

GISELE NUNES YONEZAWA

***A FUNÇÃO DE MONÓCITOS EM
INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA***

*Dissertação de mestrado apresentada ao Curso
de Pós-Graduação - Ciências Biológicas, área
Imunologia, do Instituto de Biologia da
Unicamp.*

Orientadora : Prof. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela

Campinas, 1996

9609862

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
	T/UNICAMP
V	Y8.F
PRECED.	27974
PREC.	667,196
C	☐
D	☒
PREC.	R\$ 11,00
DATA	05/07/96
N.º CPD	

CM-00085463-8

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Yonezawa, Gisele Nunes

Y8f A função de monócitos em indivíduos expostos à sílica / Gisele Nunes
Yonezawa. Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador: Maria Marluce dos Santos Vilela.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de
Biologia.

1. Sílica. 2. Monócitos. 3. Imunidade celular. I.Vilela, Maria Marluce dos
Santos. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III.
Titulo.

GISELE NUNES YONEZAWA

***A FUNÇÃO DE MONÓCITOS EM
INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA***

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)
Gisele Nunes Yonezawa
e aprovada pela Comissão Julgadora.
21/05/96 Ampl

Campinas, 1996

LOCAL E DATA : Campinas, 21 de maio de 1996

BANCA EXAMINADORA

TITULARES:

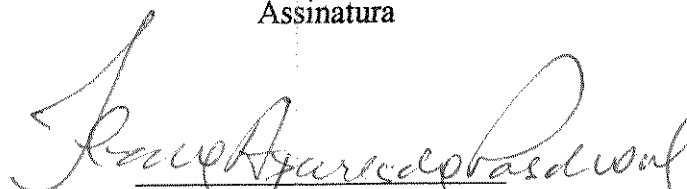
Profa. Dra. MARIA MARLUCE DOS SANTOS VILELA (Orientadora)


Assinatura

Profa. Dra. WIRLA MARIA S. CUNHA TAMASHIRO

Wirla Maria S. Cunha Tamashiro
Assinatura

Profa. Dra. ILMA APARECIDA PASCHOAL


Assinatura

SUPLENTE:

Profa. Dra. LEONILDA MARIA BARBOSA DOS SANTOS

Assinatura

*A Minoru e Elza pelo
carinho e compreensão
que me dedicaram*

Aos professores do curso de Imunologia do Instituto de Biologia - Unicamp, pela generosa acolhida e importante contribuição no meu aprendizado científico.

À prof. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela pelo constante incentivo, pela amizade e confiança e pelo exemplo de honestidade e perseverança no trabalho científico.

Aos indivíduos que participaram desta pesquisa, pela disponibilidade, colaboração e compreensão.

Aos amigos que consentiram voluntariamente em formarem o grupo controle desta pesquisa.

À equipe de enfermagem do Núcleo de Procedimentos Especializados da Pneumologia, pelo paciente auxílio operacional.

À Elizabeth Cristina Cambiucci e Maria Helena Carriom Mazzola pela dedicada e criteriosa contribuição junto ao laboratório.

À Margareth Ercília de Abreu, Edimar Ferraz de Oliveira e Leoci Hifumi Takahashi Santos pela ajuda prestimosa na digitação da tese.

À Maria Elizabeth Dias Blois pelo primoroso trabalho de revisão da tese.

À Daniela Lenci pelo auxílio técnico na análise estatística dos dados deste trabalho.

Ao Dr. Abimael Aranha Neto pela assistência no manejo dos recursos de informática.

Aos amigos da disciplina de Pneumologia da FCM - UNICAMP pelo apoio e estímulos constantes.

Ao Dr. Eduardo Melo de Capitani pelo valoroso auxílio na leitura dos radiogramas de tórax..

RESUMO.....	i
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. História e Epidemiologia.....	2
1.2. A Silica.....	8
1.3. Patologia.....	9
1.3.1. Silicose aguda ou lipoproteinose alveolar.....	9
1.3.2. Silicose acelerada.....	10
1.3.3. Silicose crônica.....	10
1.4. Quadro clínico.....	13
1.5. Patogênese da silicose.....	14
1.5.1. Toxicidade celular induzida pela sílica.....	15
1.5.2. A toxicidade de sílica sobre células imunocompetentes no pulmão	17
2. OBJETIVOS.....	32
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	34
3.1. Planejamento experimental.....	35
3.1.1. Método de estudo.....	35
3.1.2. Seleção de participante.....	35
3.1.3. Protocolo clínico.....	35
3.2. Procedimento experimental.....	36
3.2.1. Número de participantes.....	36
3.2.2. Avaliação clínica.....	36
3.2.3. Avaliação radiológica.....	36
3.2.4. Avaliação da função pulmonar.....	37
3.2.5. Quimiotaxia.....	37
3.2.5.1. Obtenção de leucócitos mononucleares.....	37

3.2.5.2. Obtenção de fator quimiotático.....	38
3.2.5.3. Ensaio quimiotático.....	38
3.2.5.4. Leitura.....	39
3.2.6. Fagocitose.....	39
3.2.6.1. Fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro humano.....	39
3.2.6.2. Ensaio fagocitário para zimosan.....	39
3.2.6.3. Coloração e leitura.....	40
3.2.7. Dosagem do ânion superóxido.....	41
3.2.7.1. Dosagem do ânion superóxido liberado por monócitos.....	41
4. RESULTADOS.....	43
4.1. Caracterização da população estudada.....	44
4.2. Avaliação radiológica.....	45
4.3. Avaliação da função pulmonar.....	47
4.4. Avaliação do hemograma.....	48
4.5. Associação com tuberculose.....	49
4.6. Análise da quimiotaxia.....	50
4.7. Análise da fagocitose.....	54
4.8. produção de ânion superóxido.....	64
5. DISCUSSÃO.....	69
6. CONCLUSÕES.....	82
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	84
8. SUMMARY.....	86
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
10. ANEXOS.....	103

LISTA DE TABELAS

TABELA I - RISCO ESTIMADO DAS PNEUMOCONIOSES (I.L.O.-1973-77).	4
TABELA II - PREVALÊNCIA DAS PNEUMOCONIOSES.....	5
TABELA III - SEGUIMENTO CLÍNICO DAS PNEUMOCONIOSES.....	6
TABELA IV - CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA, QUANTO A DISTRIBUIÇÃO POR IDADE, SEXO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO (TE), TEMPO DE AFASTAMENTO DE EXPOSIÇÃO (TAE) E TIPO DE ATIVIDADE (TA).....	44
TABELA V - CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO CONTROLE QUANTO A DISTRIBUIÇÃO DE IDADE E SEXO.....	45
TABELA VI - CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA SEGUNDO CRITÉRIOS DA “INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION” (I.L.O.), NO GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA.....	46
TABELA VII - VALORES DA CAPACIDADE VITAL (CVF) E DO VOLUME EXPIRATÓRIO FORÇADO NO PRIMEIRO SEGUNDO (VEF1) E ÍNDICE TIFFENAUT DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA.....	47
TABELA VIII - HEMOGRAMAS NO GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA.....	48

TABELA IX - CORRELAÇÃO ENTRE ANTECEDENTE PESSOAL DE TUBERCULOSE (TB) E TEMPO DE EXPOSIÇÃO (TE) EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE SILICOSE.....	49
TABELA X - CORRELAÇÃO ENTRE ANTECEDENTE PESSOAL DE TUBERCULOSE (TB+) E CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA DAS LESÕES PULMONARES EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE SILICOSE.....	50
TABELA XI - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS DOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.....	52
TABELA XII - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA.....	52
TABELA XIII - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E A CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA DAS PNEUMOCONIOSES.....	53
TABELA XIV - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E ANTECEDENTES DE TUBERCULOSE.....	53
TABELA XV - COMPARAÇÃO ENTRE O ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAM NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E NO GRUPO CONTROLE.....	55
TABELA XVI - COMPARAÇÕES ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA.....	56
TABELA XVII - COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAM E A CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA PARA PNEUMOCONIOSES.....	57

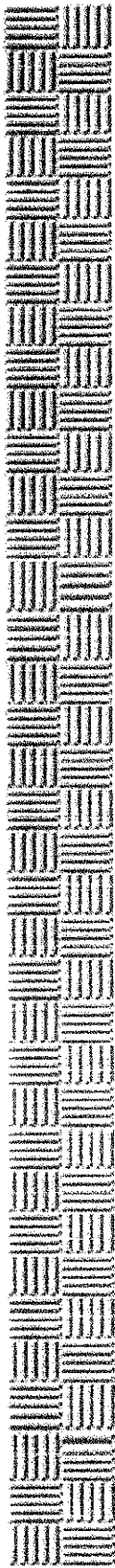
TABELA XVIII - COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAN NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E A PRESENÇA DE TUBERCULOSE.....	58
TABELA XIX - COMPARAÇÃO ENTRE A CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.....	61
TABELA XX - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA.....	62
TABELA XXI - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E SUA CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA.....	63
TABELA XXII - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E PRESENÇA DE TUBERCULOSE.....	63
TABELA XXIII - COMPARAÇÃO ENTRE A PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.....	65
TABELA XXIV- COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO.....	66
TABELA XXV - COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E SUA CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA.....	67

TABELA XXVI - COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E PRESENÇA DE TUBERCULOSE.....	68
---	----

ABREVIATURA

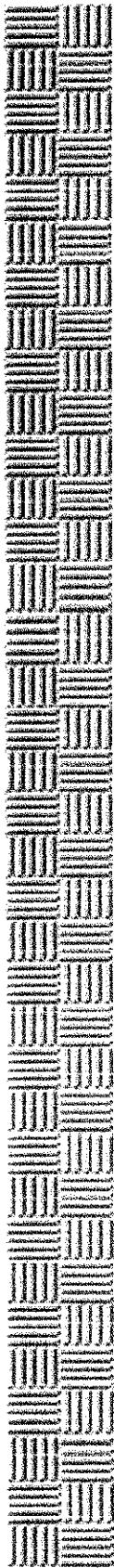
AMDGF	Fator de crescimento derivado de macrófago alveolar
B.K.	Bacilo de Koch
CVF	Capacidade Vital Forçada
DP	Desvio Padrão
EA	Anticorpo antieritrócito de carneiro
EAC	Anticorpo antieritrócito de carneiro associado a complemento
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FGF	Fator de crescimento para fibroblastos
g	grama
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
IFN- γ	Intérferon gama
IgA	Imunoglobulina da classe A
IgE	Imunoglobulina da classe E
IgG	Imunoglobulina da classe G
IgM	Imunoglobulina da classe M
IL-1	Interleucina um
IL-2	Interleucina dois
ILO	International Labor Organization
l	Litro
LPS	Lipossacarídeo derivado de <i>E.coli</i>
LTB4	Leucotriene B4
m3	Metro cúbico
MAF	Fator ativador de macrófagos
μ g	Micrograma
mg	Miligrama
MIF	Fator inibidor de macrófagos
ml	Mililitro
mM	Milimolar

Mn-SOD	Superóxido dismutase dependente de manganês
NIOSH	“National Institute of Occupational Safety and Health”
OSHA	“Occupational Safety and Health Administration”
p	Nível de significância
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaqueta
PGE 2	Prostaglandina E2
PPD	Protein purified denatured
rpm	Rotação por minuto
SOD	Superóxido dismutase
t	Coefficiente do teste
TGFβ	Fator transformador de crescimento beta
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
VEF1	Volume expiratório forçado do primeiro segundo
μ	mícron
μl	microlitro
μm	milimícron



RESUMO

A silicose é causada pela inalação de partículas de sílica resultando em doença inflamatória crônica, com formação de granulomas e fibrose pulmonar. Neste trabalho avaliamos a quimiotaxia, a fagocitose via CR1 e CR3 e, a produção de ânion superóxido por monócitos de vinte e um indivíduos expostos cronicamente à sílica, e de quinze indivíduos normais. Observamos que a mediana da migração espontânea de monócitos foi de 27,90 μ ; a migração de monócitos estimulada com soro humano normal e soro de paciente incubados com LPS, foi de 66,90 μ e de 62,85 μ respectivamente, no grupo de indivíduos expostos à sílica; no grupo controle, a migração espontânea de monócitos foi de 28,77 μ ($p=0,91$), e a migração de monócitos estimulada com soro controle, incubados com LPS, foi de 61,20 μ ($p=0,77$; $p=0,57$). O índice fagocitário para partículas de zimosan incubadas com meio, soro humano normal e soro de pacientes ou soro controle apresentaram medianas de 13,98, 69,57 e 71,09 respectivamente, nos indivíduos expostos à sílica, e de 17,54, 68,49 e 68,49 no grupo controle. ($p=0,34$; $p=0,40$ e $p=0,40$). A mediana da capacidade fagocitária destes pacientes foi de 134,25; 385,25 e 390,0 para partículas de zimosan incubadas com meio, soro humano normal e soro de paciente, e no grupo controle foi de 128,25; 365,25 e 362,25 respectivamente. ($p=0,83$; $p=0,52$ e $p=0,87$). A produção espontânea de ânions superóxidos por monócitos apresentou mediana de 4,03 nos indivíduos expostos à sílica e de 3,30 no grupo controle ($p=0,69$) e de 9,24 nos pacientes e de 9,52 no grupo controle ($p=0,71$), quando estimulados com zimosan. Portanto não encontramos diferença significativa nas funções fagocitárias destes indivíduos em relação aos indivíduos normais. Também não observamos correlação entre estas funções estudadas e a classificação radiológica, tempo de exposição ou antecedente para tuberculose. Estes resultados sugerem que a sílica desencadeia uma resposta imune que é modulada e controlada no pulmão, resultando em discreta manifestação sistêmica.



1. INTRODUÇÃO

1.1. HISTÓRIA E EPIDEMIOLOGIA

A silicose é uma doença ocupacional caracterizada pela fibrose crônica e progressiva do parênquima pulmonar, decorrente da aspiração de partículas de sílica. A doença surgiu, provavelmente, na Idade da Pedra, quando homens e mulheres criavam ferramentas em pedra e exploravam a crosta da terra (Becklake, 1992). A relação de doença pulmonar com exposição à poeira foi reconhecida por *Agrícola em 1556. **Diemerbroeck em 1672 e ***Ramazzini em 1713 demonstraram doença pulmonar em cortadores de pedra (Ziskind, 1976).

Com o advento da Revolução Industrial, no século dezenove, a exposição à sílica intensificou-se, especialmente no setor metalúrgico. Em 1796, ****Zucker deu o nome genérico de pneumoconioses às doenças pulmonares decorrentes do contato com poeiras inorgânicas. No mesmo ano, *****Kussmaul constatou presença de sílica em pulmões humanos e, em 1870, *****Visconti denominou a doença, de silicose. *****Collis, em 1915, sugeriu o cristal de sílica como causa da principal doença pulmonar relacionada a poeiras inorgânicas e observou, também, maior frequência de tuberculose nos indivíduos portadores de silicose (Ziskind, 1976).

Neste período, iniciaram-se estudos sobre higiene industrial que possibilitaram uma melhor compreensão dos riscos profissionais dos trabalhadores da indústria cerâmica, cortes de pedra e fundição. Em 1929, Middleton descreveu os primeiros casos de silicose

*Agrícola apud Ziskind, 1976

**Diemerbroeck apud Ziskind, 1976

***Ramazzini apud Ziskind, 1976

****Zucker apud Ziskind, 1976

*****Kussmaul apud Ziskind, 1976

*****Collis apud Ziskind, 1976

*****Visconti apud Ziskind, 1976

aguda em indivíduos com atividade na lapidação de pedra e, posteriormente, em cavadores de túneis e jateadores de areia. O aumento da incidência de pneumoconiose nos mineradores de carvão estimulou o aparecimento de estudos correlacionando sintomas, progressão da doença, alterações radiológicas e funcionais, que permitiram um maior entendimento da fisiopatologia da doença (Ziskind, 1976).

Durante a Segunda Guerra mundial era intensa a exposição à sílica e a asbestos nos estaleiros, havendo um ressurgimento dos casos graves de silicose e asbestose. Assim, no período *pós*-guerra, surgiram leis severas de proteção ao meio ambiente do trabalhador, tanto na Europa, como nos Estados Unidos, levando a uma diminuição na incidência desta doença, nestes Países (Ziskind, 1976). Entretanto a mistura de sílica livre com outras substâncias químicas, nos processos industriais, torna muito difícil sua erradicação. Observam-se, ainda, casos de silicose nos países industrializados, sendo bastante crítica esta situação, naqueles em desenvolvimento (Chrétien, 1992).

As atividades de risco para silicose incluem: a mineração, cavação de túneis, extração de pedras, metalurgia e fundição, indústria cerâmica, fabricação de vidro e abrasivos. Sua distribuição mundial depende do grau de industrialização de cada região. Nos países industrializados, a tecnologia moderna permite menor exposição no setor de mineração, entretanto, no setor industrial, principalmente em indústrias de pequeno porte, o risco para silicose permanece semelhante ao dos países em desenvolvimento (Becklace, 1992).

Nas atividades profissionais de risco a “International Labor Organization” (I.L.O.) é responsável pela preparação dos relatórios sobre incidência e prevenção da silicose. Para tanto, solicita informações aos países sobre o processo de produção industrial, mecanismos de proteção e número de casos diagnosticados. O relatório mais recente sobre o risco e prevalência das pneumoconioses, publicado em 1983, refere-se a quatorze países europeus, cinco americanos, seis africanos e oito da Ásia e Austrália, durante o período de 1973 -1977, demonstrando que o risco para pneumoconiose permanecia alto (Becklace, 1992). Na Europa, em 1977, havia 839.000 indivíduos expostos à sílica, na Ásia e Austrália

189.000 , nas Américas, 274.000 e na África, 394.000 . Estes dados estão detalhados nas tabelas I e II

TABELA I - RISCO ESTIMADO DAS PNEUMOCONIOSES (I.L.O.-1973-77)

CONTINENTE	MINAS DE CARVÃO	MINAS DE METAIS	PEDREIRAS
EUROPA	684000	36000	109000
(7 países)			
ÁSIA E AUSTRÁLIA	118000	47000	24000
(7 países)			
AMÉRICAS	133000	141000	NR
(6 países)			
ÁFRICA	3000	389000	2000
(6 países)			

BECKLAKE, 1992

TABELA II - PREVALÊNCIA DAS PNEUMOCONIOSES

PAÍS	ANOS	MINERAÇÃO DE CARVÃO CASOS/1000	MINERÇÃO DE METAIS E OUTROS CASOS/1000
FRANÇA	1977	122	22
ALEMANHA	1977	229	117
HUNGRIA	1977	129	-
PORTUGAL	1977	11	-
POLONIA	1977	34 ?	-
ROMENIA	1977	3 ?	-
REINO UNIDO	1977	119	11
AUSTRÁLIA	1973-77	29	10
CANADA	1972	134	2
EL SALVADOR	1971	-	106
MÉXICO	1977	-	16
PERU	1976		36
EUA	1973-77	56	-
GHANA	1968-72	-	67
MARROCOS	1968-72	258	126
ÁFRICA DO SUL	1974	-	14

MODIFICADO BECKLAKE, 1992

Nos países industrializados, a silicose manifesta-se por alterações radiológicas discretas e função pulmonar normal. O diagnóstico ocorre em idades mais avançadas e com maior tempo de exposição, indicando melhor controle do ambiente de trabalho, conforme demonstra a tabela III. Nos países em desenvolvimento, a silicose é mais grave, e freqüentemente associada à tuberculose, em virtude das más condições de nutrição e moradia dos trabalhadores. Na África do Sul, entre os trabalhadores das minas de ouro, a positividade ao teste tuberculínico com o P.P.D. é de 75 a 99%. O impacto social é dramático, pois o indivíduo torna-se incapaz para o trabalho e pode ainda contaminar a própria família.

TABELA III - SEGUIMENTO CLÍNICO DAS PNEUMOCONIOSES

PAÍS	TEMPO MEDIO DE EXPOSIÇÃO ANTERIOR AO DIAGNÓSTICO (ANOS)	IDADE MEDIA AO DIAGNÓSTICO (ANOS)
CANADA	23	58
CHINA	19	43
SUIÇA	67	56
ZAMBIA	20	-

MODIFICADO BECKLAKE, 1992.

Mendes (1980) em extensa revisão de literatura relata que no Brasil, a primeira publicação sobre o assunto ocorreu em 1896, quando José Nogueira Nunes publicou sua tese sobre o “Diagnostico e Tratamento das Pneumokonioses”, realizando ampla revisão teórica do tema. Refere ainda que Doria em 1935 já destacava a possibilidade da prevenção da doença, com medidas de higiene no trabalho, previstas no “Código Sanitário do Estado da Bahia”, de 1925 e em 1936 e 1937 Carlos Martins publicou os primeiros relatórios sobre as condições de trabalho e os riscos de doenças ocupacionais na mineração de ouro em Minas Gerais. João de Barros Barreto, em seu livro o “Tratado de Higiene”, define a

prevalência de silicose nos carvoeiros do Rio de Janeiro. Os primeiros estudos sobre as pneumoconioses dos mineradores de carvão foram publicados por Pereira e Firmeza, em 1943. Em 1956 Gusmão et al contribuiu com um extenso trabalho sobre a silicose pulmonar nas indústrias urbanas paulistas, onde analisou a relação das medidas espirométricas com redução da capacidade funcional dos trabalhadores silicóticos (Mendes, 1980). Na década de sessenta, os pesquisadores continuaram suas observações em indústrias, objetivando a avaliação do ambiente, das medidas de concentração de poeira, seguidas da determinação do teor de sílica livre.

O estudo epidemiológico de Mendes, em 1978 -1979 na região Sudeste (São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro), detalhava os antecedentes ocupacionais, e a avaliação radiológica de 3.440 pacientes masculinos, internados em vinte e sete Hospitais de Tisiologia. Foram diagnosticados 119 casos de sílico-tuberculose (3,5%), o que lhe permitiu estimar entre 25 e 30 mil, o número de portadores de silicose no Brasil. Esta estimativa foi calculada a partir do número total de internações de adultos masculinos, ocorridas no ano da pesquisa e com base na frequência de tuberculose em pacientes silicóticos que é, aproximadamente, de 3,3% no Brasil (Mendes, 1979).

