe um subgrupo que se beneficiaria com seu uso (65). Procuramos analisar as razões pelas quais alguns pacientes com DPOC não são capazes de suspendê-lo, uma vez iniciado o seu uso.

Optamos por induzir a exacerbação por meio da retirada progressiva da medicação, de acordo com modelo previamente descrito (46). O delineamento mais adequado teria sido, provavelmente, um estudo duplo cego, de forma que um grupo mantivesse dose fixa de prednisona, enquanto no outro se procederia a redução. No entanto, num universo de aproximadamente 400 pacientes seguidos, em nosso ambulatório, apenas 16 preencheram as características adequadas para o estudo, inviabilizando a divisão em dois grupos. Optamos, originalmente, por um delineamento de

grupo único, em que cada paciente seria controle de si próprio. Posteriormente acrescentamos o grupo de pacientes não-corticóide-dependentes como comparação.

Um viés possível seria que tivéssemos incluído asmáticos em nosso estudo. Entendemos que esta hipótese é pouco provável visto que somente avaliamos pacientes com história de tabagismo importante e sem história compatível com asma.

Também poderia ser questionado se a exacerbação no Grupo 1 ocorreu efetivamente pela retirada do corticóide. A supressão da medicação já tinha sido tentada nos pacientes, anteriormente, sem sucesso. Como a exacerbação ocorreu em doses próximas às usualmente utilizadas por cada paciente, é lícito supor que a diminuição da dose em níveis abaixo do necessário para a manutenção da estabilidade tenha sido o fator desencadeante da deterioração clínica.

Como já citamos, a utilização de corticóide oral em DPOC estável é controversa. Embora grande parte dos pacientes não se beneficie, uma meta-análise publicada em 1991 (65) sugere que exista um subgrupo de doentes responsivos.

A inflamação crônica das vias aéreas pode ocorrer por meio de diferentes caminhos, levando a episódios de broncoconstrição tanto na asma como na DPOC. Existem algumas diferenças estabelecidas no repertório celular e humoral dos elementos envolvidos neste processo. Linfócitos CD8+, neutrófilos, macrófagos, leucotrieno B₄, Fator de Necrose Tumoral α e Interleucina 8 são os principais representantes do processo inflamatório em

DPOC (resposta Th1), enquanto mastócitos, basófilos, eosinófilos, macrófagos, linfócitos CD4+ e Interleucinas 4, 5, 6 e 13 representam os elementos inflamatórios da Asma (resposta Th2). No entanto, alguns estudos têm demonstrado a presença de um perfil Th2 em DPOC. No estudo (24) em que se avaliou o lavado broncoalveolar e as propriedades imuno-regulatórias em microculturas de neutrófilos, de pacientes com asma e DPOC, em seu estado basal, observou-se que a concentração de IL4 no lavado de pacientes com DPOC foi mais elevada, a concentração de IL8 foi maior no grupo asmático e não houve diferença significativa na concentração de IL6.

O tipo de exacerbação (bacteriana, viral, fatores ambientais) poderia, teoricamente, influenciar o resultado dos nossos achados. No entanto, o estudo (36) que avaliou marcadores inflamatórios (TNF α , Mieloperoxidase e IL8) no escarro de pacientes com DPOC exacerbados, mostrou que pacientes com infecção documentada não apresentam maiores elevações das citocinas inflamatórias durante a exacerbação, quando comparados com pacientes exacerbados, sem infecção demonstrável.

Existe um aumento de evidência de que a eosinofilia do escarro pode predizer pacientes que respondem a tratamento com corticóide. No estudo (14) em que se administrou prednisona oral por 2 semanas, observou-se que pacientes com eosinofilia no escarro (>3%) apresentavam melhora no VEF₁ após o tratamento. Em outro trabalho, realizado através de necropsia (66), com pacientes com DPOC moderada a grave que evoluíram para óbito, observou-se que a resposta ao broncodilatador estava relacionada com o grau de eosinofilia brônquica e que, para um determinado grau de enfisema,

as taxas de fluxo eram adversamente afetadas pelo grau de eosinofilia, ou seja, quanto mais eosinófilos, mais obstruído o paciente.

Chanez e colaboradores (67) sugeriram que os pacientes com diagnóstico clínico de DPOC compreendam pelo menos duas categorias na dependência da resposta subaguda ao corticóide oral. Esses autores propõem a existência de um grupo intermediário entre a asma e a obstrução fixa irreversível da DPOC, com uma inflamação eosinofílica e espessamento da membrana basal, que seria responsivo ao corticóide. Possivelmente o grupo corticóide-dependente estudado pertença a esse padrão intermediário, a exemplo de outros trabalhos em que se associou um padrão eosinofílico em DPOC à resposta ao corticóide (10,14,45).

O processo inflamatório em DPOC é complexo. Envolve não somente células inflamatórias, mas também mediadores que agem entre si e com as células pertinentes. Atualmente numerosos mediadores inflamatórios são analisados na fase fluida do escarro. A precisão e a validade destas medidas dependem do método e do mediador analisado. Infelizmente, o mediador padrão usado difere entre os imunoensaios, tornando limitadas as comparações entre eles.

Apesar destas considerações, é aceitável dosar mediadores no sobrenadante do escarro, desde que se considere, na análise, o método empregado, e os resultados sejam interpretados cuidadosamente.

Classicamente se espera que a IL-4 esteja associada a um perfil inflamatório Th2, ao passo que a IL-8 expressaria uma resposta Th1. Portanto, seria de esperar um perfil de predomínio de IL-8 em um grupo de

pacientes com DPOC. Dentre os poucos dados disponíveis na literatura sobre o comportamento das interleucinas no escarro induzido, foi reportado que na DPOC há um aumento nos níveis de IL-8 em condições estáveis (68) e que, em exacerbações, a tendência é o aumento de IL-6, por vezes acompanhado do aumento de IL-8 (33). A IL-8, assim como o leucotrieno B₄, são importantes fatores quimiotáteis para neutrófilos (69). Em nossos pacientes constatamos que os corticóide-dependentes tinham níveis superiores desta interleucina em relação ao grupo não-corticóide, na visita basal e na exacerbação, embora com menor número de neutrófilos. É possível especularmos que a exposição crônica a níveis elevados de IL-8 leve a uma diminuição na resposta quimiotática a esta citocina, o que explicaria o fato de não ocorrer aumento no número de neutrófilos por ocasião da exacerbação. Em um estudo (70) comparativo entre a liberação de IL8 e de TNF por células epiteliais humanas cultivadas, observou-se que, após estímulo, a liberação é maior em pacientes não-fumantes ou fumantes assintomáticos, quando comparados com pacientes portadores de DPOC, sugerindo que alguma forma de regulação, para baixo, dos mediadores inflamatórios pode estar ocorrendo em células de indivíduos portadores de DPOC, como um mecanismo de proteção contra a inflamação persistente. A constatação de que a melhor resposta quimiotática para citocinas ocorre em diluições intermediárias (69) é concordante com esta hipótese. Estes autores também observaram que existe quimiotaxia para neutrófilos, mesmo após a inibição da IL8 e do LTB₄, sugerindo a existência de outras substâncias com atividade quimiotática que precisam ser identificadas.

