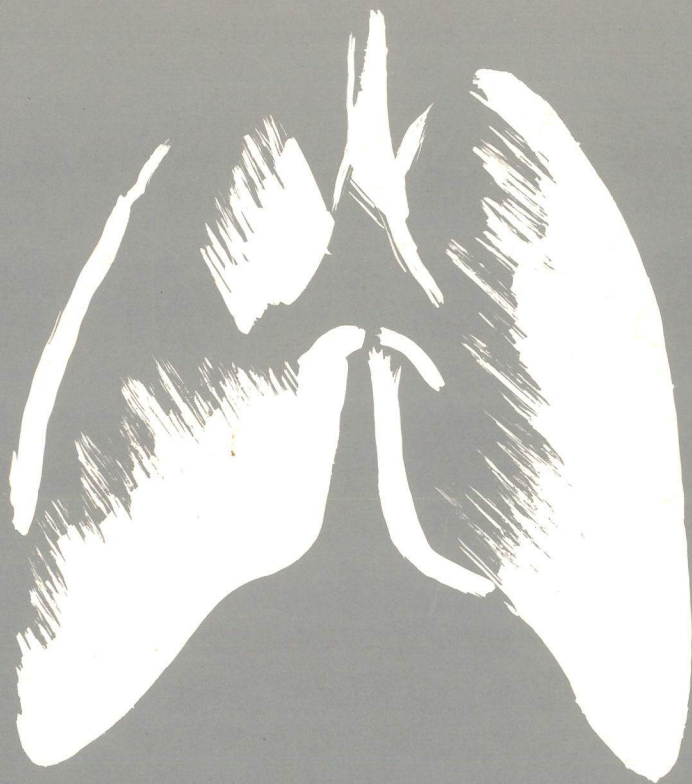


José Rosemberg



Enfisema do Pulmão

Sobre a Fisiopatologia e o Tabagismo,
primordial fator de risco.

248
2e
2
TEC

3238

616.248
R812e
1992

INCA - BIBLIOTECA
MEMÓRIA TÉCNICA
Nº REGISTRO 225/10
EM 15 / 109 / 2010

PREFÁCIO	1
ÍNDICE	
1 - INTRODUÇÃO.....	3
2 - DIMENSÃO DO PROBLEMA.....	3
3 - CONCEITO.....	4
4 - FATORES DE RISCO.....	6
4.1 - Papel do Tabaco.....	6
4.2 - Outros Fatores de Risco.....	10
4.2.1 - <i>Fatores Genéticos</i>	10
4.2.2 - <i>Poluição Atmosférica</i>	11
4.2.3 - <i>Poluentes Ocupacionais</i>	11
4.2.4 - <i>Poluição Ambiental. Fumantes Passivos</i>	12
5 - ENFISEMA MEDIADO PELA BRONQUITE GERADORA DO MECANISMO OBSTRUTIVO.....	16
5.1 - Alterações Morfo-Funcionais.....	16
5.2 - Prejuízos nas Defesas Pulmonares.....	18
5.3 - Limitação Persistente do Fluxo Aéreo Expiratório.....	19
6 - MECANISMO ENZIMÁTICO NA GÊNESE DO ENFISEMA DO PULMÃO.....	22
6.1 - Produção Experimental do Enfisema do Pulmão.....	23
6.2 - Equilíbrio Proteases-Antiproteases.....	24
6.2.1 - <i>Proteases</i>	24
6.2.2 - <i>Antiproteases</i>	26
6.3 - Sistema Oxidantes-Antioxidantes.....	31
6.3.1 - <i>Oxidantes (Radicais Livres de Oxigênio)</i>	32
6.3.2 - <i>Antioxidantes</i>	33
7 - PAPEL DO CIGARRO NO DESENVOLVIMENTO DO ENFISEMA DO PULMÃO PELO DESEQUILÍBRIO ENZIMÁTICO.....	34
7.1 - Aumento da Elastase.....	34
7.2 - Oxidantes do Fumo Provocam o Desequilíbrio Enzimático do Pulmão e Lesam o Parênquima.....	36
7.3 - O Fumo Obstaculiza a Neoformação da Elastina.....	38
8 - PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS E PREVENÇÃO.....	43
8.1 - Enfisema nos Fenótipos PiZZ e PiMM.....	43
8.2 - Enfisema nos Fenótipos Normais com Desequilíbrio do Sistema Proteases-Antiproteases.....	45
8.3 - Prevenção do Enfisema do Pulmão.....	49
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
9.1 - Referências I.....	51
9.2 - Referências II.....	60

PREFÁCIO

Muito nos honrou o ilustre Prof. Dr. José Rosemberg, em nos ter convidado a prefaciar essa sua monografia que aborda importantes e modernos conceitos sobre a fisiogênese e algumas perspectivas terapêuticas do Enfisema Pulmonar. O Prof. Rosemberg, uma das autoridades sobre Tabagismo, vem em conjunto com vários profissionais que atuam na área, lutando pela implementação de uma legislação antitabágica em âmbito nacional e através a ativa e imprescindível participação das instituições médico-científicas ampliar as medidas educativas para alertar, conscientizar a população em geral, principalmente o jovem e os órgãos governamentais que o tabagismo responde por 80 a 90% da doença pulmonar obstrutiva crônica, por uma porcentagem enorme de acidentes circulatórios graves (coronarianos e cerebrais) além de outras duas dezenas de doenças. Quem fuma morre 200 a 600% a mais que o indivíduo sem tabagismo.

O tabagismo é uma das únicas situações em que as doenças decorrentes são preveníveis e além do mais são de âmbito social, poluindo o ambiente de trabalho, domiciliar, principalmente para as crianças e cônjuges, que constituem hoje grupo de risco evidente — fumante passivo. Os efeitos do tabaco podem nos atingir inclusive antes do nosso nascimento.