Nas décadas de 80 e 90, convém ressaltar os trabalhos de Holanda et al. (1995) relacionados a indivíduos cavadores de poço, no Ceará; Souza Filho & Alice (1991), com trabalhadores de minas de carvão, em Criciúma e os de Bagatin, Nery, Jardim (1989) na avaliação da capacidade de trabalho de ceramistas, em São Paulo. Entretanto, não há dados suficientes que permitam estimar prevalência e incidência atuais das pneumoconioses, no Brasil.

1.2. A SÍLICA

O composto responsável pelo desenvolvimento da silicose é o **dióxido de silício**, (SiO_2) que ocorre na natureza na forma amorfa e cristalina. A forma amorfa é menos freqüente (terras diatomáceas, opala e trípoli) e menos tóxica que a cristalina, a qual se forma na crosta da terra, sob condições de alta temperatura e pressão.

A sílica livre é o cristal puro de dióxido de silício na forma tetraédrica. As fases do cristal de sílica, clinicamente importantes, são o quartzo, a cristobalita e a tridimita. O quartzo é o de maior relevância comercial por apresentar grande resistência.

Alguns fatores ligados à sílica sobressaem, consideravelmente, para que ocorra a silicose:

- concentração de poeira no ar ou número de partículas em suspensão: o limite mínimo de partículas respiráveis de sílica, que não provoca doença, tem gerado debates há vários anos. Segundo o Occupational Safety and Health Administration (OSHA), o limite de exposição é de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de ar e o recomendado pelo “National Institute of Occupational Safety and Health”(NIOSH) é de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de ar. Entretanto, mesmo nestes índices, já foram observados casos de bronquite industrial, hipersecreção de muco, decréscimo da função pulmonar e aumento na prevalência de malignidades (Graham, 1992).

- concentração de sílica livre nas partículas: varia nos diferentes materiais; a areia, por exemplo, tem 60% de sílica livre.

- tamanho das partículas: as partículas maiores de 10μ depositam-se rapidamente, enquanto que as menores de 5μ permanecem em suspensão no ar, tornando-se inaláveis. As maiores que 3μ são, geralmente, retiradas nas vias aéreas superiores e, as menores, alcançam o alvéolo e ali se depositam (Mendes, 1980; Ziskind, 1976).

As principais fontes industriais de sílica livre são: mineração de metais e não metais, escavação de poços e túneis, cortes e lapidação de pedras, abrasivos (especialmente jatos de areia), manufatura de vidros e indústria cerâmica.

A Divisão de Recenseamento Torácico do SESI - São Paulo identificou entre 1947 e 1978, o trabalho em metalurgia e fundição de ferro (27,3%), como a mais freqüente fonte de exposição à sílica, seguindo-se as atividades em cerâmica de louça e porcelana (26,4%) e de mineração (16,2%), (Mendes, 1980).

Mendes (1979), estudando as principais fontes de sílica na região Sudeste, observou que as mais freqüentes foram: mineração (60,6%), atividades em pedreiras (20,2%) e fundição (19,3%). Estas diferenças decorreram do fato de estar incluído no levantamento, o estado de Minas Gerais, onde a mineração de ouro e a extração e beneficiamento de pedras constituem as principais atividades.

1.3. PATOLOGIA

1.3.1. Silicose aguda ou lipoproteinose alveolar

A silicose aguda ocorre após intensa exposição a grandes concentrações de sílica e manifesta-se pela deposição de lipoproteínas no espaço alveolar. As células do epitélio das vias aéreas são lesadas pelos cristais de sílica, levando a um acúmulo de exsudato, rico em lipoproteínas. Há, também, uma hipertrofia e hiperplasia do pneumócito tipo II, o que aumenta a produção de fosfolípidos, especialmente da lecitina dipalmitoil e dos lípidos neutros, promovendo redução da fagocitose das partículas (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

A histopatologia revela que o espaço aéreo é preenchido por grânulos pequenos, constituídos por eosinófilos e macrófagos, e por uma substância amorfa corada pelo reagente de Schiff, contendo fosfolípidos semelhantes ao surfactante pulmonar.

Na proteinose alveolar causada pela sílica, ao contrário da proteinose alveolar idiopática, observam-se inflamação intersticial e fibrose intensas. Encontram-se, também, nódulos pouco organizados, ricos em fibras reticulares, no interstício e nos linfonódios hilares (Ziskind, 1976; Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

Atualmente, a silicose aguda é rara, em virtude do melhor controle do meio ambiente do trabalhador. Contudo, são descritos casos relacionados ao jateamento de areia, cavação de poços e túneis e britamento de quartzo, realizado para produção de pó de sílica e sabões abrasivos.

1.3.2. Silicose acelerada

A silicose acelerada é uma forma intermediária entre a silicose aguda e a crônica, que apresenta o nódulo silicótico clássico e aparece nos indivíduos com exposição intensa por um período de cinco a dez anos.

Na microscopia, os achados morfológicos não estão claramente definidos, podendo-se encontrar nódulos numerosos em vários estágios de desenvolvimento. Ao contrário da silicose crônica, onde os nódulos localizam-se próximos aos bronquíolos respiratórios, há uma tendência de localização junto às paredes do espaço alveolar.

A evolução da doença é mais rápida e o aparecimento de grandes opacidades e de fibrose maciça são mais frequentes do que na forma crônica. A cavitação pode ocorrer, mesmo quando não há tuberculose concomitante (Ziskind, 1976).

1.3.3. Silicose crônica

Trata-se de uma doença crônica e progressiva do parênquima pulmonar, também denominada de forma clássica. As partículas de sílica promovem a formação de nódulos silicóticos com uma apresentação histológica típica. A lesão mais precoce, no parênquima pulmonar, é constituída por macrófagos contendo cristais de sílica, misturados a uma fina rede de fibras reticulínicas. Estas alterações focais localizam-se no interstício adjacente aos bronquíolos respiratórios, vasos pulmonares e regiões subpleurais. Com o

desenvolvimento da lesão, as fibras de colágeno acumulam-se no centro, enquanto os macrófagos, contendo sílica e reticulina, permanecem na periferia. Há uma expansão gradativa desta zona central com rearranjo concêntrico das fibras de colágeno. A evolução apresenta hialinização da área central e em raras ocasiões pode haver necrose por comprometimento do fluxo sanguíneo.

Histologicamente, o nódulo silicótico pode ser dividido em três zonas:

zona central: constituída por tecido denso, hialino e fibroso,

zona intermediária: formada por um arranjo concêntrico das fibras de colágeno,

zona periférica: constituída por macrófagos contendo cristais de sílica, e linfócitos, associados às fibras de colágeno distribuídas ao acaso. O número de células ao redor das lesões é variável e depende da idade do nódulo. São relativamente “acelulares”, os nódulos antigos.

Quando examinados à microscopia de luz polarizada, observam-se no centro da lesão, grânulos birrefringentes de fraca intensidade, enquanto a periferia exhibe partículas birrefringentes de contornos bem definidos e formas variadas (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988). Os nódulos intrapulmonares são mais frequentes nas áreas superiores do pulmão e sua coloração varia com o tipo de poeira presente (diferentes pedras possuem cristais de sílica de cores diversas).

Na silicose simples, os nódulos são individuais, com diâmetros de 2 a 6 mm, distribuídos irregularmente no parênquima e, geralmente, associados aos canais linfáticos. Nos casos mais avançados há uma aglomeração destes nódulos, formando massas fibróticas, resultando na silicose complicada ou fibrose maciça progressiva. Nesta forma da doença, o diâmetro mínimo da lesão é de 1 a 2 cm e, frequentemente, observada nas regiões superiores do pulmão. Na evolução da doença, os lobos superiores contraem-se, e conseqüentemente há aumento de volume vicariante dos lobos inferiores. As cavitações por obstrução dos vasos sanguíneos, embora raras, podem ocorrer na ausência da tuberculose.

Lesões subpleurais a superfície pleural revela fibrose focal denominada “lesão em chama de vela”. Estas lesões variam de 3 a 10 mm de diâmetro, apresentam coloração acinzentada no centro, rodeada por pigmento preto. A microscopia mostra a mesma aparência do nódulo silicótico, com vários cristais birrefringentes na periferia. Estas lesões podem ocasionalmente confluir, formando placas na pleura visceral, diferentes das placas típicas de asbestose que por sua vez, formam-se na pleura parietal e diafragma.

Fibrose Intersticial: focos de fibrose intersticial podem ser observados nos pulmões de indivíduos expostos à sílica combinada com silicato, especialmente em fundições e terras diatomáceas que contêm altas concentrações de cristobalita. A fibrose intersticial ocorre nas zonas inferiores dos pulmões e pode ser extensa, evoluindo para faveolamento pulmonar (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

Enfisema: o nódulo silicótico é uma lesão progressiva que comprime os bronquíolos, levando a destruição dos espaços aéreos.

Estudos recentes, em mineradores da África do Sul, mostraram associação da silicose com enfisema, tanto na avaliação por tomografia computadorizada (Cowie, Hay e Thomas, 1993) como no estudo das necropsias (Hznido, Sluis - Cremer e Abramovitz, 1991).

Alterações Vasculares: nos casos avançados de silicose há comprometimento da função pulmonar promovendo hipóxia crônica. Estas alterações induzem o espasmo da musculatura dos vasos do pulmão, causando hipertensão pulmonar e cor pulmonale. O acúmulo da poeira na adventícia dos grandes vasos e a obstrução dos pequenos, pelo nódulo silicótico, provocam destruição da parede vascular. A estenose subsequente desorganiza a vascularização pulmonar. É provável que exista uma correlação entre hipertensão pulmonar e silicose, de modo análogo ao que ocorre entre os mineradores de carvão, que apresentam hipertrofia do ventrículo direito, em 15% dos casos de pneumoconiose. Quando se avalia apenas os casos de fibrose maciça progressiva, este índice aumenta para 34% (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

Nódulos Silicóticos Extrapulmonares: os linfonódios do hilo e mediastino podem apresentar os nódulos silicóticos isolados e/ou confluentes. Quando o indivíduo não apresenta nenhum sinal de doença no parênquima pulmonar este achado confirma a exposição à sílica mas não é diagnóstico de silicose. Já foram observados nódulos silicóticos nos linfonódios do plexo periaórtico e porta-hepático, no fígado, no baço e na medula óssea (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

1.4. QUADRO CLÍNICO

A história natural da doença é bastante variável e depende da intensidade da exposição.

Na silicose aguda os sintomas podem se manifestar após alguns meses de exposição intensa e caracterizam-se por dispnéia de início abrupto, fadiga, perda de peso, febre e dor pleural. O quadro é ainda complicado pela alta prevalência de tuberculose e micobacterioses atípicas. A resposta aos esteróides geralmente é precária e os óbitos são frequentes (Ziskind, 1976; Graham, 1992).

A silicose crônica tem uma evolução lenta e as primeiras manifestações ocorrem após aproximadamente vinte anos de exposição. Há duas formas de apresentação: a forma simples na qual há o aparecimento de opacidades pequenas nos radiogramas de tórax, que podem estar associadas ou não a sintomas, nas fases iniciais da doença. Nesta forma, que é progressiva mesmo quando cessa a exposição, não se observa redução da expectativa de vida (Graham, 1992). A forma complicada surge quando as lesões pulmonares confluem formando conglomerados. Acompanha-se de dispnéia progressiva, relacionada a esforço. Tosse e expectoração podem estar presentes mesmo na ausência das alterações radiológicas, visto que são conseqüências da irritação crônica das vias aéreas. Com a progressão da doença podem aparecer cavitações, associadas ou não à infecções, que ocasionam dor torácica e hemoptise. A evolução final é acompanhada de insuficiência respiratória, agravada por pneumotórax, cujo tratamento é dificultado pela intensa fibrose

pulmonar, que não permite a reexpansão dos pulmões (Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988).

A tuberculose é a infecção que mais se associa à silicose. Por esse motivo, nos países industrializados, onde sua prevalência é menor, adotam-se esquemas profiláticos com isoniazida quando o teste tuberculínico for positivo. Além desta, outras infecções têm sido descritas causadas por micobactérias atípicas e criptococose.

Não há tratamento efetivo para a silicose. Contudo, quando a doença evolui com obstrução severa ao fluxo aéreo, hipoxemia arterial e cor pulmonale, devem ser utilizados broncodilatadores (agonistas β_2 e teofilinas), oxigênio e diuréticos para o alívio dos sintomas.

Os corticosteróides não são capazes de interromper o processo inflamatório desencadeado pela sílica; entretanto, Sharma (1991) mostrou melhora da função pulmonar em pacientes silicóticos que usaram prednisona. Todavia, não ficou claro se há proteção efetiva em terapia prolongada, uma vez, que houve melhora apenas dos sintomas brônquicos, especialmente nos pacientes tabagistas.

1.5. PATOGÊNESE DA SILICOSE

Inicialmente, acreditava-se que a fibrose, decorrente da inalação de sílica, ocorria porque o cristal causava lise dos macrófagos alveolares com liberação de enzimas, destruição do parênquima pulmonar e subsequente fibrose.

Entretanto, com o avanço dos estudos celulares observou-se que estes macrófagos mantinham-se íntegros e funcionalmente ativos, tornando claro que existiam múltiplos processos químicos e imunológicos envolvidos.

1.5.1. Toxicidade celular induzida pela sílica

As partículas de sílica induzem, *in vitro*, dois tipos de lesão nos macrófagos. Quando grandes quantidades de sílica são colocadas em contato com macrófagos há lise celular rápida e intensa. A sílica reage com a membrana da célula aumentando sua permeabilidade e promovendo lise osmótica. Um segundo mecanismo pode ser observado quando pequenas doses de sílica são fagocitadas pelo macrófago e este sofre alterações no seu metabolismo, aumentando a peroxidação de lípidos de membranas, e favorecendo o aparecimento de fibrose (Lowrie, 1982; de Shazo, 1982). Gupta (1982) demonstrou que quanto mais intensa é a lesão, em pulmão de ratos expostos à sílica, maior será a liberação de peróxidos lipídicos. Mostrou também que, há oxidação preferencial da membrana da mitocôndria de macrófagos, nos estágios precoces da doença. Ghio et al. (1990) propõe que a inalação de silicatos cause a produção de substâncias oxidantes que, por sua vez, induziria a peroxidação lipídica.

Segundo estes autores, a citotoxicidade está relacionada à carga negativa da superfície da sílica. Os grupos silanol (SiOH) têm um pK ácido, dissociando-se facilmente no pH fisiológico. A dissociação destes grupos permite sua reação com íons ferro, formando um complexo ferro-silicato. O ferro, neste complexo, pode ceder um elétron quando reduzido ao estado ferroso, produzindo um radical hidroxila, que é um potente oxidante, capaz de induzir a peroxidação dos lípidos da membrana celular.



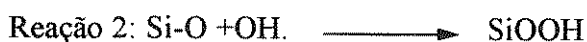
Os corpos ferruginosos são conhecidos como indicadores de exposição à sílica e resultam da ligação dos silicatos com carga negativa, associados aos íons ferro provenientes do corpo humano; com proteínas do grupo amônia, carregadas positivamente. Isto é confirmado pela baixa concentração sérica dos íons ferro, observada nos

trabalhadores expostos à sílica e pelo fato de quelantes de ferro diminuírem a fibrose, induzida por estas poeiras, em animais (Ghio et al., 1990).

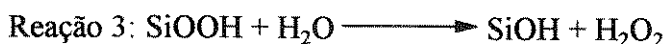
Os oxidantes induzem os macrófagos a produzirem fatores de crescimento para fibroblastos e o fator agregador de plaquetas. Estas reações são ferro-dependentes. As micobactérias também dependem do ferro para seu crescimento. As partículas de sílica poderiam funcionar como reservatório de íons ferro, que seriam utilizados pelas micobactérias, justificando a alta associação entre tuberculose e silicose.

Vallyathan et al. (1988) demonstrou que, a sílica recém-formada tem propriedades citotóxicas mais intensas que a mais antiga. Observaram que a sílica libera radicais oxidantes, medidos pela ressonância de spin de elétrons (ESR). Tem ainda capacidade de hemólise, aumenta liberação de LDH e a peroxidação lipídica da membrana celular. Todas estas propriedades são, significativamente, mais intensas quando a sílica é recém-formada, visto que sua superfície é mais rica em radicais de silício e grupos silanol.

Estes autores propõem que a sílica reaja com a água para formar radicais hidroxila:



Observaram também que SiOOH pode ser hidrolisado para produzir H_2O_2 , que por sua vez, poderia reagir com íons ferro, através da reação de Fenton, produzindo mais radicais hidroxila:



Os próprios radicais de silício poderiam reagir com o H_2O_2 , formando radicais hidroxilas:



O uso de antioxidantes como a superóxido dismutase e a catalase, inibiram estas reações de maneira mais intensa que o “Detapac”, quelante de metais, mostrando uma preferência pela reação com radicais de silício *in vitro*.

Estes autores propõem ainda que os grupos silanol (SiOH) formados na reação 1, presentes na superfície da sílica, ligar-se-iam à grupos oxigenados e nitrogenados da membrana celular, através de pontes de hidrogênio, favorecendo a peroxidação lipídica da membrana e a ativação macrofágica.

Os radicais reativos, presentes na superfície da sílica, juntamente com a produção aumentada de íons superóxidos, pelos macrófagos alveolares em contato com a sílica, resultam em excesso de oxidantes que os mecanismos de defesa pulmonar são incapazes de desativar, provocando a lesão do pulmão.

Embora estes radicais de silício diminuam com o tempo, a sílica permanece capaz de induzir peroxidação lipídica e citólise por muitos anos, indicando que outros processos estão envolvidos. Entretanto, este mecanismo é particularmente importante nos casos de silicose aguda, nos quais ocorre a inalação de sílica recém-formada.

1.5.2. A toxicidade da sílica sobre células imuno competentes no pulmão

As partículas de sílica chegam até o alvéolo onde são recobertas por um material alveolar, provavelmente o surfactante, tornando-as menos tóxicas. São fagocitadas pelo macrófago alveolar ou penetram no interstício, no interior do qual serão ingeridas pelos macrófagos intersticiais. Estes macrófagos não são destruídos, entretanto, sofrem alterações metabólicas que os mantêm cronicamente ativados (Graham, 1992; Brody, 1982).

Há evidências de que a sílica pode causar modificações crônicas nas funções de macrófagos que não contêm sílica, através da produção de mediadores inflamatórios (Lowrie, 1982).

Lugano (1982); Brody (1982); Bowdin (1984); Donaldson (1988) e Sjöstrand (1991), em seus trabalhos sobre a cinética celular no pulmão, durante as diferentes fases da silicose, mostram que no oitavo dia após a inalação das partículas ocorre um aumento no número de macrófagos e neutrófilos, no espaço alveolar. A elevação de neutrófilos precede a de macrófagos, mas diminui com o tempo, sem entretanto chegar aos níveis normais, enquanto que o número de macrófagos permanece elevado, tanto no alvéolo como no interstício pulmonar.

Brody et al. (1982) demonstraram, em estudos de microscopia eletrônica, que as partículas com diâmetro inferior a $1,4\ \mu$ passam pelas vias aéreas e depositam-se na superfície alveolar, próximas aos bronquíolos terminais. Após vinte quatro horas, grande parte é fagocitada pelos macrófagos alveolares e o restante é translocado para as células epiteliais do tipo I. Estes autores acreditam que as partículas seriam recobertas pelo surfactante pulmonar, fagocitadas pelo macrófago alveolar e removidas pelo sistema muco-ciliar. Quando as partículas são numerosas, ocorre um aumento no número de macrófagos alveolares, em consequência de um influxo de monócitos do sangue para o pulmão e da migração e multiplicação de macrófagos provenientes do interstício.

Quando a concentração de partículas é elevada, algumas escapam da fagocitose e cruzam o epitélio tipo I, alcançando o interstício, onde são fagocitadas pelo macrófago intersticial e transportadas até a drenagem linfática, chegando a outros órgãos ou permanecendo no próprio interstício. Este processo de clareamento pulmonar é bastante lento e a persistência da sílica favorece o aparecimento da fibrose.

Num estudo experimental em ratos nos quais empregou-se a inalação de sílica foi demonstrado que 70% dos macrófagos alveolares contendo a partícula, eram normais e apenas 14% mostravam sinais de necrose. (Brody et al., 1982). Lugano (1982) e Donaldson

(1988) confirmaram estes achados, demonstrando, ainda, que estes macrófagos liberavam fatores quimiotáticos para neutrófilos, sendo responsáveis pelo afluxo destas células ao pulmão, no início do processo.

O MACRÓFAGO

O macrófago alveolar elimina as poeiras inorgânicas que alcançam o parênquima pulmonar.

O aumento no número de macrófagos alveolares, nos indivíduos expostos à sílica decorre do recrutamento de monócitos e de sua proliferação local. Estes macrófagos fagocitam com êxito as partículas, mantendo-se ativados, sem contudo, eliminá-las.

Dauber (1980) e Lugano (1981) demonstraram em cobaias, nas quais realizou-se a instilação intratraqueal de sílica, intensa reação inflamatória pulmonar com afluxo de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, deposição de fibras colágenas e fibrose. Esta reação inflamatória fora provocada pela produção de fatores quimiotáticos para monócitos e neutrófilos, pelos macrófagos alveolares contendo sílica (Lugano, 1981).