Além da atividade quimiotática para neutrófilos, a IL8 apresenta ainda atividade quimiotática, em menor grau, para eosinófilos (29); talvez a migração de eosinófilos em DPOC seja uma resposta migratória não-seletiva à IL-8 e à LTB₄, acompanhando a migração de neutrófilos, mais do que uma resposta a substâncias quimiotáticas específicas para eosinófilos (37). O grupo corticóide- dependente apresenta níveis significativamente elevados de IL-8 em relação ao grupo não-corticóide no estado basal (V0); sendo possível que a exposição em níveis elevados de IL8 resulte em aumento do número de eosinófilos no grupo corticóide.

Estudos *In vitro* demonstram que a liberação de IL8, TNF e matriz metaloproteinase 9 (MMP-9) por macrófagos de pessoas saudáveis ou fumantes assintomáticos é inibida pelos corticosteróides (71), o que não ocorre com macrófagos de pacientes com DPOC; no entanto, o corticóide é capaz de inibir a liberação do GM-CSF por macrófagos de pacientes com DPOC. Como citado (69), o bloqueio da IL8 e de LTB₄ não foi capaz de inibir toda a capacidade quimiotática do escarro de pacientes com DPOC, e a atividade quimiotática residual poderia decorrer da ação do GM-CSF. Possivelmente a inibição da liberação pelo macrófago do GM-CSF tenha algum papel na resposta ao corticóide no Grupo 1.

No delineamento de nosso estudo, ao definirmos as citocinas analisadas, optamos pela dosagem da IL-4, que imaginávamos associada à resposta eosinofílica. Entretanto, não encontramos relação entre esta interleucina e a % de eosinófilos. Outros autores obtiveram o mesmo resultado (60,63), enfatizando a complexidade da resposta inflamatória na DPOC.

A asma e a DPOC são qualificadas em termos clínicos, funcionais e fisiopatológicos. De um lado se encontram pacientes com história iniciada na infância, não fumantes, com antecedentes de atopia, resposta evidente ao tratamento e padrão inflamatório eosinofílico. Em contrapartida, na DPOC, os pacientes apresentam história de tabagismo, início tardio da doença, ausência de antecedentes de atopia, resposta menos evidente ao tratamento e padrão inflamatório neutrofílico. Ao nos depararmos com um grupo de pacientes como o que analisamos neste estudo, clinicamente caracterizados como DPOC, com padrão inflamatório com predomínio neutrofílico, porém associado ao aumento do número de eosinófilos (apesar do uso de corticóide oral), é lógico inferir que estes pacientes não devem ser abordados e tratados da mesma forma que os demais portadores de DPOC. Conseguir reconhecê-los na prática clínica é um desafio importante, visto que a abordagem terapêutica a ser proposta deverá ser diferenciada. Pacientes portadores de DPOC com eosinofilia podem representar um subgrupo específico, que responde a corticóide não diferindo dos demais em outros aspectos.

6. CONCLUSÕES

1. Pacientes portadores de DPOC corticóide dependentes representam um subgrupo no espectro da doença.
2. Tendem à exacerbação quando se faz a retirada progressiva do corticóide, com uma resposta inflamatória eosinofílica. Este padrão é revertido com a reintrodução do corticóide.
3. Este grupo apresenta concentrações mais elevadas de Interleucinas 4, 6 e 8, na condição basal e na exacerbação, quando comparados com pacientes portadores de DPOC e não corticóide dependentes.

7. ANEXOS

ANEXO 1 - Características individuais, hábito tabágico e parâmetros funcionais nos pacientes corticóides dependentes

<i>Identificação (ID)</i>	<i>Sexo</i>	<i>idade</i>	<i>Anos maço</i>	<i>Semfumar há (anos)</i>	<i>VEF₁/CVF</i>	<i>VEF₁(L)</i>	<i>VEF₁(%)</i>	<i>CVF (L)</i>
1	M	63	47	6	0,63	0,69	32	1,10
2	M	57	11	30	0,45	1,02	32	2,28
3	F	54	60	2	0,30	0,80	39	2,68
4	F	63	25	0	0,37	0,60	33	1,61
5	F	61	47	7	0,32	0,64	32	1,98
6	M	69	50	6	0,64	1,70	90	2,67
7	F	65	40	6	0,52	0,82	46	1,59
8	M	76	64	25	0,45	0,90	35	2,01
9	M	59	23	18	0,72	1,12	41	1,56
10	M	65	35	11	0,34	0,70	24	2,05
11	M	56	200	4	0,43	0,79	29	1,84
12	M	82	40	20	0,53	1,54	79	2,93
13	M	59	60	3	0,33	1,03	43	3,08
14	M	66	20	23	0,67	2,13	62	3,18
Média		63,93	51,57	11,50	0,48	1,03	44,07	2,18
Erro padrão		7,71	45,64	9,74	0,14	0,45	19,54	0,64
Mediana		63	43,5	6,5	0,45	0,86	37	2,03

