

ARETA AGOSTINHO RODRIGUES DE SOUZA

**Análise do aparelho mucociliar e das propriedades reológicas do muco
respiratório em portadores de câncer pulmonar e extra-pulmonar**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Área de concentração: Patologia

Orientador: Profa. Dra. Elnara Márcia Negri

SÃO PAULO
2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Souza, Areta Agostinho Rodrigues de
Análise do aparelho mucociliar e das propriedades reológicas do muco respiratório
em portadores de câncer pulmonar e extrapulmonar / Areta Agostinho Rodrigues de
Souza. -- São Paulo, 2009.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Patologia.
Área de concentração: Patologia.
Orientadora: Elnara Márcia Negri.

Descritores: 1.Depuração mucociliar 2..Neoplasias pulmonares 3.Muco
4.Tabagismo 5.Célios

USP/FM/SBD-323/09

DEDICATÓRIA

À minha Querida Mãe MARIA (sempre presente)

Mulher forte e batalhadora, que nunca deixou abater-se. Me ensinou valores, caráter e mostrou a cada dia que existem muitos caminhos, mas só o caminho da honestidade e do amor leva à felicidade. Muito obrigada por cuidar da minha princesinha no momento mais difícil, de levantar minha cabeça para seguir em frente. Do apoio e do amor sem limites, mesmo quando estava levando sua netinha Giulia para longe. Tenho certeza que de onde estiver sempre estará nos protegendo. Este sonho realizado também é seu e sei que você está presente sempre. Obrigado por me transformar na mulher que sou hoje. Te Amo!!!

Ao meu Querido Pai, UILSON

Obrigado por acreditar, por estar sempre presente. Pelo amor incondicional e pelas horas de sono perdidas por preocupação. Você é um pai maravilhoso e dedicado, mesmo sabendo que seus filhos já aprenderam a andar sozinhos, até hoje sentimos a sua mão de segurança para não nos deixar cair. Obrigado pelos conselhos e desculpe pela bagunça, cada vez que o furacão filha passa por São Paulo. Obrigado por cuidar dos meus pequeninos e pelo carro emprestado "Sempre". Você é muito especial. Te Amo!!!

Ao meu Amor, RICARDO

Não tenho palavras para agradecer tanta dedicação e paciência. Os atropelos da vida, as mudanças, a luta pela adaptação longe de casa, dos amigos e dos familiares. Mas valeu, valeu muito. Aprendi com o primeiro ano separado, você em Palmas no Tocantins e eu cumprindo os créditos da tese em SP, que confiança e respeito é o alicerce do verdadeiro amor. "Homem de poucas palavras" desculpe pela falta de paciência e pelo último nível de stress que consegui, também, alcançar neste mês. Meu carinho por você é imenso. Eu Te Adoro.

À minha Querida Orientadora Nara

Você é uma pessoa iluminada, daquelas raras que a maioria das pessoas não tem a oportunidade na vida de conhecer. Não tenho palavras para agradecer toda a atenção, tudo que você me ensinou e por acreditar em mim, desde o primeiro momento quando você me levou para o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental e principalmente por continuar acreditando que eu terminaria a tese, mesmo a 1.900 Km de distância. Você é mais que Orientadora, é Amiga e sempre será. Obrigada pela honra de tê-la conhecido e de ter sido Orientada por ti. Você é simplesmente o Máximo.

DEDICATÓRIA

Esta página especial, é para tentar dar a importância certa a estas pessoas pequenas e que sem vocês eu NADA seria.

Aos Meus Dois Grandes Amores, GIULIA E GABRIEL

Simplesmente OBRIGADA, por vocês existirem. É a energia de vocês que dá força para a Mamãe seguir em frente.

Giulia, Obrigada pelo carinho, pelo abraço apertado e pelos dias de “silêncio a mamãe tá trabalhando”. Minha companheirinha de viagem, de trabalho e de vida. VOCÊ É MARAVILHOSA. Obrigada por cuidar do seu irmãozinho Gabriel.

Gabriel, meu furacãozinho, você tem pra quem puxar, seu olhar danado, seu sorriso de lado encanta a mamãe. Obrigado por tentar chamar minha atenção com suas frases de tom gradual: “mamãe... mamãe... mamãe...

Aretaaaaaa... Mãeeeeeee”

Meus Filhos, Desculpe a ausência e muitas vezes a falta de paciência.
EU AMO VOCÊS!!!

Agradecimentos

Um Muito Obrigada a todas as pessoas do Grupo de Defesa Pulmonar, que me acolheram, ensinaram e ajudaram os primeiros passos deste trabalho. Obrigada especial à Regiani, Mariangela e Claudia Yagi. Vocês são 10.

Obrigado, mais do que especial, ao meu amigo emprestado Dr. José Humberto, não sei nem o que dizer de ti. Desculpe as tabelas confusas, os prazos mais que apertados, a falta de conhecimento, habilidade e tudo mais sobre estatística. Não sei se isso é uma vitória, mas se eu sei alguma coisa hoje de estatística, sintam-se honrados, a culpa é sua. Saiba que aqui em casa você é sempre lembrado, pelas histórias do grupo de cirurgia oncológica contadas pelo marido Ricardo e pela saudade que sentimos de vocês. E Claro, no último mês, pela frase predileta... Pergunta para o Zé!!! À minha amiga Cris, obrigada por emprestar as horas do Zé Humberto e pela paciência.

À minha família, meu irmão querido Alexandre, cunhada Érica, meus sobrinhos João Victor e Felipe, Tios, Primos, Vó, Vô, Bisa e Biso. Muito Obrigada por me acolherem e fazer de cada ida a SP uma festa. Ale obrigada pelos jantares. Fábio e Lúcia, obrigada pelo aniversário inesquecível. Tia Vanda, obrigada pelo exagero de comida, mas não tem jeito, continuarei magrela.

À minha irmã, Victoria, pelo jeitinho tímido e olhar de lado, como quem diz ... O que tanto ela estuda? O que tanto ela escreve?.

À super Liduvina, obrigada pelo carinho e dedicação que você têm a todos os pós-graduandos. A Tocantinense aprendeu a ler mais e-mails.

À Lilian, técnica da Broncoscopia, obrigada pelo cateter e por todo o carinho destinado a este trabalho.

À minha amiga Andreia, Obrigada pelas horas no Laboratório, pela alegria, pela Viagem à Munique, inesquecível, assim como as fotos.

À minha Amiga Tatiana, obrigada pelo apoio, mesmo não entendendo nada do trabalho. Pela visita à Palmas e pelo carinho à distância.

Aos meus amigos Jorge Saade e Suzana, nossa família emprestada. Obrigada por cuidarem do Ricardo, na minha grande ausência e principalmente por cuidarem da Giulia e do Gabriel, graças a vocês, as Meninas Luciana e Maria Emilia e o Samir, sentimos ter família aqui em Palmas.

À Adriana, Dr. Marcilio e Matheus, Luciane, Dr. Marcos Vinicius e Lorenzo, Carol, Fabio e Enzo. Obrigada pelo apoio e pelos churracos. A Família da Bagunça vem crescendo a cada ano.

E, por último, não menos importante, mas sim com um grande carinho. Aos pacientes do Hospital do Câncer, obrigada pela confiança. Sem vocês, este trabalho não existiria.

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. Introdução	01
1.1. Aparelho Mucociliar	02
1.2. Métodos de Estudo do Aparelho Muco-ciliar	05
1.3. Câncer e Tabagismo	08
2. Objetivos	13
3. Material e Métodos	15
3.1. População de Estudo	16
3.2. Coleta do muco	17
3.3. Análise das Propriedades Físicas e Transportabilidade do Muco Respiratório	19
3.3.1. Medidas de Velocidade de Transporte Mucociliar em Palato de rã	19
3.3.2. Análise do muco respiratório através do ângulo de contato	21
3.3.3 Análise <i>in vitro</i> do transporte do muco respiratório através da máquina simuladora de tosse	22
3.3.4. Análise viscosidade do muco respiratório através do viscosímetro cone-plane	23
3.4. Avaliação Histológica	24
4. Análise Estatística	25
5. Resultados	28
6. Discussão	53
7. Conclusão	59
8. Referências Bibliográficas	61
Anexo I	65
Anexo II	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aparelho Mucociliar (Rubin, JAP 1999)	04
Figura 2. Técnica de coleta do muco com cateter	18
Figura 3. Transportabilidade <i>in vitro</i> –palato de rã	20
Figura 4. Ângulo de contato (Nakagawa, 1997)	22
Figura 5. Máquina Simuladora da Tosse	23
Figura 6. Viscosímetro Cone-Plate	24
Figura 7. Demonstra a média de idade entre os grupos. Grupo 1: Pacientes Tabagistas com Câncer de Pulmão (média de 67,25); Grupo 2: Paciente Tabagistas com Câncer Extra-Pulmonar (média de 56,43); Grupo 3: Pacientes Não Tabagistas com Metástase Pulmonar (média de 56,63)	30
Figura 8. Média de idade entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	32
Figura 9. Média da análise de velocidade relativa no palato de rã entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	33
Figura 10. Média da análise de tosse simulada entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	33
Figura 11. Média da análise do Ângulo de Contato os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	34
Figura 12. Média da análise de Viscosidade a 1 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	34
Figura 13. Média da análise de Viscosidade a 5 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	35
Figura 14. Média da análise de Viscosidade a 10 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	35
Figura 15. Média da análise de FVC (L) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	36
Figura 16. Média da análise de FVC (%) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas	

com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	36
Figura 17. Média da análise de FEV 1 (L) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	37
Figura 18. Média da análise de FEV 1 (%) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	37
Figura 19. Média da análise de 25%-75% entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	38
Figura 20. Média da Velocidade Relativa no palato de rã entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	40
Figura 21. Média da Tosse simulada entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	41
Figura 22. Média do Ângulo de Contato entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	41
Figura 23. Média da Viscosidade a 1 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	42
Figura 24. Média da Viscosidade a 5 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	42
Figura 25. Média da Viscosidade a 10 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	43
Figura 26. Média da FVC (%) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	43
Figura 27. Média da FEV 1(L) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	44
Figura 28. Média da FEV 1 (%) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não)	44
Figura 29. Correlação entre carga tabágica e idade entre os Tabagistas Com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	45
Figura 30. Correlação entre carga tabágica e velocidade relativa no palato De rã entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	46
Figura 31. Correlação entre carga tabágica e tosse simulada entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor	

Extra-Pulmonar	46
Figura 32. Correlação entre carga tabágica e Ângulo de Contato entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	47
Figura 33. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 1 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	47
Figura 34. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 5 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	48
Figura 35. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 10 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	48
Figura 36. Correlação entre carga tabágica e FVC (%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	49
Figura 37. Correlação entre carga tabágica e FEV 1(%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	49
Figura 38. Correlação entre carga tabágica e % FEV entre os Tabagistas Com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	50
Figura 39. Correlação entre carga tabágica e 25-75 (%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar	50
Figura 40. A. Epitélio Pseudo estratificado Cilindrico Ciliado; B. Epitélio Pseudo Estratificado com ausência de cílios	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Dados Demográficos	29
Tabela 02. Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o Lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão e não-tabagistas com metástase pulmonar)	31
Tabela 03. Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo os grupos de análise (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar)	32
Tabela 04. Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar)	38
Tabela 05. Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão)	39
Tabela 06. Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo o gênero (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extra pulmonar)	39
Tabela 07. Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais Segundo o consumo de tabaco (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar)	40
Tabela 08. Correlação entre a carga tabágica e a idade e os parâmetros experimentais (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar)	45
Tabela 09. Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais Segundo os grupos de análise (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar)	51
Tabela 10. Correlação entre a carga tabágica e a idade e os parâmetros experimentais (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar)	51

RESUMO

Estudos anteriores (Zayas, 1990) tem sugerido a existência de uma melhor transportabilidade por cílio do muco respiratório de pacientes fumantes que não apresentam câncer de pulmão em comparação com pacientes fumantes com câncer de pulmão e semelhante carga tabágica. Nosso principal objetivo foi verificar esta hipótese. Nós estudamos 16 tabagistas com câncer de pulmão (média carga tabágica = 58,78), 16 tabagistas com câncer extra-pulmonar (média carga tabágica = 53,87) e 11 não Tabagistas com Metástase Pulmonar com indicação de broncoscopia diagnóstica. O muco respiratório foi coletado durante a broncoscopia, usando um pequeno cateter através do canal de aspiração do broncoscopio. A transportabilidade por cílio no palato de rã, ângulo de contato (wetabilidade), transportabilidade pela tosse e viscosidade (cone-plate) e análise morfológica do epitélio respiratório foi realizado. Não foi encontrada diferença estatística entre os pacientes Tabagistas (Câncer de pulmão e Câncer extra-Pulmonar) para os parâmetros de muco estudados. Da mesma forma não foi encontrada diferença estatística nas análises do muco coletado de um lado do tumor comparado com o lado contralateral. Entretanto, encontramos diferença estatística entre os grupos não tabagistas com Metástase Pulmonar e Tabagistas com câncer Pulmonar e Extra-Pulmonar para os parâmetros de Transportabilidade pela Tosse ($p = 0,018$), Viscosidade 10 rpm ($p = 0,021$), FEV 1 (L) ($p = 0,028$) e FEV 1 (%) ($p = 0,042$) e diferença estatística nos Tabagistas para Correlação entre carga tabágica e idade ($p = 0,038$) e Viscosidade ($p = 0,029$). Na análise histológica observamos 10 Tabagistas (60% alteração, sendo, 30% metaplasia escamosa; 20% hiperplasia e 10% epitélio com ausência de cílios) e 15 não Tabagistas (40% com alteração histológica sendo 20% destes com metaplasia escamosa e em pacientes com Câncer pulmonar ou Câncer extra-pulmonar). Não teve diferença na composição das mucinas entre os tabagistas. Concluímos que não há diferença entre as propriedades físicas do muco respiratório de Tabagistas com Câncer de Pulmão e Câncer Extra-Pulmonar com similar carga tabágica e que essas alterações das propriedades físicas do muco respiratório e alterações morfológicas, devem-se mais à exposição dose-tempo da fumaça do cigarro ao epitélio respiratório. **Palavras chave:** Muco Respiratório, Câncer Pulmonar, Clearance mucociliar, cílio, Tabagismo.

ABSTRACT

Previous study (Zayas 1990) has suggested the existence of a better transportability by cilia in respiratory mucus of smoking patients who did not present lung cancer in comparison to lung cancer patients smoking similar packages/year. Our aim was to verify this hypothesis. We studied 16 smoking patients with lung cancer (mean packages/year = 58,78), 16 smoking patients with extra pulmonary cancer (esophagus and head and neck), (mean packages/year = 53,87), and 11 non-smoking patients (metastasis) that underwent diagnostic bronchoscopy. Respiratory mucus was collected during bronchoscopy, using a small catheter passed through the aspiration channel of the bronchoscope. Mucus transportability in frog palate, contact angle (wettability), transportability by cough and viscosity (cone-plate) as well as morphological analysis the respiratory epithelium were performed. No statistical differences were found between smoking patients (lung and extra pulmonary cancer) in the mucus parameters studied. In the same way, no difference was found in the analysis of mucus samples collected from the tumor side compared to contra lateral samples. Nevertheless, statistical difference between Smoking (Lung Cancer and Extra-Pulmonary Cancer) and non Smoking (metastasis Pulmonary) for valous Clearance by cough ($p = 0,018$), viscosity 10rpm ($p=0,021$) FEV 1 (L) ($p= 0,028$) and FEV1 (%) ($p=0,042$) and statistical difference for correlation between smoking history and age ($p=0,038$) and viscosity 10 rpm ($p= 0,029$). The analysis histological of the 10 smoking, observed 60% of cases with alteration histological (30% with squamous metaplasia; 20% with hyperplasia and 10% with epithelium with cilia absence) and 15 non smoking presented 40% of cases with alteration histological (20% with squamous metaplasia in patients with lung cancer or extra-pulmonary cancer. We conclude that there is no difference between the physical properties of the respiratory mucus of smokers with lung cancer and extra-pulmonary cancer with similar packages/year and that changes in physical properties of respiratory mucus and morphological changes, due to more exposure to the dose-time of cigarette smoke in the respiratory epithelium.

Key words: respiratory mucus, lung cancer, mucociliary clearance, cilia, Smoking

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aparelho Mucociliar:

O aparelho mucociliar é desenhado anatômica e funcionalmente para exercer sua função principal que é de promover as trocas gasosas. Visto que a oxigenação e a retirada de gás carbônico do sangue ocorre por difusão simples, a estrutura anatômica do pulmão é perfeita para que exista uma grande área de contato separada por uma pequena distância entre o ar inspirado e a circulação. Um adulto por exemplo, tem aproximadamente 100m² de superfície alveolar em contínuo contato com o ar inspirado. Por toda essa área, a distância entre o ar inalado e a circulação é de apenas 100 micrômetros, correspondendo à membrana alvéolo capilar. Dessa forma, temos um enorme contato entre o ar inspirado, que em última análise o respirar representa um enorme potencial agressivo. A ventilação do pulmão varia de 10.000 a 21.000 litros por dia em humanos, dependendo da atividade física e da superfície corporal. O ar que respiramos não é composto somente de oxigênio e nitrogênio, também contém uma grande quantidade de material particulado orgânico e inorgânico, agentes biológicos como vírus e bactérias, além de gases, todos com grande potencial agressivo e muitas vezes com potencial carcinogênico (Lorenzi Filho, 1991). A inalação de carcinógenos é multiplicada muitas vezes nos indivíduos fumantes.

Sendo assim, o epitélio das vias de condução, está desenhado anatômica e funcionalmente para se proteger do enorme potencial agressivo proveniente das vias inalatórias. Proporcionando todos os mecanismos de defesa pulmonar, onde o muco respiratório exerce ação central. O muco respiratório protege o epitélio das vias aéreas e funciona basicamente como um manto protetor, evitando o contato direto dos agentes inalado com o

epitélio, servindo como barreira mecânica aderindo o material particulado na camada de líquido que cobre o epitélio, como barreira química, pois possui propriedades antioxidantes e como barreira biológica, interagindo com microorganismos e células inflamatórias luminares, evitando sua aderência ao epitélio respiratório. O muco é composto por glicoproteínas e íons e 95% de água. A água e os íons produzidos principalmente pelas glândulas serosas e as mucinas produzidas pelas células goblet e glândulas mucosas. 80% do peso seco do muco é composto por glicoproteínas, sendo as mucinas a principal representante e a responsável pelas propriedades viscoelásticas encontradas no muco. A camada de muco é produzida de 0,5 a 1,0 ml de muco/cm²/ 24 horas. (Jiang, 1993; Wong, 1993; Quraishi, 1998)

Este muco é formado por uma camada bifásica, a mais superficial, a camada gel, formada pelas células de secreção mucosa glandulares e caliciformes, possui profundidade de 0,5 a 2,0 µm e contém glicoproteínas, fragmentada pelo batimento ciliar. A camada sol, ou fluído periciliar, em contato com o epitélio respiratório, produzida pelas células de secreção serosa e de clara, por transudação a partir dos vasos que irrigam a via aérea, possui profundidade de 7 a 10 µm, é contínua desde a traquéia até os bronquíolos, é por ela que ocorre o batimento ciliar, na freqüência de 10Hz, contendo o batimento efetivo e o movimento de retorno. O movimento ciliar obedece a uma organização rígida, para que o muco seja propellido de forma eficiente na direção correta. Isto é possível porque o retorno do cílio se faz pelo fluído periciliar, mais lentamente que a impulsão, diminuindo ao mínimo o movimento retrógrado. Por isso, o fluído periciliar não pode ter sua camada tão rasa, que não permita ao cílio o movimento de retorno nem tão profunda para não

desacoplar a ponta do cílio com a camada gel, impedindo a transferência de energia ao cílio. (Quraishi, 1998; Macchione, 1995)

O perfeito funcionamento do transporte mucociliar depende de fatores ligados ao cílio, ao muco e à interação adequada entre o cílio e o muco. (Lorenzi Filho, 1995).