Em humanos, Christman et al. (1985), Rom et al. (1987) e Cantin et al. (1988), estudando o lavado broncoalveolar, confirmaram a persistência de uma alveolite, caracterizada pelo aumento de macrófagos contendo sílica, além de discreta elevação no número de neutrófilos e linfócitos. Vários estudos (Rom, 1987; Cantin, 1988; Sjostrand, 1991 e Hannonthiaux, 1991) demonstraram aumento na produção de ânion superóxido pelo macrófago alveolar de indivíduos expostos à sílica. O excesso de substâncias oxidantes no pulmão provoca desarranjo na sua estrutura, induzindo metabolização do ácido araquidônico, inativação de antiproteases e citólise. O ácido araquidônico forma-se a partir da ativação da fosfolipase A₂, e é metabolizado através das vias da cicloxigenase e lipoxigenase, com liberação de prostaglandinas e leucotrienos.

Os macrófagos alveolares, em contato com a sílica, produzem maiores quantidades de leucotriene B4 (LTB4) e de citocinas como fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina - I (IL-1) (Dubois et al., 1989). O TNF atrai e estimula os neutrófilos a produzirem substâncias oxidantes, a secretarem mais LTB4, e ainda atua como fator de crescimento para fibroblastos, amplificando, assim, a resposta inflamatória. Boorm et al. (1988) observaram maior liberação de TNF pelos monócitos dos mineradores de carvão, especialmente nas formas simples da pneumoconiose. Provavelmente, durante a evolução da doença, haja uma diminuição na produção de TNF, como forma de prevenir a fibrose maciça.

A IL-1 induz a proliferação de linfócitos T e a produção de IL-2 pelo linfócito T “helper” (Davis, 1986 e Schmidt, 1984). Estes linfócitos induzem o macrófago a secretar o fator ativador de macrófago (MAF), intérferon-gama (γ -IFN), fator inibidor de macrófago (MIF) e o fator de fusão de macrófago.

O macrófago pulmonar é uma das principais células na regulação dos fibroblastos do pulmão, sendo responsável pela fibrose que acompanha a lesão inflamatória neste órgão. Estudos experimentais em animais confirmaram a presença de fatores de crescimento para fibroblastos no sobrenadante de macrófagos expostos à sílica (Lugano, 1984; Brown, 1988; Adamson, 1991). A IL-1, liberada pelos macrófagos, é capaz de estimular a proliferação de fibroblastos e de amplificar o efeito de outros mediadores, promovendo a síntese de tecido conjuntivo (Schmidt et al., 1984).

O colágeno pulmonar aumenta, após exposição à sílica (Calli, 1985; Dauber, 1980; Reiser, 1983; Absher, 1989).

Existe, também, relato de aumento da produção de fibronectina pelo macrófago alveolar, na silicose (Wagner, 1983; Rom, 1987 e Driscoll, 1990). Esta glicoproteína de 440 kDa é quimiotática para fibroblastos, células endoteliais e monócitos, promovendo, ainda, a interação entre as células e a matrix extracelular, estimulando, também, a proliferação de

O AMDGF (alveolar macrophage-derived growth factor), importante mediador que regula a síntese de colágeno pelos fibroblastos, é um peptídeo de 18 kDa que atua em sinergismo com a fibronectina, sinalizando para o fibroblasto sintetizar e replicar o DNA. Sua liberação está aumentada na silicose (Rom, 1987; Brown, 1988 e Adamson, 1991).

Brown et al. (1988) destaca ainda que, no sobrenadante de macrófagos expostos à sílica não se detecta prostaglandina E2 (PGE2), ao contrário do que ocorre na estimulação com LPS, em que o macrófago aumenta a síntese desta prostaglandina. A PGE2 inibe a proliferação de fibroblastos, por isso, estes autores acreditam que a sílica estimula o macrófago a secretar fatores de crescimento para fibroblastos e impede a síntese de substâncias inibidoras como o PGE2.

Adamson et al. (1989 e 1991) e Sjostrand et al. (1991) destacam em seus trabalhos a importância do macrófago intersticial, na fibrose provocada pela inalação de partículas.

Estudos morfométricos indicam que o número de macrófagos intersticiais ultrapassa o de alveolares, tanto no pulmão normal, como no doente. O mais relevante é que esta população está em contato direto com a matrix pulmonar e o tecido conjuntivo (Brain, 1988).

Estes mesmos autores demonstraram, em ratos, que o macrófago intersticial é capaz de produzir ânions superóxidos e fatores de crescimento para fibroblastos, em maiores quantidades do que o macrófago alveolar. Esta população permanece aumentada durante o processo de formação do nódulo silicótico. A partir de suas observações os autores levantaram a hipótese de que o macrófago alveolar protege o pulmão. Entretanto, várias partículas cruzam o epitélio tipo II, já lesado pelas substâncias liberadas pelos macrófagos alveolares e neutrófilos, atingem o interstício e, aí, são fagocitadas pelo macrófago intersticial, que passa a secretar fatores de crescimento para fibroblastos. Quanto maior o número de partículas no interstício, mais intensa é a fibrose.

Adamson (1989) expôs ratos irradiados à sílica e observou que as partículas passavam diretamente ao interstício, devido a ausência de afluxo de monócitos ou neutrófilos para o espaço alveolar. A fibrose era mais intensa do que a dos ratos expostos e não irradiados. Em trabalho posterior observou que fibras longas de asbestos, que passavam diretamente ao interstício, causavam fibrose mais intensa que as curtas, fagocitadas pelo macrófago alveolar (Adamson, 1991).

Portanto todas as populações de macrófagos residentes no pulmão tem papel central na sua defesa. Contudo, sua capacidade de interação com outras células, de produzir citocinas, enzimas e fosfolípidos, torna sua participação complexa, sugerindo um papel relevante na patogenia pulmonar.

O NEUTRÓFILO

Há um aumento dos neutrófilos no início do processo da silicose e que permanece, mesmo quando finda a exposição. Os neutrófilos são atraídos por fatores quimiotáticos produzidos pelo macrófago alveolar, como foi adequadamente demonstrado por Lugano et al. (1981; 1982) e Donaldson et al. (1988).

Após a instilação intratraqueal de sílica em ratos, Adamson e Bowden (1988) observaram que o aumento de neutrófilos ocorria no mesmo período em que havia maior concentração de proteínas no espaço alveolar, indicando maior lesão epitelial. Muitos destes neutrófilos continham sílica e apresentavam lisosomas rompidos e aumento concomitante de enzimas lisosômicas como glucosaminidases e glucosanidases.

Gusev et al. (1993) demonstrou que granulócitos humanos, quando em contato com partículas de sílica, são capazes de liberar grandes quantidades de íons superóxidos, de maneira mais intensa que os macrófagos.

Sharfman et al. (1989 e 1991), estudando o lavado broncoalveolar de indivíduos portadores de silicose, demonstrou aumento da glucosaminidase e da ação da elastase, apesar do aumento da atividade e da produção das anti-elastases. Nos portadores de fibrose maciça progressiva esta ação era mais intensa.

Estes dados sugerem que o neutrófilo tem papel inflamatório essencial, principalmente nas fases iniciais da silicose, aumentando a produção de íons superóxidos e das elastases que, por sua vez, lesam o epitélio pulmonar, favorecem as interações do macrófago intersticial com a sílica e a produção de citocinas indutoras da proliferação de fibroblastos.

O LINFÓCITO

O papel do linfócito é mais evidente na fase tardia da silicose.

Absher et al (1989) confirmaram esta descoberta quando descreveram que o afluxo dos linfócitos ao pulmão ocorre em uma fase única e ascendente, por volta da 24^a semana após exposição à sílica, ao contrário do afluxo de neutrófilos e macrófagos, que acontece de forma bifásica, sendo o primeiro pico a partir do 8^o dia e o segundo a partir da 24^a semana após a exposição. Entretanto, os linfócitos CD₄ tem padrão bifásico, enquanto os linfócitos CD₈ apresentam padrão único, mas sempre posterior aos picos de afluxo dos neutrófilos e macrófagos.

Struhar et al. (1989) e Kumar et al. (1990) mostraram predominância de linfócitos CD₄ no lavado broncoalveolar de ratos expostos à sílica. Rom et al. (1992) também encontraram predominância de células CD₄ no lavado broncoalveolar de indivíduos expostos aos asbestos, contrariando os achados de Costabel et al. (1987) que observaram aumento de linfócitos CD₈ no lavado broncoalveolar de indivíduos com siderossilicose.

Kumar et al. (1990) demonstrou que estes linfócitos encontravam-se ativados, com aumento na expressão de receptores para IL-2 e da síntese espontânea de DNA. Linfócitos isolados do pulmão de ratos, que receberam sílica intratraqueal, eram capazes de estimular o macrófago a secretar fatores de crescimento e o fenômeno era facilitado pelo contato célula-célula. Entretanto, as linfocinas, responsáveis pela secreção destes fatores, ainda não foram estabelecidas (Wei Li et al., 1992).

Existe relato de aumento da produção de γ -IFN e IL-2 pelos linfócitos de indivíduos expostos ao asbestos (Rom et al., 1992). Entretanto, Wei Li et al. (1991) não conseguiram demonstrar a expressão de γ -IFN na membrana de linfócitos de ratos expostos à sílica.

O γ -IFN promove a formação de células gigantes, a síntese e secreção de IL-1 e o aumento da expressão do antígeno DR⁺ na membrana do macrófago. Além disso, induz a secreção de TNF, potencializando a atividade da NADPH oxidase com maior produção de H₂O₂. Estimula também, a produção de fibronectina que, por sua vez, induz a proliferação dos fibroblastos, propiciando a fibrose. Antagonicamente, esta citocina inibe a síntese do PDGF ("platelet-derived growth factor for fibroblast"), diminuindo a proliferação de fibroblastos e sua produção de colágeno.

A intensa liberação de γ -IFN, no início de processos inflamatórios por poeiras inorgânicas, apresenta vários efeitos benéficos: diminui a secreção de colágeno, aumenta a fagocitose e inibe a multiplicação de fibroblastos. Por outro lado, causa, também, efeitos deletérios: aumenta a liberação de substâncias oxidantes e estimula a produção de fibronectina.

A secreção aumentada de IL-2 estimula a produção de γ -IFN e a expressão do receptor para IL-2, mantendo o linfócito T ativado. A função quimiotática para células CD₄ é responsável pelo aumento da relação CD₄/CD₈ observada nestes indivíduos.

Portanto, o linfócito tem ações diversificadas na silicose, sendo fundamental na produção de interleucinas imunorreguladoras. As ações antagônicas refletem como é complexo o equilíbrio imunológico, justificando os diferentes resultados obtidos pelos pesquisadores.

O EPITÉLIO

Apesar do aumento do número de células epiteliais, Bégin et al (1993) mostraram diminuição na quantidade de fosfolípides, no lavado broncoalveolar de indivíduos com silicose, em relação aos controles normais. Este achado pode ser explicado pela reação entre os lípides e a sílica e a rápida translocação deste conjugado (sílica-lípide), para o interstício, onde se acumulam junto ao nódulo silicótico. É importante destacar que, o epitélio em contato com a sílica aumenta a produção da enzima superóxido dismutase dependente do manganês (Mn-SOD), a qual faz parte do sistema antioxidante do pulmão (Holly et al., 1992).

Este mecanismo de proteção pulmonar parece ser regulado pelo TNF e IL-1, produzidos pelo macrófago. O TNF e a IL-1 induzem o aumento celular de mRNA-MnSOD nos pneumócitos tipo II e esta ação está aumentada nos pulmões expostos à sílica. Entretanto o estudo de Shull (1991) demonstrou que os oxidantes podem induzir diretamente o aumento na produção de Mn-SOD pelo pneumócito tipo II. Na silicose, os dois mecanismos atuam na tentativa de minimizar a lesão pulmonar desencadeada pela sílica.

Klein & Adamson (1989) também descreveram outro efeito protetor do epitélio, ao demonstrarem que o epitélio tipo II, contendo sílica, aumentava a síntese de prostaglandina E_2 , que inibe a proliferação de fibroblastos. Todavia, estes mecanismos de proteção não são efetivos porque os fatores estimuladores de fibroblastos, produzidos pelos macrófagos, sobrepujam a ação inibitória do epitélio.

Por outro lado, o epitélio participa também dos eventos de agressão pulmonar desencadeados pela sílica. Lesur et al. (1992a) observaram lise epitelial ao adicionar partículas de sílica em concentração acima de 100 µg/ml, em culturas de pneumócito do tipo II e, em concentrações menores, notaram proliferação epitelial.

No lavado broncoalveolar de indivíduos expostos à sílica foram identificados o FGF (fibroblast growth factor) e PDGF (platelet derived growth factor), os quais estimulam a proliferação e hipertrofia do pneumócito tipo II (Lesur et al., 1992).

Posteriormente, demonstrou-se que o pneumócito tipo II, em contato com a sílica aumenta sua produção de TGF-β (transforming growth factor-beta) - (Willians et al 1993). Esta citocina, por um lado induz a proliferação do pneumócito tipo II e a deposição de proteínas na matrix extracelular perpetuando a regeneração e multiplicação epitelial, o que favore a formação de tecido de granulação. Por outro lado, é quimiotáctica para fibroblastos, os quais sintetizam colágeno nos locais da lesão.

Portanto, o epitélio inicialmente protege o pulmão da toxicidade direta induzida pela partícula de sílica. Entretanto, facilita a fibrose, através da produção de TGF-β.

IMUNIDADE HUMORAL NA SILICOSE

Doll et al. (1980 e 1981) observou aumento nas concentrações séricas de IgG, IgM e IgA de pacientes portadores de silicose, porém, não detectou correlação entre os níveis elevados das imunoglobulinas com alterações radiológicas ou com declínio na função pulmonar. Karnik et al. (1990) confirmaram estes achados, determinando ainda que as concentrações de imunoglobulinas eram mais elevadas nas formas graves da doença.

Em ratos, estimulados com ovalbumina associada à sílica, a produção de anticorpos de subclasse IgG₁ e da classe IgE foi intensificada, principalmente, na resposta secundária (Mancino, 1977 e Mancino & Ovary, 1980). Stankus & Salvaggio (1980)

detectaram aumento na produção pulmonar de IgG e IgA, duas semanas após instilação de sílica na traquéia de coelhos.

Calhoun et al. (1986) demonstraram elevação nas concentrações de IgA, IgG e IgM no lavado broncoalveolar de indivíduos com silicose, sem aumento concomitante de albumina, sugerindo que havia produção local de imunoglobulina e permeabilidade vascular preservada.

Pacientes com silicose apresentam maior incidência de doenças auto-imunes, produção de auto-anticorpos como fator reumatóide e fator antinúcleo e imunocomplexos nos soros (Doll et al., 1981; Jones et al., 1977 e Hatron et al., 1982). Associação entre silicose e artrite reumatóide é descrita por Caplam (1953), e com esclerodermia, por Erasmus (1957) e Rodnan (1966).

Recentemente, Roman et al. (1993) confirmaram estes achados observando uma incidência de 64% de doenças auto-imunes em indivíduos com silicose. As doenças diagnosticadas compreendiam a síndrome de Jögren, esclerodermia, lupus eritematoso sistêmico e doença mista do tecido conjuntivo. Estes autores não conseguiram, entretanto, detectar nestes pacientes uma frequência estatisticamente significativa do HLA-DR₃.

Como estes achados não se correlacionavam com a gravidade e progressão da silicose, acredita-se que as alterações na imunidade humoral não são diretamente responsáveis pela lesão pulmonar. Indicam, por outro lado, que há uma estimulação policlonal do linfócito B, induzida pela interleucina-1, secretada pelo linfócito T ativado.

Portanto, o verdadeiro papel do linfócito B e das imunoglobulinas na silicose, ainda está para ser determinado.

IMUNIDADE CELULAR NA SILICOSE

Nos trabalhos experimentais em ratos expostos à sílica, verificou-se, por um lado, maior tolerância à pneumonia pneumocócica e, por outro, maior suscetibilidade às infecções por *Neisseria gonorrhea* e *Hemophilus influenza*, vírus e parasitas (*****Miller & Zarkower, 1974; *****Baltjer & Vintimer, 1944; *****Du Bury, 1975). Exacerbação da resposta proliferativa de linfócitos à vários antígenos, foi observada quando a sílica era utilizada como adjuvante (Mancino & Bevilacqua, 1977).

Em humanos, Ziskind et al., (1977) realizou testes cutâneos de hipersensibilidade tardia, contagem de linfócitos no sangue e proliferação de linfócitos T estimulados por mitógenos, não encontrando diferença entre os silicóticos e o grupo controle.

Ao contrário, Dauber et al. (1976) observou menor resposta proliferativa de linfócitos T estimulados por mitógenos, nos indivíduos portadores de ântraco-silicose, e esta inibição da resposta linfocitária foi mais evidente nos indivíduos com formas graves da doença.

Recentemente, Newman et al. (1991) não observou diferença no número e na atividade tumoricida das células "Natural Killers", entre indivíduos portadores de silicose e controles normais.

*****Miller & Zarkover apud De Shazo.1982

*****Baltjer & Vintimer apud De Shazo.1982

*****Du Bury apud De Shazo.1982

Estes resultados conflitantes mantêm sem explicação a alta prevalência de tuberculose encontrada entre os indivíduos com silicose. Na África do Sul, 75% dos mineradores de cravão apresentavam tuberculose (*****Watkins-Pitchford e Moir, 1916), no país de Gales 24,5% (Gooding, 1946) e nos EUA 35% (Trasko, 1956). Na Bulgária, *****Pramatarov (1965) demonstrou que mineradores vacinados com BCG apresentaram 10 vezes mais sílico-tuberculose do que os não vacinados. Na China, observaram incidência de 30% (Girling & Chan, 1992) e no Japão, uma prevalência de 14,1%, entre os trabalhadores da indústria cerâmica (Huang et al., 1993).

No Brasil, a incidência de sílico-tuberculose varia de 3,3% a 16,6%, dependendo da região estudada (Mendes, 1980).

O aumento da multiplicação da *M. tuberculosis* em culturas de macrófagos contendo sílica, fez Allison & Hart (1968) proporem que esta potencialização ocorreria por dois mecanismos:

a) a sílica aumenta a penetração do bacilo no citoplasma da célula, no interior da qual a multiplicação é facilitada.

b) a ingestão da sílica altera o metabolismo do macrófago, favorecendo a multiplicação da *M. tuberculosis*.

Os conhecimentos atuais indicam que as alterações metabólicas, provocadas pela sílica, estimulam a secreção de Il-1, TNF, γ -IFN e TGF- β que também estão envolvidos na resposta contra micobactérias. A IL-1 e o TNF favorecem a necrose caseosa, permitindo a multiplicação bacilar (Rook, 1988). Por outro lado, o γ -IFN e o TNF, em associação com a vitamina D₃, aumentam a lise intracelular das micobactérias (Davis, 1991). Esta ação é inibida pelo TGF- β (Nacy & Meltz, 1991).

Após reflexão sobre os dados da literatura, pode-se concluir, de modo sucinto, que a silicose é uma doença complexa, resultante da resposta imunológica desencadeada pela persistência crônica de um antígeno de composição inorgânica, difícil de ser digerido e eliminado. Há uma interação de todas as células residentes no pulmão, que na tentativa de

*****Watkins-Pitchford & Moir apud Snider Jr., 1978

*****Pramatorov apud Snider Jr., 1978

eliminar este agente agressor, secretam várias substâncias que acabam por lesar o parênquima pulmonar, estimulando a fibrose.

Apesar de a resposta ser localizada, com a persistência da reação inflamatória, observam-se repercussões sistêmicas, pois há o recrutamento de células da circulação sanguínea e estimulação global do sistema imune. A presença de auto-anticorpos, maior prevalência de colagenoses e produção aumentada de imunoglobulinas corroboram esta hipótese.

A imunidade celular do indivíduo silicótico, é aparentemente normal, pois os testes cutâneos de hipersensibilidade tardia, número de linfócitos e proliferação linfocitária não diferem dos indivíduos saudáveis.

A evolução da silicose depende de fatores do ambiente, como intensidade e tempo de exposição, e de fatores individuais ainda não adequadamente esclarecidos.

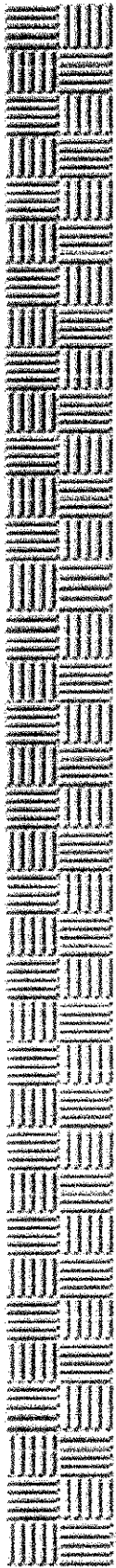
O afluxo precoce de monócitos aos pulmões parece relacionar-se à intensidade da fibrose pulmonar. Por um lado, estas células fagocitam as partículas de sílica presentes nas vias aéreas, impedindo-as de alcançarem o interstício e por outro mantêm a resposta inflamatória que acaba por lesar o parênquima pulmonar.

Resolvemos então analisar se a migração de monócitos destes indivíduos estaria aumentada em resposta a fatores quimiotáticos produzidos nos pulmões.

A produção de ânion superóxido está aumentada na maioria dos processos inflamatórios por isso propusemo-nos a observar se haveria uma resposta global a um estímulo inalado, com aumento da produção deste ânion a nível periférico.

A alta prevalência de tuberculose nestes indivíduos indica alguma alteração da imunidade celular nesta doença com comprometimento não só dos macrófagos alveolares mas também dos monócitos.

Mediante esta revisão, no presente trabalho, propusemo-nos a avaliar a função dos monócitos de indivíduos expostos cronicamente à sílica, tendo em vista que há escassa informação de literatura sobre o sistema fagocitário, nestes pacientes.