<i>Identificação</i>	<i>CVF(%)</i>	<i>BDVEF₁</i>	<i>VEF₁ Chg%</i>	<i>BD CVF</i>	<i>CVF Chg%</i>	<i>CRF</i>	<i>CRF%</i>	<i>CPT</i>	<i>CPT%</i>
1	41	0,86	24	1,51	37	4,20	159	5,44	114
2	51	1,18	16	2,91	27	5,23	140	7,15	107
3	98	0,82	2	2,81	4	4,30	189	5,83	139
4	64	0,65	7	1,82	13	4,71	207	5,72	141
5	80	1,04	62	2,79	41	6,23	289	7,46	189
6	109	1,66	-2	2,64	-1	4,38	152	6,62	138
7	63	0,93	13	1,89	18	4,13	117	5,42	132
8	61	0,96	6	2,20	9	4,97	141	6,27	111
9	46	1,61	43	3,00	92	4,91	172	6,20	114
10	55	0,76	7	2,05	0	8,08	219	9,61	162
11	56	1,18	49	2,42	31	4,47	168	5,65	106
12	94	1,60	3	2,97	1	4,40	140	6,51	119
13	104	1,27	23	3,18	3	4,98	172	7,22	145
14	73	2,34	10	3,65	14	4,89	135	8,25	124
Média	71,07	1,20	18,79	2,56	20,64	4,99	171,43	6,67	131,50
Erro padrão	22,35	0,46	19,48	0,60	24,86	1,04	44,20	1,19	23,38
Mediana	63,5	1,11	11,5	2,715	13,5	4,8	163,5	6,39	128

<i>Identificação</i>	<i>VR</i>	<i>VR%</i>	<i>VR/TLC</i>	<i>CI</i>	<i>CI%</i>	<i>Dsb</i>	<i>Dsb%</i>	<i>D/VA</i>	<i>D/VA%</i>	<i>SAT %</i>
1	4,01	214	0,74	1,24	59	7,97	33	2,92	57	93
2	4,44	200	0,61	1,92	65	9,04	34	1,81	45	94
3	3,23	223	0,55	1,54	81	5,68	31	1,17	27	93
4	4,39	286	0,77	1,01	57	*	*	*	*	89
5	5,25	353	0,70	1,23	69	11,72	68	2,22	51	94
6	3,84	171	0,58	2,23	118	20,68	95	4,40	97	96
7	3,34	211	0,62	1,29	73	10,65	62	2,65	63	93
8	4,30	175	0,69	1,30	61	18,08	79	2,70	66	90
9	4,35	216	0,70	1,29	50	30,10	117	6,54	139	92
10	7,38	324	0,76	1,53	68	8,00	32	1,35	32	95
11	3,71	195	0,65	1,18	44	16,14	62	2,86	58	94
12	3,45	148	0,53	2,11	91	17,87	84	3,46	89	96
13	4,23	226	0,58	2,24	107	15,32	61	2,84	56	97
14	4,77	190	0,58	3,18	105	27,14	105	3,84	99	93
Média	4,34	223,71	0,65	1,66	74,86	15,26	66,38	2,98	67,62	93,50
Erro padrão	1,04	58,43	0,08	0,60	22,56	7,51	28,88	1,41	30,92	2,21
Mediana	4,265	212,5	0,635	1,415	68,5	15,32	62	2,84	58	93,5

ANEXO 2 - Características individuais, hábito tabágico e parâmetros funcionais no grupo não corticóides dependentes

<i>Identificação</i>	<i>Sexo</i>	<i>idade</i>	<i>tabag</i>	<i>semfum</i>	<i>VEF₁/CVF</i>	<i>VEF₁(L)</i>	<i>VEF₁(%)</i>	<i>CVF (L)</i>
1	M	71	75	5	0,71	1,62	68	2,30
2	M	70	60	17	0,36	0,84	32	2,35
3	M	62	112	2	0,54	1,78	51	3,33
4	M	63	40	10	0,29	0,63	30	2,20
5	M	75	23	8	0,37	0,88	40	2,39
6	F	62	20	6	0,59	1,50	74	2,52
7	M	62	110	0	0,39	1,41	53	3,62
8	M	59	60	6	0,36	1,34	44	3,71
9	M	76	20	20	0,38	0,80	34	2,10
MÉDIA		66,67	57,78	8,22	0,44	1,20	47,33	2,72
DP		6,36	35,97	6,57	0,14	0,42	15,66	0,64
Mediana		63	60	6	0,38	1,34	44	2,39

<i>Identificação</i>	<i>CVF(%)</i>	<i>BDVEF₁</i>	<i>VEF₁ Chg%</i>	<i>BD CVF</i>	<i>CVF Chg%</i>	<i>CRF</i>	<i>CRF%</i>	<i>CPT</i>	<i>CPT%</i>
1	65	1,89	16	2,56	11	4,23	131	5,74	100
2	61	0,96	14	2,85	21	6,07	174	8,77	142
3	65	1,86	4	3,79	13	4,86	110	7,76	100
4	85	0,69	9	2,34	6	4,20	141	5,85	126
5	85	0,86	-1	2,66	11	4,00	134	6,14	120
6	102	1,59	6	2,79	10	3,25	144	5,23	133
7	98	1,71	21	3,78	4	3,95	124	5,65	99
8	87	1,42	6	3,87	4	4,64	129	7,40	115
9	59	0,91	14	2,72	29	5,98	179	7,34	125
MÉDIA	78,56	1,32	9,89	3,04	12,11	4,58	140,67	6,65	117,78
DP	16,36	0,47	6,88	0,60	8,22	0,94	22,59	1,20	15,55
Mediana	85	1,42	9	2,79	11	4,23	134	6,14	120

<i>Identificação</i>	<i>VR%</i>	<i>VR/TLC</i>	<i>CI</i>	<i>CI%</i>	<i>Dsb</i>	<i>Dsb%</i>	<i>D/VA</i>	<i>D/VA%</i>	<i>SAT %</i>
1	169	0,65	1,50	60	13,31	57	3,03	74	95
2	237	0,62	2,70	101	22,81	94	2,81	72	90
3	136	0,47	2,90	86	3,75	14	0,46	13	92
4	210	0,67	1,65	99	10,94	45	2,47	47	82
5	166	0,61	2,14	100	7,71	34	1,82	41	93
6	185	0,53	1,98	117	21,78	126	4,51	102	94
7	104	0,36	1,70	67	5,94	24	0,90	21	89
8	173	0,51	2,75	97	8,65	33	1,37	34	92
9	211	0,67	1,36	54	15,10	66	3,64	94	93
MÉDIA	176,78	0,57	2,08	86,78	12,22	54,78	2,33	55,33	91,11
DP	40,50	0,11	0,58	21,59	6,70	35,97	1,32	31,62	3,89
Mediana	173	0,61	1,98	97	10,94	45	2,47	47	92

Anexo 3a - Descrição de parâmetros funcionais, celularidade do escarro, Interleucinas e dose de corticóide em cada visita, em pacientes não usuários crônicos de corticóide oral.