Desta forma, é fácil entender porque o epitélio de condução é origem freqüente de carcinomas. Os carcinomas broncogênicos são de enorme importância e representam o câncer responsável pelo maior número de mortes entre homens, e esta aumentando entre as mulheres, reflexo do aumento do hábito de fumar.

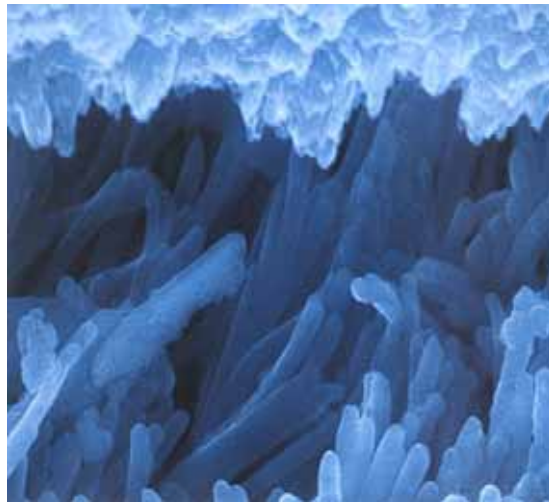


Figura 01. Aparelho Mucociliar (Rubin, JAP 1999)

1.2. Métodos de estudo do Aparelho muco-ciliar

O estudo das propriedades físicas do muco e sua transportabilidade, pode fornecer informações a respeito da função mucociliar e das possibilidades mais eficazes de tratamento. Há várias formas para se analisar o clearance mucociliar através do estudo das propriedades físicas e transportabilidade.

O método de análise de transporte de muco em palato de rã é classicamente aceito como método *in vitro* para determinar a velocidade de transporte do muco em epitélio ciliado. O palato de rã possui um epitélio pseudoestratificado com células secretoras e numerosas células ciliadas, coberta por um contínuo tapete de muco de 4 a 8 μm de espessura, semelhante ao epitélio das vias respiratórias dos mamíferos. Por apresentar uma superfície plana, permite a observação direta da velocidade de transporte de uma amostra de muco colocado sobre esse epitélio. (SADÉ, 1970; KING, 1979 a; PUCHELLE, 1982; RUBIN, 1990; MACCHIONE, 1995 a).

Além das propriedades reológicas do muco, que implicam em propriedades de deformação e fluxo, outras características, como *adesividade* e *wettability* representam propriedades físicas relevantes no transporte do muco através dos cílios e da tosse.

O trabalho de aderência entre o muco e a superfície sólida específica é o reflexo da tensão superficial do muco e do seu ângulo formado entre a tangente da interface ar-líquido e a horizontal (superfície de apoio) para análise das propriedades físicas (HILLS, 1985; PUCHELLE, 1987).

Em sujeitos saudáveis, o muco respiratório é eliminado dos pulmões pelo transporte ciliar, mas em várias doenças respiratórias, como por exemplo a bronquiectasia, a hipersecreção ocorre em associação com o prejuízo do transporte mucociliar. E nesta situação, a tosse assume um papel central na eliminação da secreção (MACCHIONE, 1995 a; KING, 1998).

A tosse normalmente ocorre após uma inspiração de aproximadamente dois litros de ar, em seguida a glote se fecha, obtendo-se um aumento rápido da pressão intra-pleural de 100cmH₂O ou mais. Quando a glote é reaberta, uma onda de ar bifásica composta por uma parte de alto fluxo, e por outra de baixo fluxo, atravessa as vias aéreas. O ar expirado causa, então, uma aceleração no transporte do muco acumulado (LEIGH, 1977).

A viscosidade é um ramo da reologia. Através do estudo da reologia, pode-se avaliar dois componentes que atuam na deformação de um material sob a influência de uma tensão mecânica, que em geral atuam concomitantemente. A viscosidade é a resistência ao fluxo e representa a capacidade do material absorver energia enquanto se move (KING, 1998).

A viscosidade, representada pela letra η , pode ser considerada como a medida da resistência de um material à fluência. A unidade de viscosidade no sistema CGS é Poise, que corresponde a dyne.s.cm². A unidade no sistema SI é Pascal (Pa), que corresponde à N.s.m². E a relação entre as unidades é: 10 Poise = 1Pa.

A viscosidade de maneira geral é função da natureza do fluido, da temperatura, da pressão e da taxa de deformação angular ($\dot{\gamma}$). Entretanto, o muco respiratório é considerado um fluido não-newtoniano por ser de

constituição complexa de uma mistura de diferentes secreções que formam um polímero hidrolítico com propriedades viscoelásticas, podendo apresentar-se sob forma mucopurulenta. Além disso, contém água onde estão dissolvidos eletrólitos (Na^+ , Mg^{2+} e Ca^{2+}), e em estudos patológicos o DNA também pode ser encontrado (CREETH, 1978; LORENZI FILHO, 1993). Sendo, ainda, de composição glicoproteica, o que origina as características das propriedades físicas do muco respiratório (LORENZI, 1993).

Em situações patológicas, o muco produzido possui propriedades viscoelásticas alteradas pela adição de restos celulares, bactérias e variação na quantidade de glicoproteínas. Esta alteração reológica prejudica o batimento ciliar o que diminui a eliminação do muco, promovendo, portanto, o acúmulo de secreção nas vias aéreas (MAJIMA, 1990).

1.3. Câncer e Tabagismo:

O diagnóstico de câncer de pulmão é fundamentado na avaliação histológica ou citológica das espécimes do pulmão. A exposição a numerosas substâncias consideradas carcinogênicas, incluindo agentes químicos e físicos ocupacionais, tem sido relacionado com o câncer de pulmão, com o tabaco sendo o responsável pela maior fração de casos. A pesquisa sobre a etiologia do câncer de pulmão têm incluído estudos aos níveis celular e molecular, com avanços substanciais na elucidação dos mecanismos básicos moleculares da carcinogênese. (Hamada, 1997)

Um grande número de estudos epidemiológicos do tipo caso-controle e prospectivo tem demonstrado uma relação dose-resposta do risco do câncer de pulmão com a duração do hábito de fumar e com a quantidade de cigarros consumidos por dia. Na população brasileira, o câncer de pulmão representa a 1ª. Causa de morte em homens e a 2ª. Causa de morte em mulheres (INCA, 2008). No caso de agressões crônicas ao epitélio respiratório, e o cigarro representa a condição mais freqüente, o epitélio reage com uma mudança do muco respiratório. Existem alguns estudos que sugerem que a resposta do cigarro é bifásica. Nas fases iniciais, o aparelho mucociliar produz um muco respiratório que é mais facilmente transportado pelo cílio, provavelmente pelo aumento do volume de água no muco de fumantes assintomáticos, que aumenta a transportabilidade para ajudar a proteger o epitélio respiratório das agressões impostas pelo cigarro (Rubin, 1992). Nas fases mais tardias o muco respiratório se torna progressivamente mais espesso, sendo dificilmente transportado pelo aparelho mucociliar. (Cendon, 1997; Rubin, 1990; Rubin, 1992), o que aumenta o tempo de exposição dos carcinógenos no epitélio

respiratório, hiperplasia das células goblet, hipersecreção, levando a lesão do epitélio com perda dos cílios, e posteriormente apresentando alterações como metaplasia e displasia. (Mathys, 1983)

Como já descrito, o peso seco do muco é composto pelas mucinas e as propriedades viscoelásticas do muco são principalmente determinadas pela presença delas, que são glicoproteínas de alto peso molecular. As mucinas podem ser encontradas associadas à membrana ou secretadas, as mucinas não associadas à membrana, geralmente são encontradas em células caliciformes (MUC2, MUC5B, MUC5AC e MUC6), estão localizadas na região do cromossomo 11p15. (López-Ferrer, 2001). O cigarro induz o aumento da expressão da MUC5AC, alterando as propriedades do muco respiratório (Shao, 2004) e promovendo um micro-ambiente para a instalação das células tumorais, já que o papel das mucinas secretadas são de proteção do epitélio, e acabam por proteger também as células tumorais, tornando um micro ambiente favorável ao crescimento e a invasão das mesmas (Hollungsworth, 2004).

A expressão dos genes de mucinas tem-se demonstrado alterada em patologias como o câncer e doenças pulmonares como a fibrose cística. Patógenos como a *Pseudomonas aeruginosa* ativam a transcrição do gene MUC2 e induzem à queda da expressão do gene MUC5AC. Tais alterações na expressão genética dos subtipos de mucina poderiam constituir marcadores de risco para o desenvolvimento de câncer de pulmão (López-Ferrer, 2001).

O câncer de esôfago é uma afecção grave, incurável em cerca de 80% dos casos, pois o seu diagnóstico é tardio na maioria deles. Ocorre em 2% a 7% de todas as neoplasias gastrointestinais referidas anualmente. Alguns fatores estão comprovadamente relacionadas com o câncer de esôfago, tais como o álcool e o fumo, sendo que a associação álcool e fumo, aumenta 44 vezes a incidência de câncer de esôfago; algumas nitramicinas, o zinco, a sílica do solo de algumas regiões também aumentam a incidência. Está também comprovada com a ingestão de mate quente à maneira tradicional na região sul da América do Sul. Algumas carências alimentares aumentam a suscetibilidade aos carcinógenos, a saber: retinol, zinco, riboflavina, niacina, vitamina C, beta-caroteno, vitamina E e selênio (POLLARA, 1997).

O câncer de cabeça e pescoço compreende todos os carcinomas originários do epitélio muco-escamoso, desde lábio, cavidades oral e nasal, faringe até a laringe e ouvido médio. Os tumores ocorrem em múltiplas regiões e sub-regiões anatômicas (aproximadamente 35) e cada uma tem sua história natural, com frequência e localizações variada de disseminação linfonodal. Devido à incidência de metástases e à procura tardia de auxílio médico, muitos pacientes apresentam a doença avançada e aproximadamente 65% destes pacientes têm metástases ganglionares à consulta. Além disso, muitos pacientes apresentam o aparelho aerodigestivo com “mucosa condenada” e “cancerização do campo”, resultado da exposição ao tabaco e etanol. A maior causa é o tabaco, cujo risco relativo aumenta conforme o número de cigarros fumados. O uso abusivo de fumo e álcool aumentam de 2 a 3 vezes o risco, no entanto quando combinados podem aumentar até 15 vezes o risco, sendo o

fumo e o álcool responsáveis por aproximadamente 95% dos tumores de cabeça e pescoço. (TUPCHONG, L. E ENGIN, K.)

As interações entre o hábito de fumar, câncer de pulmão e as propriedades físicas do muco respiratório são pouco conhecidas. Há muitos anos Hilding (HILDING, 1957) sugeriu que a falência do transporte mucociliar, levando a retenção de carcinógenos, poderia estar envolvida na etiologia do carcinoma pulmonar. (MATTHYS, 1983) mostraram que os pacientes com bronquite crônica e câncer de pulmão tem um transporte mucociliar diminuído, quando comparados a pacientes com prova de função semelhante, porém sem câncer de pulmão. Os autores especularam que as diferenças poderiam ser decorrentes de alterações reológicas do muco respiratório. ZAYAS, 1990, coletaram o muco respiratório de pacientes submetidos a broncoscopia e dividiram os pacientes em três grupos: não fumantes, fumantes sem câncer de pulmão e fumantes com câncer de pulmão. O muco respiratório dos pacientes fumantes apresentava uma transportabilidade por cílio maior em relação aos pacientes não fumantes. Essa melhor transportabilidade porém não estava presente nos pacientes fumantes com câncer de pulmão. Mais recentemente, TRAVASSOS, 1999 analisaram as propriedades reológicas do muco respiratório de pacientes submetidos à broncoscopia diagnóstica. Mais uma vez, foi constatado que o hábito de fumar conferia uma “vantagem reológica” com maior transportabilidade do muco, que não estava presente nos pacientes fumantes com câncer de pulmão. Esses dados sugerem que poderia haver uma relação causal entre falência do transporte mucociliar, determinado por uma alteração das propriedades físicas do muco respiratório, e o surgimento de carcinoma broncogênico. Essa associação porém não tem necessariamente

uma relação causal. É possível que, por exemplo, o câncer independente de sua origem uma vez instalado, altere as propriedades físicas do muco respiratório criando um micro-ambiente para facilitar a invasão tecidual (HOLLINGSWORTH, 2004).

Este trabalho se propõe ao estudo das alterações do aparelho mucociliar e das propriedades físicas e transportabilidade do muco respiratório em pacientes fumantes portadores de câncer pulmonar e extra-pulmonar (esôfago e cabeça e pescoço) com o intuito de verificar a existência de melhor transportabilidade no grupo extra-pulmonar e estabelecer uma melhor análise da relação causa-efeito desta situação. Seria a melhor transportabilidade pelo cílio protetora do epitélio respiratório à ação dos carcinógenos inalados?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Comparar as alterações reológicas do muco respiratório entre os pacientes tabagistas com câncer de pulmão, tabagistas com câncer extrapulmonar (esôfago e cabeça e pescoço) e Não Tabagistas com Metástase Pulmonar.

2.2 Objetivo Específico

Estudar as alterações morfológicas do aparelho mucociliar nestas situações, bem como quantificar a expressão de subtipos de mucina nos diversos grupos.

3.

MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População do Estudo

Foram coletadas amostras de muco respiratório e biópsia endobrônquica de 71 pacientes, com idade entre 24 e 88 anos. Todos os Pacientes estavam em tratamento no Hospital A.C.Camargo de São Paulo. Sendo divididos em 3 grupos:

Grupo 1: 16 fumantes com câncer de pulmão (média de idade 67,25);

Grupo 2: 16 fumantes com câncer extra-pulmonar (cabeça e pescoço e esôfago) (média de idade 56,43);

Grupo 3: 11 não fumantes com metástase pulmonar (média de idade 56,63), considerado como grupo controle do presente estudo. Sendo considerados como não fumantes também os ex-fumantes que pararam por mais de 10 anos.

Foram excluídos do estudo, 10 pacientes não fumantes com câncer de pulmão (média de idade 60,10), 10 pacientes não fumantes com câncer extra-pulmonar (média de idade 67,40) e 08 pacientes fumantes com metástase pulmonar (média de idade 59,87).

O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital do Câncer A.C.Camargo de São Paulo e pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. As coletas foram realizadas pelo Departamento de Pneumologia e Cirurgia Torácica do Hospital A.C.Camargo.

3.2 Coleta do muco

As amostras de muco e biópsia foram coletadas durante o procedimento de broncoscopia, nos pacientes com indicação médica para o exame. Os pacientes recebiam aplicação de anestésico tópico, xilocaína a 2% em hipofaringe e sedação com midazolan endovenoso. Não sendo utilizado atropina. Um broncoscopio flexível era introduzido na narina direita e locado na árvore brônquica direita primeiramente e posteriormente na esquerda para a coleta independente da amostra.

Para a coleta, um pequeno cateter foi introduzido no canal de aspiração do aparelho sendo localizado diretamente no brônquio principal. O cateter foi trocado para a coleta da amostra do lado esquerdo. O procedimento durava em torno de 10 a 15 segundos e foi realizado pela delicada aspiração utilizando uma seringa de 20ml. O muco foi imediatamente estocado em ependorf (porta espécime de plástico) com óleo mineral e colocado em freezer a -70°C.

Todos os procedimentos para a coleta do muco respiratório dos indivíduos foram previamente explicados e orientados, bem como entregue o termo de consentimento (anexo I) para a aprovação ou não dos mesmos. Tais pacientes necessariamente seriam submetidos à broncoscopia por indicação médica para diagnóstico e/ou estadiamento clínico e foram submetidos à biópsia e Lavado Broncoalveolar conforme sua necessidade previamente estabelecida.

Os dados necessários para o preenchimento da ficha de avaliação (anexo 2) foram obtidas através dos prontuários dos pacientes e diretamente com os mesmos após explicação do trabalho e entrega do termo de consentimento.

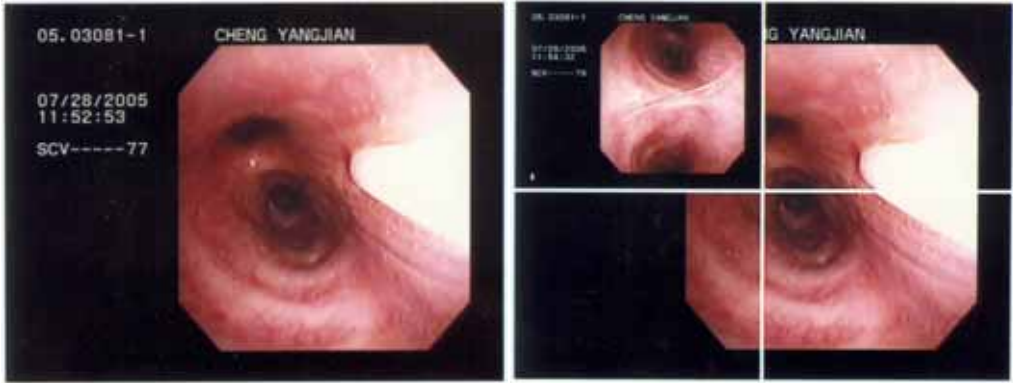


Figura 2. Técnica de coleta do muco com cateter.

3.3. Análise das propriedades físicas e transportabilidade do muco respiratório

A análise das propriedades físicas e transportabilidade do muco respiratório foi feita no Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental, e realizada: Transportabilidade no palato de rã; Ângulo de Contato/Wetabilidade; Transportabilidade pela Tosse utilizando a Máquina Simuladora de Tosse e Viscosidade pelo Viscosímetro Cone-Plate.

3.3.1. Medidas de velocidade de transporte mucociliar em palato de rã.

O método do transporte em palato de rã é classicamente aceito como um método *in vitro* para determinar a velocidade de transporte do muco. O palato de rã possui um epitélio pseudoestratificado com células secretoras e numerosas células ciliadas, cobertas por um contínuo tapete de muco de 4 a 8 μm de espessura, semelhante ao epitélio das vias respiratórias dos mamíferos. Por apresentar uma superfície plana, permite a observação direta da velocidade de transporte de um muco teste colocado em seu epitélio. O procedimento é realizado da seguinte forma:

Ranas castebianas maduras, foram imersas em gelo para anestesia e a seguir decaptadas com posterior dissecação da região do palato. O palato foi mantido por 48 horas a 4 graus celsius, em câmara saturada de vapor d'água, para que o muco da rã seja esgotado pela ação de seu próprio aparelho ciliar. O muco da rã foi coletado para servir de controle, em relação ao muco teste.