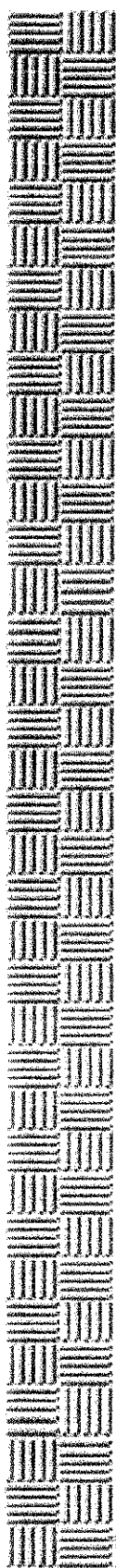
2. OBJETIVOS

1. Avaliar a função dos monócitos do sangue periférico, de indivíduos expostos cronicamente à sílica, por meio de:

- migração de monócitos incubados com meio, soro humano normal ou soro de paciente exposto à sílica, em relação a indivíduos não expostos;
- determinação do índice e capacidade fagocitários para partículas de zimosan, incubadas com soro humano normal ou soro de pacientes, e de indivíduos não expostos;
- produção espontânea e estimulada de ânions superóxidos, por monócitos de indivíduos expostos à sílica em relação aos não expostos.

2. Analisar se há associação entre as variáveis acima descritas e as condições clínicas do paciente quanto:

- a) ao tempo de exposição à sílica
- b) à classificação radiológica
- c) ao antecedente pessoal para tuberculose.



3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

3.1.1. Método de estudo

Estudo clínico, laboratorial, transversal.

3.1.2. Seleção de participantes

Foram estudados trinta e seis indivíduos, sendo vinte e um, expostos cronicamente à sílica e quinze, voluntários sadios.

O grupo de pacientes expostos à sílica estava em acompanhamento no ambulatório da disciplina de Pneumologia do Departamento de Clínica Médica da FCM - UNICAMP, sendo constituído por dezessete indivíduos do sexo masculino e quatro do feminino, com idades variando entre vinte e três e sessenta e nove anos. Todos eram não fumantes ou haviam deixado de fumar há, pelo menos, cinco anos, com exceção de um paciente (DFS), que continuava tabagista.

O grupo controle foi constituído por indivíduos sadios, não fumantes, sem história de exposição à sílica, e sem patologia pulmonar prévia.

Todos foram esclarecidos quanto à natureza e objetivos do estudo e concordaram em participar.

3.1.3. Protocolo clínico

Os dados clínicos e laboratoriais, de função pulmonar e avaliação imunológica, foram registrados em um formulário individual padronizado.

3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1. Número de participantes

Foram estudados trinta e seis indivíduos, sendo vinte e um com exposição à sílica e quinze sadios, com idade entre vinte e três e sessenta e nove anos.

3.2.2. Avaliação clínica

Todos os pacientes foram avaliados clinicamente, através de uma investigação sobre sua história profissional, condições de saúde mais recentes, antecedentes pessoais, medicação em uso e exame físico detalhado.

Para avaliação clínica geral foram realizados os seguintes exames laboratoriais:

- hemograma
- velocidade de hemossedimentação
- pesquisa e cultura de B.K. no escarro
- pesquisa e cultura de fungos no escarro

3.2.3. Avaliação radiológica

Nos indivíduos com exposição à sílica foram realizados radiogramas de tórax em incidência pósterio-anterior, que eram avaliadas e classificadas seguindo os critérios da “International Labour Organization” (I.L.O., 1980).

Segundo esta organização, as pneumoconioses são classificadas em: forma simples e complicada.

Na forma simples, as categorias p, q, r, são utilizadas quando as lesões apresentam-se arredondadas; s, t, u, quando irregulares e estriadas. A profusão destas lesões é designada por números: 0, 1, 2, 3.

Na forma complicada, a categoria A corresponde a uma opacidade entre 1 e 5 cm, ou a várias opacidades, das quais a soma dos maiores diâmetros não ultrapasse 5 cm. A categoria B apresenta uma ou mais opacidades maiores ou mais numerosas do que a categoria A, e sua área total não excede o equivalente a zona superior direita do pulmão. A categoria C apresenta uma ou mais grandes opacidades, cuja área total é superior ao equivalente à zona superior direita pulmonar ou a 1/3 do pulmão.

3.2.4. Avaliação da função pulmonar

Avaliamos a capacidade funcional dos indivíduos expostos à sílica realizando a espirometria. Em todos os testes foi utilizado o espirômetro Collins, calibrado diariamente.

Sentados, os pacientes efetuavam manobras de expiração forçada, com narinas tampadas por clipe nasal. Entre os testes realizados foram considerados para análise, a melhor das três curvas obtidas e o traçado avaliado pelos critérios da American Thoracic Society (A.T.S.).

3.2.5. Quimiotaxia

3.2.5.1. Obtenção de leucócitos mononucleares

Imediatamente após coleta asséptica de sangue com heparina (aproximadamente 100 µl de heparina por ml de sangue), procedeu-se a sedimentação em temperatura ambiente por uma hora. O plasma, rico em leucócitos, juntamente com a porção superior da coluna de hemácias, foi centrifugado por dez minutos à 1.500 r.p.m.. O botão, em seguida, foi suspenso em 2 ml de solução salina balanceada de Hanks. Esta solução foi colocada sobre um gradiente de Ficoll-Hypaque por trinta minutos (para separação de leucócitos mononucleares e polimorfonucleares). Os leucócitos mononucleares foram cuidadosamente removidos do gradiente e lavados três vezes com solução de Hanks, e diluídos a uma concentração final de 1×10^6 cels/ml para o ensaio de fagocitose e 2×10^6 cels/ml para os ensaios de quimiotaxia e dosagem do ânion superóxido.

3.2.5.2. Obtenção do fator quimiotático

“Pools” de soro de adultos normais e os soros dos pacientes foram incubados isoladamente por 30 minutos, a 37° C, com um lipopolissacáride de *E.coli* (L.P.S.), dissolvido em solução de Hanks, numa concentração de 100 microgramas/ml. Esta reação determinou a formação do fator quimiotático para monócitos, usado no ensaio na concentração final de 10%.

3.2.5.3. Ensaio quimiotático

Utilizamos uma adaptação do método de Boyden (Boyden,1962). No compartimento inferior da câmara de quimiotaxia (câmara de Boyden modificada), colocaram-se 0,2 ml do fator quimiotático, e no compartimento superior 0,5 ml da suspensão celular para monócitos com concentração de 2×10^6 cels/ml . Estes compartimentos eram separados por uma membrana de filtro de éster de celulose, com poros de 8 micra. Como controle, para determinação da migração espontânea, colocou-se apenas solução de Hanks, na parte inferior da câmara.

As câmaras foram, então, incubadas por 120 minutos a 37° C, em atmosfera úmida, enriquecida com 5% de CO₂. Em seguida os filtros foram retirados, fixados em etanol absoluto, corados com hematoxilina de Harris, desidratados pela passagem em concentrações de álcool etílico, diafanizados em xilol e, finalmente, montados entre lâmina e laminula, com resina Entellan (Merck).

Foram realizadas as seguintes combinações (em duplicata):

- monócitos de paciente + solução de Hanks
- monócitos de paciente + soro humano normal com LPS
- monócitos de paciente + soro de paciente com LPS

Nos ensaios efetuados com o grupo controle não foi realizada a combinação de monócitos com soro de paciente e LPS.

3.2.5.4. Leitura

A leitura foi realizada em microscópio Nikkon, utilizando-se a objetiva de aumento para 40 vezes, e o ajuste fino do micrômetro.

Através da variação observada no micrômetro, mediu-se a distância entre a camada de células que ficou mais próxima do compartimento superior da câmara de Boyden e o campo onde a última célula foi visualizada. O resultado, expresso em micra, foi dado pela média de vinte leituras realizadas para cada membrana de filtro.

Os parâmetros de normalidade de quimiotaxia foram aqueles encontrados por Vilela (1985).

3.2.6. Fagocitose

3.2.6.1. Fagocitose de partículas de zimosan incubadas previamente com soro humano.

As partículas foram lavadas três vezes em solução de Hanks.

A seguir, foram suspensas em solução de Hanks, contendo 10% de soro humano fresco (“pool” de adultos normais e soro de cada paciente), numa concentração de 1×10^6 partículas/ml.

3.2.6.2. Ensaio fagocitário para zimosan

Uma suspensão de um mililitro de monócitos numa concentração de 1×10^6 cels/ml foi incubada no interior de tubos de Leighton (contendo uma lamínula de vidro previamente desengordurada e seca) por 20 minutos, a 37° C, em atmosfera úmida com 5% de CO₂, no intuito de que os monócitos aderissem à lamínula.

Após esta incubação, os tubos foram lavados cinco vezes com agitação vigorosa, em solução de Hanks, à temperatura ambiente, para a remoção das células. Às lamínulas, com células aderentes, foi adicionada suspensão de partículas de zimosan

incubadas com soro, e colocadas em incubação, nas mesmas condições anteriores, por mais trinta minutos.

Os experimentos foram realizados dentro do seguinte esquema (em duplicata):

- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com Hanks
- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro humano normal
- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro de cada paciente.

No grupo controle não foi realizado ensaio de monócitos incubados com zimosan opsonizado por soro de paciente.

3.2.6.3. Coloração e leitura

Após trinta minutos de incubação, as lamínulas foram lavadas, cinco vezes, em solução de Hanks, à temperatura ambiente, para remoção de partículas não fagocitadas. Em seguida, as lamínulas foram retiradas do interior dos tubos de Leighton e colocadas em suporte, fixadas em álcool metílico e coradas com corante de Leischmann.

Após secagem e coloração, as lamínulas foram montadas usando-se resina Entellan (Merck).

Finalmente, a leitura ao microscópio foi realizada com objetiva de imersão (aumento de 1.000 vezes), contando-se 200 a 400 monócitos em cada lamínula, identificando-se as células que haviam fagocitado as partículas. O índice fagocitatório foi definido como a porcentagem de células que fagocitaram em relação ao número total de monócitos identificados, e a capacidade fagocitária como o número total de partículas fagocitadas por cem monócitos.

Essas técnicas são realizadas, rotineiramente, pelo Laboratório de Imunopediatria - FCM - UNICAMP e foram padronizadas, anteriormente à partir de várias fontes da literatura (Territo & Cline, 1976; Van Furch, Van Zwet & Leigh, 1978).

3.2.7. Dosagem do ânion superóxido

3.2.7.1. Dosagem do ânion superóxido liberado por monócitos.

A quantificação do ânion superóxido, liberado pelos monócitos dos pacientes e dos voluntários do grupo controle, foi realizada de acordo com a técnica de Cohen e Chovanic (Choen e Chovanic, 1978) constituindo-se em uma adaptação do método original descrito por Mccord e Fridovich (1969).

As suspensões de monócitos obtidas conforme descrito no item 5-1, com concentração final de 2×10^6 cels/ml, em solução de Hanks balanceada (pH 7.3 CaCl 1 mM), foram incubadas com zimosan, na presença de citocromo C (80 mM), durante 60 minutos, a 37°C.

As partículas de zimosan foram suspensas em solução de Hanks contendo 10% de soro humano normal, numa concentração final de 0,5 mg/ml.

Para avaliar a liberação espontânea do ânion superóxido, o zimosan foi substituído por solução de Hanks.

Como controle da redução inespecífica do citocromo c, foi adicionado superóxido dismutase (SOD 3,0 mg/ml) à metade dos tubos, no início do experimento.

Após sessenta minutos de incubação, a reação foi interrompida, colocando-se todos os tubos em banho de gelo.

Estes tubos foram, então, centrifugados a 1.500 r.p.m., durante 10 minutos, a 4° C.

Posteriormente, mediu-se a absorbância de seus sobrenadantes, à 550 nm.

A produção do ânion superóxido foi calculada usando-se um coeficiente de extinção de $2,1 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ e os resultados expressos em nmols/ 10^6 cels/h. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Em apenas uma determinada amostra de sangue, avaliaram-se:

- migração de monócitos incubados com meio, soro humano normal ou soro de paciente exposto à sílica, em relação a indivíduos não expostos.

- índice e capacidade fagocitários para partículas de Zimosan incubadas com, soro humano normal ou soro de pacientes, e de indivíduos não expostos

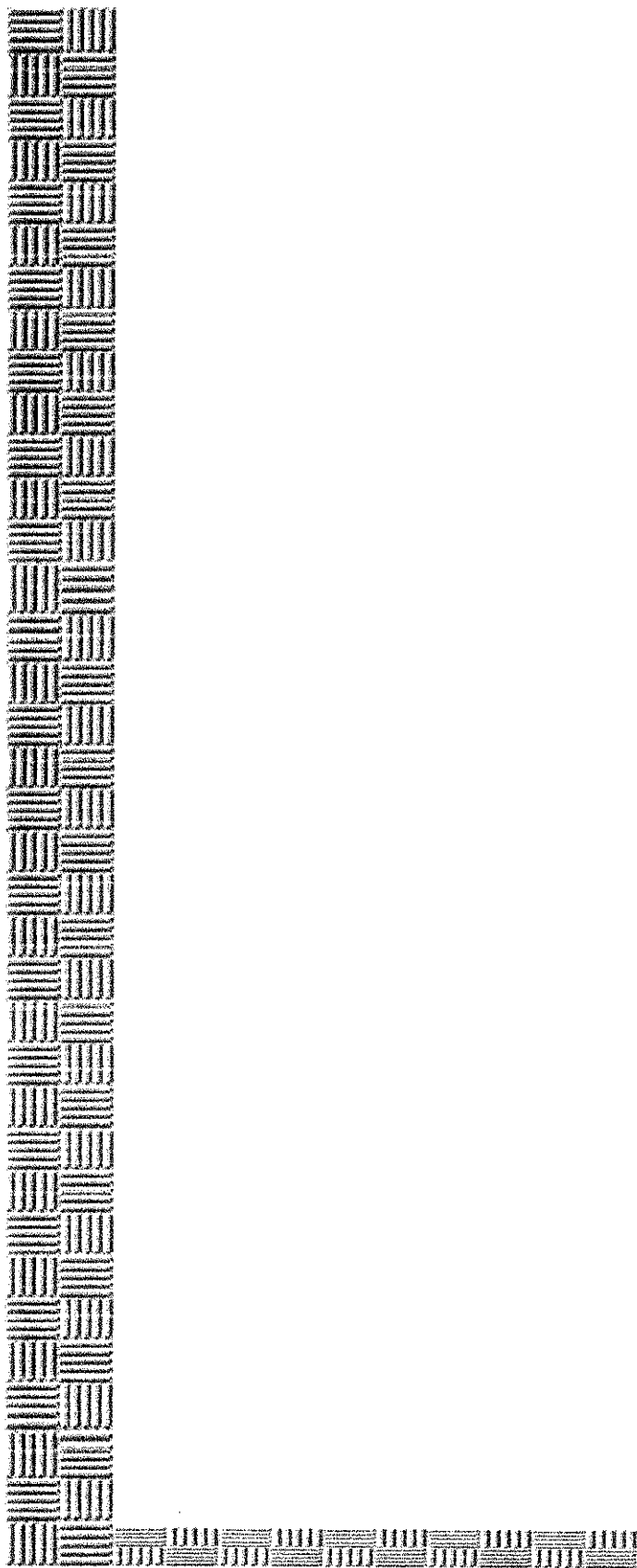
- Produção espontânea e estimulada de ânions superóxidos, por monócitos de indivíduos expostos à sílica, em relação aos não expostos.

- Associação entre as variáveis acima e as condições clínicas do paciente:

- a) Tempo de exposição à sílica

- b) Classificação radiológica

- c) Antecedente pessoal para tuberculose.



4. *RESULTADOS*

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram estudados 36 indivíduos, sendo 21 expostos cronicamente à sílica e 15 indivíduos saudáveis, sem história de exposição à sílica ou patologia pulmonar.

O grupo de pacientes expostos à sílica está caracterizado na tabela IV, quanto a idade, sexo, tempo de exposição, tempo do fim da exposição e o tipo de atividade.

O grupo controle está caracterizado, quanto à idade e sexo, na tabela V.

TABELA IV - CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA, QUANTO A DISTRIBUIÇÃO POR IDADE, SEXO, TEMPO DE EXPOSIÇÃO (TE), TEMPO DE AFASTAMENTO DE EXPOSIÇÃO (TAE) E TIPO DE ATIVIDADE (TA).

Identificação	Idade	Sexo	TE (anos)	TAE (anos)	TA
01.- AJS	58	M	21	12	cerâmica
02.- JDF	56	M	13	5	rebolo
03.- LL	69	M	15	19	cerâmica
04.- OR	53	M	25	14	cerâmica
05.- AS	44	M	02	25	mineração
06.- DB	53	F	04	35	cerâmica
07.- JBE	53	M	12	04	pedreira
08.- PB	54	M	12	10	fundição
09.- GRP	59	M	33	07	jato de areia
10.- JM	63	M	13	18	cerâmica
11.- JB	62	F	06	40	cerâmica
12.- DFS	61	M	09	0	rebolo
13.- ASF	73	F	27	10	cerâmica
14.- JS	45	M	02	22	corte de pedra
15.- ACD	34	M	04	02	metalurgia
16.- JCS	23	M	10	0	mineração
17.- SC	49	M	08	0	jato de areia
18.- WF	54	M	30	12	cerâmica
19.- JMS	59	M	04	30	moagem de pedra
20.- MLZ	53	F	12	0	cerâmica
21.- HR	69	M	40	12	cerâmica

TE :tempo de exposição

TAE : tempo de afastamento da exposição

TA : tipo de atividade

TABELA V - CARACTERIZAÇÃO DO GRUPO CONTROLE QUANTO A DISTRIBUIÇÃO DE IDADE E SEXO.

Identificação	Idade	Sexo
01.- M	35	F
02.- DGF	27	M
03.- PA	50	F
04.- SAN	31	F
05.- MP	26	M
06.- AB	30	M
07.- LC	25	M
08.- JB	26	M
09.- IP	38	F
10.- MH	48	F
11.- AC	39	F
12.- SR	49	M
13.- IS	32	F
14.- E	60	F
15.- LC	30	M

4.2. AVALIAÇÃO RADIOLÓGICA

Os radiogramas de tórax dos indivíduos expostos à sílica foram classificados seguindo-se as normas da “International Labour Organization”(I.L.O.). Segundo estes critérios, dos 21 pacientes, 15 apresentaram a forma complicada de silicose (71,4%), sendo mais frequentes as formas regulares e arredondadas (82,3%).

A classificação dos radiogramas de tórax, dos indivíduos expostos à sílica, está listada na tabela VI.

TABELA VI - CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA SEGUNDO CRITÉRIOS DA
 “INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION”(I.L.O.), NO
 GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA.

Identificação	Descrição	Profusão
01.- AJS	p/q A	1/1
02.- JDF	q/q	2/2
03.- LL	p/q C	1/1
04.- OR	r/r B	2/3
05.- AS	q/q B	2/2
06.- DB	q/r C	2/2
07.- JBE	r/r C	3/3
08.- PB	q/r B	2/2
09.- GRP	q/q C	2/2
10.- JM	q/r A	3/3
11.- JB	p/s B	2/3
12.- DFS	B	
13.- ASF	q/q	2/2
14.- JS	p/q	1/2
15.- ACO	p/q	1/1
16.- JCS	C	
17.- SC	q/q C	3/3
18.- WF	s/t	1/2
19.- JMS	r/r C	3/3
20.- MLZ		0/0
21.- HR	q/t A	2/3

p,q,r : forma simples arredondadas

s,t,u : formas simples estriadas

A,B,C : formas complicadas

4.3. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR

Dos vinte e um pacientes, obtivemos a prova de função pulmonar em apenas dezenove, pois dois pacientes não conseguiram realizá-la, por se encontrarem com pneumotórax.

Cinco pacientes apresentaram padrão obstrutivo (26,3%); três, padrão restritivo (15,7%); sete, padrão misto restritivo e obstrutivo (33,3%); e quatro prova funcional normal (21,0%).

Os valores da prova funcional de cada paciente estão na tabela VII.

TABELA VII - VALORES DA CAPACIDADE VITAL (CVF) E DO VOLUME EXPIRATÓRIO FORÇADO NO PRIMEIRO SEGUNDO (VEF1) E ÍNDICE TIFFENAUT DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	CVF (%)	VEF1 (%)	VEF1/ CVF (%)
01. - AJS	87	101	83
02. - JDF	82	94	84
03. - LL	67	37	38
04. - OR	81	75	68
05. - AS	69	58	63
06. - DB	90	75	63
07. - JBE	75	77	76
08. - PB	84	42	37
09. - GRP	58	53	65
10. - JM	55	61	80
11. - JB	67	69	77
12. - DFS	43	35	59
13. - ASF	79	62	54
14. - JS	78	63	62
15. - ACO	83	88	86
16. - JCS	NR	NR	NR
17. - SC	NR	NR	NR
18. - WF	44	29	46
19. - MLZ	104	100	80
20. - JMS	57	45	56
21. - HR	87	89	71

CVF: capacidade vital forçada

VEF1: volume expiratório forçado no 1º segundo

4.4. AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA

Realizamos o Hemograma completo em dezoito pacientes. Apenas um apresentou valores de hemoglobulina e hematócrito abaixo dos valores normais. Todos os pacientes apresentaram número de leucócitos dentro da normalidade.

Os resultados dos hemogramas estão na tabela VIII.