<i>Identificação</i>	<i>SEXO</i>	<i>DATA</i>	<i>VISITA</i>	<i>CE</i>	<i>VEF1/CVF</i>	<i>VEF1(L)</i>	<i>VEF1%</i>	<i>CVF(L)</i>	<i>CVF% Tx10⁶</i>	<i>EOS%</i>	<i>NEUT%</i>	<i>LINF%</i>	<i>MACRO%</i>	<i>IL4</i>	<i>IL6</i>	<i>IL8</i>
1	M	16/3/01	1	0,0	0,76	2,1	91	2,75	93	2,10	0,00	49,70	0,00	17,30	3,12	671,69
1	M	27/6/02	2	0,0	0,66	1,57	69	2,39	82	2,90	50,15	29,36	0,00	19,57	3,12	1096,10
1	M	11/7/02	3	40,0	0,64	2,37	104	3,70	127	0,64	0,91	74,54	0,00	19,09	3,12	752,41
2	M	10/5/01	1	0,0	0,29	1,01	34	3,47	91	1,50	0,00	59,50	0,00	40,40	3,12	452,94
2	M	23/5/01	2	0,0	0,26	0,72	24	2,73	72	4,50	8,10	87,30	0,00	4,40	3,12	31,25
2	M	7/6/01	3	40,0	0,37	1,12	37	3,06	80	13,60	10,60	78,70	0,70	6,70	3,12	309,72
3	M	28/6/02	1	0,0	0,48	1,81	41	3,72	68	2,30	0,00	79,32	1,98	17,56	3,12	1322,70
3	M	12/7/02	2	0,0	0,38	1,55	35	4,11	74	18,00	0,22	75,06	2,02	22,70	3,12	31,25
3	M	26/7/02	3	40,0	0,37	1,76	40	4,74	85	3,00	0,97	81,87	0,78	13,64	3,12	1085,70
4	M	8/5/03	1	0,0	0,28	0,62	29	2,23	83	8,20	2,50	95,73	0,25	1,51	3,12	31,25
4	M	3/7/03	2	0,0	0,31	0,65	30	2,08	78	4,50	0,49	95,86	0,24	3,41	17,21	31,25
4	M	17/7/03	3	40,0	0,32	0,72	33	2,25	84	3,40	0,00	95,80	0,00	4,20	3,12	487,05
5	M	29/5/03	1	0,0	0,31	0,91	40	2,92	100	16,50	2,76	85,77	0,00	6,32	3,12	1621,20
5	M	9/6/03	2	0,0	0,54	0,88	39	1,63	56	3,80	0,31	84,23	0,31	15,14	7,20	998,69
5	M	3/7/03	3	40,0	0,38	0,98	43	2,58	89	0,90	1,75	82,46	0,00	15,79	6,53	492,41
6	F	5/6/03	1	0,0	0,53	1,16	56	2,20	91	5,30	0,68	91,84	0,00	7,48	3,79	297,42
6	F	14/8/03	2	0,0	0,54	0,91	44	1,69	70	15,60	0,50	92,90	0,30	6,30	12,15	52,32
6	F	28/8/03	3	40,0	0,57	1,41	68	2,46	102	6,90	0,00	77,60	0,00	22,40	3,12	633,74
7	M	17/7/03	1	0,0	0,35	1,37	58	3,86	130	15,70	4,60	86,10	0,00	9,30	8,43	31,25
7	M	28/8/03	2	0,0	0,38	1,39	58	3,64	123	4,50	2,70	91,00	0,00	5,00	21,15	685,62
7	M	11/9/03	3	40,0	0,41	1,51	65	3,74	126	3,50	3,50	84,80	0,64	10,90	3,12	31,25
8	M	24/7/03	1	0,0	0,35	1,29	39	3,69	91	8,10	0,60	90,00	0,00	9,40	3,12	31,25
8	M	31/7/03	2	0,0	0,38	1,22	37	3,22	79	12,10	0,30	98,30	0,00	1,40	15,37	31,25
8	M	14/9/03	3	40,0	0,33	1,38	42	4,20	103	8,10	0,00	83,40	0,00	16,60	3,12	1004,10
9	M	14/8/03	1	0,0	0,33	0,79	34	2,38	80	6,00	0,50	96,90	0,00	2,60	3,12	31,25
9	M	28/8/03	2	0,0	0,40	0,65	28	1,64	55	20,30	13,50	83,40	0,00	3,00	3,12	569,34
9	M	11/9/03	3	40,0	0,35	0,75	32	2,13	72	6,90	0,00	99,00	0,00	0,89	3,12	767,91

Anexo 3b - Descrição de parâmetros funcionais, celularidade do escarro, Interleucinas e dose de corticóide em cada visita, em pacientes usuários crônicos de corticóide oral.