Durante os procedimentos o palato foi mantido a temperatura ambiente, dentro de uma câmara de acrílico, em ambiente com 100% de umidade,

garantido por um nebulizador ultrasônico, nebulizando solução salina a 2/3 diluída em água (0,61% de NaCl).

A velocidade do transporte ciliar foi aferida com a colocação de uma pequena amostra de muco (cerca de 5 microlitros) sobre o epitélio ciliado do palato de rã. O deslocamento foi visualizado através de uma lupa estereoscópica equipada com uma lente reticulada. Sendo utilizado um microscópio estereoscópico (Zeiss) com ocular de aumento de 10 vezes e uma objetiva com aumento de 0,8 vezes.

Uma das oculares é reticulada, através da qual é observado o deslocamento do muco da parte anterior a posterior do palato (6 mm), e seu tempo cronometrado.

O resultado final foi expresso em termos relativos, comparando-se a velocidade do muco teste sobre a velocidade do muco da própria rã.

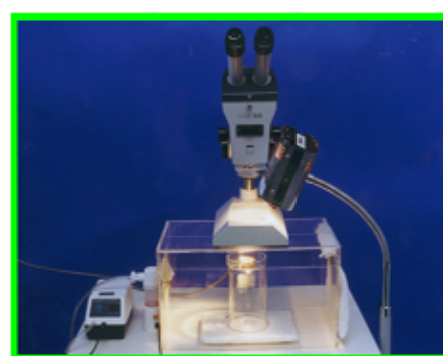


Figura 3. Transportabilidade *in vitro* –palato de rã

3.3.2 Análise do muco respiratório através do ângulo de contato

A wetabilidade é uma importante propriedade física na interação entre o muco e a superfície do epitélio. Wettabilidade é a tendência de um fluido se espalhar quando colocado em uma superfície plano e sólida. O grau de wetabilidade é determinada pelo ângulo de contato entre a tangente da interface ar-líquido e a superfície horizontal da lâmina (King, 1977) Uma lente com um goniômetro com escala de 0° a 180° determina o ângulo de contato.

O aparelho de mensuração do ângulo de contato é formado por uma lupa com braço articulado para movê-la no sentido lateral, para frente e para trás. A lupa tem capacidade de aumento de 25 vezes e sua ocular possui um goniômetro com escala de zero a 180 graus.

Para a mensuração do ângulo de contato, a lâmina era tratada com solução sulfocrômica para retirada de cargas elétricas da superfície do material que é lavado com água deionizada. As mensurações eram realizadas seguindo o protocolo: Era banhado uma pequena amostra de muco de aproximadamente 5 μ l em éter de petróleo, e colocada sobre a lâmina tratada, com ajuda de uma agulha. A lâmina foi posicionada sobre um suporte de ferro temperado, com furos, e este por sua vez em banho-maria à temperatura de 37°C.

Protegíamos a amostra de muco com uma pequena câmara de acrílico para impedir a sua desidratação por exposição ao ar ambiente e à luz artificial. Efetuamos a mensuração utilizando o goniômetro e medimos o ângulo formado entre a gota de muco e a superfície da lâmina.

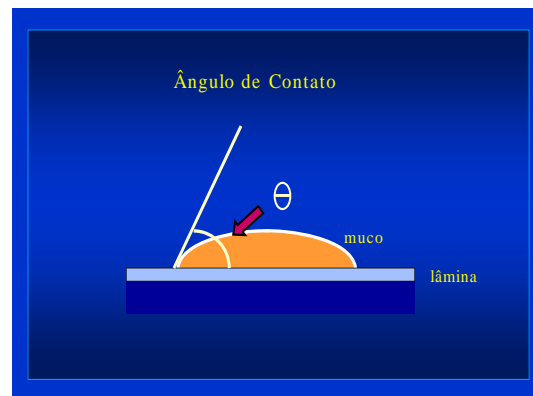
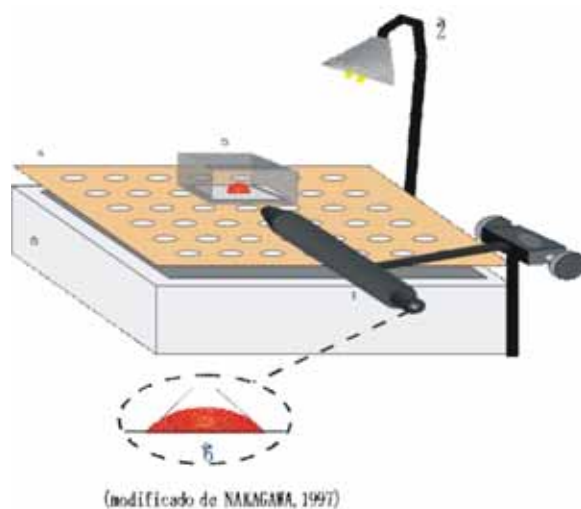


Figura 4 . Ângulo de contato (Nakagawa, 1997)

3.3.3 Análise *in vitro* do transporte do muco respiratório através da máquina simuladora de tosse

Para a avaliação *in vitro* do transporte de muco por meio da tosse, utilizamos uma máquina que simula a tosse de KING,1987. Este simulador consiste de um cilindro de ar sintético de 49,5 litros, onde sobre pressão de 40 polegadas/libra, o gás é enviado a um solenóide que, por sua vez, oclui o ar em intervalos de dois segundos e se mantém aberto durante meio segundo. O ar é então, transmitido a um tubo de acrílico de 4mm de diâmetro interno por 133mm de comprimento. O fluxo aéreo obtido é de aproximadamente 235litros/minuto. O transporte pela tosse é determinado pelo deslocamento da amostra de muco dentro de um tubo transparente e cilíndrico, o protocolo utilizado segue da seguinte forma: primeiro banhamos uma pequena quantidade de amostra de muco respiratório (de aproximadamente 5 μ l) em éter de petróleo para a remoção do óleo de vaselina. Posicionamos a amostra com um estilete no tubo plástico, onde efetuamos a tosse inicial.

Observamos o deslocamento do muco e o medimos através de uma régua milimetrada.

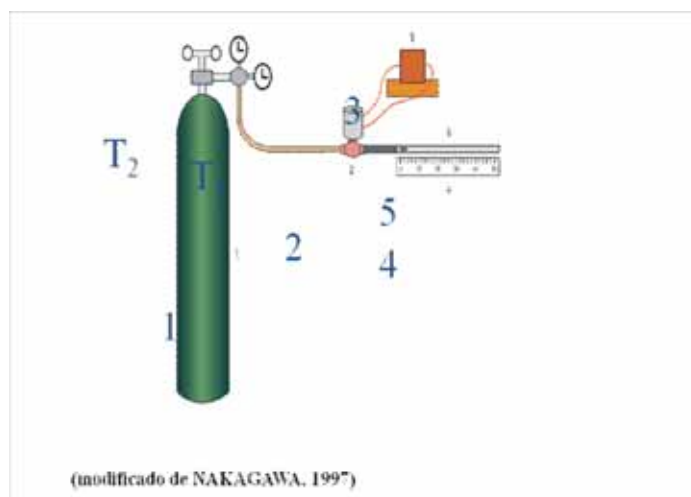


Figura 5. Máquina Simuladora da Tosse

3.3.4. Análise da viscosidade do muco respiratório através do viscosímetro cone-plate

A viscosidade foi estudada a uma temperatura de 20°C a 25°C com Viscosímetro Cone e Plate Wells-Brookfield (DV-II+Pro – Brookfield Engineering Laboratories, Inc.) usando um spindle CP 40. O Brookfield avalia pelo torque da amostra imersa com o spindle. Uma pequena amostra de muco é banhada em éter de petróleo para remover o óleo mineral e colocada no prato para a análise. Utilizando uma velocidade de 1, 5, e 10 rpm, a viscosidade do muco é mensurada. O Wingather® software compatível com Windows® trabalha junto com o viscosímetro capturando os dados para posterior análise.



Figura 6. Viscosímetro Cone-Plate

3.4 Avaliação Histológica

Após a coleta da biópsia de carina secundária do lado do pulmão afetado ou à direita e fixada em fomalina 4%. O material foi processado de acordo com a rotina de técnica histológica por meio de inclusão em parafina e seção em micrótomo convencional. A espessura dos cortes foi de 5 μm e utilizou-se a coloração hematoxilina e eosina.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram coletadas amostras de muco respiratório de 71 pacientes, com idade entre 24 e 88 anos. Na população estudada incluía Grupo 1: 16 fumantes com câncer de pulmão (média de idade 67,25), Grupo 2: 16 fumantes com câncer extra-pulmonar (cabeça e pescoço e esôfago) (média de idade 56,43), e Grupo 3: 11 não fumantes com metástase pulmonar (média de idade 56,63), 10 pacientes não fumantes com câncer de pulmão (média de idade 60,10), 10 pacientes não fumantes com câncer extra-pulmonar (média de idade 67,40) e 08 pacientes fumantes com metástase pulmonar (média de idade 59,87). Foram considerados não fumantes aqueles pacientes que pararam de fumar por mais de 10 anos.

Para a análise estatística, foram considerados os pacientes tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar. Para a comparação entre os grupos, foram excluídos os casos de não tabagistas com tumor de pulmão, não tabagistas com tumor extrapulmonar e tabagistas com metástase pulmonar. Considerou-se como não tabagista o caso em que carga tabágica era igual a zero.

Os valores médios da velocidade relativa, da tosse simulada, da angulação e da viscosidade (1, 5 e 10 torques) das amostras coletadas segundo o local da coleta (pulmão direito versus esquerdo; lado do tumor e lado contralateral) foram comparadas através do teste não paramétrico de Wilcoxon. Os valores médios da idade e dos diversos parâmetros experimentais foram comparados entre os três grupos do estudo (tumor de pulmão, tumor extrapulmonar e metástase pulmonar) por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para tanto, as amostras dos pulmões direito e esquerdo de um mesmo paciente foram consideradas como independentes em

relação aos valores da velocidade relativa, da tosse simulada, da angulação e da viscosidade (1, 5 e 10 torques), sendo consideradas, portanto, como amostras não pareadas. Para a comparação dos valores médios segundo o gênero, empregou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. As correlações entre a carga tabágica e a idade e os diversos parâmetros experimentais foram avaliadas pelo coeficiente de correlação de Spearman. Em todos os testes estatísticos estabeleceu-se o nível de significância em 5%.

5. RESULTADOS

Tabela 01: Dados Demográficos

Paciente	Diagnóstico	Idade	Sexo	Tabagismo
1	Mesotelioma pleural	57	M	57
7	Adenocarcinoma	70	M	165
9	Neoplasia pulmonar	66	M	30
20	Massa LSD	75	M	59
23	Massa LIE	55	F	30
26	Massa LMD	88	M	55
38	Carcinoma Bronquioloalveolar	80	M	60
42	Massa LSD	53	M	52,5
56	Massa LID	67	M	18
64	Massa LSD	66	F	104
34I	Adenoescamoso	67	M	58
39I	Ca epidermóide	59	M	44
41I	Escamoso	65	M	32
55I	CEC	73	M	61
61I	Massa LSD	59	M	90
63I	Massa LSE	76	M	25
12	CEC amigdala	55	M	45
16	CEC supra-glote	53	M	14
31	CEC seio piriforme	61	M	96
34	CEC Gengiva Inf. D	72	M	165
37	nódulos de cordas vocais	55	M	80
45	CEC Laringe	63	M	84
46	nódulo tireóide (invade VAS)	40	M	5
49	CEC esôfago	70	M	30
50	Tu Língua e supra-glote	55	M	20
51	Tu Língua	48	M	45
53	Tu laringe	48	M	64
33I	Neo esôfago	65	M	45
36I	Neo esôfago	68	M	43
38I	Neo esôfago	65	M	47
53I	Neo esôfago	34	M	38
59I	Neo esôfago	51	M	41
2	Ca reto + metástase Nódulo pulmão D	74	F	0
5	Ca colon + metastase nódulos LID e LIE	76	F	0
13	melanoma OD, metástase arcos costais à pubis e LMD	51	F	0
15	Ca céls gigantes de pâncreas, metastase couro cabeludo e LSD segmento anterior	74	F	0
19	sarcoma de céls clara de coxa - melanoma maligno, metástase LIE	33	M	0
21	Ca endométrio, metástase LMD e bronquiectasia	68	F	0
40	Ca pele ,metastase segmento superior LIE e nódulos bilaterais	24	F	0
47	CEC laringe, metastase LIE e LID	62	M	0
14	Ca Rim D., metástases ósseas e pulmão bilateral	64	M	0
29	CEC amígdala, metastase Segmento apical LIE	52	M	0
36	Ca colo uterino, metastase LSD	45	F	0

A tabela 01 demonstra os dados demográficos dos pacientes incluídos na análise estatística, como diagnóstico, idade, sexo e carga tabágica. Sendo que não há diferença na Carga Tabágica do Grupo 1: Tabagistas com Câncer de Pulmão, média de 58,78 e Grupo 2: Tabagistas com Câncer Extra-Pulmonar média de 53,87. Encontra-se na Figura 01 a média de idade entre os grupos.

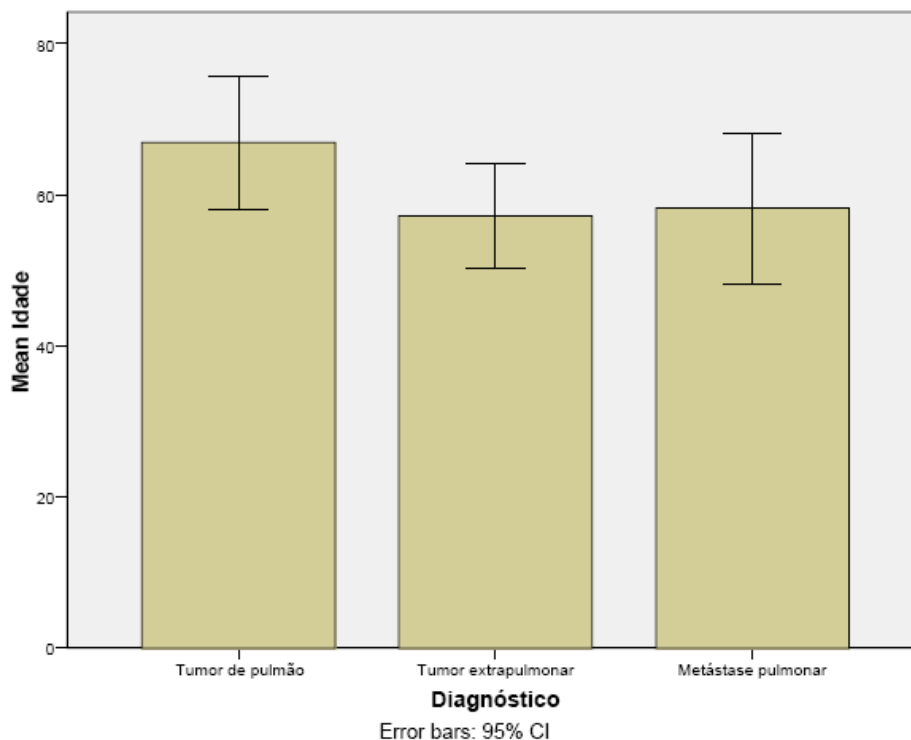


Figura 07. Demonstra a média de idade entre os grupos. Grupo 1: Pacientes Tabagistas com Câncer de Pulmão (média de 67,25); Grupo 2: Paciente Tabagistas com Câncer Extra-Pulmonar (média de 56,43); Grupo 3: Pacientes Não Tabagistas com Metástase Pulmonar (média de 56,63).

Quando comparado o lado do pulmão com Lesão Tumoral com o lado pulmonar contralateral à lesão não foi encontrado diferença estatística nas análises da secreção pulmonar de Velocidade Relativa no Palato de Rã, Máquina de Tosse, Ângulo de Contato e Viscosidade a 10 rpm, não sendo possível realizar a análise para as viscosidades a 1 e 5 rpm.

Tabela 02: Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão e não-tabagistas com metástase pulmonar).

Parâmetro	Lado do tumor (n)	Lado contralateral ao tumor (n)	P *
Velocidade relativa	1,10 (11)	1,10 (8)	0,310
Tosse simulada (mm)	43,85 (13)	45,25 (10)	0,759
Angulo de contato (°)	34,45 (10)	22,67 (6)	0,345
Viscosidade (1 rpm)	258,50 (4)	269,33 (3)	NA
Viscosidade (5 rpm)	53,50 (4)	52,25 (4)	NA
Viscosidade (10 rpm)	25,75 (4)	24,50 (4)	0,317

(n) Número de observações.

NA Não avaliável em virtude do reduzido número de casos pareados.

* Teste não paramétrico de Wilcoxon.

Da mesma forma, não foi encontrado diferença estatística quando comparado idade, parâmetros de viscosidade, velocidade relativa, ângulo de contato, tosse simulada e prova de função pulmonar entre homens e mulheres.

Também não encontramos diferença entre os grupos 1 e 2, ou seja, não há diferença estatística entre os Tabagistas com Câncer de Pulmão e Tabagistas com Câncer extra-Pulmonar para nenhuma das análises como demonstrado na tabela 03, assim como demonstrada na tabela 04 não há diferença entre o pulmão direito e o pulmão esquerdo dos pacientes tabagistas e não há diferença (tabela 05) entre o lado do sitio tumoral e o lado contralateral ao sítio tumoral do grupo 1.

Tabela 03: Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo os grupos de análise (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar).

Parâmetro	Tumor de pulmão (n)	Tumor extrapulmonar (n)	P *
Idade (anos)	66,9 (9)	57,2 (10)	0,092
Velocidade relativa	1,07 (15)	1,08 (18)	0,885
Tosse simulada (mm)	56,40 (15)	57,59 (17)	0,865
Angulo de contato (°)	25,70 (10)	28,04 (12)	0,597
Viscosidade (1 rpm)	257,20 (5)	249,30 (10)	0,806
Viscosidade (5 rpm)	55,80 (5)	53,58 (12)	0,264
Viscosidade (10 rpm)	27,40 (5)	26,33 (12)	0,708
FVC (litros)	1,66 (5)	2,44 (2)	1,000
FVC (%)	50,80 (5)	65,00 (2)	1,000
FEV1 (litros)	1,00 (5)	1,00 (2)	1,000
FEV1 (%)	39,20 (5)	33,00 (2)	0,699
% FEV 25-75%	64,66 (5)	40,59 (2)	0,245

(n) Número de observações.

* Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

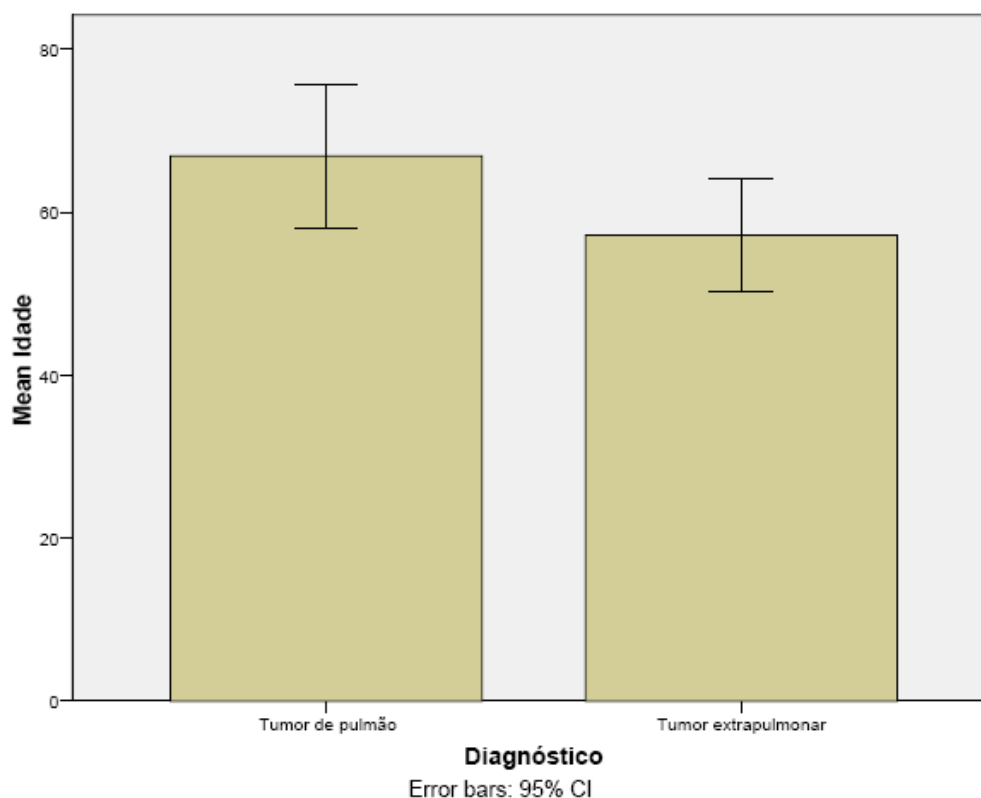


Figura 08: Média de idade entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

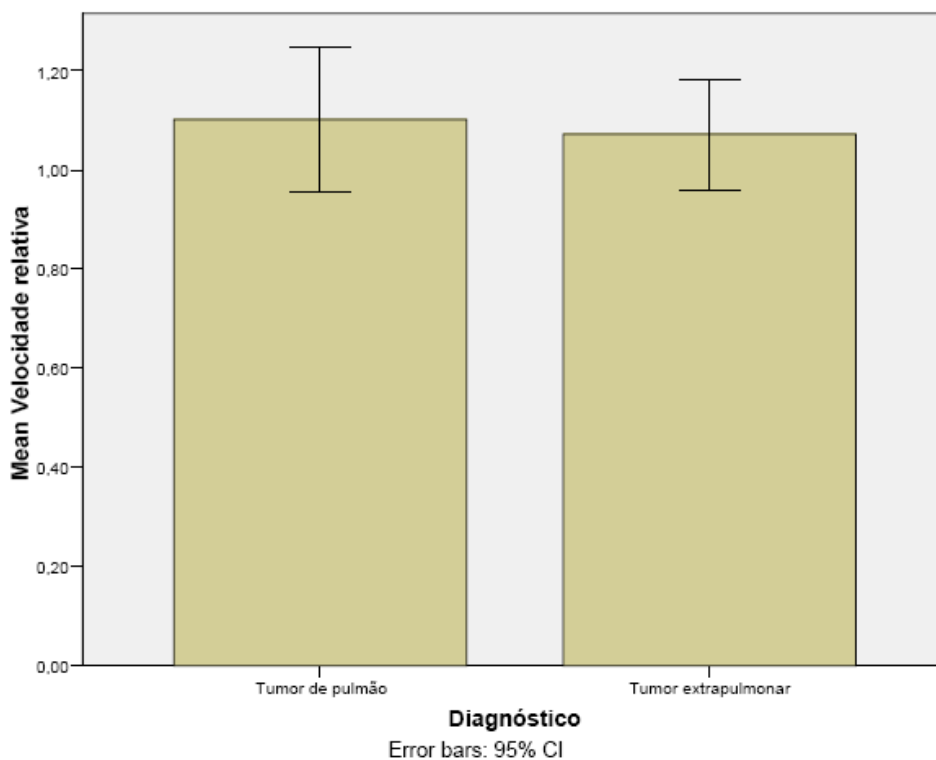


Figura 09: Média da análise de velocidade relativa no palato de rã entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

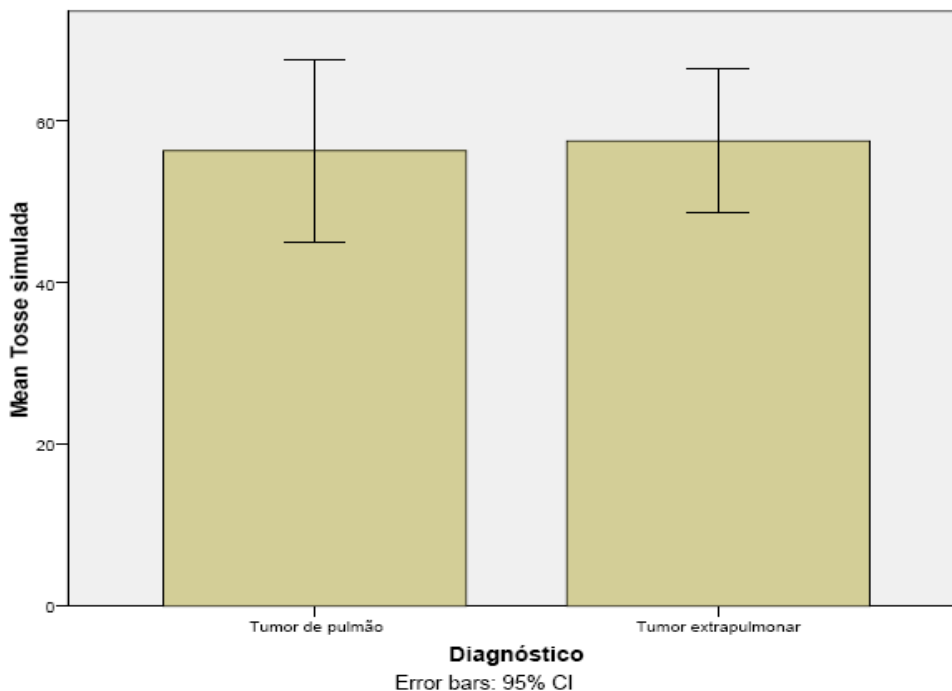


Figura 10: Média da análise de tosse simulada entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

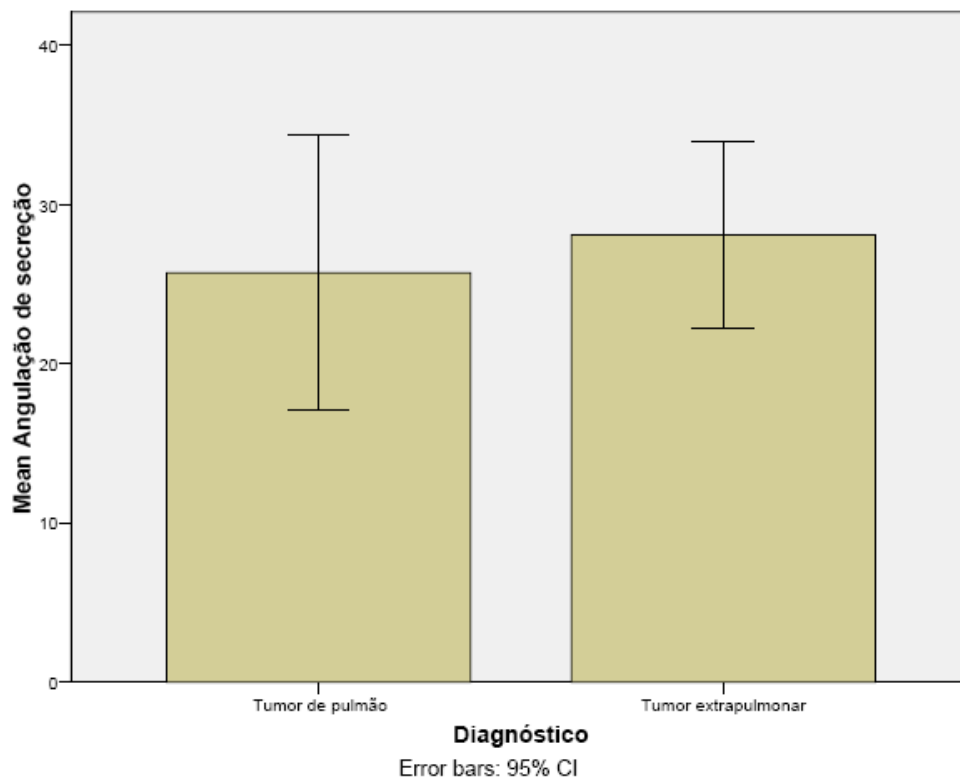


Figura 11: Média da análise do Ângulo de Contato os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

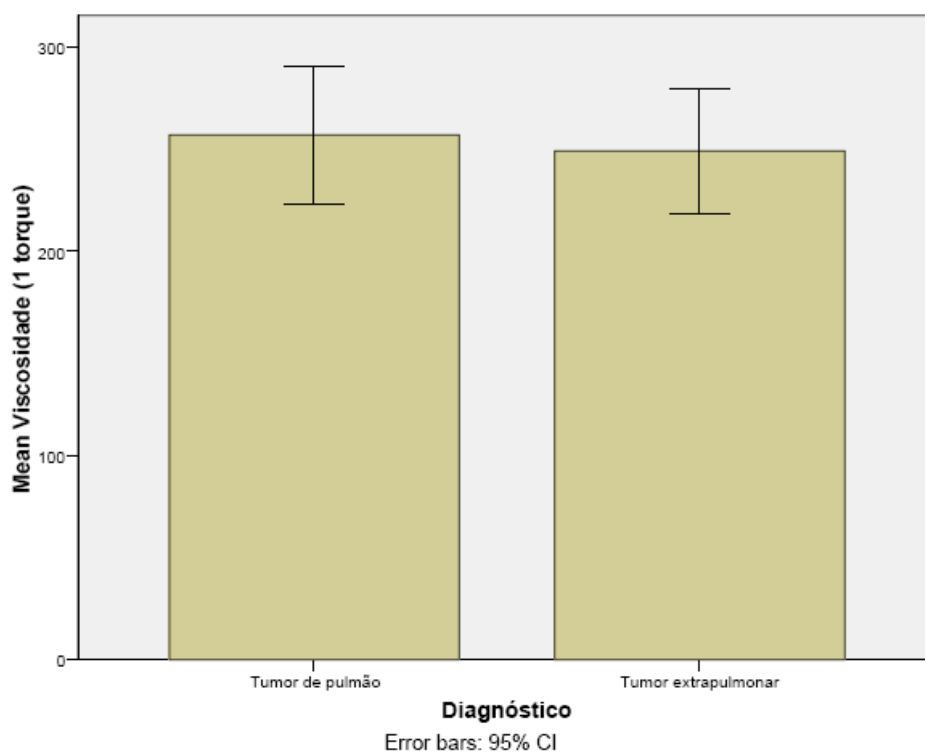


Figura 12: Média da análise de Viscosidade a 1 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

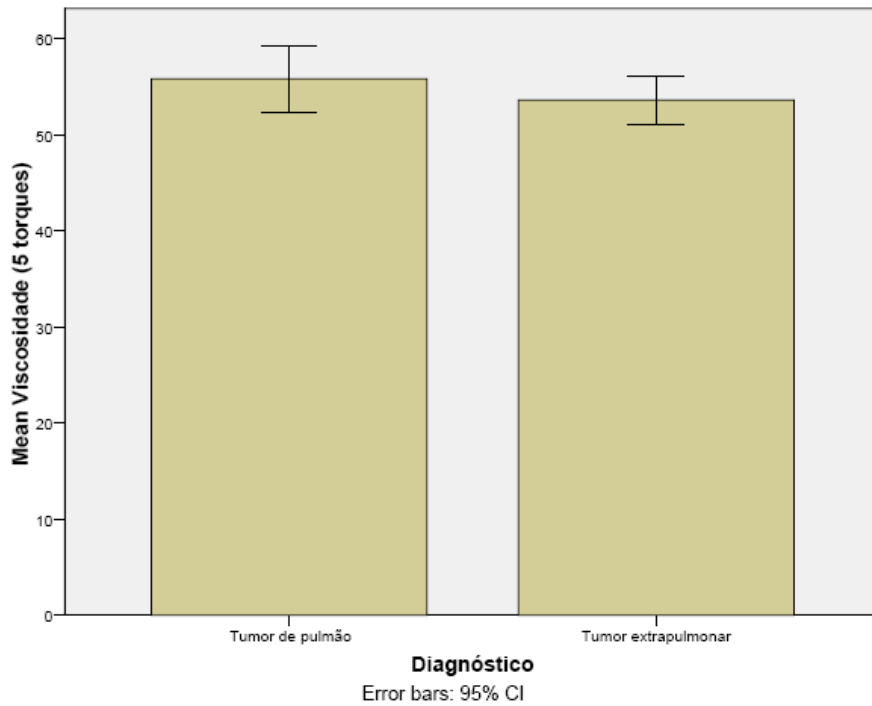


Figura 13: Média da análise de Viscosidade a 5 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

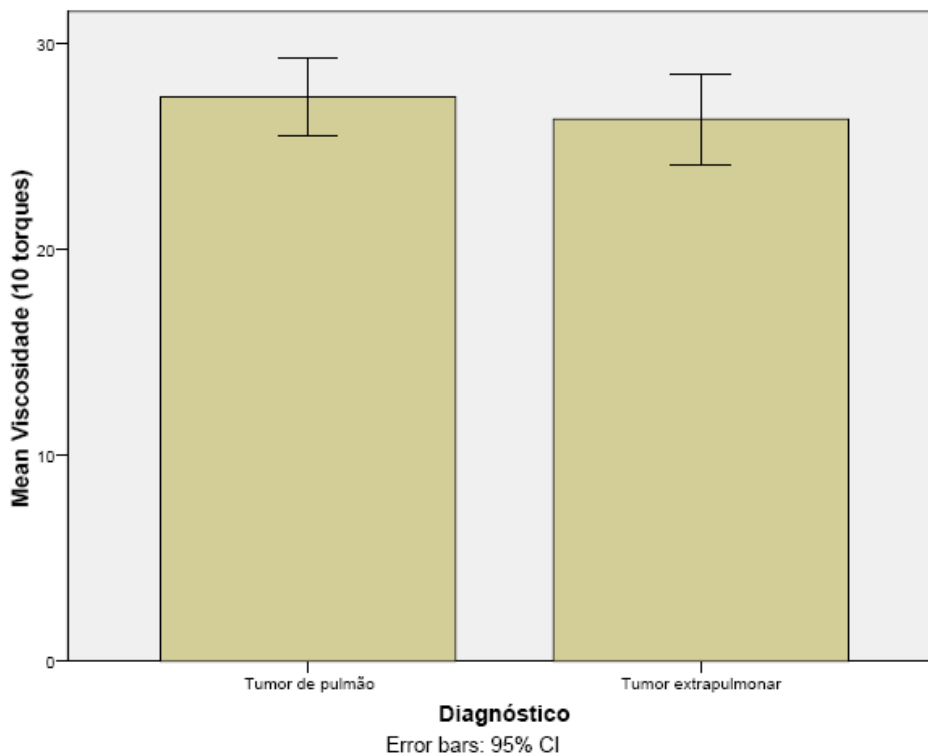


Figura 14: Média da análise de Viscosidade a 10 rpm entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

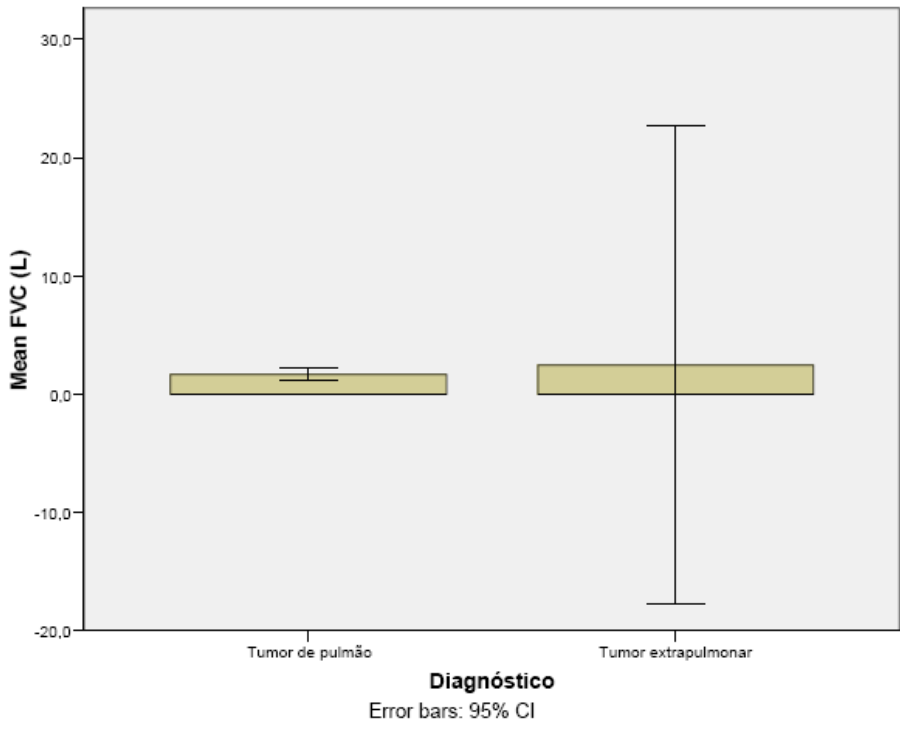


Figura 15: Média da análise de FVC (L) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

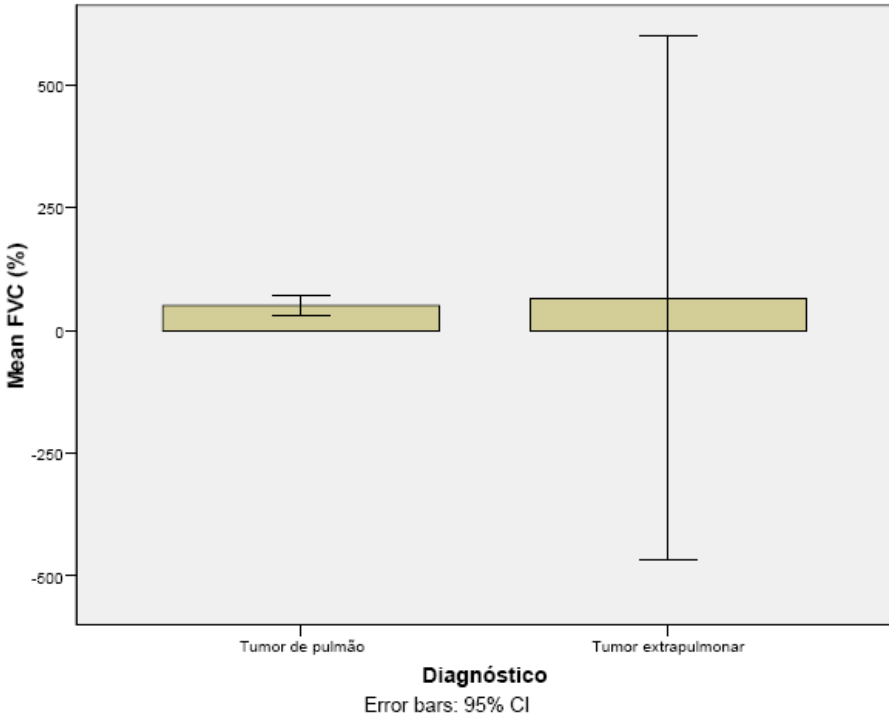


Figura 16: Média da análise de FVC (%) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