TABELA VIII- HEMOGRAMAS NO GRUPO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	Hb (g%)	Ht (%)	Lo (/mm ³)	Seg (%)	Linf (%)	Eos (%)	Mo (%)
01.-AJS	15,9	45,7	10.600	51	39	2	8
02.-JDF	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
03.-LL	14	44	9.800	54	27	13	3
04.-OR	15,8	47,8	10.800	48	39	7	6
05.-AS	13,9	41,3	4.400	58	33	1	8
06.-DB	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
07.-JBE	12,8	41	8.900	62	18	10	3
08.-PB	13,7	48	8.600	81	17	01	0
09.-GRP	15,8	44,5	7.500	49	36,2	7,1	6,4
10.-JM	14,3	43	11.400	81	15	1	5
11.-JB	14,4	42,1	6.100	44	37	12	7
12.-DFS	17,4	51,5	7.900	64	20	8	8
13.-ASF	13,5	43,4	4.620	72	20	3	4
14.-JS	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr
15.-ACO	15,6	47,8	7.800	69	25	6	0
16.-JCS	16,6	50,2	5.100	55	33	5	7
17.-SC	11,6	37	8.300	77	16	3	7
18.-WF	16,8	51	8.400	65	19	10	6
19.-JMS	14,5	44,5	10.200	75	14	1	7
20.-MLZ	13,1	41,5	8.600	67	24	1	7
21.-HR	13,0	41,0	10.600	62	34	2	2

Hb: Hemoglobina

Ht: Hematócrito

Lo.: Leucócitos

Seg.: Segmentados

Linf.: Linfócitos

Eos.: Eosinófilos

Mo.: Monócitos

4.5. ASSOCIAÇÃO COM TUBERCULOSE

Dos vinte e um pacientes estudados, nenhum apresentava tuberculose ativa no momento desta avaliação imunológica. Entretanto, cinco pacientes referiram tuberculose tratada no passado.

a) Correlação entre antecedentes pessoais de tuberculose e tempo de exposição à sílica

Não há diferença estatística entre os pacientes com história de tuberculose no passado e maior tempo de exposição, em relação aos que apresentaram menor tempo de exposição à sílica, ($t=0,53$, $p=0,769$). Os valores estão demonstrados na tabela IX.

b) Correlação entre antecedentes pessoais de tuberculose e classificação radiológica

Não há diferença estatística entre os pacientes com história de tuberculose no passado e que apresentam silicose na forma complicada, em relação aos que não possuem história de tuberculose ($p=0,110$). Os valores estão demonstrados na tabela X.

TABELA IX - CORRELAÇÃO ENTRE ANTECEDENTE PESSOAL DE TUBERCULOSE (TB) E TEMPO DE EXPOSIÇÃO (TE) EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE SILICOSE.

TE (anos)	TB (+)	TB (-)	Total
< 8	2	5	7
8-13	1	6	7
> 13	2	5	7
Total	5	16	21

TB(+): TB tratada no passado

TB(-): Ausência de Tuberculose

TABELA X - CORRELAÇÃO ENTRE ANTECEDENTE PESSOAL DE TUBERCULOSE (TB+) E CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA DAS LESÕES PULMONARES EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE SILICOSE.

Classificação Radiológica	TB(+)	TB(-)	Total
Forma Simples	0	6	6
Forma Complicada	5	10	15
Total	5	16	21

TB(+): Tuberculose tratada no passado

TB(-): Ausência de Tuberculose

4.6. QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS

Monócitos/Meio

A média de imigração de monócitos incubados com meio foi de 32,00 μ (DP: 14,63) e mediana de 27,90 μ no grupo de indivíduos expostos à sílica e de 30,19 μ e mediana de 28,77 μ (DP: 10,627) no grupo controle . Não houve diferença significativa entre os dois grupos, ver tabela XI.

Monócitos/Soro humano normal

O valor médio para a migração de monócitos incubados com soro humano normal foi de 67,466 μ (DP: 13,810) e a mediana de 66,90 μ no grupo de indivíduos expostos à sílica é de 59,643 μ e mediana de 61,20 μ (DP: 11.459) no grupo controle, não se observou diferença significativa entre os dois grupos. Tabela XI.

Monócitos/Soro de paciente

A média de migração de monócitos incubados com soro de paciente foi de 62,862 μ (DP: 13,738) e mediana de 62,85 μ no grupo de indivíduos expostos à sílica. No grupo controle foi de 59,643 μ e mediana de 61,20 μ (DP: 11.459), quando incubados com soro controle, Não se observou diferença significativa entre os dois grupos, ver tabela XI.

Os valores da quimiotaxia de monócitos dos indivíduos expostos à sílica e do grupo controle estão listados nas tabelas IV e V, respectivamente, nos anexos 1 e 2.

4.6.1. Quimiotaxia de monócitos em relação ao tempo de exposição à sílica

Não se observa diferença significativa na migração de monócitos incubados com meio, soro humano normal ou soro de paciente, em relação ao tempo de exposição à sílica (tabela XII).

4.6.2. Quimiotaxia de monócitos em relação à classificação radiológica

Não observamos diferença estatística na migração de monócitos incubados com meio, soro humano normal ou soro de paciente, de indivíduos com silicose na forma simples e de indivíduos com a forma complicada de silicose (tabela XIII).

4.6.3. Quimiotaxia de monócitos em relação ao antecedente pessoal de tuberculose

Não houve diferença significativa na migração de monócitos de indivíduos expostos à sílica com história de tuberculose no passado, em relação aos que negaram antecedentes para tuberculose (tabela XIV).

TABELA XI - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS DOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.

grupo	Mo - M (mediana)	Mo-SN/SC (mediana)	Mo-SP/SC (mediana)
I	27,900	66,900	62,850
II	28,775	61,200	61,200
t	0,013	3,121	0,315
p	0,910	0,077	0,574
I - grupo de indivíduos expostos à sílica		Mo-SC: monócito incubado com soro controle	
II- grupo controle		Mo-M: monócito incubado com meio	
t: - coeficiente do teste		Mo-SN: monócito incubado com soro humano normal	
p: nível de significância		Mo-SP: monócito incubado com soro do paciente	

TABELA XII - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA.

TE	Obs nº de casos	Mo-M (mediana)	Mo-SN (mediana)	Mo-SP (mediana)
< 8	7	25,500	69,100	63,100
8.13	7	24,125	66,200	62,850
> 13	7	30,125	62,100	57,275
t		2,412	1,661	0,623
p		0,299	0,435	0,732
TE: tempo de exposição à sílica				
Mo-M: monócitos incubados com meio				
Mo-SN: monócitos incubados com soro normal				
Mo-SP: monócitos incubados com soro de paciente				
t : coeficiente do teste				
p: nível de significância				

TABELA XIII - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E A CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA DAS PNEUMOCONIOSES.

Classificação	Nº de casos	Mo-M (mediana)	Mo-SN (mediana)	Mo-SP (mediana)
Forma Simples	6	27,375	73,213	61,925
Forma complicada	15	17,900	66,500	60,700
t		0,123	1,108	0,492
p		0,725	0,295	0,482

Mo-M: Monócitos incubados com meio

Mo-SP: Monócitos incubados com soro de paciente

Mo-SN: Monócitos incubados com soro humano normal

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XIV - COMPARAÇÃO ENTRE QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS E ANTECEDENTES DE TUBERCULOSE

Antecedentes TB	Obs.	Mo-M	Mo-SN	Mo-SP
TB(-)	16	26,025	67,300	63,325
TB(+)	5	31,400	62,500	60,700
t		0,552	0,840	0,982
p		0,457	0,359	0,321

TB(+): Presença de tuberculose no passado

TB(-): Ausência de tuberculose

Mo-M: Monócitos incubados com meio

Mo-SN: Monócitos incubados com soro normal

Mo-SP: Monócitos incubados com soro do paciente

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

4.7. FAGOCITOSE

4.7.1. Índice fagocitário

Zimosam/Meio

O índice fagocitário médio para partículas de zimosan, incubadas com meio, foi de 16,338 (DP=10,383) e mediana de 13,986, nos indivíduos expostos à sílica e, de 22,807 (DP=20,654) e mediana de 17,546, no grupo controle. Não houve diferença estatística entre os dois grupos (tabela XV).

Zimosam/ Soro humano normal

A média do índice fagocitário para partículas de zimosam, incubadas com soro humano normal, foi de 69,443 (DP= 13,863) e mediana de 69,573, no grupo de indivíduos expostos à sílica e, de 64,612 (DP= 13,660) e mediana de 68,492 no grupo controle, não havendo, portanto, diferença significativa entre os dois grupos (tabela XV).

Zimosam / Soro de pacientes

O índice médio de fagocitose de partículas de zimosam, incubadas com soro de pacientes, foi de 67,766 (DP=14,554) e mediana de 71,095, no grupo de indivíduos expostos à sílica e, de 64,612 (DP=13,660) e mediana de 68,492 no grupo controle. Novamente não houve diferença significativa entre os dois grupos (tabela XV).

Os índices fagocitários para partículas de zimosam dos indivíduos expostos à sílica e do grupo controle, estão listados nos anexos 3 e 4, respectivamente.

Índice fagocitário em relação a:

a) Tempo de exposição à sílica:

Não houve diferença significativa nos índices fagocitários para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano normal ou soro de paciente, em relação ao tempo de exposição à sílica (tabela XVI).

b) Classificação radiológica:

Não se observaram diferenças significativas nos índices fagocitários para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano, normal ou soro de pacientes entre as formas simples e complicadas de silicose (tabela XVII).

c) Antecedente para Tuberculose

Não observamos diferenças significativas nos índices fagocitários para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano normal ou soro de paciente, dos indivíduos expostos à sílica e com antecedentes positivos para tuberculose, em relação aos que negaram este antecedente (tabela XVIII).

TABELA XV - COMPARAÇÃO ENTRE O ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAM NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E NO GRUPO CONTROLE

Grupo	Zm-M (mediana)	Zm-SN/SC (mediana)	Zm-SP/SC (mediana)
I	13,986	69,573	71,095
II	17,546	68,492	68,492
t	0,893	0,705	0,695
p	0,344	0,401	0,404

I: grupo de indivíduos expostos à sílica

II: grupo controle

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

Zm-SC: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro controle

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XVI - COMPARAÇÕES ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA
PARTÍCULAS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA

TE anos	Obs	ZM-M (mediana)	Zm-SN (mediana)	Zm-SP (mediana)
< 8	7	12,673	62,647	65,656
8-13	7	12,268	78,332	75,118
> 13	7	26,934	62,669	72,727
t		3,039	3,920	0,672
p		0,218	0,140	0,714

TE: tempo de exposição à sílica

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

Zm-SC: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro controle

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XVII - COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAM E A CLASSIFICAÇÃO RADIOLOGICA PARA PNEUMOCONIOSES.

Classificação Rx	Obs	Zm-M (mediana)	Zm-SN (mediana)	Zm-SP (mediana)
Forma Simples	6	11,718	80,680	64,934
Forma Complicada	15	17,173	68,481	71,911
t		0,492	0,623	0,001
p		0,482	0,429	1,000

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XVIII - COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAN NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E A PRESENÇA DE TUBERCULOSE.

Presença TB	Obs	Zm-M (mediana)	Zm-SN (mediana)	Sm-SP (mediana)
TB(-)	16	14,536	68,481	67,716
TB(+)	5	9,774	73,902	74,751
t		0,017	0,048	0,321
p		0,895	0,827	0,571

TB(+): Presença de tuberculose no passado

TB(-): Ausência de tuberculose

Zm-M: Fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: Fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro normal

Zm-SP: Fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de pacientes

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

4.7.2. Capacidade Fagocitária

Zimosam/Meio

A capacidade fagocitária média de monócitos para partículas de zimosam incubadas com meio, foi de 136,875 (DP= 24,119) e mediana de 134,25 no grupo de indivíduos expostos à sílica e de 141,821 (DP= 27,210) e mediana de 128,25, no grupo controle. Não houve diferença significativa entre os dois grupos (tabela XIX).

Zimosam/Soro humano normal

A capacidade fagocitária média de monócitos para partículas de zimosam incubadas com soro humano normal, foi de 384,325 (DP= 93,428) e mediana de 385,25 no grupo de indivíduos expostos à sílica e de 361,321 (DP= 88,156) e mediana de 365,25, no grupo controle. Os dois grupos não apresentaram diferenças significativas (tabela XIX).

Zimosam/Soro de paciente

A média de partículas de zimosam, incubadas com soro de paciente, fagocitadas por 100 células, foi de 378,088 (DP=117,192) e mediana de 390,0 no grupo de indivíduos expostos à sílica e de 361,321 (DP=88,156) e mediana de 362,25, no grupo controle. Estatisticamente, os grupos são semelhantes (tabela XIX).

Os valores da capacidade fagocitária para partículas de zimosam, dos indivíduos expostos à sílica e do grupo controle, estão listadas nos anexos 5 e 6.

4.7.3. Capacidade Fagocitária em relação A:

Tempo de exposição à sílica:

Não se observaram diferenças significativas nas capacidades fagocitárias para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano normal ou soro de paciente, em relação ao tempo de exposição à sílica (tabela XX).

4.7.4. Classificação Radiológica

Não houve diferença significativa na capacidade fagocitária para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano normal ou soro de pacientes, entre a forma simples e complicada de silicose (tabela XXI).

4.7.5. Antecedentes para Tuberculose

Não se observou diferença significativa na capacidade fagocitária para partículas de zimosam incubadas com meio, soro humano normal ou soro de pacientes, dos indivíduos expostos à sílica, e nem história de tuberculose no passado, em relação aos que negaram antecedentes para tuberculose (tabela XXII).

TABELA XIX - COMPARAÇÃO ENTRE A CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.

Grupo	Zm-M (mediana)	Zm-SN/SC (mediana)	Zm-SP/SC (mediana)
I	134,25	385,25	390,00
II	128,25	365,25	362,25
t	0,044	0,397	0,025
p	0,833	0,528	0,873

I: indivíduos expostos à sílica

II: grupo controle

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

Zm-SC: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro controle

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XX - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS E O TEMPO DE EXPOSIÇÃO À SÍLICA

TE (anos)	Obs	Zm-M (mediana)	Zm-SN (mediana)	Zm-SP (mediana)
< 8	7	122,00	361,00	347,00
8-13	7	134,25	402,25	404,00
> 13	7	142,50	385,50	390,00
t		0,783	1,158	0,153
p		0,676	0,560	0,926

TE: tempo de exposição à sílica

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XXI - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E SUA CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA

Classificação Rx	Obs	Zm-M (mediana)	Zm-SN (mediana)	Zm-SP (mediana)
Forma simples	6	155,00	393,00	333,75
Forma complicada	15	128,00	369,75	397,00
t		2,779	0,192	2,147
p		0,095	0,661	0,142

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de pacientes

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XXII - COMPARAÇÃO ENTRE CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E PRESENÇA DE TUBERCULOSE.

Presença de Tuberculose	Obs	Zm-M (mediana)	Zm-Sn (mediana)	Zm-SP (mediana)
TB(-)	16	138,50	385,50	404,00
TB(+)	5	122,00	341,50	343,75
t			1,099	0,688
p			0,294	0,406

TB(-): ausência de tuberculose

TB(+): presença de tuberculose tratada no passado

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro de paciente

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

4.8. PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO

Produção espontânea

A produção espontânea média de ânions superóxidos, pelos monócitos de indivíduos expostos à sílica, foi de 2,825 (DP= 1,450) com mediana de 4,03 e do grupo controle de 3,335 (DP=2,069) com mediana de 3,30, não havendo, portanto, diferença significativa entre os dois grupos. (tabela XXIII).

Produção estimulada por zimosam

A produção média de ânions superóxidos pelos monócitos estimulados por partículas de zimosam, foi de 9,922 (DP=4,426) com mediana de 9,24 no grupo de indivíduos expostos à sílica e de 9,371 (DP=3,083) com mediana de 9,52, no grupo controle.

Não se observou diferença significativa entre os dois grupos (tabela XXIII).

As dosagens da produção espontânea de ânion superóxido, e estimulada por partículas de zimosam; pelos monócitos de indivíduos expostos à sílica e do grupo controle, estão listados, respectivamente, nos anexos 7 e 8.

4.8.1. Produção de ânion superóxido em relação a:

Tempo de exposição à sílica

Não se observaram diferenças significativas na presença espontânea e estimulada de ânions superóxidos por monócitos de indivíduos expostos à sílica em relação ao tempo de exposição (tabela XXIV).

4.8.2. Produção de ânion superóxido em relação a:

Alteração radiológica

Não houve diferença significativa, na produção espontânea e estimulada, de ânions superóxidos, entre as formas simples e complicadas de silicose (tabela XXV).

4.8.3. Produção de ânion superóxido em relação antecedentes para tuberculose

Não observamos diferença estatística entre a produção de ânion superóxido, espontânea e estimulada, de paciente com história de tuberculose no passado e dos que negaram tal antecedente (tabela XXVI).

TABELA XXIII - COMPARAÇÃO ENTRE A PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E DO GRUPO CONTROLE.

Grupo	Espontânea (mediana)	Estím. c/ Zimosam (mediana)
I	4,030	9,240
II	3,300	9,520
t	0,152	0,136
p	0,696	0,712

I: indivíduos expostos à sílica

II: grupo controle

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XXIV- COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO
POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E O
TEMPO DE EXPOSIÇÃO

TE (anos)	Obs	Espontânea (mediana)	Estim. c/ Zimosam (mediana)
< 8	7	2,220	9,080
8-13	7	1,610	10,710
> 13	7	3,270	9,090
t		1,460	0,423
p		0,481	0,809

TE: tempo de exposição à sílica

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XXV - COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO
POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E SUA
CLASSIFICAÇÃO RADIOLÓGICA

Class. RX	Obs	Espontânea (mediana)	Estim. c/ Zimosam (mediana)
Forma simples	6	1,795	9,160
Forma complicada	15	3,360	10,840
t		2,041	2,223
p		0,153	0,135

Class. RX: Classificação radiológica

t: coeficiente do teste

p: nível de significância

TABELA XXVI - COMPARAÇÃO ENTRE PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO
POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA E
PRESENÇA DE TUBERCULOSE

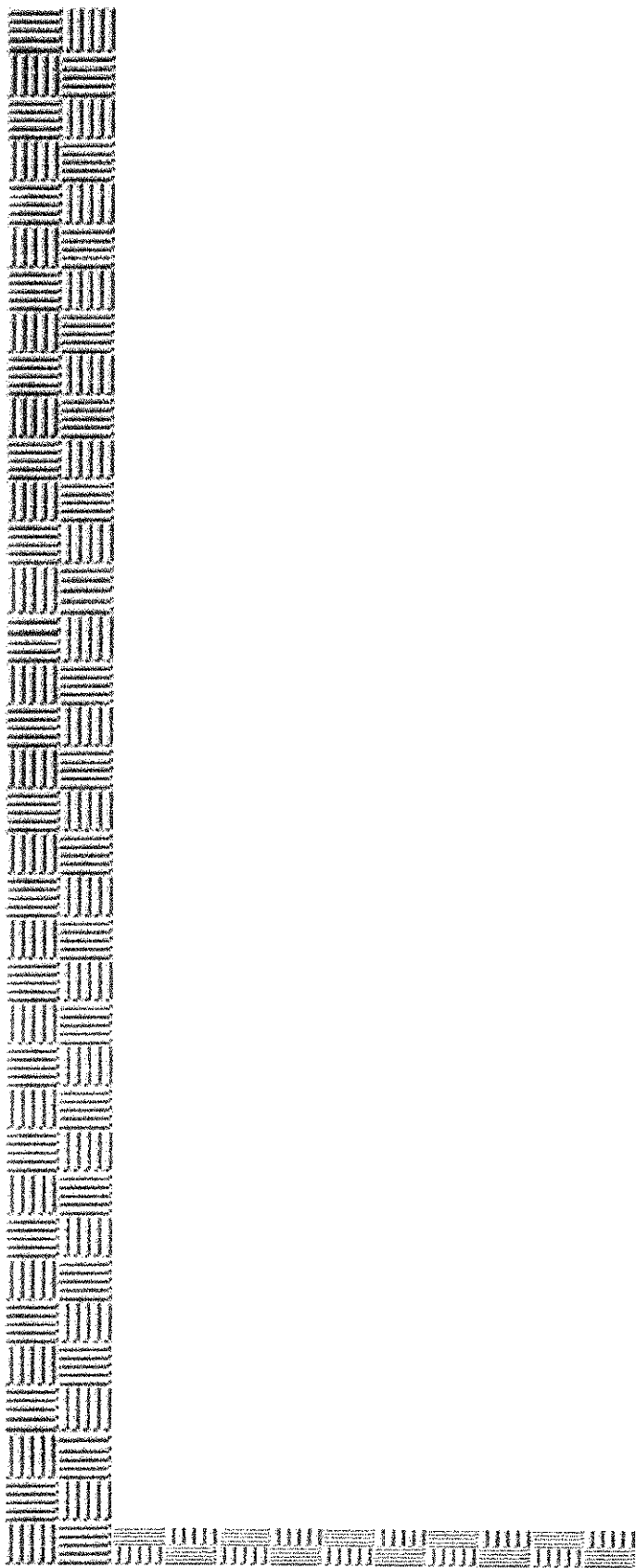
PRESENÇA DE TB	OBS	ESPONTÂNEA (MEDIANA)	ESTIM. C/ ZIMOSAM (MEDIANA)
TB(-)	16	2,270	9,160
TB(+)	5	3,715	10,420
t		1,091	0,334
p		0,296	0,563

TB(-): ausência de tuberculose

TB(+): presença de tuberculose tratada no passado

t: coeficiente do teste

p: nível de significância



5. DISCUSSÃO

No presente estudo analisamos vinte e um indivíduos com história de exposição à sílica, com 14,38 anos em média, existindo em 20 pacientes, evidência radiológica de silicose e, em quinze (71,3%), apresentação da forma complicada da doença. Trabalhos epidemiológicos, realizados com grandes populações de indivíduos expostos à sílica ou portadores de silicose, apresentaram características semelhantes às relacionadas nesta pesquisa.

Em seu trabalho clássico, *Russel et al. (1929) observou o desenvolvimento de silicose entre indivíduos que trabalhavam com granito, em Vermont, Estados Unidos, após quinze anos de exposição. Após o controle da concentração de quartzo para $100\mu/m^3$ no ambiente, a incidência de silicose, nesta mesma cidade, diminuiu para 3% e, o tempo médio de exposição para aparecimento de lesões pulmonares aumentou para trinta anos (Graham et al., 1991).

Ziskind (1976) descreveu imagens radiológicas na silicose crônica, as quais só foram notadas após vinte a quarenta anos de exposição. Em ambientes de alta concentração de partículas, como jateamento de areia e cavação de poços, as alterações radiológicas surgiam após quatro a oito anos de exposição. Hoadson & Jones (1990) determinaram uma incidência de 7,3% de silicose nos mineradores de Cornwall, Inglaterra, sendo que a maioria destes indivíduos trabalhara de 20 até 30 anos nesta atividade.