ID	SEXO	DATA	VISITA	CE	VEF1/CVF	VEF1(L)	VEF1%	CVF(L)	CVF%	Tx10 ⁶	EOS%	NEUT%	LINF%	MACRO%	IL4	IL6	IL8
1	M	26/10/01	0	15,0	0,44	0,64	29	1,45	54	0,40	0,00	20,00	0,00	75,00	3,12	44,99	758,70
1	M	9/11/01	1	40,0	0,43	0,96	34	2,24	64	0,48	0,58	28,23	0,58	68,23	5,55	12,37	894,50
1	M	16/1/02	2	7,5	0,59	0,73	26	1,24	36	1,50	4,30	70,16	0,00	12,08	25,69	180,94	1471,40
1	M	1/2/02	3	40,0	0,50	0,90	32	1,78	51	1,26	2,20	85,60	0,00	11,20	3,12	36,79	499,57
2	M	1/11/01	0	5,0	0,38	0,69	19	1,83	40	1,60	68,43	25,91	0,00	4,74	3,12	154,21	1239,40
2	M	14/11/01	1	40,0	0,55	1,50	41	2,71	59	3,30	6,06	50,25	0,00	40,40	6,23	84,8	1635,20
2	M	10/1/02	2	7,5	0,45	0,71	19	1,59	34	1,40	18,66	64,92	0,00	16,27	22,42	186,76	1301,90
2	M	24/1/02	3	40,0	0,56	1,48	40	2,66	57	0,24	3,14	58,00	0,00	29,14	3,12	36,88	372,22
3	F	1/11/01	0	20,0	0,32	0,87	37	2,68	94	1,60	0,00	74,73	0,35	24,73	3,12	85,41	1215,40
3	F	14/11/01	1	40,0	0,31	0,66	28	2,13	75	6,80	0,12	85,76	0,00	13,85	6,48	9,38	31,25
3	F	7/3/02	2	2,5	0,28	0,81	35	2,89	108	3,40	7,84	86,04	0,87	1,45	21,37	371,04	1229,00
3	F	21/3/02	3	40,0	0,28	0,85	37	3,03	114	4,90	3,31	88,01	0,25	4,33	3,12	180,01	747,20
4	F	23/11/01	0	5,0	0,42	0,66	32	1,59	62	3,90	1,94	47,44	0,00	49,21	3,12	183,25	617,64
4	F	6/12/01	1	40,0	0,41	0,99	48	2,39	93	2,40	1,08	63,04	0,00	30,98	4,53	429,06	1700,00
4	F	31/1/02	2	2,5	0,39	0,52	25	1,31	51	7,92	2,20	76,40	0,00	20,20	17,2	111,57	737,90
4	F	15/2/02	3	40,0	0,40	0,53	26	1,32	52	8,60	1,91	78,22	0,00	12,44	3,25	202,31	1546,10
5	F	17/5/02	0	10,0	0,51	0,87	42	1,69	70	3,60	0,51	86,22	0,00	5,36	3,38	31,35	801,89
5	F	29/5/02	1	40,0	0,38	0,83	40	2,18	90	2,10	2,48	84,85	0,55	8,54	5,16	9,38	31,25
5	F	25/7/02	2	7,5	0,32	0,70	34	2,17	89	1,20	23,48	40,00	0,29	31,30	35,74	185,85	710,75
5	F	15/8/02	3	40,0	0,49	1,25	60	2,53	105	1,60	0,00	74,86	0,18	21,13	3,12	552,86	189,40
6	M	20/6/02	0	10,0	0,62	1,69	67	2,65	87	3,96	0,23	70,37	0,00	28,93	3,94	203,96	1327,90
6	M	4/7/02	1	40,0	0,60	1,77	71	2,97	94	3,10	0,00	71,71	0,29	27,69	4,31	478,54	1783,60
6	M	23/8/02	2	5,0	0,62	1,27	51	2,04	64	1,40	2,00	74,00	0,00	19,00	49,57	346,77	2298,40
6	M	5/9/02	3	40,0	0,65	1,80	72	2,77	87	3,20	0,20	77,90	0,00	21,50	3,85	377,8	1106,60
7	F	18/7/02	0	25,0	0,50	0,62	31	1,23	52	1,30	3,48	84,67	0,00	8,71	3,75	109,37	1140,40
7	F	1/8/02	1	40,0	0,47	0,66	33	1,41	59	5,10	1,76	82,62	0,00	8,56	3,75	170,79	1663,80
7	F	1/8/02	2	40,0	0,47	0,66	33	1,41	59	5,10	1,76	82,62	0,00	8,56	3,75	170,79	1663,80
7	F	15/08/02	3	60,0	0,52	0,84	41	1,63	69	1,52	5,53	63,47	0,74	26,20	3,12	331,11	1846,1

continuação Anexo 3b

ID	SEXO	DATA	VISITA	CE	VEF1/ CVF	VEF1 (L)	VEF1 %	CVF (L)	CVF %	Tx10 ⁶	EOS%	NEUT%	LINF%	MACRO%	IL4	IL6	IL8
8	M	19/7/02	0	10,0	0,52	0,87	36	1,67	53	15,30	0,40	79,08	0,80	18,13	3,12	9,38	109,21
8	M	2/8/02	1	40,0	0,44	0,70	29	1,58	50	21,70	0,00	97,18	0,00	2,82	3,12	10,47	575,33
8	M	13/9/02	2	7,5	0,42	0,77	32	1,82	58	28,90	0,70	98,70	0,00	0,40	3,12	19,68	31,25
8	M	27/9/02	3	40,0	0,47	0,74	30	1,56	50	25,20	0,00	97,85	0,00	1,67	3,12	27,67	903,45
9	M	2/8/02	0	40,0	0,52	0,98	32	1,89	50	0,60	11,96	22,26	0,00	63,46	3,12	166,49	1880,00
9	M	16/8/02	1	40,0	0,58	1,18	38	2,05	54	2,30	7,84	38,48	0,00	45,13	3,72	224,43	1812,30
9	M	30/8/02	2	20,0	0,42	0,49	16	1,16	30	1,70	68,20	23,10	1,40	6,60	19,15	75,58	1044,10
9	M	13/9/02	3	40,0	0,55	1,58	52	2,87	55	4,60	27,50	40,00	0,20	28,60	3,12	266,62	1887,80
10	M	22/8/02	0	5,0	,030	0,58	20	1,91	51	11,75	1,33	89,98	0,50	7,85	3,12	9,38	31,25
10	M	5/9/02	1	40,0	0,30	0,54	18	1,76	47	3,00	1,20	91,20	0,70	6,70	3,12	226,07	596,17
10	M	18/10/02	2	5,0	0,40	0,54	18	1,35	36	14,50	3,53	70,00	0,00	26,27	3,12	283,465*	1752,40
10	M	31/10/02	3	40,0	0,44	0,54	18	1,24	33	4,40	1,00	66,00	3,33	29,00	3,12	546,11	1794,00
11	M	22/8/02	0	20,0	0,45	0,74	27	1,64	48	12,36	0,73	75,85	0,00	22,93	3,12	280,13	1340,90
11	M	5/9/02	1	40,0	0,42	0,70	25	1,65	49	23,50	1,40	89,10	0,20	9,30	3,12	527,06	1281,00
11	M	18/9/02	2	20,0	0,44	0,82	30	1,86	55	8,80	7,10	81,30	0,70	10,80	16,24	78,465*	1083,10
11	M	2/10/02	3	40,0	0,42	0,79	29	1,87	55	6,10	0,44	92,00	0,00	7,00	3,12	354,04	1723,70
12	M	23/8/02	0	10,0	0,49	0,91	49	1,87	76	1,30	8,85	86,00	0,86	4,00	3,12	76,2	1846,10
12	M	6/9/02	1	40,0	0,62	1,48	79	2,38	97	0,63	0,00	78,95	0,00	10,53	4,43	57,77	465*
12	M	2/10/02	2	10,0	0,58	1,14	62	1,98	82	4,40	38,00	55,00	0,00	7,00	7,52	391,31	2062,30
12	M	16/10/02	3	40,0	0,60	1,57	86	2,62	108	1,20	0,00	81,10	0,00	16,53	3,12	76,2	1908,60
13	M	11/10/02	0	20,0	0,36	0,89	32	2,44	70	2,00	4,14	83,70	0,00	12,15	3,12	36,81	1853,90
13	M	23/10/02	1	40,0	0,37	1,10	39	3,00	86	2,40	0,00	89,09	0,00	8,46	3,12	124,72	1702,90
13	M	21/11/02	2	10,0	0,36	1,09	39	3,03	87	4,00	12,25	70,28	2,81	10,84	4,2	472,39	1218,50
13	M	5/12/02	3	40,0	0,40	0,89	32	2,25	65	9,20	0,00	94,00	0,25	5,50	3,12	9,38	31,25
14	M	31/10/02	0	20,0	0,68	2,10	32	3,11	70	7,70	3,86	60,30	0,00	28,08	3,97	476,96	1814,90
14	M	14/11/02	1	40,0	0,59	1,70	50	2,88	67	23,80	0,00	95,25	0,36	4,38	16,41	9,38	31,25
14	M	14/11/02	2	40,0	0,59	1,70	50	2,88	67	23,80	0,00	95,25	0,36	4,38	16,41	9,38	31,25
14	M	28/11/02	3	40,0	0,70	2,13	63	3,04	71	8,20	1,13	70,82	0,00	18,41	4,9	433,7	695,12