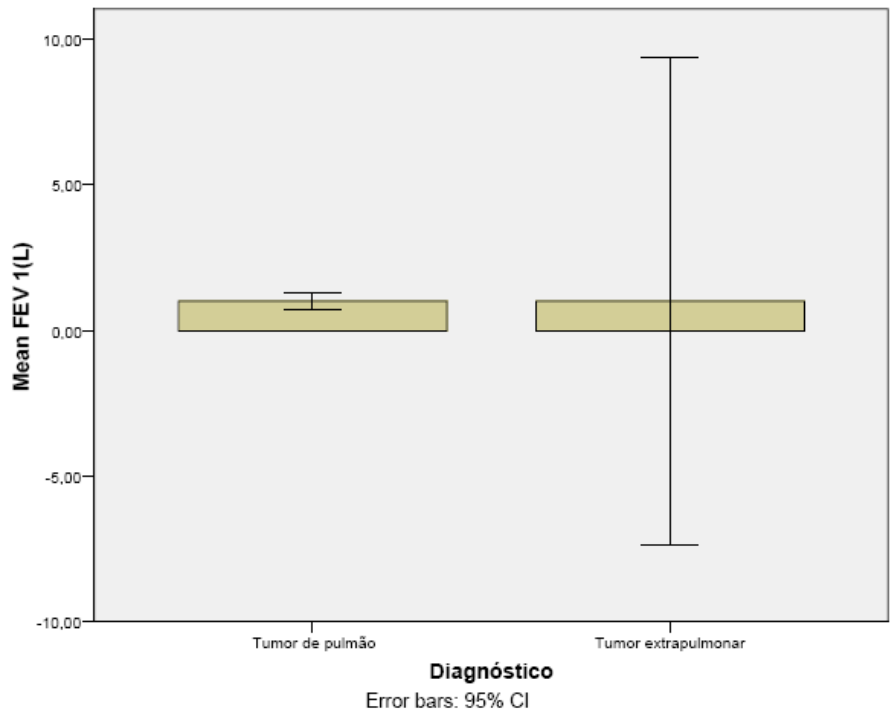


Figura 17: Média da análise de FEV 1 (L) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

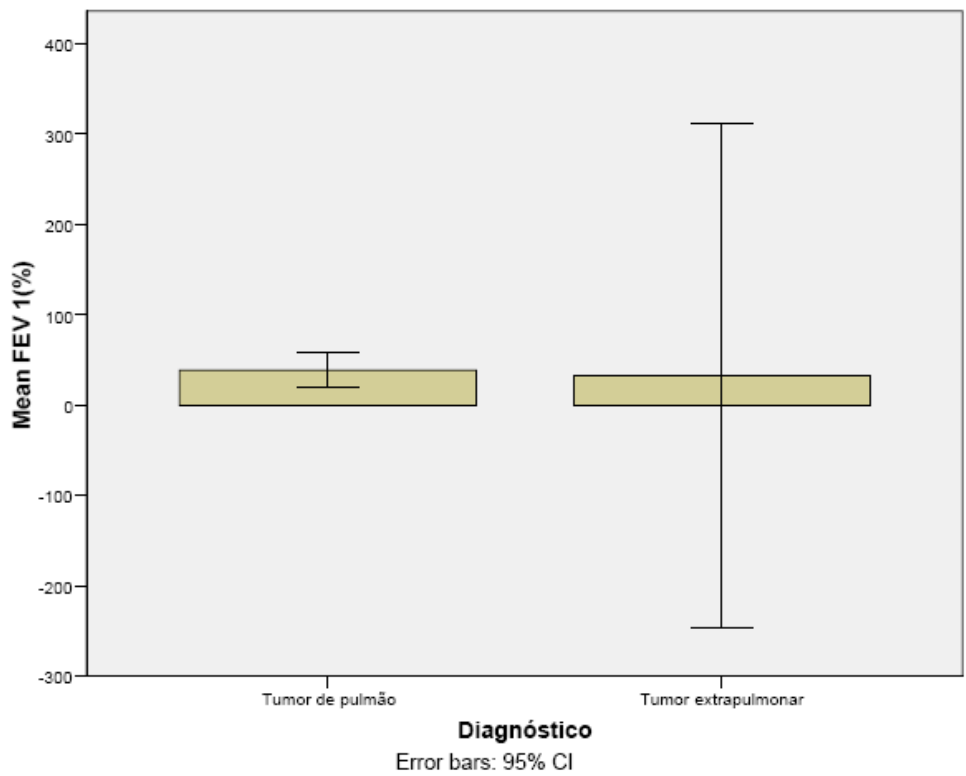


Figura 18: Média da análise de FEV 1 (%) entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

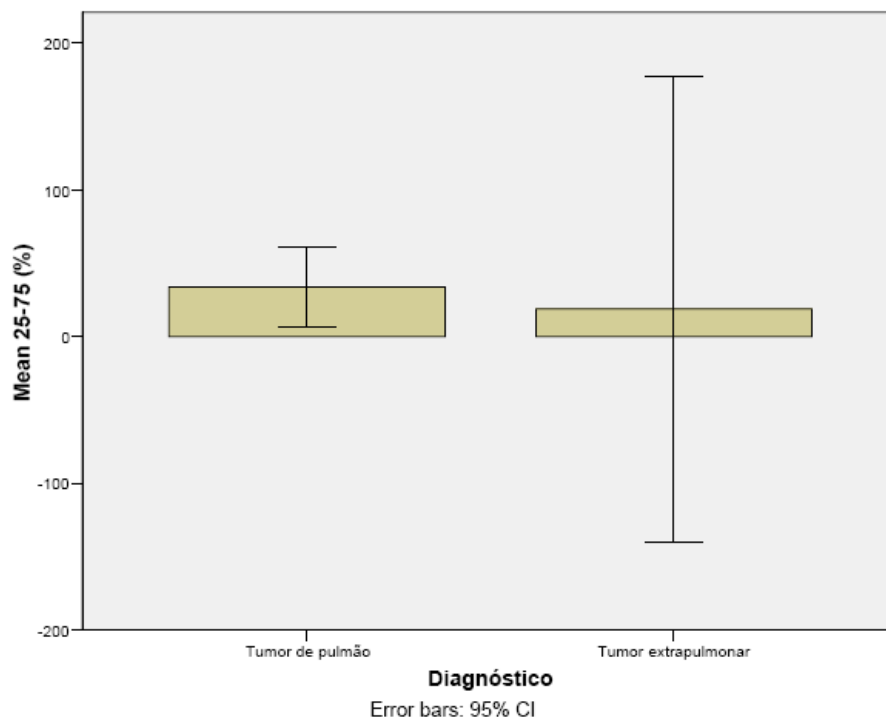


Figura 19: Média da análise de 25%-75% entre os Grupos 1 e 2, Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar

Tabela 04: Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar).

Parâmetro	Pulmão esquerdo (n)	Pulmão direito (n)	P *
Velocidade relativa	1,03 (17)	1,14 (16)	0,158
Tosse simulada (mm)	54,94 (16)	59,13 (16)	0,484
Angulo de contato (°)	28,95 (11)	25,00 (11)	0,093
Viscosidade (1 rpm)	237,40 (5)	259,20 (10)	0,655
Viscosidade (5 rpm)	54,14 (7)	54,30 (10)	0,715
Viscosidade (10 rpm)	25,43 (7)	27,50 (10)	0,066

(n) Número de observações.

* Teste não paramétrico de Wilcoxon.

Tabela 05: Valores médios dos parâmetros experimentais segundo o lado em que a amostra foi coletada (Tabagistas com tumor de pulmão).

Parâmetro	Lado do tumor (n)	Lado contralateral ao tumor (n)	P *
Velocidade relativa	1,00 (5)	0,91 (4)	0,285
Tosse simulada (mm)	57,50 (6)	50,20 (5)	0,588
Angulo de contato (°)	28,00 (4)	14,00 (3)	0,285
Viscosidade (1 rpm)	251,33 (3)	266,00 (2)	NA
Viscosidade (5 rpm)	56,67 (3)	54,50 (2)	NA
Viscosidade (10 rpm)	28,00 (3)	26,50 (2)	NA

(n) Número de observações.

NA Não avaliável em virtude do reduzido número de casos pareados.

* Teste não paramétrico de Wilcoxon.

Tabela 06: Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo o gênero (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar).

Parâmetro	Mulheres (n)	Homens (n)	P *
Idade (anos)	54,0 (4)	63,9 (15)	0,175
Velocidade relativa	1,23 (4)	1,11 (12)	0,467
Tosse simulada (mm)	62,00 (4)	58,17 (12)	0,808
Angulo de contato (°)	20,00 (1)	25,50 (10)	0,634
Viscosidade (1 rpm)	263,67 (3)	257,29 (7)	0,819
Viscosidade (5 rpm)	56,33 (3)	53,43 (7)	0,301
Viscosidade (10 rpm)	26,67 (3)	27,86 (7)	0,358
FVC (litros)	0,85 (1)	2,05 (6)	0,134
FVC (%)	23,00 (1)	60,17 (6)	0,130
FEV1 (litros)	0,34 (1)	1,11 (6)	0,134
FEV1 (%)	11,00 (1)	41,83 (6)	0,134
% FEV 25-75%	40,00 (1) 6,00 (1)	60,75 (6) 33,17 (6)	0,317 0,134

(n) Número de observações.

* Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Porém quando comparado os pacientes Tabagistas, independentemente do sítio tumoral e os não tabagistas, independente da metástase pulmonar, encontramos diferença nas análises de tosse, viscosidade a 10 rpm e prova de função pulmonar, assim como há diferença na correlação entre a carga tabágica e a idade e a carga tabágica e a viscosidade a 10 rpm. (tabelas 07 e 08).

Tabela 07: Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo o consumo de tabaco (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar).

Parâmetro	Não tabagistas (n)	Tabagistas (n)	P *
Idade (anos)	59,3 (12)	61,8 (19)	0,935
Velocidade relativa	1,15 (18)	1,08 (33)	0,622
Tosse simulada (mm)	43,02 (20)	57,03 (32)	0,018
Angulo de contato (°)	34,59 (16)	26,98 (22)	0,135
Viscosidade (1 rpm)	267,33 (3)	251,93 (15)	0,514
Viscosidade (5 rpm)	51,00 (4)	54,24 (17)	0,322
Viscosidade (10 rpm)	21,75 (4)	26,65 (17)	0,021
FVC (litros)	2,75 (5)	1,88 (7)	0,223
FVC (%)	78,60 (5)	54,86 (7)	0,142
FEV1 (litros)	1,78 (5)	1,00 (7)	0,028
FEV1 (%)	61,80 (5)	37,43 (7)	0,042
% FEV	69,65 (5)	57,78 (7)	0,291
25-75%	40,60 (5)	29,29 (7)	0,291

(n) Número de observações.

* Teste não paramétrico de Mann-Whitney.

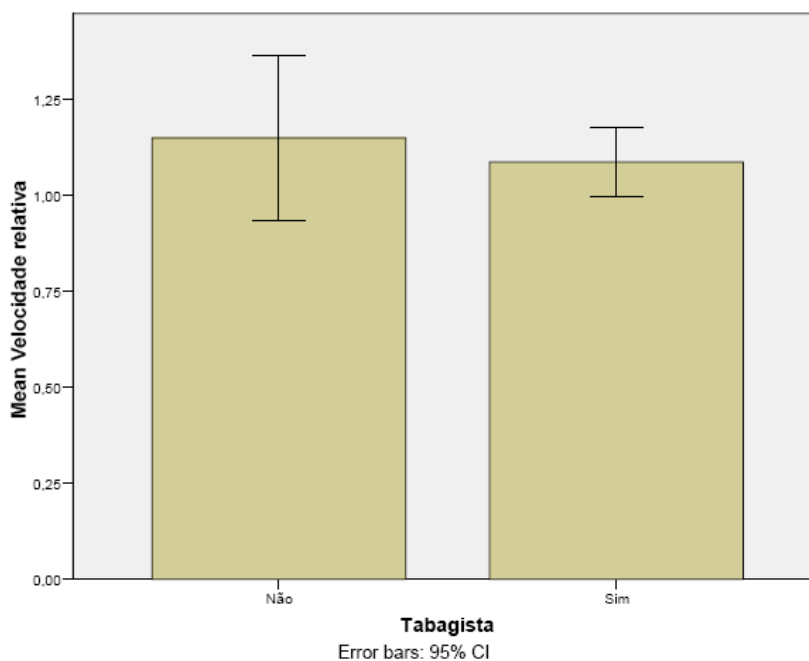


Figura 20. Média da Velocidade Relativa no palato de rã entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

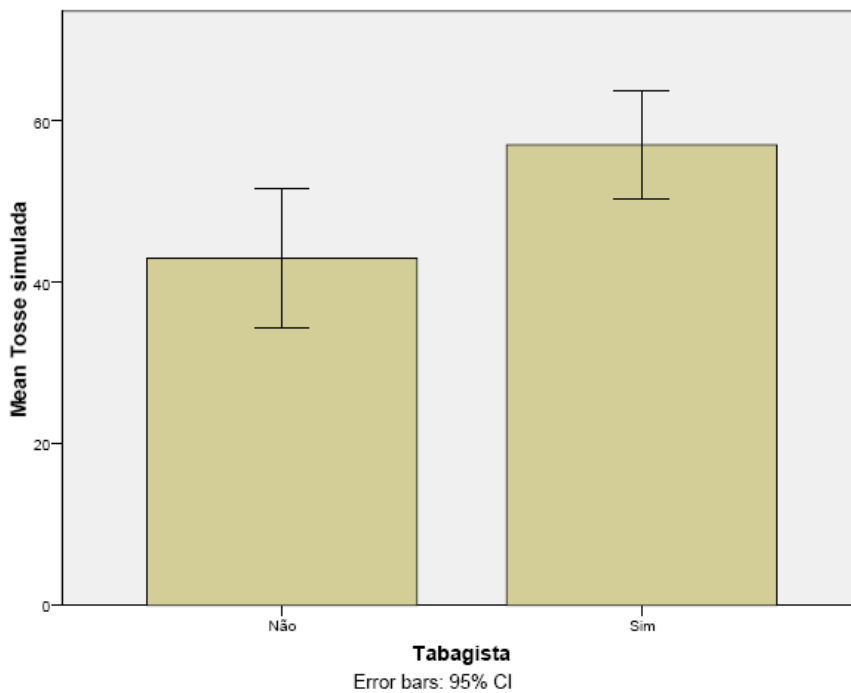


Figura 21. Média da Tosse simulada entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

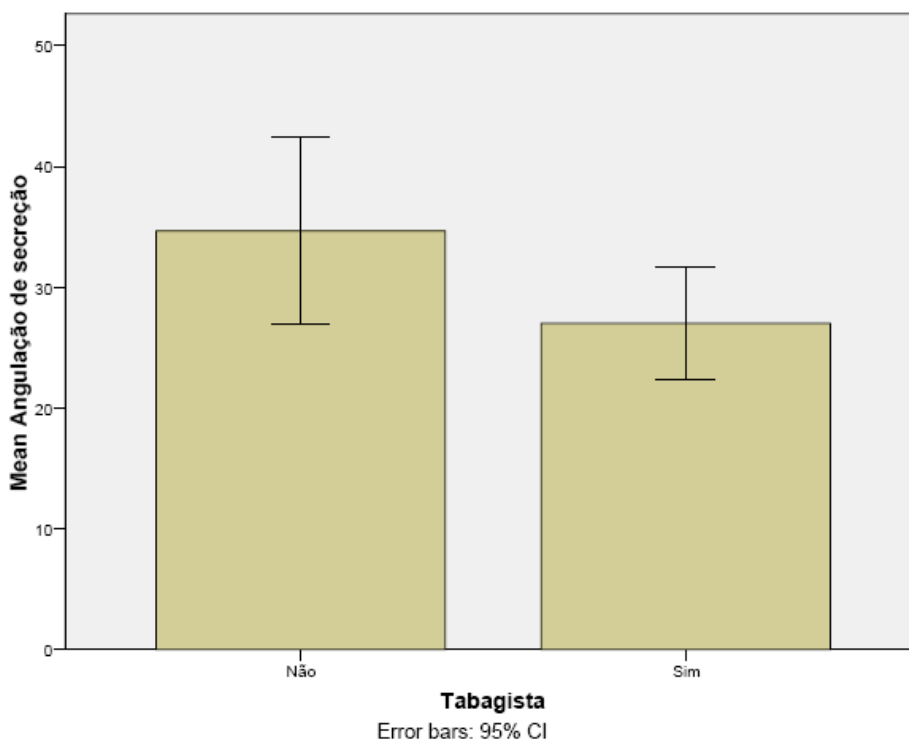


Figura 22. Média do Ângulo de Contato entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

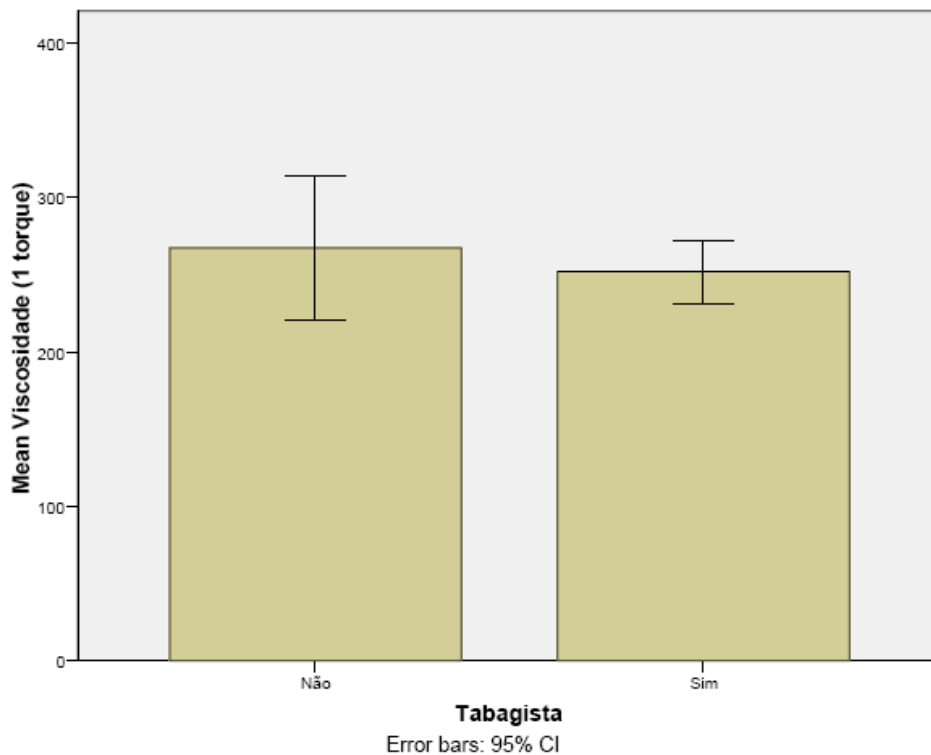


Figura 23. Média da Viscosidade a 1 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