Em Hong Kong, Ng, Cham e Lee (1992) observaram entre trabalhadores com silicose, que o tempo médio de exposição foi de vinte e quatro anos, e, em 51%, as extensas opacidades no radiograma de tórax foram identificadas. A alta prevalência de extensas opacidades foi relacionada com a profusão de pequenas opacidades, nível de partículas no ambiente e história prévia de tuberculose. Na maioria das profissões avaliadas, a concentração de partículas no ambiente variou de 0,97 a $3,24\text{ mg}/m^3$, não sendo, portanto, muito superiores a dos trabalhadores americanos. Entretanto, na China, os radiogramas de tórax só são realizados, quando os indivíduos estão sintomáticos, direcionando, desta maneira, para diagnóstico em fase avançada da doença. Em nossa

* Russel et al. apud Graham et al., 1991

casuística, a alta prevalência de casos graves tem justificativa semelhante, visto que os pacientes que procuram o serviço de Pneumologia são sintomáticos respiratórios, propiciando a maior frequência da silicose complicada.

Na análise da nossa casuística houve predomínio do padrão nodular difuso no radiograma de tórax, sendo que, 47% destes indivíduos trabalhavam em indústria cerâmica. Bagatim et al. (1995) avaliando 818 portadores de silicose na região de Campinas, diagnosticados no período entre 1972-1993, observaram o padrão nodular difuso como o mais frequente (82,3%) e, a forma complicada, foi detectada em apenas 18% dos casos. O tempo médio de exposição foi de 20,9 anos, em média, e o principal ramo de atividade foi a indústria cerâmica (88%). Estes achados foram semelhantes aos de Castro & Bethlem (1995) que, na avaliação dos jateadores de areia do estado do Rio de Janeiro, encontraram o padrão nodular difuso em 69,6% dos radiogramas de tórax.

Graham et al. (1991) encontrou, contudo, uma frequência maior de lesões irregulares e reticulares nos radiogramas de tórax dos trabalhadores da indústria de granito de Vermont. Estes achados radiológicos estavam correlacionados com tabagismo, sugerindo que, estas lesões, eram consequência da bronquite crônica tabagística. Trabalhos anteriores de **Cole & Cole (1940), Russel et al. (1929) e Pancoast & Pendergrass (1933) identificaram as lesões reticulares como as mais precoces na silicose. Assim, é provável que nas indústrias de Vermont, onde o índice de sílica livre é baixo, estes trabalhadores apresentem apenas as formas iniciais da doença.

Além das questões ambientais, ressaltamos que existem fatores individuais que interferem na evolução da doença, pois, no presente estudo, alguns dos pacientes (AS, DB, JB, JMS) que apresentaram menor tempo de exposição, encontravam-se com a forma complicada da silicose e apenas um referia uma atividade de maior risco. Reforçando esta hipótese, Souza Filho & Alice (1991) demonstraram em trabalhadores de Santa Catarina, com diagnóstico de fibrose maciça progressiva, que a evolução das formas simples da

**Cole & Cole apud Graham et al., 1991

pneumoconiose para fibrose maciça, teve duração de 4,5 anos e o tempo de exposição ficou entre 8 e 16 anos, sendo rápida a progressão, particularmente, nos pacientes jovens (25 a 45 anos), com menor tempo de exposição.

Quanto à função pulmonar, 79% dos nossos pacientes apresentaram provas de ventilação alteradas, sendo o padrão misto restritivo e obstrutivo, o mais freqüente (33,3%).

Não há dúvida de que a silicose, em estado avançado, acompanhada de grandes opacidades, está associada à redução importante da função pulmonar. Entretanto, na silicose simples, ainda há controvérsias. Há longo tempo, acredita-se que nesta forma não haveria risco de perda da função pulmonar. Pesquisas recentes, porém, não confirmam esta teoria. Além disso, existem evidências de que a exposição à poeiras também induza à bronquite industrial acompanhada de perda funcional, e não somente à fibrose que acompanha a doença (Becklake, 1985).

A silicose simples com imagens radiológicas regulares e arredondadas, está associada com valores mais baixos de capacidade vital e volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), especialmente nas categorias 2 e 3 de profusão, conforme demonstrado por Ng e Chan (1992). Todavia, quando as imagens radiológicas eram irregulares, não havia diferença em relação aos indivíduos que não apresentavam silicose.

Cowie & Mabena (1991) observaram redução de todos os volumes funcionais pulmonares e diminuição nas medidas do fluxo aéreo, com queda de 8 ml/ano no VEF1, em virtude da exposição à poeiras. Estes autores justificam seus resultados sugerindo que as partículas maiores depositam-se nos grandes brônquios produzindo bronquite crônica, observada mesmo em trabalhadores não fumantes. As partículas médias depositam-se nas pequenas vias aéreas, provocando uma limitação crônica do fluxo aéreo. Somente as partículas pequenas chegam ao interstício, originando a silicose e, conseqüentemente, reduzem os volumes funcionais pulmonares.

Malmberg, Hedenström e Sundslad (1993) observaram, na evolução clínica de trabalhadores de granito na Suécia, expostos à pequenas concentrações de sílica, uma diminuição dos fluxos expiratórios acompanhada de aumento da complacência pulmonar. Alguns destes indivíduos não apresentavam alterações radiológicas, sugerindo que a obstrução de vias aéreas ou precede a silicose ou ocorre independentemente desta.

Já os estudos de Graham, O'Grady e Dubuc (1981) não detectaram alterações na função pulmonar dos trabalhadores de Vermont, expostos à concentrações de sílica semelhantes as dos trabalhadores suecos.

Em nossa casuística houve predomínio da forma complicada de silicose, devido, provavelmente, a inalação de poeiras com elevadas concentrações de sílica, justificando o aparecimento de perdas de volumes pulmonares, decorrente da fibrose, e da obstrução do fluxo aéreo em consequência da bronquite crônica.

Apesar de nenhum dos pacientes apresentar tuberculose ativa, durante o período do estudo, cinco, (23,80%) referiram tratamento para tuberculose, no passado. Não observamos correlação entre este antecedente e o tempo de exposição, nem com alteração no radiograma de tórax, apesar de todos apresentarem fibrose maciça progressiva.

Ng e Chan (1991) relatam, como fatores de risco para fibrose maciça progressiva, a intensidade da exposição às partículas de sílica, história de tuberculose e profusão das opacidades nas categorias 2 e 3. Porém estes autores destacam que ambas entidades são complicações frequentes da silicose, não sendo possível determinar se a tuberculose precedeu, ou se é posterior à fibrose maciça. Além disso, a tuberculose ocorreu também na silicose simples.

Os trabalhos de Glover et al. (1980) e Infante Rivard. et al. (1991) também demonstraram associação entre fibrose maciça progressiva e antecedente de tuberculose, sem, entretanto, confirmar uma relação de causa e efeito. Por outro lado, ambos estudaram os fatores prognósticos da silicose, chegando a conclusões semelhantes: a silicose

complicada aumenta o risco de mortalidade nestes pacientes e favorece o aparecimento de incapacidade respiratória, e este efeito é potencializado quando há tuberculose associada.

Conforme discutimos anteriormente, alguns dos processos patogênicos da silicose e tuberculose são comuns entre si, sendo provável a existência de um efeito sinérgico que favorece a fibrose e aumenta a suscetibilidade às micobactérias.

As pequenas partículas de sílica chegam aos alvéolos e lá permanecem por longos períodos, no interior dos macrófagos alveolares. Algumas escapam a esta fagocitose e alcançam o interstício, sendo englobadas pela macrófago intersticial. Outras, chegam à rede linfática e à circulação sistêmica, atingindo órgãos, tais como, fígado, medula óssea e rins. (Hanglustaine et al., 1980; Silicosis and Silicate Disease Committee, 1988). Dessa forma, há permanência prolongada do estímulo, sugerindo a ocorrência de repercussões sistêmicas sobre a imunidade. Por esta razão, propusemos-nos a estudar algumas funções do sistema fagocitário, em sangue periférico, destes indivíduos.

Vários autores decreveram alterações da imunidade humoral, relacionadas à silicose. Há um aumento policlonal de imunoglobulinas séricas, maior frequência de auto-anticorpos e alta prevalência de collagenoses nos portadores de silicose. (Doll et al., 1981; Roman et al., 1993). Apesar de o estímulo desencadear no pulmão uma resposta predominantemente local, já se detectou alteração na produção e secreção de alguns mediadores de células sanguíneas destes indivíduos, além de maior tráfego destas células em direção ao sistema respiratório (Vanhée et al., 1995). A migração celular é estimulada através da produção de fatores quimiotáticos que promovem o afluxo de monócitos, linfócitos e neutrófilos da circulação periférica para os pulmões (Martinet & Martinet, 1990). Nas fases iniciais da silicose, há uma migração intensa destas células, que são atraídas para os pulmões por substâncias quimiotáticas, produzidas pelos macrófagos alveolares e intersticiais, contendo sílica. (Lugano, 1982; Donaldson et al, 1988).

Em vista destes achados, esperávamos que a migração de monócitos estivesse hiperestimulada nos portadores de silicose. Contudo, contrariando esta expectativa, não detectamos diferença entre a migração de monócitos de indivíduos expostos à sílica, e a de controles normais. O fato destes pacientes apresentarem a doença há longo tempo e de estarem afastados da exposição há vários anos, pode ter favorecido a normalização da síntese dos fatores quimioatraentes. Entretanto, mesmo nos pacientes com menor tempo de afastamento da exposição, a migração dos monócitos não foi diferente daquela encontrada nos controles normais. Provavelmente, a resposta inflamatória na silicose é iniciada e controlada nos pulmões, repercutindo, discretamente, em outros órgãos.

A sarcoidose é uma doença granulomatosa, cujo agente desencadeante ainda não foi identificado. As alterações anátomo-patológicas são semelhantes às da silicose e, aparentemente, envolvem as mesmas citocinas (Thomas & Hunninghake, 1978). Nesta doença, a reação imunológica no sistema respiratório, é intensa. Muller-Quernheim et al. (1992) comparou a produção de duas interleucinas, a IL-1 e $\text{TNF}\alpha$, pelos macrófagos alveolares e monócitos de portadores de sarcoidose. Os macrófagos alveolares apresentaram aumento da liberação espontânea e estimulada de IL-1 e $\text{TNF}\alpha$, embora somente os monócitos estimulados tenham produzido quantidades basais de IL-1 e $\text{TNF}\alpha$. Os linfócitos pulmonares de pacientes portadores de sarcoidose ativa liberam uma quantidade vinte e cinco vezes maior de fatores quimiotáticos para monócitos, do que os linfócitos T do sangue periférico. (Hunninghake et al., 1980). Gallagher et al. (1988) observaram que, na sarcoidose, os macrófagos alveolares aumentaram os sinais estimuladores para linfócitos T; entretanto, não detectaram a mesma hiperestimulação no sangue periférico.

Por outro lado, Campbell (1977) observou inibição da migração de monócitos em pacientes com sarcoidose, decorrente da produção de um fator plasmático, visto que monócitos normais incubados com plasma destes doentes, apresentavam migração diminuída. Bertran et al. (1992) observaram que os monócitos de indivíduos com sarcoidose produziram menor quantidade de γ -IFN, enquanto Baughman et al. (1990) demonstraram aumento da produção de γ -IFN pelos macrófagos alveolares, nestes

indivíduos. É provável que as citocinas, produzidas pelas células do sangue periférico, estejam envolvidas em mecanismos regulatórios das células do sistema imune pulmonar. Nas doenças inflamatórias crônicas, estes mecanismos estão alterados, favorecendo o aparecimento da lesão do pulmão.

Estas observações, relativas à sarcoidose, estabelecem um modelo de patogenia que pode ser estendido para as pneumoconioses. Borm et al. (1988) encontraram aumento da produção de $\text{TNF}\alpha$ e IL-1 pelos monócitos de portadores de silicose. Assim, embora nesta doença a produção de citocinas pelas células sanguíneas esteja elevada, paradoxalmente, a migração de monócitos, nestes pacientes, está preservada.

A fagocitose é um dos mecanismos mais antigos de defesa. Na silicose, os macrófagos das vias respiratórias fagocitam as partículas, na tentativa de eliminá-las. Como estas são recobertas por fosfolípidos produzidos pelo epitélio respiratório, os macrófagos não são destruídos, permanecendo viáveis e com função fagocitária normal. (Christman et al., 1985).

Schmidt e Douglas (1977) avaliaram os receptores Fc para IgG e C3b de monócitos de pacientes com doenças granulomatosas (sarcoidose, doença de Crohn e tuberculose), observando intensificação da fagocitose de eritrócitos de carneiro, opsonizados com anticorpo anti eritrócito (EA) ou com complexo anticorpo-complemento (EAC), em relação aos indivíduos normais. Rossman et al. (1986) confirmaram estes achados, detectando maior número de receptores Fc para IgG, na membrana de monócitos de indivíduos com sarcoidose. Estes autores propõem que estes monócitos estariam hiperestimulados, na tentativa de retirarem os imunocomplexos circulantes, frequentes nestas doenças.

Em nosso estudo não observamos alteração na fagocitose de partículas de zimosa, pelos monócitos de indivíduos expostos à sílica, quando comparada a de indivíduos normais. Também não houve correlação entre índice e capacidade fagocitárias e tempo de exposição, gravidade da doença e antecedente para tuberculose. Ao contrário dos

macrófagos alveolares, que estão ativados e hiperfuncionantes, os monócitos permanecem quiescentes.

Outro aspecto relevante que procuramos avaliar foi o da produção de ânion superóxido pelos monócitos. Os radicais livres são substâncias químicas que contém elétrons não pareados em um ou mais orbitais atômicos, que podem doar ou captar elétrons ou reagir com outros radicais, para tornarem-se quimicamente mais estáveis. Estes radicais estão presentes em várias funções orgânicas, especialmente nos processos inflamatórios e de envelhecimento. Existem mecanismos de defesa anti-oxidantes que previnem o acúmulo destas substâncias que, em excesso, causam dano tecidual (Condino, 1994).

Na silicose há um aumento de radicais livres no pulmão, particularmente das espécies reativas do oxigênio, como ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH). A produção elevada destes radicais deve-se à reação de grupos silanol, presentes na superfície da sílica, com produtos do organismo, como a água e o ferro. Nos dois casos há reações de óxidorredução com formação de radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio (Ghio et al., 1990; Vallyathan et al., 1988). Acrescenta-se, ainda, uma produção elevada de radicais livres pelos macrófagos alveolares que fagocitaram a sílica, na tentativa de eliminá-la (Rom et al., 1987; Cantin et al., 1988; Sjöstrand et al., 1991 e Hannotiaux et al., 1991).

Estas substâncias desencadeiam uma série de eventos imunológicos que potencializam a fibrose pulmonar, (Davis, 1986). Apesar de estes acontecimentos já terem sido amplamente verificados no pulmão, suas repercussões sistêmicas não foram completamente avaliadas.

Nos indivíduos normais, os macrófagos teciduais apresentam um metabolismo oxidativo inferior ao de monócitos (Fantone & Ward, 1972). Martin et al. (1986) demonstrou maior produção de ânions superóxidos, pelos neutrófilos do sangue periférico e macrófagos alveolares de indivíduos portadores de sarcoidose, em relação aos controles normais. Esta produção era mais intensa quando realizada por neutrófilos do que pelos

macrófagos alveolares. Poli et al. (1988) observou aumento desta produção , mas não encontrou diferença na produção de ânions superóxidos, entre células sangüíneas e pulmonares.

Por outro lado, Nielsen et al. (1990) observaram uma liberação normal de ânions superóxidos por macrófagos alveolares, inferior, porém, à liberada por monócitos dos mesmos pacientes. Após tratamento com corticosteróides, estes autores detectaram aumento na produção de ânions superóxidos pelos macrófagos alveolares, embora sem alteração na quantidade produzida pelos monócitos.

Em nosso trabalho não observamos diferença entre a produção espontânea e estimulada, de ânion superóxido, pelos monócitos de indivíduos expostos à sílica e os controles normais. Também não encontramos correlação entre produção de ânion superóxido, tempo de exposição, gravidade da doença e antecedente para tuberculose.

Estes resultados diferem dos achados de Sherson et al. (1992) que observaram produção subnormal de ânions superóxidos por monócitos de indivíduos portadores de silicose, acompanhada de liberação elevada de ânions superóxidos por macrófagos alveolares, destes mesmos indivíduos. Estes achados repetiram-se nos pacientes que apresentavam pneumonite por hipersensibilidade, mas não nos portadores de sarcoidose e fibrose pulmonar idiopática. Estes dois últimos grupos apresentaram produção normal de ânion superóxido no pulmão e no sangue periférico, sendo a pulmonar, discretamente inferior. Estes autores supõem que, nas doenças relacionadas a fatores ambientais, os produtos tóxicos estimulem, preferencialmente o pulmão, havendo um desvio da resposta imune para este órgão, onde se mantém permanentemente ativada. Na sarcoidose e fibrose pulmonar idiopática também aconteceria uma resposta local, mas, no decorrer do tempo, haveria um esgotamento do macrófago alveolar, que responderia com menor intensidade a outros estímulos.

Em nossa casuística a produção de ânions superóxidos, pelos monócitos, foi normal no grupo de pacientes expostos à sílica. A história profissional destes indivíduos é bastante antiga e a maioria estava afastada da exposição há vários anos. É provável, portanto, que exista um equilíbrio entre a resposta pulmonar e a resposta no sangue periférico. Na evolução da silicose crônica, o pulmão controla a resposta imunológica desencadeada pela sílica, sem necessidade de grandes deslocamentos de células do sangue, para amplificação da resposta pulmonar..

Um reflexo destes fenômenos é a evolução clínica destes pacientes. A maioria dos portadores de silicose desenvolve insuficiência respiratória crônica e cor pulmonale, entretanto, não apresenta história de infecções bacterianas recorrentes, o que reafirma uma resposta imunológica íntegra, em que a apresentação antigênica, a migração celular, a fagocitose e os mecanismos bactericidas estão presentes e atuantes.

Por outro lado, estes indivíduos apresentam maior prevalência de infecções pulmonares específicas, desencadeadas por fungos e micobactérias (Ziskind, Jones e Weill, 1976). Nestas doenças observa-se, também, uma resposta de padrão celular, com recrutamento de macrófagos e linfócitos e posterior formação de granulomas. Estes pacientes são mais suscetíveis a estas infecções, porque a sílica, no interior do macrófago alveolar, facilita a penetração e multiplicação destes microrganismos (Allison & Hart, 1968). Além disto, estes macrófagos secretam IL1 e TNF α que favorecem a necrose caseosa (Rook, 1988), TGF- β que inibe a lise intracelular de micobactérias (Nacy & Meltzer, 1991) e o γ -IFN que promove a formação de granulomas (Rom et al., 1992).

Os mecanismos que modulam a resposta imune pulmonar são múltiplos. A presença e quantidade de antígenos no pulmão determinam a atividade de várias doenças pulmonares granulomatosas que, geralmente, permanecem ativas enquanto o antígeno não é removido. Na silicose, a persistência do antígeno no pulmão, é prolongada, sendo provável que ocorra uma inibição da resposta imune local para controlar a atividade da doença.

Em animais foi demonstrado que nas fases iniciais da formação do granuloma há predomínio de células T “helper”, porém, com a evolução, há uma redução no número de linfócitos, sendo, a maior parte, constituída por linfócitos supressores. Em pacientes portadores de sarcoidose ativa há um aumento no número de linfócitos T “helper” na região dos granulomas, enquanto nos pacientes com doença inativa, há um predomínio de linfócitos T supressores. Resultados semelhantes foram obtidos no lavado bronco alveolar destes indivíduos (Hunninghake & Agstal, 1981).

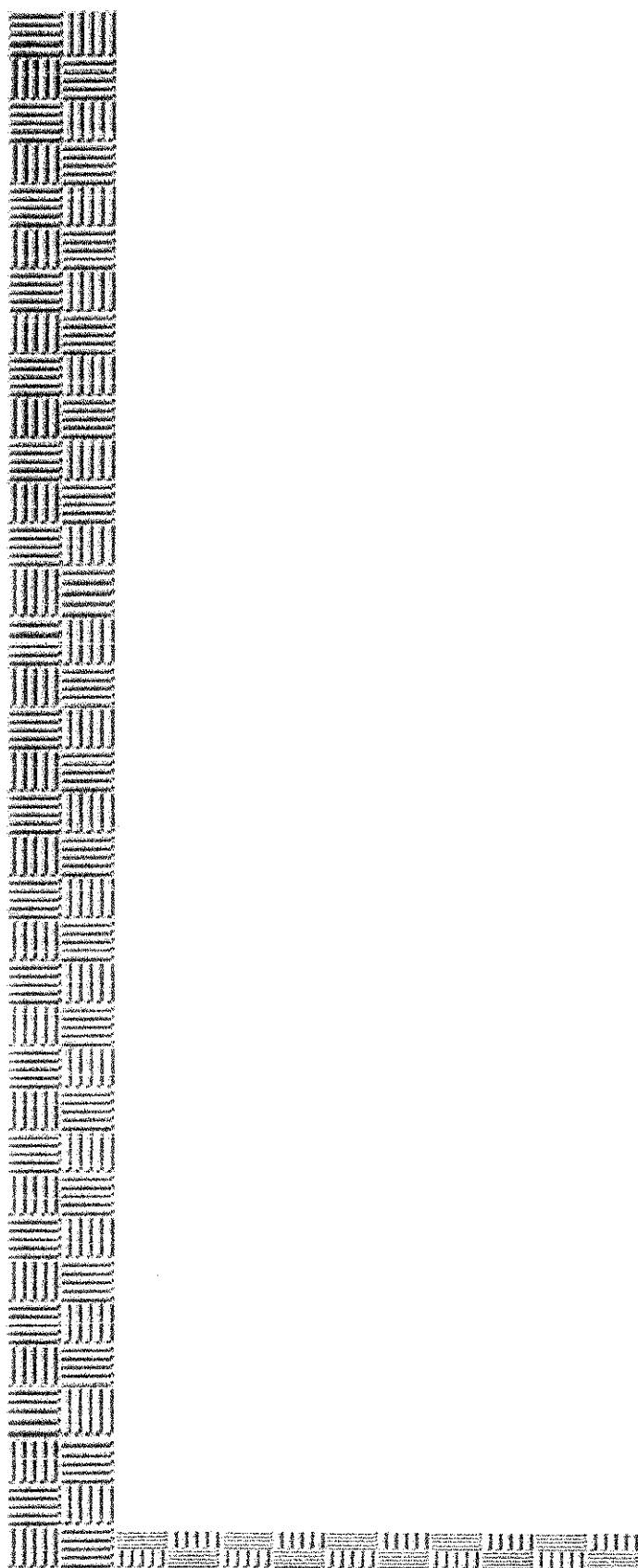
Na pneumonite por hipersensibilidade, induzida em animais, a contínua exposição ao antígeno leva à regressão da doença, sugerindo que ocorra proliferação de linfócitos T supressores, como mecanismo de proteção. É possível que um dos fatores determinantes da atividade da doença, nos processos granulamatosos, seja a exposição a um antígeno capaz de ativar os macrófagos e os linfócitos T “helper”, inibindo a modulação adequada das células T supressoras. (Hunninghake et al., 1984).