ANEXO 4: Análise das correlações entre EOS% e IL4 separadamente para cada visita

GRUPO	ID	EOS_V0	EOS_EX	Variação absoluta do EOS	IL4_V0	IL4_EX	Variação percentual do IL4
Grupo 2	1	0,00	50,15	50,15	3,12	3,12	0,00
Grupo 2	2	0,00	8,10	8,10	3,12	3,12	0,00
Grupo 2	3	0,00	0,22	0,22	3,12	3,12	0,00
Grupo 2	4	2,50	0,49	-2,01	3,12	17,21	451,60
Grupo 2	5	2,76	0,31	-2,45	3,12	7,20	130,77
Grupo 2	6	0,68	0,50	-0,18	3,79	12,15	220,58
Grupo 2	7	4,60	2,70	-1,90	8,43	21,15	150,89
Grupo 2	8	0,60	0,30	-0,30	3,12	15,37	392,63
Grupo 2	9	0,50	13,50	13,00	3,12	3,12	0,00
Grupo 1	1	0,00	4,30	4,30	3,12	25,69	723,40
Grupo 1	2	68,43	18,66	-49,77	3,12	22,42	618,59
Grupo 1	3	0,00	7,84	7,84	3,12	21,37	584,94
Grupo 1	4	1,94	2,20	0,26	3,12	17,20	451,28
Grupo 1	5	0,51	23,48	22,97	3,38	35,74	957,40
Grupo 1	6	0,23	2,00	1,77	3,94	49,57	1158,12
Grupo 1	7	3,48	1,76	-1,72	3,75	3,75	0,00
Grupo 1	8	0,40	0,70	0,30	3,12	3,12	0,00
Grupo 1	9	11,96	68,20	56,24	3,12	19,15	513,78
Grupo 1	10	1,33	3,53	2,20	3,12	3,12	0,00
Grupo 1	11	0,73	7,10	6,37	3,12	16,24	420,51
Grupo 1	12	8,85	38,00	29,15	3,12	7,52	141,03
Grupo 1	13	4,14	12,25	8,11	3,12	4,20	34,62
Grupo 1	14	3,86	0,00	-3,86	3,97	16,41	313,35

ANEXO 5: Análise das correlações entre IL4 e RBD, Anos /maço e tempo sem fumar

GRUPO	ID	IL4_0	IL4_EX	VAR_IL4	RBD	Anos/Maço	Tempo sem fumar
Grupo 2	1	3,12	3,12	0,00	>15	75	5
Grupo 2	2	3,12	3,12	0,00	<15	60	17
Grupo 2	3	3,12	3,12	0,00	<15	112	2
Grupo 2	4	3,12	17,21	451,60	<15	40	10
Grupo 2	5	3,12	7,20	130,77	<15	23	8
Grupo 2	6	3,79	12,15	220,58	<15	20	6
Grupo 2	7	8,43	21,15	150,89	>15	110	0
Grupo 2	8	3,12	15,37	392,63	15	60	6
Grupo 2	9	3,12	3,12	0,00	<15	20	20
Grupo 1	1	3,12	25,69	723,40	>15	47	6
Grupo 1	2	3,12	22,42	618,59	>15	11	30
Grupo 1	3	3,12	21,37	584,94	<15	60	2
Grupo 1	4	3,12	17,20	451,28	<15	25	0
Grupo 1	5	3,38	35,74	957,40	>15	47	7
Grupo 1	6	3,94	49,57	1158,12	<15	50	6
Grupo 1	7	3,75	3,75	0,00	<15	40	6
Grupo 1	8	3,12	3,12	0,00	<15	64	25
Grupo 1	9	3,12	19,15	513,78	>15	23	18
Grupo 1	10	3,12	3,12	0,00	<15	35	11
Grupo 1	11	3,12	16,24	420,51	>15	200	4
Grupo 1	12	3,12	7,52	141,03	<15	40	20
Grupo 1	13	3,12	4,20	34,62	>15	60	3
Grupo 1	14	3,97	16,41	313,35	<15	20	23

ANEXO 6: Análise da correlação entre a variação no número de NEUT% e a variação no IL8 entre a visita V0 e EXAC