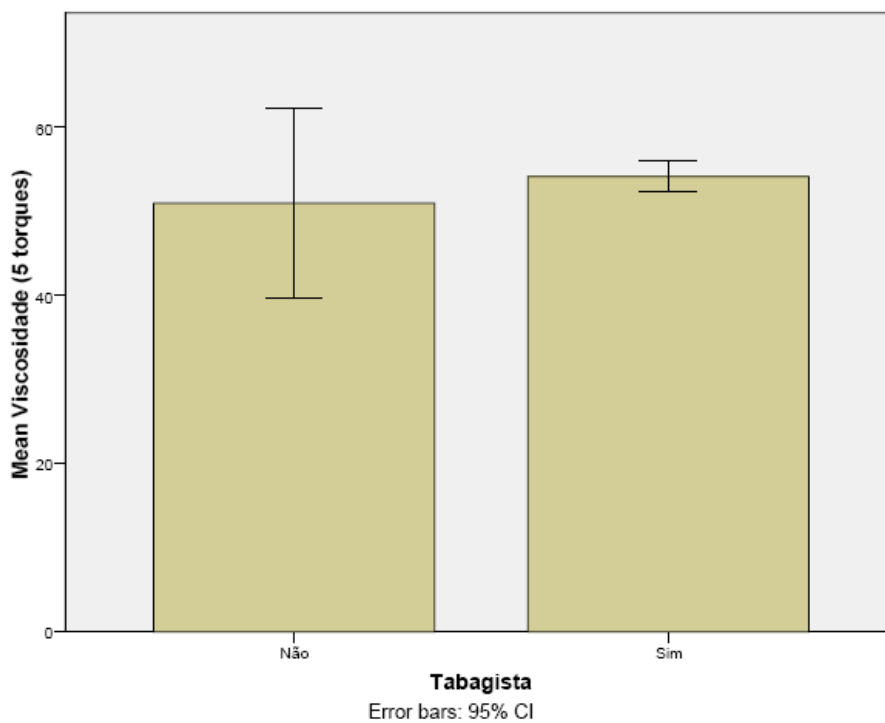


Figura 24. Média da Viscosidade a 5 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

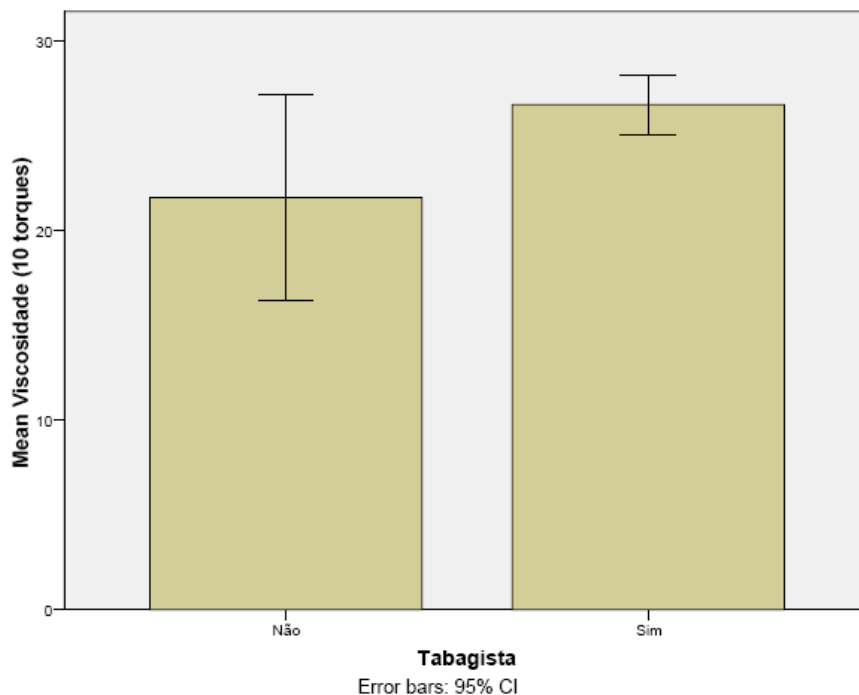


Figura 25. Média da Viscosidade a 10 rpm entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

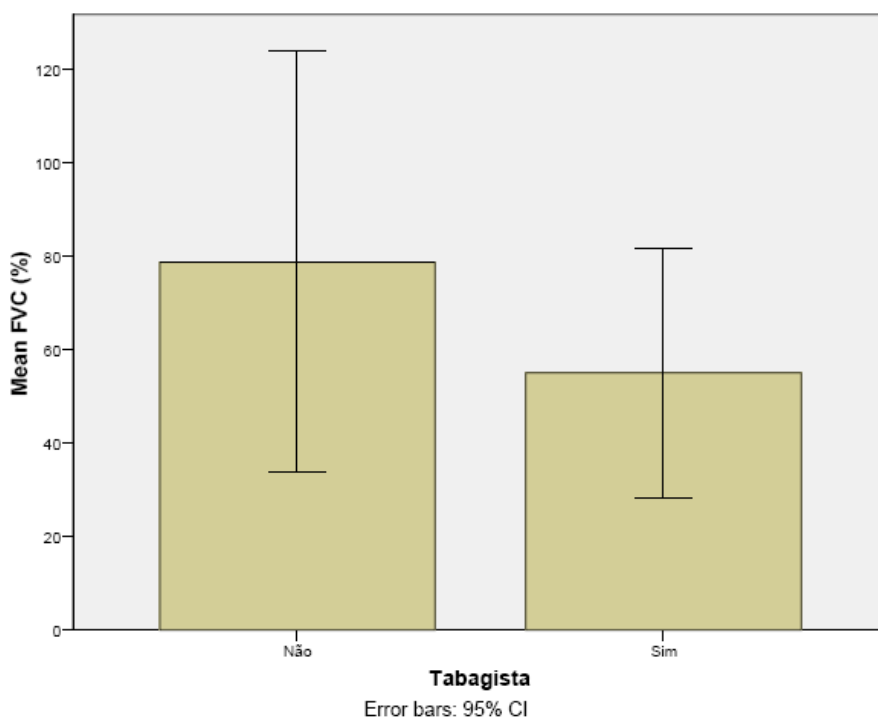


Figura 26. Média da FVC (%) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

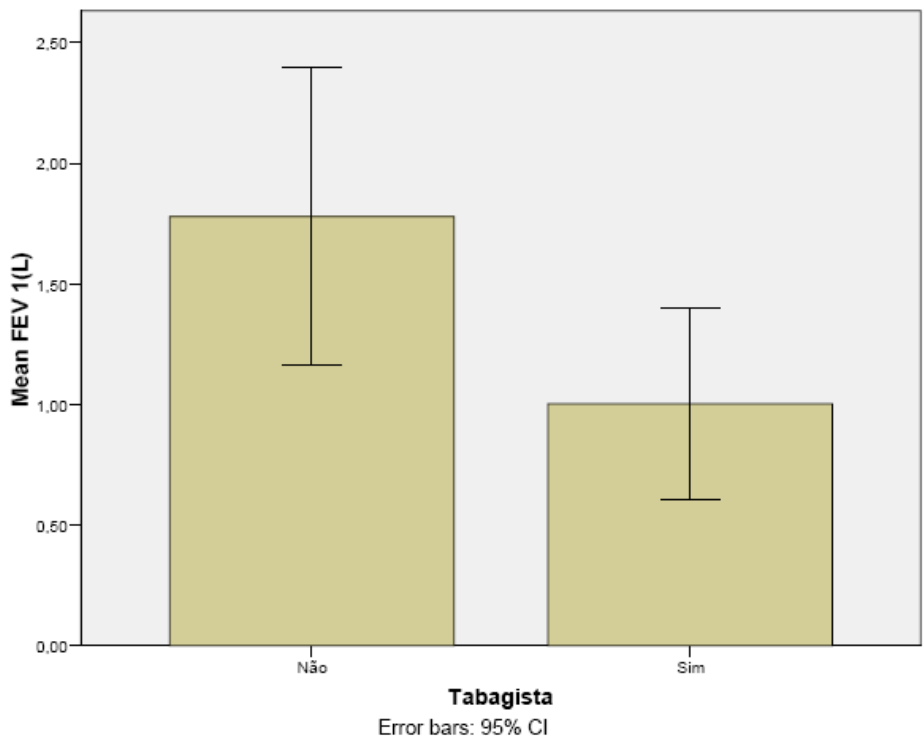


Figura 27. Média da FEV 1(L) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

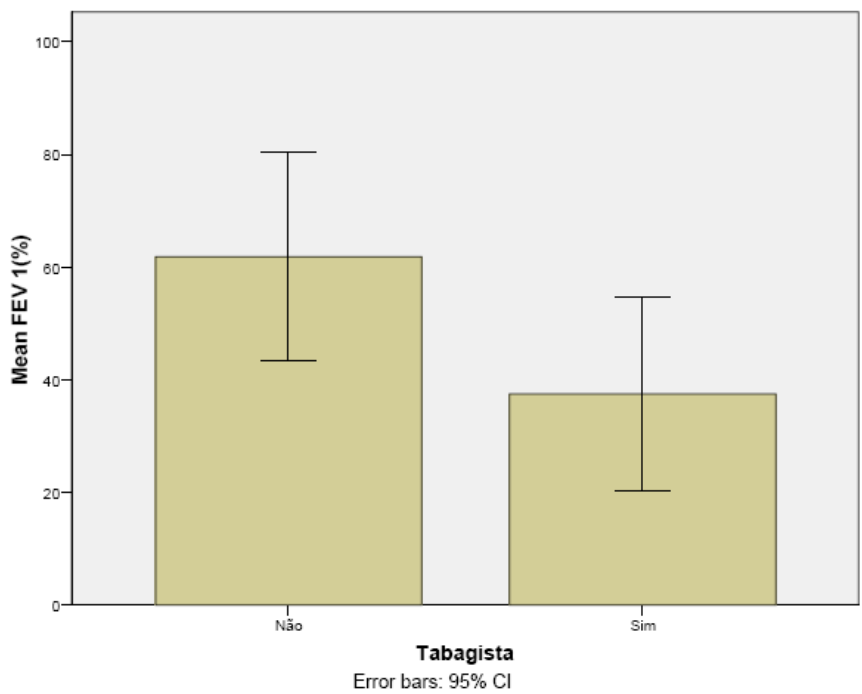


Figura 28 Média da FEV 1 (%) entre Fumantes (sim) e Não Fumantes (não).

Tabela 08: Correlação entre a carga tabágica e a idade e os parâmetros experimentais (Tabagistas com tumor de pulmão e tabagistas com tumor extrapulmonar).

Parâmetro	n	Coefficiente de correlação de Spearman (rho)	P
Idade (anos)	19	0,479	0,038
Velocidade relativa	16	0,393	0,132
Tosse simulada (mm)	16	-0,318	0,229
Angulo de contato (°)	11	0,292	0,383
Viscosidade (1 rpm)	10	-0,456	0,185
Viscosidade (5 rpm)	10	-0,092	0,801
Viscosidade (10 rpm)	10	0,685	0,029
FVC (litros)	7	0,107	0,819
FVC (%)	7	0,216	0,641
FEV1 (litros)	7	0,250	0,589
FEV1 (%)	7	0,179	0,702
% FEV 25-75%	7	-0,214	0,645

(n) Número de observações.

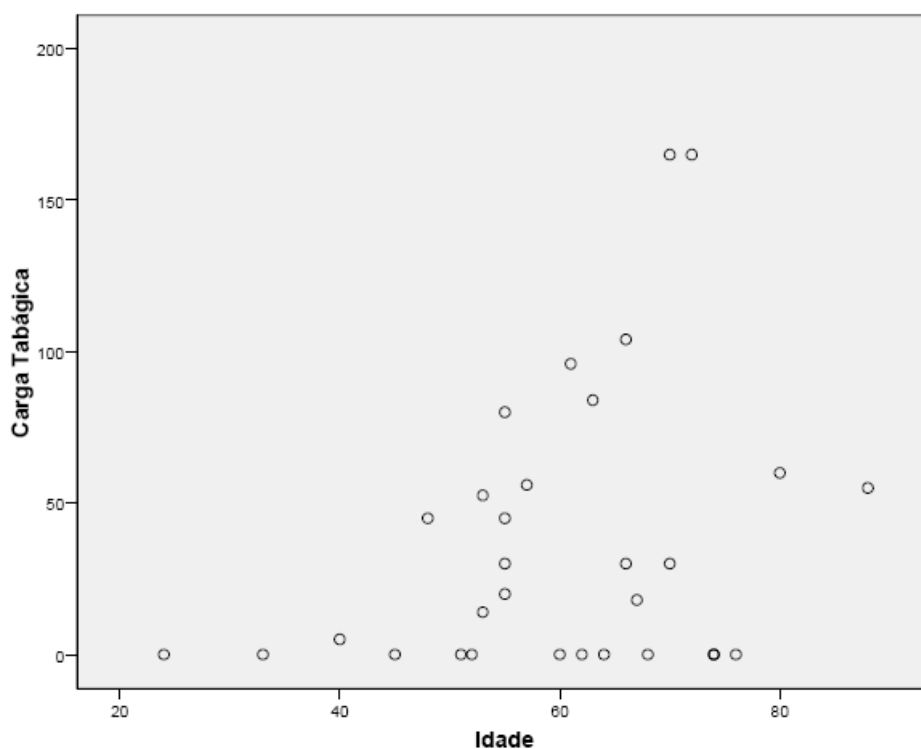


Figura 29. Correlação entre carga tabágica e idade entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

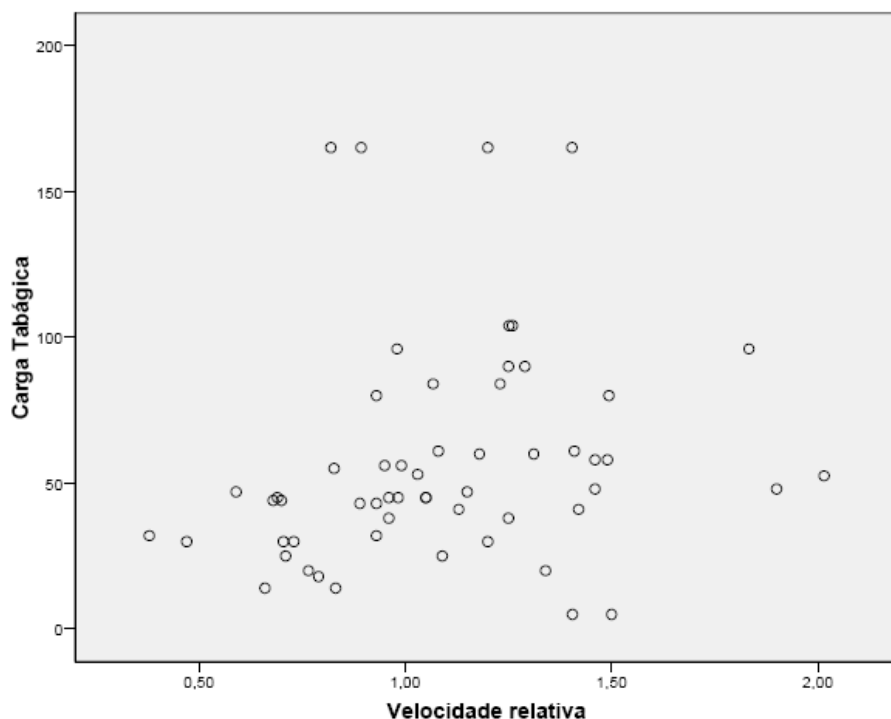


Figura 30. Correlação entre carga tabágica e velocidade relativa no palato de rã entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

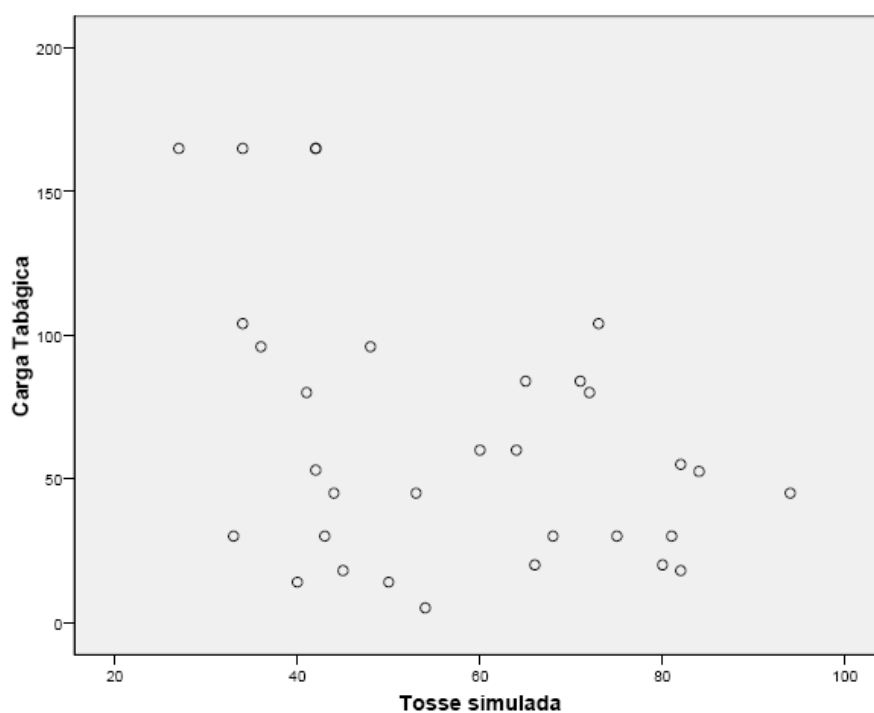


Figura 31. Correlação entre carga tabágica e tosse simulada entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

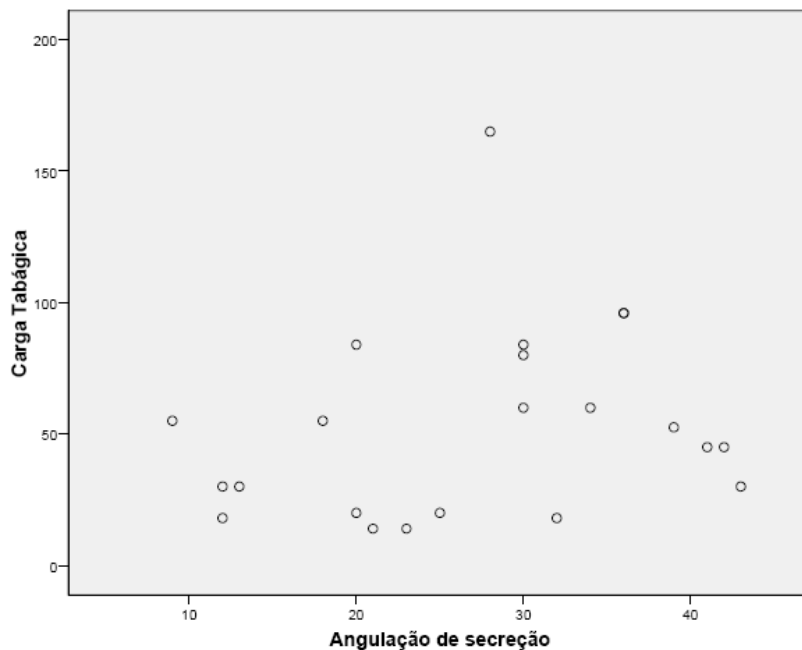


Figura 32. Correlação entre carga tabágica e Ângulo de Contato entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