Nas pneumoconioses foi demonstrado aumento de linfócitos T no lavado bronco alveolar, tanto em humanos como em ratos. Struhar et al. (1988), Kumar et al. (1990), Rom et al. (1992) observaram predominância de células T-CD₄, ao contrário de Costabel et al (1987) que encontrou maior frequência de células T-CD₈, nestes indivíduos. Isto pode ser explicado pelo fato de os pacientes apresentarem-se em diferentes fases da doença, ou porque aqueles que mostram maior progressão da doença têm predomínio de células T-CD₄, enquanto pacientes com doença estável apresentam aumento de populações de células T-CD₈. Contudo, são necessários estudos mais detalhados a fim de comprovar-se esta hipótese.

As manifestações clínicas nestes indivíduos confirmam a integridade da resposta imune na circulação sangüínea, pois as infecções bacterianas não são mais frequentes nestes pacientes do que na população normal. Ao contrário, estudos experimentais evidenciaram aumento da apresentação antigênica, com maior expressão de receptores Fc para IgG na membrana de monócitos, hiperestimulação policlonal de linfócito B, com maior secreção de imunoglobulinas, e um “burst” respiratório preservado.

Assim, as repercussões sistêmicas da silicose estão ligadas mais às reações de auto-imunidade e à presença da sílica em outros órgãos, como no rim, cuja toxicidade causa lesão tubular e conseqüentemente insuficiência renal (Hanglustaine et al., 1980). No pulmão, entretanto, há exacerbação da resposta imune, a que perpetua a inflamação, danificando os tecidos e ocasionando a perda da modulação fina da resposta imune celular.

Finalizando, a silicose é uma doença causada pela persistência de uma partícula estranho no pulmão. Esta partícula apresenta características que dificultam sua depuração, o que desencadeia uma intensa reação inflamatória, com formação de granulomas, acompanhada de fibrose pulmonar. Esta resposta, entretanto, parece ser modulada e controlada pelo próprio sistema imune do trato respiratório, o que justifica o encontro de funções fagocitárias normais na circulação periférica, como as que observamos no presente trabalho.



6. CONCLUSÕES

Considerando-se a população estudada e os métodos utilizados concluímos que:

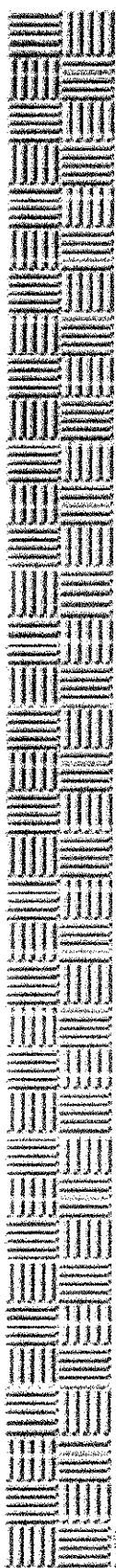
Não houve variação na migração de monócitos incubados com meio, soro humano normal ou de paciente, de indivíduos expostos cronicamente à sílica, em relação aos controles normais.

Não houve variação no índice e capacidade fagocitárias, para partículas de zimosan, nos monócitos de indivíduos expostos cronicamente à sílica, em relação aos controles normais.

Não houve variação na produção de ânion superóxido, por monócitos de indivíduos expostos cronicamente à sílica, em relação aos controles normais.

Também não observamos correlação entre as funções de monócitos estudadas e as condições clínicas dos pacientes, quanto à tempo de exposição à sílica, classificação radiológica e antecedente pessoal para tuberculose.

Enfim, acreditamos que as funções fagocitárias encontram-se normais no sangue periférico de indivíduos expostos cronicamente à sílica, porque as alterações imunológicas que acompanham esta doença manifestam-se, particularmente, nos pulmões, que modulam e controlam a resposta inflamatória desencadeada por esta partícula.



7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição dos valores de quimiotaxia, índice e capacidade fagocitários e produção espontânea e estimulada de ânion superóxido, entre indivíduos expostos à sílica e indivíduos saudáveis, foram do tipo não normal. Escolheram-se, então, testes estatísticos, não paramétricos, para a análise.

Na avaliação das diferenças entre o grupo de indivíduos expostos à sílica e os saudáveis foi empregado o teste de Wilcoxon.

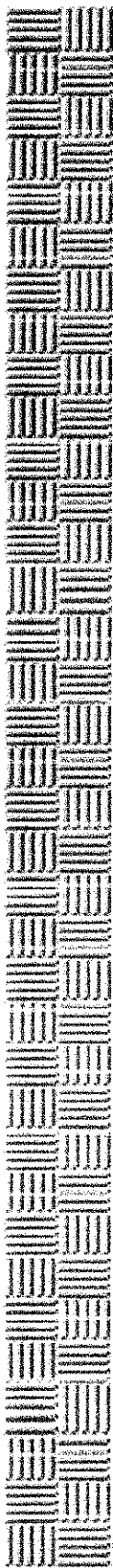
Para as análises de associação entre os índices de atividade fagocitária estudados e as diferentes variações, como tempo de exposição, alteração radiológica e história prévia de tuberculose, foram utilizados os testes estatísticos não paramétricos de Mann-Whitney (para comparação entre o resultado de dois grupos) e Kruskal - Wallis (para comparação entre os resultados de mais de dois grupos). As associações foram consideradas estatisticamente significativas quando verificaram-se valores de p iguais ou menores que 5% (Altman, 1991).

Na elaboração do banco de dados e análise estatística foi utilizado o programa para computadores Epi-Info, versão 5.01 (Dean et al., 1990).



8. *SUMMARY*

The inhalation of silica particles leads to silicosis and the development of a chronic inflammatory disease involving granuloma formation and pulmonary fibrosis. In this work, we have evaluated the chemotaxis, CR1 and CR3 mediated phagocytosis, and superoxide anion production of monocytes from 21 individuals who had experienced chronic exposure to silica and have compared the results with those from 15 unexposed individuals. In the former group, the median spontaneous monocyte migration distance was 27.9 μ while that following stimulation by normal and patient's serum was 66.9 and 62.9 μ in the presence of LPS, respectively. The corresponding values for monocytes from normal individuals were 28.8, 61.2 and 61.2 μ . The monocyte phagocytic index in the presence of culture medium, normal serum and patient's serum was 14.0, 69.6 and 71.1, respectively, for the silica exposed individuals and 17.5, 68.5 and 68.5 for cells from unexposed persons. The median zymosan particle phagocytic capacity of patients' monocyte in culture medium, normal serum and patient's serum was 134.3, 385.3 and 390.0, respectively, while the corresponding values for normal cells were 128.3, 365.3 and 362.3. The spontaneous production of superoxide anions was 4.0 and 3.3 nM/10⁶ cells/h in silica exposed and unexposed monocytes while in presence of zymosan these values were 9.2 and 9.5 nM/10⁶ cells/h, respectively. In none of the above monocyte function tests was there any significant difference between the cells from silica-exposed and unexposed individuals. There was also no correlation between any of the tests results and the radiological classification, length of exposure, or antecedents of tuberculosis. These results therefore suggest that silica initiates an immune response that is modulated and controlled within the lung although there may be subsequent discrete systemic manifestations.



9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABSHER, M.P.; TROMBLEY, L.; HEMENWAY, D.R.; MICKEY, R.M.; LESLIE, K.O. - Biphasic cellular and tissue response of rat lungs after eight-days aerosol exposure to the silicon dioxide cristobalite. **Am. J. Pathol.**, **134**: 1243-1251, 1989.
- ADAMSON, I.Y.R.; BOWDEN, D.H. - Role of polymorphonuclear leukocytes in sílica-induced pulmonary fibrosis. **Am. J. Pathol.**, **117**: 37-43, 1984.
- ADAMSON, I.Y.R.; LETOURNEAU, H.L.; BOWDEN, D.H. - Comparison of alveolar and interstitial macrophages in fibroblast stimulation after sílica and long or short asbestos. **Laboratory Investigation**, **64**: 339-344, 1991.
- ADAMSON, I.Y.R.; LETOURNEAU, H.L.; BOWDEN, D.H. - Enhanced macrophage fibroblast interactions in the pulmonary interstitium increases fibrosis after sílica injection to monocyte depleted mice. **Am. J. Pathol.**, **134**: 411-418, 1989.
- ALLISON, A.C.; HART, P.D.A. - Potentiation by sílica of the growth of mycobacterium tuberculosis in macrophage cultures. **Br. J. Exp. Pathol.**, **49**: 465-476, 1968.
- BAGATIN, E.; NERY, L.E.; JARDIM, J.R.B. - Considerações críticas da concessão do benefício previdenciário. Estudo retrospectivo de trabalhadores expostos à sílica. **Rev. Bras. Saúde Ocup.**, **17** : 14-17, 1989.
- BAGATIN, E.; JARDIM, J.R.B.; NERY, L.E.; DE CAPITANI, E.M.; MARCHI, E.; SABINO, M.O.; HENGLER, A.C. - Ocorrência de silicose pulmonar na região de Campinas-SP. **J. Pneumol.**, **21**: 17-26., 1995.
- BAGCHI, N. - What makes sílica toxic ? **Br. J. Ind. Med.**, **49**: 163-166, 1992.
- BAILEY, W.C.; BROWN, M.; BUECHNER, H.A.; WEILL, H.; ICHINOSE, H.; ZISKIND, M. - Silico-mycobacterial disease in sandblasters. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **110**: 115-125, 1974.

- BAUGHMAN, R.P.; STROHOFER, S.A.; BUCHSBAUM, J.; LOWER, E.E. - Release of tumor necrosis factor by alveolar macrophages of patients with sarcoidosis. **J. Lab. Clin. Med.**, 115: 36-42, 1990.
- BECKLAKE, M.R. - Chronic airflow limitations: its relationship to work in dusty occupations. **Chest**, 88: 608-617, 1985.
- BECKLAKE, M.R. - The mineral dust diseases. **Tubercle and Lung Disease**, 73: 13-20, 1992.
- BÉGIN, R.; LESUR, O.; BONHADIBA, T.; GUOJIAN, L.; LARIVÉE, P.; MELLONI, B.; MARTEL, M.; CANTIN, A. - Phospholipid content of bronchoalveolar lavage fluid in granite workers with silicosis in Quebec. **Thorax**, 48: 840-844, 1993.
- BERTRÁN, G.; ARZR, E.; RESNIK, E.; MOSCA, C.; NAHMOD, V. - Inhibition of interferon gamma production by peripheral blood mononuclear leukocytes of patients with sarcoidosis. **Chest**, 101: 996-999, 1992.
- BISSONNETTE, E.; CARRÉ, B.; DUBOIS, C.; ROLA-PIESZCZYNSKI - Inhibition of alveolar macrophage cytotoxicity by asbestos: possible role of prostaglandins. **Journal of Leukocyte Biology**, 47: 129-134, 1990.
- BORM, P.J.A.; PALMER, N.; ENGELN, J.J.M.; BUURMAN, W.S. - Spontaneous and stimulated release of tumor necrosis factor-alpha from blood monocytes of miners with coal workers' pneumoconiosis. **Am Rev Respir Dis**, 138: 1589-1594, 1988.
- BRAIN, J.D. - Lung macrophages: how many kinds are there ? what do they do ? **Am. Rev. Respir Dis.**, 137: 507-509, 1988.
- BRODY, A.R.; ROE, M.W.; EVANS, J.N.; DAVIS, G.S. - Deposition and translocation of inhaled silica in rats. **Lab. Invest.**, 47: 533-542, 1982.

- BROWN, P.; MONICK, M.; HUNNINGHAKE, G.W. - Fibroblast proliferation induced by sílica-exposed human alveolar macrophages. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **138**: 85-89, 1988.
- CALHOUN, W.J.; CHRISTMAN, J.W.; ERSHLER, W.B.; GRAHAN, W.G.B.; DAVIS, G.S. - Raised immunoglobulin concentrations in bronchoalveolar lavage fluid of healthy granite workers. **Thorax**, **41**: 266-273, 1986.
- CAMPBELL, P.B. - Defective monocyte leukotaxis in sarcoidosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **116**: 251-259, 1977.
- CANTIN, A.; DUBOIS, F.; BÉGIN, R. - Lung exposure to mineral dusts enhances the capacity of lung inflammatory cells to release superoxide. **Journal of Leukocyte Biology**, **43**: 293-303, 1988.
- CAPLAN, A.; COWEN, E.D.H.; GOUGH, J. - Rheumatoid pneumoconiosis in a foundry worker. **Thorax**, **13**: 181, 1958.
- CASTRO, H.A.; BETHLEM, E.P. - A silicose na indústria naval do Estado do Rio de Janeiro: análise parcial. **J. Pneumol.**, **21**: 13-16, 1995.
- CHRÉTIEN, J. - Lung health and occupational disease: an actual and global problem. **Tubercle and Lung Disease**, **73**: 2-3, 1992.
- CHRISTIANI, D.C. - Occupational lung diseases in the industrializing and industrialized world: commonalities and contrast: measurement tools. **Tubercle and Lung Disease**, **73**: 7-12, 1992.
- CHRISTMAN, J.W.; EMERSON, R.J.; GRAHAM, W.G.; DAVIS, G.S. - Mineral dust and cell recovery from the bronchoalveolar lavage of healthy Vermont granite workers. **Am Rev. Respir. Dis.**, **132**: 393-399, 1985.
- COHEN, H.J. & CHOVANIEC, M.E. - Superoxid generation by degitonin - Stimulated guinea pig granulocytes. **J. Clin Invest**, **61**: 1081-1087, 1978.

- CONDINO, A.N. - Radicais livres e o sistema imunológico. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.**, **16**: 168-173, 1993.
- COSTABEL, V.; BROSS, K.J.; HUCK, E.; GUZMAN, J.; MATTHYS, H. - Lung and blood lymphocyte subsets in asbestosis and in mixed dust pneumoconioses. **Chest**, **91**: 110-112, 1987.
- COWIE, R.L.; HAY, M.; THOMAS, R.G. - Association of silicosis, lung disfunction and emphysema in gold miners. **Thorax**; **48**: 746-749, 1993.
- COWIE, R.L.; MABENA, S.K. - Silicosis, chronic airflow limitation, and chronic bronchitis in south african gold miners. **Am. Rev. Respir. Dis.**; **143**: 80-84, 1991.
- DAUBER, J.H.; FINN, D.R.; DANIELE, R.P. - Immunologic abnormalities in anthrosilicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**; **113** (suppl.): 94, 1976.
- DAVIS, G.S. - Pathogenesis of silicosis: current concepts and hypotheses. **Lung**, **164**: 139-154, 1986.
- DAVIS, G.S. - The pathogenesis of silicosis. **Chest Supplement**, **89**: 166-169. S, 1986.
- DE SHAZO, R.D. - Current concepts about the pathogenesis of silicosis and asbestosis. **J. Allergy Clin. Immunol.** **70**: 41-49, 1982.
- DOLL, J.N.; STANKIES, R.P.; HUGHES, J.; WEILL, H.; GUPTA, R.C.; RODRIGUEZ, M.; JONES, R.N.; ALSPAUGH, M.A.; SALVAGGIO, J.E. - Immune complexes and auto-antibodies in silicosis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, **68**: 281-285, 1981.
- DOLL, N.J.; HUGHES, J.; WEILL, H.; SALVAGGIO, J.E. - Autoantibodies in silicosis. **J. Allergy Clin. Immunol.**, **65**: 170, 1980.

- DONALDSON, K.; BOLTON, R.E.; JONES, A.; BROWN, G.M.; ROBERTSON, J.S.; COWIE, H.; DAVIS, J.M.G. - Kinetics of the bronchoalveolar leucocyte response in rats during exposure to equal airborne mass concentrations of quartz, chrysotile asbestos, or titanium dioxide. **Thorax**, **43**: 525-533, 1988.
- DRISCOLL, K.E.; MAURER, J.K.; LINDENSCHMIDT, R.L.; ROMBERGER, D.; RENNARD, S.I.; CROSBY, L. - Respiratory tract responses to dust: relationships between dust, burden, lung injury, alveolar macrophage fibronectin release, and the development of pulmonary fibrosis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, **106**: 88-101, 1990.
- ERASMUS, L.D. - Scleroderma in gold miners on the Witwatersrand, with particular reference to pulmonary manifestations. **S. Afr. J. Lab. Clin. Med.**, **3**: 209, 1957.
- FANTONE, J.C. & WARD, P.A. - Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. **Am. J. Pathol.**, **107**: 397-418, 1972.
- GALLAGHER, R.B.; GUKIAU, M.; BREDA, A.V.; ODLUM, C.; FITZGERALD, M.X. E FEIGHERY, C. - Altered immunological reactivity in alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. **Eur. Respir. J.**, **1**: 153-160, 1988.
- GHIO, A.J.; KENNEDY, T.P.; SCHAPIRA, R.M.; CRUMBLISS, A.L.; HOIDAL, J.R. - Hypothesis: is lung disease after silicate inhalation caused by oxidant generation ? **The Lancet**, **336**: 967-969, 1990.
- GLOVER, J.R.; BEVAN, C.; COTES, J.E.; ELWOOD, P.C.; HODGES, N.G.; KELL, R.J.; LOUR, C.R.; MEDERMOTT, M.; OLDHAM, P.D. - Effects of exposure to slate dust in North Wales. **Br. J. Ind. Med.**, **37**: 152-162, 1980.
- GOODING, C.G. - Pneumocniosis in South Wales anthracite miners. **Lancet**, **2**: 891, 1946.
- GRAHAM, W.G.B. - Silicosis. **Clinics in Chest Medicine**, **13**: 253-267, 1992.

- GRAHAM, W.G.B.; ASHIKAGA, T.; HEMENWAY, D.; WEAVER, S.; O'GRADY, R.V. - Radiographic abnormalities in Vermont granite workers exposed to low levels of granite dust. **Chest**, **100**: 1507-14, 1991.
- GRAHAM, W.G.B.; O'GRADY, R.V.; DUBUC, B. - Pulmonary function loss in Vermont granite workers. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **123**: 25-28, 1981.
- GUPTA, G.S.D. & KAW, J.L. - Formation of lipid peroxides in the subcellular fractions of silicotic lungs in rats. **Eur. J. Respir. Dis.**, **63**: 183-187, 1982.
- GUSEV, V. A. - Effect of quartz and alumina dust on generation of superoxide radicals and hydrogen peroxide by alveolar macrophages, granulocytes and monocytes. **British Journal of Industrial Medicine**, **50**: 732-735, 1993.
- HATRON, P.Y.; PLOUVIER, B.; FRANÇOIS, M.; BACLET, J.L.; DECONNINCK, P.; DEVULDER, B. - Association lupus erythémateux et silicose. **Rev. Méd. Interne.**, **3**: 245-246, 1982.
- HODGSON, J.T.; JONES, R.D. - Mortality of a cohort of in ten miners 1941-86. **Br. J. Ind. Med.**, **47**: 665-676, 1990.
- HOLANDA, M.A.; HOLANDA, M.A.; MARTINS, M.P.S.; FELISMINO, P.H.; PINHEIRO, V.G.F. - Silicose em cavadores de poços : história natural, epidemiologia e medidas de controle. **J. Pneumol.**, **21**: 27-33, 1995
- HOLLEY, J.A.; JANSSEN, Y.M.W.; MOSSMAN, B.T.; TAATJES, D.J. - Increased manganese superoxide dismutase protein in type II epithelial cells of rat lungs after inhalation of crocidolite asbestos or cristobalite silica. **Am. J. Pathol.**, **141**: 475-485, 1992.
- HUANG, J.; SHIBATA, E.; TAKEUCHI, Y.; OKUTANI, H. - Comprehensive health evaluation of workers in the ceramics industry. **Br. J. Ind. Med.**, **50**: 112-116, 1993.