ID	GRUPO	NEUT 0	NEUT EX	VAR NEUT	NEUT	IL8_0	IL8_EX	VAR_IL8	IL8
1	Grupo 2	49,70	29,36	-40,93	Diminuiu	671,69	1096,10	63,19	Aumentou
2	Grupo 2	59,50	87,30	46,72	Aumentou	452,94	31,25	-93,10	Diminuiu
3	Grupo 2	79,32	75,06	-5,37	Diminuiu	1322,70	31,25	-97,64	Diminuiu
4	Grupo 2	95,73	95,86	0,14	Aumentou	31,25	31,25	0,00	
5	Grupo 2	85,77	84,23	-1,80	Diminuiu	1621,20	998,69	-38,40	Diminuiu
6	Grupo 2	91,84	92,90	1,15	Aumentou	297,42	52,32	-82,41	Diminuiu
7	Grupo 2	86,10	91,00	5,69	Aumentou	31,25	685,62	2093,98	Aumentou
8	Grupo 2	90,00	98,30	9,22	Aumentou	31,25	31,25	0,00	
9	Grupo 2	96,90	83,40	-13,93	Diminuiu	31,25	569,34	1721,89	Aumentou
1	Grupo 1	20,00	70,16	250,80	Aumentou	758,70	1471,40	93,94	Aumentou
2	Grupo 1	25,91	64,92	150,56	Aumentou	1239,40	1301,90	5,04	Aumentou
3	Grupo 1	74,73	86,04	15,13	Aumentou	1215,40	1229,00	1,12	Aumentou
4	Grupo 1	47,44	76,40	61,05	Aumentou	617,64	737,90	19,47	Aumentou
5	Grupo 1	86,22	40,00	-53,61	Diminuiu	801,89	710,75	-11,37	Diminuiu
6	Grupo 1	70,37	74,00	5,16	Aumentou	1327,90	2298,40	73,09	Aumentou
7	Grupo 1	84,67	82,62	-2,42	Diminuiu	1140,40	1663,80	45,90	Aumentou
8	Grupo 1	79,08	98,70	24,81	Aumentou	109,21	31,25	-71,39	Diminuiu
9	Grupo 1	22,26	23,10	3,77	Aumentou	1880,00	1044,10	-44,46	Diminuiu
10	Grupo 1	89,98	70,00	-22,21	Diminuiu	31,25	1752,40	5507,68	Aumentou
11	Grupo 1	75,85	81,30	7,19	Aumentou	1340,90	1083,10	-19,23	Diminuiu
12	Grupo 1	86,00	55,00	-36,05	Diminuiu	1846,10	2062,30	11,71	Aumentou
13	Grupo 1	83,70	70,28	-16,03	Diminuiu	1853,90	1218,50	-34,27	Diminuiu
14	Grupo 1	60,30	95,25	57,96	Aumentou	1814,90	31,25	-98,28	Diminuiu

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prescott E, Lange P. Chronic mucus hypersecretion in COPD and death from pulmonary infection. *Eur Respir J*. 1995; 147:301-6.
2. Davis R. The epidemiology of cigarette smoking and its impact on chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* .1989; 140:S82-4.
3. Buist A S, Vollmer W M. Smoking and other risk factors. In: Murray J F, Nadel J A eds. *Textbook of respiratory medicine*. Philadelphia. WB Sanders, 1994; 1259-87.
4. Jeffery P.K. Inflammation in chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:53-4.
5. Ciba guest symposium report. Terminology, definitions, and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions. *Thorax* .1959; 14:286-99.
6. American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:225-44.
7. National Heart, Lung and Blood Institute Division of Lung Diseases Workshop Report. The definition of emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:182-5.
8. Culpitt S V , Maziak W, Barnes P J. Effect of high dose inhaled steroid on cells, cytokines, and proteases in induced sputum in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160: 1635-39.

9. Llewellyn-Jones C G, Harris T A J, Stockley R A. Effect of fluticasone propionate on sputum of patients with chronic bronchitis and emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 153:616-21.
10. Brightling C E, Monteiro W, Ward R, Wardlaw A J. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000; 356:1480-85.
11. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.
12. Barnes P J. New concepts in chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Med* 2003; 54:113-29.
13. Cosio M G and Guerassimov A. Chronic Obstructive Pulmonary Disease- Inflammation of small airways and lung parenchyma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S21-5.
14. Pizzichini E, Pizzichini M. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158:1511-17.
15. Pizzichini E, Pizzichini M, Hargreave F. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154:308-17.
16. Beeh K M, Beier J, Kornmann O. Long-term repeatability of induced sputum cells and inflammatory markers in stable, moderately severe COPD. *CHEST.* 2003; 123:778-83.
17. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne P M, Sears M R, Hargreave F E. Induced sputum cells counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160:S53-7

18. Maestrelli P, Saetta M. Comparison of Leukocyte Counts in Sputum, Bronchial Biopsies and Bronchoalveolar Lavage. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152:1926-31
19. Rutgers S R, Timens W, Kaufmann H F. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronquial biopsies in COPD. *Eur Respir J.* 2000; 15;109-15.
20. Hargreave F E, Leigh R. Induced sputum, eosinophilic bronquitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Me.d* 1999; 160:S53-7.
21. Niewoehner D. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Eng J Méd.* 1974; 291:755 –8.
22. Corrigan C J and A B Kay. The role of inflammatory cells in the pathogenesis of asthma and chronicobstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 142:1165-68.
23. Jeffery P K. Bronquial Biopsies and airway inflammation. *Eur Respir J.* 1996; 9:1583-7.
24. Stankiewicz W, Dabrowski M P, Plusa T. Cellular and cytokine immunoregulation in patients with chronic obstructive disease and bronchial asthma. *Mediator of Inflammation.* 2002; 11:307-12.
25. Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, Lim S, Chung K F, Barnes P J. Neuthophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160:1532-9.
26. Keatings V M and Barnes P J. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma and normal subjetcts. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 155:449-53.

27. Balzano G, Stefanelli F. Eosinophilic Inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Care Med*. 1999; 160:1486-92.
28. Keatings V M, Collins P D, Barnes P J. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am Respir Crit JCare Med* . 1996; 153:530-4.
29. Qiu Y, Zu J, Band V. Biopsy Neutrophilia, Neutrophil chemokine and receptor gene expression in severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Crit Care Med*. 2003; 168:968-75.
30. Osman L M, Godden DJ, Friend J A R, Legge J S, Douglas J G. Quality of life and hospital re-admission in patients with chronic obstructiv pulmonary disease. *Thorax*.1997; 52:67-71.
31. Stefano A D, Capelli A, Saetta M. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158:1277-85.
32. Seemungal T A R , Donaldson G C, Paul E A, Bestall J C , Jeffries D J, Wedzicha J A. Effect of exacerbation on quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157:1418-22.
33. Bhowmik A, Seemungal T A R, Wedzicha J A. Relation of sputum inflammatory markers to symptoms and lung function changes in COPD exacerbations. *Thorax*. 2000; 55:114-20.
34. Bhowmik A, Seemungal T A R, Sapsford R J, Devalia J L, Wedzicha J A. Comparison of spontaneous and induced sputum for investigation of airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1998; 53:953-6.