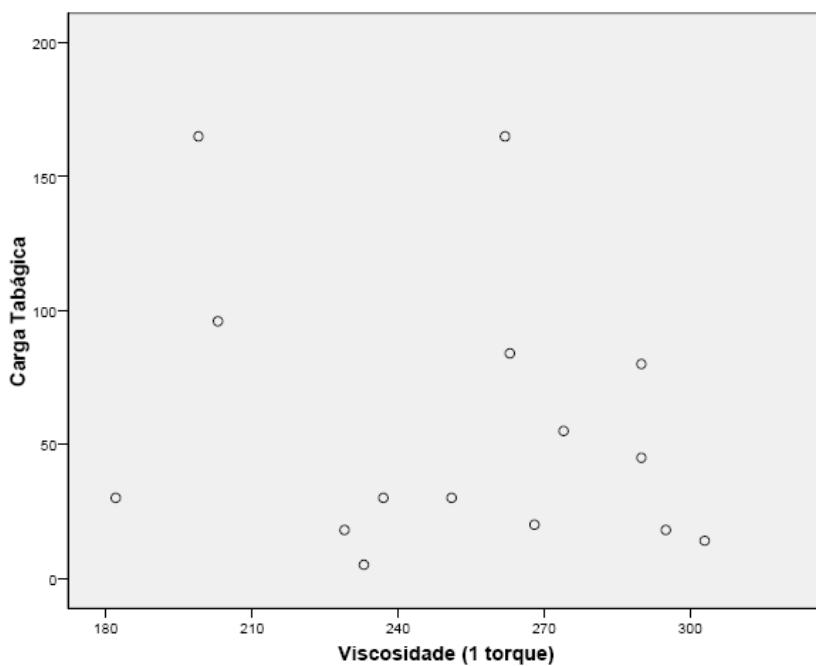


Figura 33. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 1 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

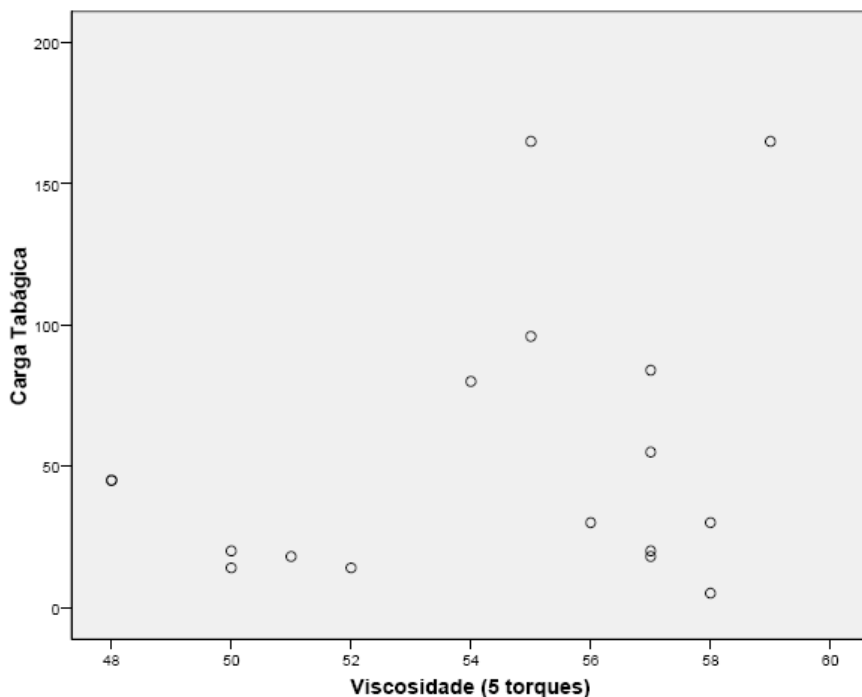


Figura 34. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 5 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

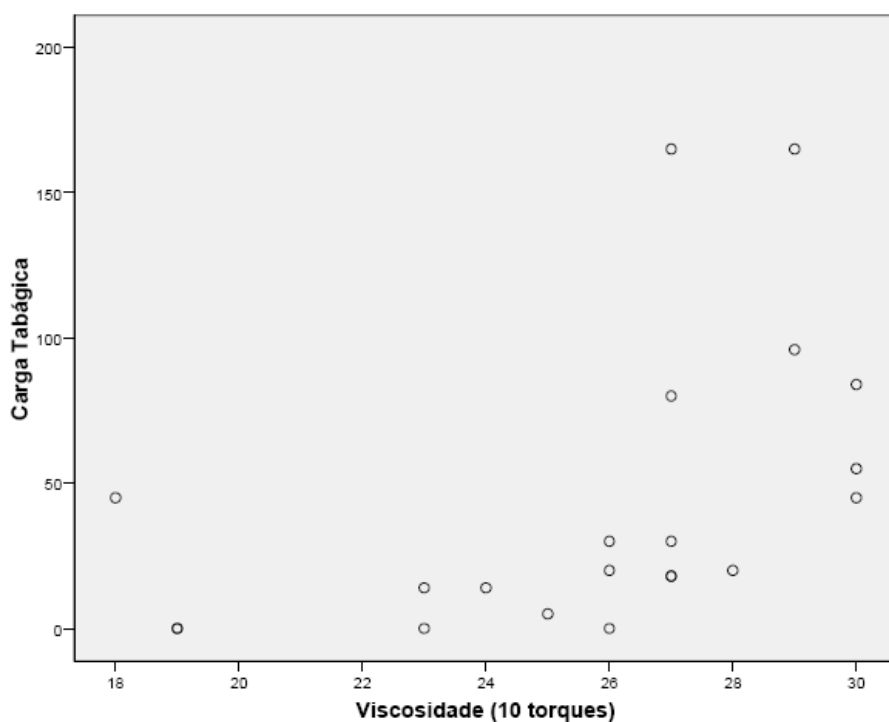


Figura 35. Correlação entre carga tabágica e Viscosidade a 10 rpm entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

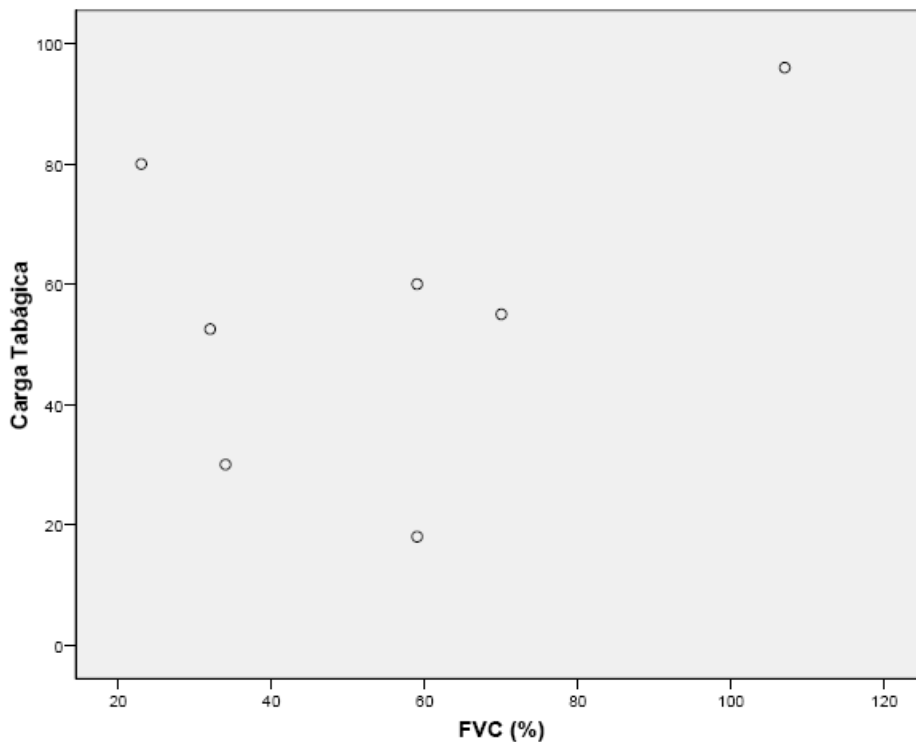


Figura 36. Correlação entre carga tabágica e FVC (%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

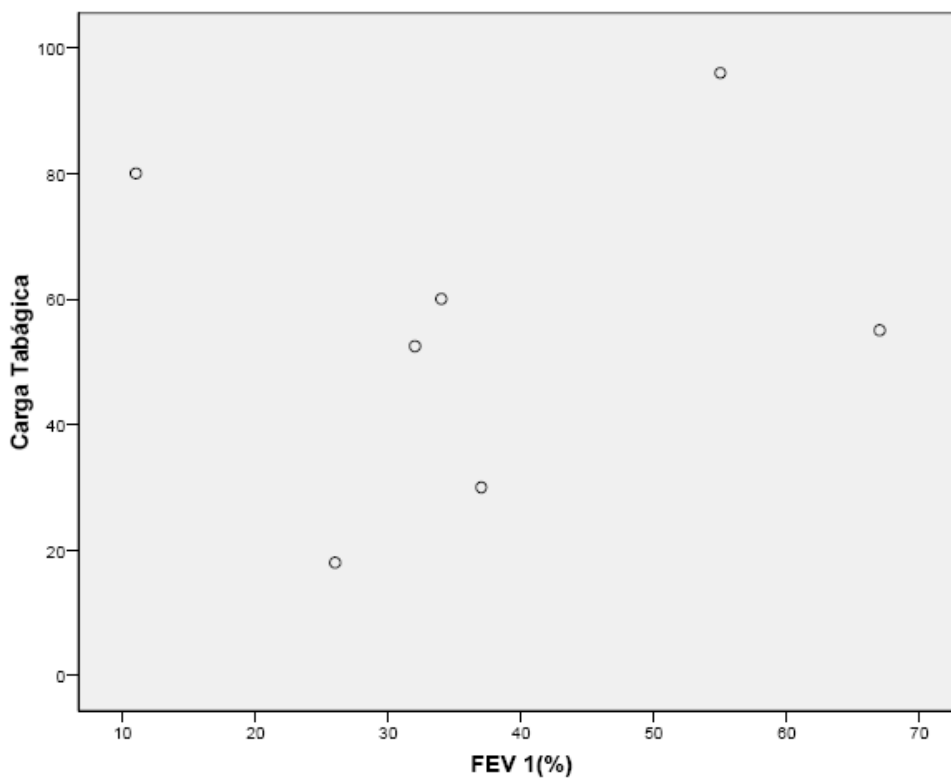


Figura 37. Correlação entre carga tabágica e FEV 1(%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

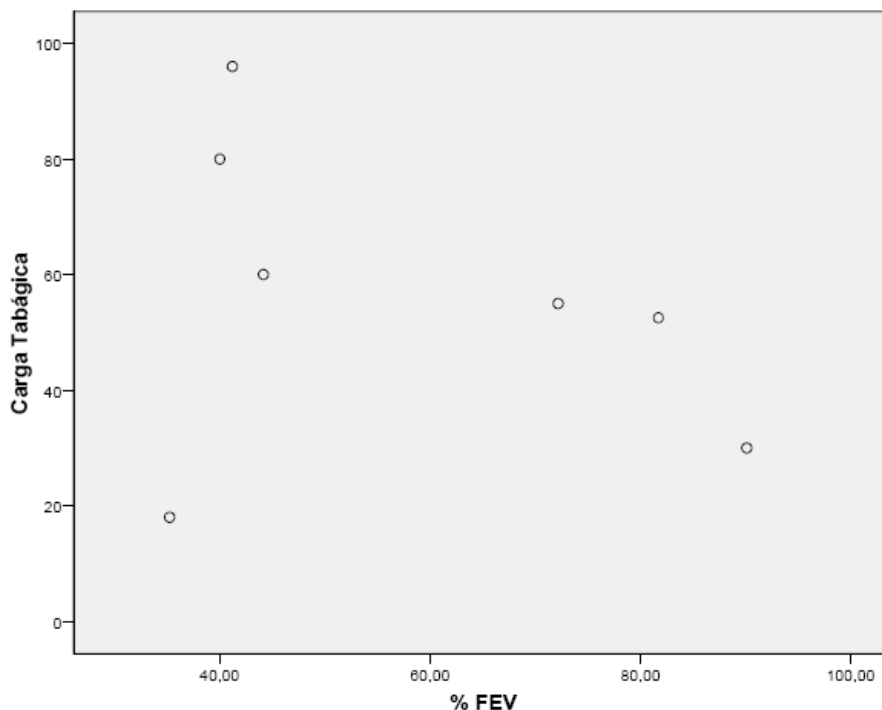


Figura 38. Correlação entre carga tabágica e % FEV entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

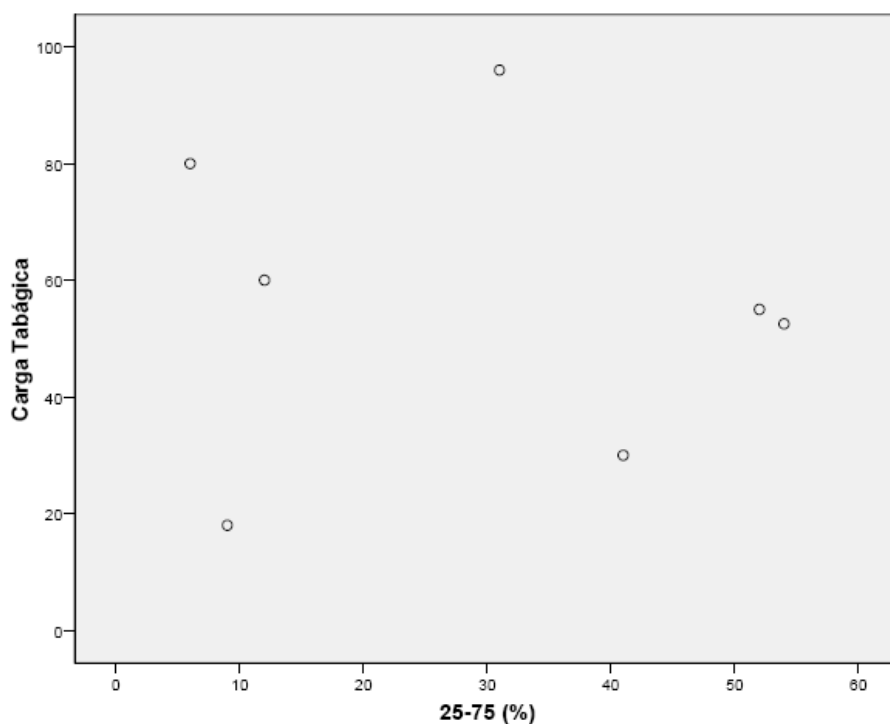


Figura 39. Correlação entre carga tabágica e 25-75 (%) entre os Tabagistas com Tumor de Pulmão e Tabagistas com Tumor Extra-Pulmonar.

Tabela 09: Valores médios da idade e dos parâmetros experimentais segundo os grupos de análise (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar).

Parâmetro	Tumor de Pulmão (n)	Tumor extrapulmonar (n)	Metástase pulmonar (n)	P *
Idade (anos)	66,9 (9)	57,2 (10)	59,3 (12)	0,259
Velocidade relativa	1,07 (15)	1,08 (18)	1,15 (18)	0,878
Tosse simulada (mm)	56,40 (15)	57,59 (17)	43,02 (20)	0,059
Angulo de contato (°)	25,70 (10)	28,04 (12)	34,59 (16)	0,297
Viscosidade (1 rpm)	257,20 (5)	249,30 (10)	267,33 (3)	0,801
Viscosidade (5 rpm)	55,80 (5)	53,58 (12)	51,00 (4)	0,383
Viscosidade (10 rpm)	27,40 (5)	26,33 (12)	21,75 (4)	0,062
FVC (litros)	1,66 (5)	2,44 (2)	2,75 (5)	0,460
FVC (%)	50,80 (5)	65,00 (2)	78,60 (5)	0,319
FEV1 (litros)	1,00 (5)	1,00 (2)	1,78 (5)	0,089
FEV1 (%)	39,20 (5)	33,00 (2)	61,80 (5)	0,121
% FEV	64,66 (5)	40,59 (2)	69,65 (5)	0,207
25-75%	33,60 (5)	18,50 (2)	40,60 (5)	0,281

(n) Número de observações.

* Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Tabela 10: Correlação entre a carga tabágica e a idade e os parâmetros experimentais (Tabagistas com tumor de pulmão, tabagistas com tumor extrapulmonar e não-tabagistas com metástase pulmonar).

Parâmetro	n	Coefficiente de correlação de Spearman (rho)	P
Idade (anos)	31	0,145	0,435
Velocidade relativa	51	0,047	0,745
Tosse simulada (mm)	52	0,161	0,255
Angulo de contato (°)	38	-0,126	0,449
Viscosidade (1 rpm)	18	-0,254	0,309
Viscosidade (5 rpm)	21	0,249	0,276
Viscosidade (10 rpm)	21	0,699	< 0,001
FVC (litros)	12	-0,247	0,440
FVC (%)	12	-0,277	0,384
FEV1 (litros)	12	-0,500	0,098
FEV1 (%)	12	-0,486	0,109
% FEV	12	-0,421	0,173
25-75%	12	-0,363	0,247

(n) número de observações

Observamos na Histologia de biópsias de 10 tabagistas e 15 não tabagistas, 60% de alterações nos tabagistas (30% metaplasia escamosa; 20% hiperplasia e 10% de epitélio pseudoestratificado com ausência de cílios) e 40% de alterações nos não tabagistas sendo 20% de metaplasia escamosa em não tabagistas com câncer de pulmão ou câncer extra-pulmonar.

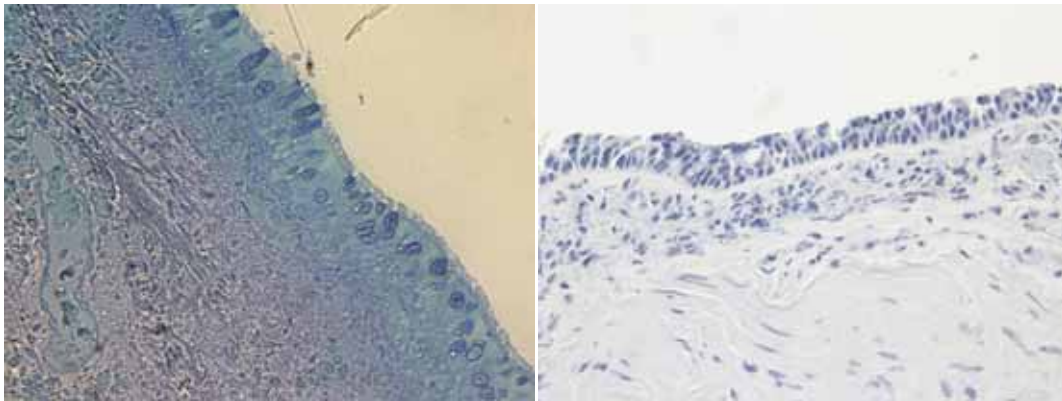


Figura 40. A. Epitélio Pseudo estratificado Cilindrico Ciliado; B. Epitélio Pseudo Estratificado com ausência de cílios

6. DISCUSSÃO

O objetivo do nosso estudo foi comparar as propriedades do muco respiratório de pacientes Tabagistas com Câncer Primário Pulmonar, Pacientes Tabagistas com Câncer Extra-Pulmonar (Cabeça e Pescoço e Esôfago) com similar carga tabágica e Pacientes Não Tabagistas com Metástases Pulmonares, o último grupo foi considerado como grupo controle do estudo.