- HUNNINGHAKE, G.W.; GADEK, J.E.; YOUNG, R.C.; KAWANAMI, O.; FERRAUS, V.J.; CRYSTAL, R.G. - Maintenance of granuloma formation in pulmonary sarcoidosis by T-lymphocytes within the lung. **N. Engl. J. Med.**, **302**: 594-598, 1980.
- HUNNINGHAKE, G.W.; GARRET, K.C.; RICHERSON, H.B.; FANTONE, J.C.; WARD, P.A.; RENNARD, S.I.; BITTERMAN, P.B.; CRYSTAL, R.G. - Pathogenesis of the granulomatous lung diseases. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **130**: 476-496, 1984.
- INFANTE-RIVARD, C.; ARMSTRONG, B.; ERNEST, P.; PETITCLERC, M.; CLOUTIER, L.G.; THÉRIAULT, G. - Descriptive study of prognostic factors influencing survival of compensated silicotic patients. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **144**: 1070-1074, 1991.
- JONES, R.N.; WARWICK, M.T.; ZISKIND, M.; WEILL, H. - High prevalence of antinuclear antibodies in sandblasters' silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **113**: 393-395, 1976.
- KLIEN, J.H. & ADAMSON, I.Y.R. - Fibroblast inhibition and prostaglandin secretion by alveolar epithelial cells exposed to silica. **Laboratory Investigation**, **60**: 808-813, 1989.
- KUMAR, R.K. - Quantitative immunohistologic assessment of lymphocyte populations in the pulmonary inflammatory response to intratracheal silica. **Am. J. Pathol.**, **135**: 605-614, 1989.
- KUMAR, R.K.; LI, W.; O'GRADY R. - Activation of lymphocytes in the pulmonary inflammatory response to silica. **Immunological Investigations**, **19**: 363-372, 1990.
- KUMAR, R.K.; O'GRADY, R.; LI, W.; VELAN, G.M. - Mitogenic activity for fibroblasts induced by silica and titanium dioxide particles in vitro and in vivo. **Int. J. Exp. Pathol**, **73**: 573-583, 1992.

- LESUR, O.; CANTIN, A.M.; TANSWELL, A.K.; MELLONI, B.; BEAULIERI, J.F.; BÉGIN, R. - Silica exposure induces cytotoxicity and proliferative activity of type II pneumocytes. **Exp. Lung Res.**, **18**: 173-190, 1992.
- LESUR, O.; MELLONI, B.; CAUTIN, A.M.; BÉGIN, R. - Silica-exposed lung fluids have a proliferative activity for type II epithelial cells: a study on human and sheep alveolar fluids. **Exp. Lung. Res.**, **18**: 633-654, 1992a.
- LI, W.; KUMAR, R.K.; O'GRADY, R.; VELAN, G.M. - Role of lymphocytes in silicosis: regulation of secretion of macrophage derived mitogenic activity for fibroblasts. **Int. J. Exp. Path.**, **73**: 793-800, 1992.
- LOWRIE, D.B. - What goes wrong with the macrophage in silicosis ? **Eur. J. Respir. Dis.**, **63**: 180-182, 1982.
- LUGANO, E.M.; DAUBER J.H.; DANIELE, R.P. - Silica stimulation of chemotactic factor release by guinea pig alveolar macrophages. **Journal of the Reticuloendothelial Society**, **30**: 381-390, 1981
- LUGANO, E.M., DAUBER, J.; DANIELE, R.P. - Acute experimental silicosis. **Am. J. Pathol.**, **109**: 27-36, 1982.
- LUGANO, E.M.; DAUBER J.H.; ELIAS J.A.; REZA, I.B.; JIMENEZ, S.A.; DANIELE, R.P. - The regulation of lung fibroblast proliferation by alveolar macrophages in experimental silicosis. **Am. Rev. Respir Dis.**, **129**: 767-771, 1984.
- LUSUARDI, M.; CAPELLI, A.; CARLI, S.; DONNER, C.F. - Inflammatory and immune reactions associated with inorganic dust exposure: comparison between patients with and without clinical lung involvement. **Eur. Respir. J.**, **3**: 365-367, 1990.
- MALMBERG, P.; HEDENSTRÖM, H.; SUNDBLAD, B.M. - Changes in lung function of granite crushers exposed to moderately high silica concentrations: a 12 year follow up. **Br. J. Ind. Med.**, **50**: 726-731., 1993.

- MANCINO, D. & BEVILACQUA, N. - Adjuvant effect of amorphous silica on the immune response to various antigens in guinea pigs. **Int. Archs Allergy Appl. Immun.**, **53**: 97-103, 1977.
- MARTIN, R.R.; LAWRENCE, E.C.; TLAGUE, R.B.; GOTTLIEB, M.S.; PUTMAN, M. - Chemiluminescence of lung macrophages and blood leukocytes in sarcoidose. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **133**: 298-301, 1986.
- MARTINET, Y. E MARTINET, N. - Chimiotactisme et migrations cellulaires en pathologie respiratoire. **Rev. Mal. Resp.**, **7**: 301-306, 1990.
- McCORD, J. & FRIDOVICH, I. - Superoxide desmutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **J. Biol. Chem**, **244**: 6044-6055, 1969.
- MENDES, R. - Estudo epidemiológico sobre a silicose pulmonar na região sudeste do Brasil, através de inquérito em pacientes internados em hospitais de fisiologia. **Rev. Saúde Públ.** **13**: 7-19, 1979.
- MENDES, R. - Medicina do trabalho e doenças profissionais. 1ª Ed., São Paulo - Ed. **Sarvier**, 129-196, 1980.
- MÜLLER-QUERNHEIN, J.; PFEIFER, S.P.; MÄNNEL, D.; STRAUSS, J.; FERLIUZ, R. - Lung - restricted activation of the alveolar macrophage/monocyte system in pulmonary sarcoidosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **145**: 187-192, 1992.
- NACY, C.A. & MELTZER, M.S. - T-Cell mediated activation of macrophages. **Current Opinion in Immunology**, **3**: 330-335, 1991.
- NEWMAN, L.S.; KREISS, K.; CAMPBELL, P.A. - Natural killer cell tumoricidal activity in cigarette smokers and in silicotics. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **60**: 399-411, 1991.
- NG T-P.; CHAN, S.L. - Lung function in relation to silicosis and silica exposure in granite workers. **Eur. Respir. J.**, **5**: 986-991, 1992.

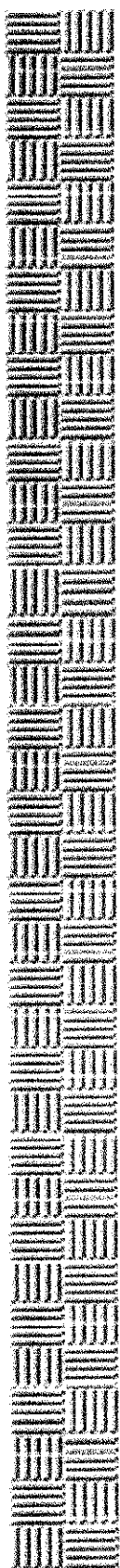
- NG, T.P.; CHAN, S.L. - Factors associated with massive fibrosis in silicosis. **Thorax**, **46**: 229-232, 1991.
- NG, T.P.; CHAN, S.L.; LEE, J. - Predictors of mortality in silicosis. **Respiratory Medicine**, **86**: 115-119, 1992.
- NIELSEN, H.; FREDERIKSEN, J.; SHERSON, D.; MILMAN, N. - Comparison of alveolar macrophage and blood monocyte oxidative burst response in pulmonary sarcoidosis. **APMIS**, **98**: 401-406, 1990.
- PANCOAST, H.K. & PENDERGRASS, E.P. - Roentgenologic aspect of pneumoconiosis and its differential diagnosis. **JAMA**, **1**: 587, 1933.
- POLI, G.; ERROI, A.; POLENTARUTTI, N.; VAGO, L.; LUISETTI, M.; BIONDI, A.; MANTOVANI, A. - Defective chemotaxis of human alveolar macrophages. **Clin. Immunol Immunopathol**, **47**: 282-288, 1988.
- RODNAM, G.P., BENEDEK, T.B.; MEDSGER, T.A. Jr.; CAMMARATA, R.J. - The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miner's pneumoconiosis and other forms of silicosis. **Ann. Intern. Med.**, **66**: 323, 1967.
- ROM, W.N. & TRAVIS, W.D. - Lymphocyte-macrophage alveolitis in nonsmoking individuals occupationally exposed to asbestos. **Chest**, **101**: 779-786, 1992.
- ROM, W.N.; PETER, B.B.; RENNARD, S.I.; CANTIN, A.; CRYSTAL, R.G. - Characterization of the lower respiratory tract inflammation of nonsmoking individuals with interstitial lung disease associated with chronic inhalation of inorganic dusts. **Am. Rev. Respir Dis.**, **136**: 1429-1434, 1987.
- ROMAN, J.S.; WICHMANN, I.; SALABERRI, J.; VARELA, J.M.; ROLDAN, A.N. - Multiple clinical and biological autoimmune manifestations in 50 workers after occupational exposure to silica. **Ann. Rheum. Dis.**, **52**: 534-538, 1993.

- ROOK, G.A.W. - Role of activated macrophages in the immunopathology of tuberculosis. **British Medical Bulletin**, 44: 611-623, 1988.
- ROSSMAN, M.D.; CHIEN, P.; CASSIZZI-CPREK; ELIAS, J.A.; HOLIAN, A.; SCHREIBER, A.D. - The binding of monomeric IgG to human blood monocytes and alveolar macrophages. **Am. Rev. Respir. Dis.**, 133: 292-297, 1986.
- RUSSEL, A.E.; BRITTEN, R.H.; THOMPSON, L.R. - Health of workers in dusty trades II - Exposure to silicous dust (granite industry). **Public Health Bulletin n° 187**, U.S. Public Health Service, Washington, DC., 1929 (Apud Graham W.G.B. et al, 1991).
- SCHMIDT, J.A.; OLIVER, C.N.; LEPE ZUNIGA, J.L.; GREEN, I.; GERY, I. - Silica stimulated monocytes release fibroblast proliferation factors identical to interleukin 1. **The Journal of Clinical Investigation**, 73: 1462-1472, 1984.
- SCHMIDT, M.E.; DOUGLAS, S.D. - Monocyte IgG receptor activity, dynamics and modulation in normal individuals and patients with granulomatous diseases. **J. Lab. Clin. Med.**, 89: 332-340, 1977.
- SHARFMAN, A. E COLABORADORES - An attempt to evaluate lung aggression in monkey silicosis: hidrolases, peroxidase and antiproteases activities in serial bronchoalveolar lavages. **Eur. Respir J.**, 4: 191-204, 1991.
- SHARFMAN, A. E COLABORADORES - Special neutrophil elastase inhibitory activity in BAL fluid from patients with silicosis and asbestosis. **Eur. Respir J.**, 2: 751-757, 1989.
- SHARMA, S.K.; PAUDE, J.N.; VERMA, K. - Effect of prednisolone treatment in chronic silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, 143: 814-821, 1991.

- SHERSON, D.; NIELSEN, H. FREDERIKSEN, J.; MILMAN, N.; STRUAR-CHRISTENSEN; PETERSEN, B.N. - Superoxide anion release from blood monocytes and alveolar macrophages in patients with diffuse lung fibrosis. **APMIS**, **100**: 408-414, 1992.
- SILICOSIS AND SILICATE DISEASE COMMITTEE - Diseases associated with exposure to silica and nonfibrous silicate minerals. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **112**: 673-720, 1988.
- SJÖRSTRAND, M.; ABSHER, P.M.; HEMENWAY, D.Q.; TROMBLEY, L.; BALDOR, L.C. - Comparison of lung alveolar and tissue cells in silica induced inflammation. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **143**: 47-52, 1991.
- SNIDER Jr, D.E. - The relationship between tuberculosis and silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **118**: 455-460, 1978.
- SOUZA FILHO, A.J. & ALICE, S.H. - Fibrose maciça pulmonar progressiva. **J. Pneumol.**; **17**: 147-153, 1991.
- STANKIES, R.P. & SALVAGGIO, J.E. - Bronchopulmonary humoral and cellular enhancement in experimental silicosis. **J. Reticuloendothel Soc.**, **29**: 153-161, 1980.
- STRUHAR, D.; HARBECK, R.J.; MASON, R.J. - Lymphocyte populations in lung tissue, bronchoalveolar lavage fluid, and peripheral blood in rats at various times during the development of silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **139**: 28-32, 1989.
- STRUHAR, D.; HARBECK, R.J.; MASON, R.J. - Lymphocyte populations in lung tissue bronchoalveolar lavage fluid, and peripheral blood in rats at various times during the development of silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **139**: 28-32, 1989.
- TAKEMURA, T.; ROM, W.N.; FERRAUS, V.J.; CRYSTAL, R.G. Morphologic characterization of alveolar macrophages from subjects with occupational exposure to inorganic particles. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **140**: 1674-1685, 1989.

- TERRITO, M.C. & CLINE, M.J. Monocyte function in man. **J. Immunol.**, **118**: 1303-1309, 1976.
- THOMAS, P.D. & HUNNINGHAKE, G.W. - Current concepts of the pathogenesis of sarcoidosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **135**: 747-760, 1987.
- TRASKO, V.M. - Some facts on the prevalence of silicosis in the United States. **Arch. Indust. Health**, **14**: 379, 1956.
- VALLYATHAN, V.; XIANGLIN, S.; DALAL, N.S.; IRR, W.; CASTRANOVA, V. - Generation of free radicals from freshly fractured silica dust. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **138**: 1213-1219, 1988.
- VAN FURTH, R.; VAN-ZWET, T.L.; LEIJH, P.C.J. *In vitro* determinations of phagocytosis and intracellular killing, by polymorphonuclear and mononuclear phagocytes. **Handbook of experimental immunology** 3rd. ed. Oxford Black Well Scientific publications: 32, 1978.
- VANHÉE, D.; GOSSET, P.; BOITELLE, A.; WALLAERT, B.; TONNEL, A.B. - Cytokines and cytokine network in silicosis and coal workers pneumoconiosis. **Eur. Respir. J.**, **8**: 834-842, 1995.
- VILELA, M.M.S. - Fagocitose em crianças com anemia falciforme. **Tese de doutoramento apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP.**
- VUORIO, E.I.; MAKELA, J.K.; VUORIO, T.K.; POOLE, A.; WAGNER, J.C. - Characterization of excessive collagen production during development of pulmonary fibrosis induced by chronic silica inhalation in rats. **Br. J. Exp. Path.**, **70**: 305-315, 1989.
- WAGNER, J.C.; BURNS, J.; MUNDAY, D.; MCGEE, J.D. - Presence of fibronectin in pneumoconiotic lesions. **Thorax**, **37**: 54-56, 1982.

- WILLIAMS, A.O.; FLAUDES, K.C.; SAFFIOTTI - Immunohistochemical localization of transforming growth factor β_1 in rats with experimental silicosis, alveolar type II, hiperplasia and lung cancer. **Am. J. Pathol.**, **142**: 1831-1840, 1993.
- ZISKIND, M.; SCHUYLER, M.; SALVAGGIO, J. - Cell-mediated immunity in silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **116**: 147-151, 1977.
- ZISKIND, W.; JONES, R.N.; WEILL, H. - Silicosis. **Am. Rev. Respir. Dis.**, **113**: 643-665, 1976.



10. ANEXOS

ANEXO 1 - QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	Mo-M	Mo-SHN	Mo-SP
1.-AJS	29,225	55,650	74,450
2.- JDF	15,825	53,100	47,300
3.- LL	27,900	45,550	46,450
4.-OR	78,250	93,600	81,950
5.- AS	47,500	70,000	83,100
6.- DB	24,250	59,700	56,150
7.- JBE	23,000	66,500	63,800
8.- PB	59,800	65,900	62,850
9.- GRP	45,650	68,400	66,650
10.- JM	31,900	62,550	60,700
11.- JB	25,425	67,300	54,250
12.- DS	24,125	NR	64,500
13.- ASF	43,400	77,425	54,050
14.- JS	26,550	97,150	90,400
15.- ACO	25,050	81,475	84,550
16.- JCS	21,100	81,100	56,300
17.- SC	31,400	69,100	45,825
18.- WF	30,125	62,600	57,275
19.- JMS	21,975	60,100	63,100
20.- MLZ	28,200	69,000	66,575
21.- HR	21,950	43,625	39,875

Mo-M: Monócito incubado com meio

Mo-SHN: Monócito incubado com soro normal

Mo-SP: Monócito incubado com soro do paciente

ANEXO 2 - QUIMIOTAXIA DE MONÓCITOS NO GRUPO CONTROLE

Identificação	Mo-M	Mo-SC
1.- M	13,900	41,200
2.- DG	34,525	83,400
3.- PA	32,200	61,775
4.- SAN	30,600	61,200
5.- MP	39,300	48,550
6.- AB	28,775	55,325
7.- LC	49,675	65,700
8.- JB	24,025	43,450
9.- IP	22,075	51,575
10. MB	20,250	52,125
11.- AC	19,075	64,475
12.- SR	25,125	57,625
13.- IS	28,600	74,100
14.- E	32,950	64,100
15.- LC	51,775	70,050

Mo-M: Monócito incubado com meio

Mo-SP: Monócito incubado com soro controle

ANEXO 3 - ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS ZIMOSAM NOS INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	Zm-M	Zm-SN	Zm-SP
1.- AJS	4,691	45,430	61,684
2.- JDF	8,198	86,990	85,825
3.- LL	37,144	80,917	76,858
4.- OR	34,612	84,284	74,684.
5.- AS	12,673	62,647	67,716
6.- DB	4,924	70,666	NR
7.- JBE	18,671	81,120	NR
8.- PB	14,536	63,414	75,118
9.- GRP	27,568	62,669	72,727
10.- JM	9,774	75,543	76,774
11.- JB	19,881	57,720	65,656
12.- DFS	NR	NR	NR
13.- ASF	26,415	46,722	35,540
14.- JS	13,435	51,979	52,206
15.- ACO	25,475	89,446	93,313
16.- JCS	17,173	68,481	71,095
17.- SC	6,619	62,136	57,017
18.- WF	4,535	74,371	77,663
19.- JMS	3,493	73,902	NR
20.- MLZ	10,000	92,356	43,572
21.- HR	26,934	58,066	65,120,

Zm-M: fagocitose de partículas incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas incubadas com soro humano normal

Zm-SP: fagocitose de partículas de zimosan incubadas com soro de paciente

ANEXO 4 - ÍNDICE FAGOCITÁRIO PARA PARTÍCULAS DE ZIMOSAN NO GRUPO CONTROLE

Identificação	Zm-M	Zm-SC
1.- MA	89,440	81,250
2.- DG	8,955	74,683
3.- P	22,186	28,653
4.- SAN	32,091	70,317
5.- MP	14,326	55,714
6.- AB	NR	NR
7.- LC	21,009	73,838
8.- JB	8,849	60,751
9.- IP	30,496	76,102
10.- MH	12,944	61,966
11.- AC	13,445	69,359
12.- SR	13,089	61,084
13.- IS	23,521	74,682
14.- E	8,184	48,543
15.- LCM	20,766	67,625

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro controle

ANEXO 5 - CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	Zm-M	ZM-SN	Zm-SP
1.- AJS	122,0	471,5	409,5
2.- JDS	138,5	401,0	404,0
3.- LL	142,5	402,5	365,5
4.- OR	167,5	494,5	617,5
5.- AS	116,0	335,0	320,0
6.- DB	112,5	610,0	100,0
7.- JBE	128,0	354,0	108,0
8.- PB	130,0	432,0	511,5
9.- GRP	150,5	312,5	390,0
10.- JM	100,0	482,0	22,0
11.- JB	128,0	361,0	572,0
12.- DFS	NR	NR	NR
13.- ASF	162,0	168,0	209,0
14.- JS	187,5	385,0	347,0
15.- ACO	179,0	422,0	410,0
16.- JCS	146,5	368,5	404,0
17.- SC	122,0	262,0	210,0
18.- WF	103,5	294,5	320,5
19.- JMS	113,0	341,5	NR
20.- MLZ	148,0	403,5	194,0
21.- HR	140,0	385,5	421,0

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SN: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro normal

Zm-SP: fagocitose de zimosam incubadas com soro de paciente

ANEXO 6 - CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MONÓCITOS DO GRUPO CONTROLE

Identificação	Zm-M	Zm-SC
1.- M	125,5	435,0
2.- DG	133,0	478,0
3.- P	139,0	162,0
4.- SAN	206,0	444,0
5.- MP	160,0	338,0
6.- AB	nr	nr
7.- LC	126,0	295,0
8.- JB	114,0	357,5
9.- IP	127,5	380,0
10.- MH	185,0	353,0
11.- AC	127,5	290,0
12.- SR	126,0	367,5
13.- IS	167,0	452,5
14.- E	120,0	265,0
15.- LCM	129,0	469,0

Zm-M: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com meio

Zm-SC: fagocitose de partículas de zimosam incubadas com soro controle.

ANEXO 7 - PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS À SÍLICA

Identificação	Esp	Estim. Zim.
1.- AJS	3,270	8,199
2.- JDF	1,137	9,240
3.- LL	NR	11,677
4.- OR	3,033	6,490
5.- AS	NR	11,859
6.- DB	1,753	16,331
7.- JBE	NR	14,950
8.- PB	3,364	4,075
9.- GRP	3,554	9,099
10.- JM	1,611	12,701
11.- JB	NR	6,530
12.- DFS	5,402	8,151
13.- ASF	3,270	3,554
14.- JS	2,227	9,089
15.- ACO	1,370	3,459
16.- JCS	NR	10,845
17.- SC	4,312	10,426
18.- WF	4,834	11,090
19.- IMS	3,886	7,611
20.- MLZ	0,379	10,710
21.- HR	NR	22,305

Esp. : produção espontânea

Estim.Zim.: produção estimulada com zimosam

ANEXO 8 - PRODUÇÃO DE ÂNION SUPERÓXIDO POR MONÓCITOS DO GRUPO DE CONTROLE

Identificação	Esp	Estim. Zim.
1.- M	4,270	11,502
2.- DG	1,033	10,199
3.- P	1,230	7,331
4.- SAN	NR	11,184
5.- MP	3,156	11,687
6.- AB	NR	13,881
7.- LC	NR	15,563
8.- JB	1,848	6,445
9.- IP	6,540	7,095
10.- MH	1,090	6,113
11.- AC	4,075	10,710
12.- SR	4,028	5,165
13.- IS	3,459	6,066
14.- E	7,345	8,151
15.- LCM	1,990	9,526

Esp: Produção espontânea

Estim.Zim.: Produção estimulada com zimosam