35. Saetta M, Stefano A D, Maestrelli P, Turato G, Ruggieri M P. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 150:1646-52.
36. Aaron S D, Angel J B, Lunau M. Granulocyte inflammatory markers and airway infection during acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163:349-55.
37. Gompertz S, Stockley R A. Inflammation-Role of the neutrophil and the eosinophil. *Seminars in Respiratory Infections.* 2000; 15:14-23.
38. Niewoehner D E, Erbland M L , Deupree R H. Effect of systemic glucocorticoids on exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Méd.* 1999; 349:1941-47.
39. Wedzicha J A. Oral corticosteroids for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2000; 55:S23-7.
40. O'Brien A, Waard N S. Steroid therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Medicine and Health.Rhode Island.* 2002; 85:52-5.
41. Taskiran D P, Murray D A, Connett J E, Kanner R E, Lee W W and Wise R A. Methacholine reactivity predicts changes in lung function over time in smokers with early chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 153:1802-11.
42. Mahler D, Donohue J F. Efficacy of salmeterol xinafoate in the treatment of COPD. *CHEST.* 1999; 115:957-65.
43. Burge P S. *BMJ.* 2000; 320:1297-303.
44. The Lung Health Study Research Group. Effect of inhaled triamcinolone on the decline in pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Med.* 2000; 343:1902-09.

45. Fujimoto K, Kubo K, Yamamoto H. Eosinophilic Inflammation in the Airway is related to Glucocorticoid reversibility in patients with pulmonary emphysema. *CHEST*. 1999; 115:697-702.
46. Gibson P G, Wong B J, Hepperle M J, Kline P A, Girgis-Gabardo A, Guyatt G, Dolovich J, Denburg J A, Ramsdale E H, Hargreave F E. A research method to induce and examine a mild exacerbation of asthma by withdrawal of inhaled corticosteroid. *Clin Exp Allergy*. 1992 22(5): 525-32.
47. Pizzichini M M M, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Pavord I, Dolovich J, Hargreave F E. Prednisone-dependent asthma: inflammatory indices in induced sputum. *Eur Respir J*. 1999; 13:15-21.
48. McIvor R A, Pizzichini E, Turner M O, Hussack P, Hargreave F E and Sears M R. Potential masking effects of salmeterol on airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158: 924-30.
49. O'Brien A, Magno P R, Karki A, Hiranniramol S, Hardin M, Kaszaba M, Sherman C and S Rounds S. Effects on withdrawal of inhaled steroids in men with severe irreversible airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:365:71.
50. Parameswaran K, Pizzichini M M M, Li D, Pizzichini E, Jeffery P J, Hargreave F E. Serial sputum cell counts in the management of chronic airflow limitation. *Eur Respir J*. 1998; 11:1405-08.
51. Maestrelli P, Saetta M, Stefano AD et al. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152:1926 – 31.
52. Popov TA, Pizzichini M M M, Pizzichini E. Some technical factors influencing the induction of sputum for cell analysis. *Eur Respir J*. 1995; 8: 559-65.

53. Haslett C .Granulocyte apoptosis and its role in the resolution and control of lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:S5-11.
54. Stanescu D, Sanna A, Fabbri L M, Maestrelli P. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV₁ in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax.* 1996; 51:267-71.
55. Saetta M, Turato G. Inflammatory cells in the bronchial glands of smokers with chronic bronchitis. *Respir Crit Care Med.* 1997; 156:1633-39.
56. Prescott E, Lange P. Chronic mucus hypersecretion in COPD and death from pulmonary infection. *Eur Respir J.* 1995; 147:301-6.
57. Lacoste J I, Bousquet J, Chanez P. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Allergy Clin Immunol.* 1993; 92:537-48.
58. Lomas D A, Chamba A, Stockley R A. The effect of in vitro and in vivo dexamethasone on human neutrophil function. *Agents and Actions* 1991 33:279-85.
59. Jeffery P. Morphology of the airway wall in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis.* 1991; 143:1152-58.
60. Lacoste J Y, Bousquet J .Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergu Clin Immunol.* 1993; 92: 537-48.
61. Louis R E, Cataldo D, Buckley M G. Evidence of mast-cell activation in a subset of patients with eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 2002; 20:325-31.
62. Zhu J, Qiu Y S, Majumdar S, Gamble E, Matin D, Turato G, Fabbri L M, Barnes N, Saetta M and Jeffery P K. Exacerbations of Bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 164:109-16.

Calverley P, Buist A S, Rennard S, Fukuchi Y, Etahi E, . COPD exacerbations: the importance of a standad *espiratory Medicine*. 2004; 98:99-107.

64. Saetta M, Stefano A D, Maestrelli P, Turato G, Mapp C E, Zanguochi M, Prete G D and Fabbri L M. Airway eosinophilia and expression of interleukin-5 protein in asthma and in exacerbtions of chronic bronchitis. *Clin and Exp Allergy*. 1995; 26:766-74.
65. Callahan CM, Ditus RS, Katz BP. Oral corticosteroid therpay for patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. A meta-analysis. *Ann Intern Med*. 1991; 114:216-23.
66. Nagai A, W M Thurlbeck W M. Responsiveness and Variability of airflow obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* . 1995;151:635-9.
67. Chanez P, Vignola A M. Corticosteroid reversibility in COPD is related to features of Asthma. *Am J Respir Cri.Care Med*. 1997; 155:1529-34.
68. Riise G C , Larsson P, Andersson B. Bronchial inflammation in chronic bronchitis assessed by measurement of cell products in bronchial lavage fluid. *Thorax*. 1995; 50:360-5.
69. Beeh K M, Kornmann O, Buhl R. Neutrophil chemotactic activity of sputum from patients with COPD. *CHEST*. 2003; 123:1240-47.
70. Mills P R, Davies R J. Airway epithelial cells, cytokines and pollutants. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160:S38-43.
71. Bames P J, Shapiro S D, Pauwels R A. Chronic obstructive pulmonary disease:molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J*. 2003; 22:672-88.