O Clearance Mucociliar é o principal mecanismo de proteção pulmonar contra agentes inalados, responsável pela manutenção e integridade das vias aéreas, na defesa e no condicionamento do ar inspirado a cada respiração. Zayas,1990 analisaram o muco respiratório três grupos de Pacientes: fumantes câncer pulmonar, fumantes com câncer pulmonar e não fumantes. Através do microreometro magnético (um método mais sensível), onde os fumantes sem câncer de pulmão apresentaram uma melhor transportabilidade por cílio, representado pelo baixo valor da $\tan \delta$ a 1rad/seg. O muco de pacientes com câncer foi menos facilmente transportado por cílio quando comparado com fumantes sem câncer. Desta forma, sugeriram que poderia haver uma melhor transportabilidade por cílio em fumantes sem câncer de pulmão, que desaparecia quando o paciente apresentava obstrução do fluxo. Da mesma forma, ocorreu nos estudos em animais, King, M e cols, 1989, onde cães expostos ao cigarro inicialmente apresentavam alteração favorável e com a contínua exposição esta alteração desaparecia, talvez pela disfunção ciliar.

Mathys e cols, 1983, analisaram o clearance mucociliar e a função pulmonar de indivíduos normais, fumantes com bronquite crônica e pacientes com carcinoma brônquico e demonstraram que pacientes com bronquite crônica e câncer pulmonar têm menor transportabilidade por cílio.

Rubin e cols, 1991 analisaram as propriedades reológicas e o transporte do muco respiratório entre fumantes assintomáticos e não fumantes e encontraram maior quantidade de muco em fumantes e maior transportabilidade no palato de rã, levantando a hipótese de um efeito protetor da via aérea de fumantes contra o cigarro inalado.

Nosso trabalho, visou analisar as propriedades físicas e transportabilidade por cílio e pela tosse, para averiguar se pacientes com a mesma carga tabágica, porém com sítio primário do tumor diferente ao primário pulmonar, apresentavam uma melhor transportabilidade pelo cílio, e não foram encontradas diferenças entre os Pacientes Tabagistas com Câncer Pulmonar e Tabagistas com Câncer Extra-Pulmonar para nenhuma das análises de propriedades do muco respiratório, idade, carga tabágica e espirometria, não observamos melhor transportabilidade por cílio para o grupo com sítio primário tumoral diferente do pulmonar. Da mesma forma, não encontramos diferença estatística entre o lado do tumor e o lado contra-lateral ao tumor, também não observamos melhor transportabilidade ou outra propriedade física do muco do lado contralateral à lesão. Entretanto, quando comparado o grupo de Tabagistas com câncer de pulmão e câncer extra-pulmonar e os não tabagistas com metástases pulmonares, encontramos diferença estatística nos parâmetros de tosse simulada ($p=0,018$), viscosidade a 10rpm ($p=0,021$) e no Volume expirado forçado no 1seg (FEV1 (L) com $p = 0,028$ e FEV1 (%) com $p=0,042$) da espirometria. Também encontramos diferença estatística na correlação entre a carga tabágica, idade e os parâmetros analisados para o coeficiente de correlação de Spermán (ρ), sendo positivo para a idade ($p=0,038$) e para viscosidade de 10 rpm com $p=0,029$, indicando que é

proporcional a carga tabágica com a idade e com a viscosidade, observamos uma correlação positiva. Acreditamos que esta diferença indica um efeito progressivo causado pela associação e acúmulo tempo e dose de exposição ao cigarro e não pela presença do câncer pulmonar.

Alguns dados sugerem que o efeito do cigarro ocorre em um processo de duas fases. Inicialmente à agressão do cigarro, o Sistema Mucociliar se adapta para um transporte mais facilitado, aumentando a quantidade de água no muco respiratório. Gradualmente à exposição tóxica, o aparelho ciliar vai sendo prejudicado, levando ao acúmulo de secreção e tosse crônica (Cendon, 1997; Rubin, 1990; Rubin, 1992).

King, 1989, observou este efeito em cachorros exposto à fumaça de cigarro. Inicialmente o muco era facilmente transportado pelo cílio, mas com a continua exposição esta melhor transportabilidade pelo cílio foi desaparecendo.

Mathys, 1983, analisou o clearance mucociliar e a prova de função pulmonar de indivíduos fumantes com DPOC (Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica) e Indivíduos com Câncer Pulmonar e observou que ambos os grupos apresentavam uma menor transportabilidade pelo cílio.

A exposição ao cigarro promove alteração nas propriedades do muco, com hiperplasia das células produtoras de muco (Goblet), causando um aumento na quantidade e posteriormente dano às células ciliadas, causando um acúmulo e maior tempo de exposição de carcinógenos ao epitélio respiratório, levando à metaplasia e displasia (Mathys, 1983).

As alterações morfológicas do epitélio respiratório com a exposição crônica do cigarro são inicialmente, aumento das células produtoras de muco

(goblet) e conseqüente aumento da produção de muco, diminuição das células ciliadas e posteriormente metaplasia e displasia que podem levar ao desenvolvimento de células malignas e formação de tumor, sendo que alguns autores já consideram a displasia como uma lesão pré-maligna. Como o muco respiratório tem um papel principal de proteção do trato respiratório e sua composição e propriedades viscoelásticas são principalmente determinadas pela presença de mucinas que são glicoproteínas. As mucinas podem estar na membrana celular de vários tipos de células epiteliais ou serem secretadas, com a função de proteção da superfície celular em várias condições (López-Ferrer, A. e cols, 2001; Hollinsworth, M.A. e col, 2004). Algumas mucinas, como a MUC5AC, têm sua produção aumentada na presença do cigarro (Shao, M.X.G. e cols, 2004) e é possível que os tumores usem as mucinas para promover um microambiente protegendo-se para as invasões e crescimento tumoral em condições inapropriadas. (Lee, S.L. e cols, 2006).

Observamos a histologia de 10 biópsias de Pacientes Tabagistas e 15 biópsias de Pacientes não Tabagistas. Foi observado 60% de alteração histológica nos tabagistas, 30% metaplasia escamosa, 20% hiperplasia e 10% epitélio apresentando ausência dos cílios) e 40% de alterações nos Pacientes não tabagistas, sendo 20% metaplasia escamosa em pacientes não fumantes com câncer de pulmão ou câncer extra-pulmonar.

Também, não encontramos diferença na produção das mucinas (MUC 1, MUC2, MUC4, MUC5AC e MUC6) de pacientes com câncer de pulmão e câncer extra-pulmonar, acreditamos que a quantidade diminuta das biópsias tenham dificultado esta análise e não permitindo uma análise estatística. Como também não encontramos diferença na carga tabágica entre os Tabagistas,

talvez o consumo crônico de cigarro vêm alterando as propriedades viscoelásticas do muco, com maior produção de mucinas, hiperplasia das células goblet, maior produção de muco, metaplasia, diminuição das células ciliadas e portanto promovendo um ambiente propício para o desenvolvimento de células malignas e formação tumoral e não o contrário.

7. CONCLUSÃO

Não há diferença das propriedades físicas do muco respiratório de pacientes tabagistas com câncer de pulmão e tabagistas com câncer extra-pulmonar com semelhante carga tabágica e prova de função pulmonar. As alterações das propriedades físicas do muco respiratório e das alterações morfológicas devem ao tempo e dose de exposição do epitélio à fumaça de cigarro, apresentando fases diferentes de acordo com essa carga tabágica, podendo iniciar com uma melhor transportabilidade por cílio como tentativa protetora do epitélio para retirar as substâncias tóxicas da fumaça do cigarro, até o desenvolvimento de hiperplasia de células goblet, hipersecreção brônquica, alterações morfológicas como metaplasias e displasias, alterando o tempo de permanência dos carcinógenos no epitélio e portanto proporcionando um maior risco de desenvolver alterações cancerígenas e aumento da regulação de alguns tipos de mucinas como a mucina secretada MUC5AC.

A diferença encontrada entre tabagistas com câncer pulmonar e câncer extra-pulmonar quando comparados com não tabagistas com metástases pulmonares, nos fazem acreditar que o consumo do cigarro, sendo dose e tempo dependente é o fator principal para as alterações das propriedades reológicas do muco respiratório, alteração morfológica e alteração na expressão das mucinas.

Especulamos que, talvez, essas alterações das mucinas provocadas pelo cigarro, propiciem um ambiente favorável e protetor às células cancerígenas, auxiliando-as no seu crescimento e invasão tumoral, porém faz-se necessário mais estudos entre a interação cigarro, mucinas, alterações do muco e câncer.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Creeth Jm. Constituents of mucus and their separation british. Medical Bulletin. Bristol. – 1978;34 (1): 17- 24.
- Jiang, C.; Finkbeiner, WE.; Widdicombe, JH.; McCray Jr., PB.; Miller, SS. Altered fluid transport across airway epithelium in cystic fibrosis. Science – v. 262. – 15.oct.1993.
- Herbst, R.S.; Heymach, J.V.; Lippman, S.M. Molecular origins of Lung Cancer. N Engl J Med. 359: 1367-80. 2008.
- Hilding,A.C.- Ciliary streaming in the bronchial tree and the time element in carcinogenesis. N. Engl. J. Med., 256:634-40,1957
- Hills BA. Gastric mucosal barrier: stabilization of hydrophobic lining to the stomach by mucus. Am. J. Appl. Physiol. 1985; G342 – 349.
- Hollingsworth M.A. and Swanson, B.J. - Mucins in Cancer: Protection and Control of the Cell Surface. Nature Reviews. January, 2004, vol 4 – 45-60.
- Houtmeyers,E.; Gosselink,R.; Gayan-Ramirez, M.D. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. Eur. Respir J, 13: 1177-1188, 1999.
- King, M. & Macklem,P.T.- The rheological properties of microlitre quantities of normal mucus. J. Appl. Physiol., 42:797-802,1977.
- King M.; Agarwal M.; Shukla, J.B.- A planar model for mucociliary transport: effect of mucus viscoelasticity. Biorheology,30:49-61,1993.
- King M. Experimental models for studying mucociliary clearance. Eur Respr J 1998; 11: 222-228.
- Kollerstrom, N.; Lord, P.W.; Whimster, W.F. – A difference in the composition of bronchial mucus between smokers and non-smokers. Thorax, 1977, 32, 155-159.
- Lee, S.Y.; Kang, E.J.; Hur, G.Y., Jung, K.H.; Jung, H.C. Lee, S.Y.; Kim, J.H.; Skin, C.; In, K.H.; Kang, K.H.; Yoo, S.H.; Shim, J.J. Peroxisome proliferators-activated receptor- γ inhibits cigarette smoke solution-induced mucin production in human airway epithelial (NCI-H292) cells. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 291:L84-L90, 2006.
- Leigh DE. Cough. In: respiratory defense mechanism. Brain DJ, Proctor DF, Reid LM. (Editors). Deker, New York 1977; 5:545 – 592.

Lopez-Ferrer, A.; Curull, V.; Barranco, C.; Garrido, M.; Lloreta, J.; Real, F.X. Mucins as differentiation markers in bronchial epithelium. *American Journal of respiratory cell and molecular biology*, vol. 24. 2001.

Lorenzi Filho,G.; Bohm,G.M.; Guimaraes,E.T.; Costa Vaz,M.A; King,M.; Saldiva,P.H.N.-Correlation between rheologic properties and in vitro ciliary transport of rat nasal mucus. *Biorheology* 29:433-40,1992.

Macchione,M.; Guimarães E.T.; Saldiva,P.H.N.; Lorenzi Filho,G.- Methods for studying respiratory mucus and mucus clearance. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 28:1347-55,1995a.

Macchione M.; King,M.; Lorenzi-Filho G.;Guimarães E.T.; Zin,W.A.; Bohm, G.M.; Saldiva, P.H.N.- Rheological determinants of mucociliary transport in the nose of the rat. *Respiration Physiology*. 99:165-172,1994.

Macchione, M.; Lorenzi-Filho G.;Guimarães E.T.; Junqueira, V.B.C. The use of Frog palate preparation to assess the effects of oxidants on ciliated epithelium. *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 24, n. 5 714-721, 1998.

Matthys,H; Vastag E; Kohler,D.; Daikeler G.; Fischer J.- Mucociliary clearance in patients with chronic bronchitis and bronchial carcinoma. *Respiration*,44:329-37,1983.

Puchelle, E., Zahm, JM., Jacquot J., Plotkowski, C. A simple technique for measurements adhesion proprieties of human bronquial secretions. *Eur. J. Resp. Dis.* 1987; 71 (suppl 152): 281 – 282.

Puchelle, E., Zahm, JM., Sadoul, P. Mucociliary frequency of frog palate epithelium. *Am. J. Physiol.* 1982; 242: C31 – 35.

Quraishi, M.S.;Jones, N.S.; Mason, J. The rheology of nasal mucus: a review. *Clinical Otorrhingology*. October 1998; vol 23(5); pp 403-413;

Regland, B.; Cajander, S.; Wiman, LC.; Falkmer, S. Scanning electrón microscopy of the bronchial mucosa in some lung diseases using bronchoscopy specimens. *Scand, J. Resp. Dis.* 57, 171-182, 1976.

Rubin, B.K., Finegan, B., Ramirez, O., King, M. General anesthesia does not alter the viscoelastic or transport properties of human respiratory mucus. *Chest* 1990; 98: 101 – 104.

Rubin B.K.; Ramirez, O.; Zayas, J.G.; Finegan B.; King, M.- Collection and analysis of respiratory mucus from subjects without lung disease. *Am.Rev.Respir.Dis.*,141:1040-43, 1990.

Rubin B.K; Ramirez,O.; Zayas,J.G.; Finegan B.; King,M.- Respiratory mucus from asymptomatic smokers is better hydrated and more easily cleared by mucociliary action. *Am. Rev. Respir. Dis.*,145:545-7,1992.

Shao, M.X.C.; Nakanaga, T; Nadel, J.A. Cigarette smoke induces MUC5AC mucin overproduction via tumor necrosis factor- α -converting enzyme in human epithelial (NCI-H292) cells. *Am. J. Physiol Lung Cell Mol. Physiol*, 287:L420-L427, 2004.

Silveira,P.S.P.; Bohm,G.M.; Yang,H.M.; Guimaraes, E.T.; Saldiva, P.H.N.- Computer-assisted rheological evaluation of microsamples of mucus. *Comput. Methods Programs Biomed.* 39:51-60,1993.

Travassos,RR., M.Macchione, ETGuimarães, King M., PHN Saldiva, G.Lorenzi Filho: Tracheal mucus properties in non-smokers(NS), smokers(SK) and smokers with cancer (SKC).*Am. J. Respir.Crit.Care Med.*,159:A 472,1999.

Zayas J.G; Godfrey C.W.M; King,M.- Tracheal mucus rheology in patients undergoing diagnostic bronchoscopy. Interrrelations with smoking and cancer. *Am. Rev. Respir. Dis.*,141:1107-13,1990

Zayas, J.G.; Rubin, B.K.; York, E.L.; Lien, D.C.; King, M. Bronchial mucus properties in lung cancer: relationship with site of lesion. *Can Respir J.*, May-Jun; 6(3): 246-52, 1999.

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO.

O Sr(a) fará um exame que foi indicado pelo seu médico.

Nesse exame um tubo será passado pelo nariz para olhar o seu pulmão por dentro e colher material para realizar os exames que ele solicitou.

Gostaríamos de pedir sua autorização para enviar parte desse material (catarro do pulmão) para estudo e fazer uma biópsia de seu brônquio.

A biópsia (retirada de um pequeno fragmento do brônquio) é feita de rotina nos casos em que se encontra alguma alteração durante o exame (por exemplo quando o pulmão está inflamado). O exame não deverá levar mais que 1 minuto. Raramente pode ocorrer um pequeno sangramento, com saída de catarro com sangue até um dia depois do exame. A análise do catarro do pulmão não irá alterar ou causar nenhum tipo de risco à continuidade do seu tratamento.

A sua identificação não será divulgada em hipótese alguma. Estaremos disponíveis para mais esclarecimentos se o Sr(a). Desejar, sendo a pesquisadora responsável: Areta Agostinho. Fone: 3272-5000 – ramal 1536.

Se o pesquisador principal não fornecer as informações/esclarecimentos suficientes, por favor entre em contato com o Coordenador do Comitê de Ética do Hospital do Câncer – SP, pelo telefone 3272-5000, ramais 1113 ou 1117.

Se o Sr(a) não concordar em participar desse protocolo, o seu exame e tratamento solicitados não serão prejudicados.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, ____ de _____ de 200_.

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do pesquisador(carimbo ou nome legível)

ANEXO II

Protocolo Coleta de Secreção pulmonar

Nome:		RG:		Data do exame:	
Idade:		Sexo:		Clínica de origem:	
Residente responsável:					
Fumo: () 0-Não	() 1-Sim	() 2-Ex fumante, parou há:		Anos	Maços/dia
Alcool: () 0-Não	() 1- Sim	Quanto?			
Motivo do exame:					
() Neo de pulmão já diagnosticado	() 1-Sim	() 0-Não			
() Suspeita de Neo Pulmão	() 1-Sim	() 0-Não			
() Estadiamento de Neo de esôfago					
() tipo de Neo	1 – esofago	2 – CP			
				OBSERVAÇÕES:	
Diagnóstico Clínico Pulmonar:					
Bronquite crônica:	() 0-Não	() 1-Sim			
Bronco espasmo:	() 0-Não	() 1-Sim			
Emfisema:	() 0-Não	() 1-Sim			
Doença intersticial:	() 0-Não	() 1-Sim	Qual?		
Bronquiectasia:	() 0-Não	() 1-Sim			
Derrame pleural:	() 0-Não	() 1-Sim			
Infecção pulmonar nos últimos 3 meses ?	() 0-Não	() 1-Sim			
Tomou antibiótico nessa ocasião?	() 0-Não	() 1-Sim			
Diagnósticos clínicos extra-pulmonar:				OBSERVAÇÕES:	
ICC	() 0-Não	() 1-Sim			
Diabetes	() 0-Não	() 1- Sim			
HAS	() 0-Não	() 1-Sim			
Outros:					

RX de torax:			
<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Lesão difusa	Descreva:	
<input type="checkbox"/> Lesão localizada	<input type="checkbox"/> 1- HTD <input type="checkbox"/> 2- HTE	Campo:	<input type="checkbox"/> 3-Superior, <input type="checkbox"/> 4-Médio, <input type="checkbox"/> 5- Inferior
<input type="checkbox"/> Derrame Pleural	<input type="checkbox"/> 1- HTD <input type="checkbox"/> 2-HTE		
Observação:			
CT de torax:			
<input type="checkbox"/> Nódulo	Localização:	Tamanho:	
<input type="checkbox"/> Massa	Localização:	Tamanho:	
<input type="checkbox"/> Lesão mediastinal:	Descreva:		
<input type="checkbox"/> Infiltrado intersticial:	Descreva:		
<input type="checkbox"/> Atelectasia ?	Local		
<input type="checkbox"/> Derrame Pleural	Local	Quantidade:	
Função Pulmonar	<input type="checkbox"/> Já tem, feita quando?		