Infelizmente até o presente momento os profissionais que atuam na área estão desamparados na luta desigual e avassaladora contra as poderosas indústrias do tabaco que conseguem através da propaganda atraente e provocante levar para as catacumbas seus fiéis súditos, precocemente, sofridos e empobrecidos.

Está de parabéns o Prof. Rosemberg pela obra que abrange vários e importantes tópicos sobre o Enfisema Pulmonar, destacando-se pelas modernas concepções sobre a gênese da doença, que basicamente envolve fenômenos de oxidação por elementos contidos no tabaco; seja em sua fase gaseosa quanto particulada, que ocasionam: 1) desequilíbrio do sistema protease - anti-protease, advindo basicamente a inativação da alfa 1 anti-tripsina, depleção de anti-oxidantes endógenos - cisteína e glutathione e liberação da mieloperoxidase, que é enzima oxidante. A elastolise se instala; 2) o tabagismo obstaculiza a inibição da elastase; 3) o tabagismo dificulta a ressintese de elastina.

Em relação ao tratamento, o trabalho do Prof. Rosemberg aborda vários recursos que estão em fase de estudos indo desde o uso de drogas anti-oxidantes, como é o caso da acetilcisteína até o recurso da engenharia genética.

O único tratamento eficaz no momento é o preventivo.

Prof. Dr. MIGUEL BOGOSSIAN

Chefe da Disciplina de Pneumologia da E.P.M. - Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Pneumologia da Escola Paulista de Medicina.

ENFISEMA DO PULMÃO SOBRE A FISIOPATOLOGIA E O TABAGISMO PRIMORDIAL FATOR DE RISCO

José Rosenberg(*)

1 - INTRODUÇÃO

O enfisema pulmonar vem ocupando progressivos espaços na literatura pelo extraordinário aumento de sua significância epidemiológica, por ser doença tabaco-associada altamente incapacitante levando à morte por insuficiência cardio-respiratória e/ou por fatores intercorrentes infecciosos aos quais o aparelho respiratório se torna muito vulnerável. Incluído no rótulo de Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), novos mecanismos fisiopatológicos foram descortinados nos últimos decênios com os estudos clínicos, experimentais e de biologia molecular. Mais recentemente ganharam importância processos implicados estreitamente no desencadeamento da doença, especialmente os desequilíbrios de dois sistemas: oxidantes-antioxidantes e proteases-antiproteases.

Tornou-se por isso de interesse a presente atualização do artigo publicado em 1987(425) ampliando dados sobre aspectos ali ventilados acrescentando informações importantes surgidas nestes últimos anos(**).

2 - DIMENSÃO DO PROBLEMA

A DPOC (bronquite crônica-enfisema pulmonar) vem progredindo em todos os países em proporções alarmantes paralelamente com o consumo de tabaco pelas populações. Nos países com boa estatística o fato pode ser avaliado com mais precisão. Nos Estados Unidos, em 1983, registraram-se 10 milhões de casos de DPOC, sendo cerca de 7.5 milhões com predominância de bronquite crônica e 2.5 milhões com manifestação mais acentuada de enfisema; este foi responsável por 150 mil óbitos (88). Já em 1986, nesse país, calculou-se a existência de 13.4 milhões de pessoas portadoras desse processo, contribuindo com 3.6% da mortalidade geral. A prevalência foi de 11% nos homens e 12% nas mulheres, entre 55 a 89 anos de idade (341). Em 1987, na Inglaterra os casos de DPOC constituíram 25% das consultas nos serviços de clínica geral. Na reunião conjunta sobre essa doença da Organização Mundial de Saúde e da União Internacional contra a Tuberculose e Doenças Respiratórias, realizada em 1989, os 23 países participan

(*) Professor Titular de Tisiologia e Pneumologia da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo. Presidente do Comitê Coordenador do Controle do Tabagismo no Brasil. Membro Técnico do Grupo Assessor ao Ministério da Saúde para o Controle do Tabagismo no Brasil.

(**) Consignamos sensibilizados os agradecimentos à Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia e à Associação Ítalo-Latino Americana de Pneumologia e Alergologia Respiratória pelo seu patrocínio ao presente trabalho, conferindo-lhe o mais honroso prestígio, e ao Dr. Altino Cattapan, que se destaca por promover e estimular continuados simpósios e encontros médico-científicos sobre a DPOC, pelo seu empenho, dentro dessa linha, de tornar possível a impressão deste trabalho e propiciar-lhe os meios de ampla divulgação.

tes apresentaram dados preocupantes do crescimento epidemiológico da DPOC em todos eles (471). Entre nós, no período dos 15 anos anteriores a 1982, a DPOC teve aumento de 600% (223).

São elevados os prejuízos sócio-econômicos do enfisema do pulmão. É a mais onerosa das doenças tabaco-associadas pelo longo tempo que exige de assistência médico-hospitalar e, por ser incapacitante, causa vultosos prejuízos à produtividade. Nos Estados Unidos a redução da atividade é estimada em cerca de 70 dias de absenteísmo no trabalho por doente e por ano, não obstante a doença ser mais freqüente a partir dos 45 anos. Em 1979 o custo do enfisema pulmonar, incluindo as despesas indiretas com pensões e mortes, ascendem a 6.5 bilhões de dólares (88). Nesse país, em 1985, o seu custo ascendeu a 14 bilhões de dólares, sendo metade pelas despesas diretas e outra metade, indiretas (341).

Os achados de autópsias retratam bem a freqüência do enfisema pulmonar notadamente nos fumantes, que se eleva abruptamente a partir dos 40 anos de idade: daí por diante cerca de quatro quintos dos tabagistas apresentam alguma forma de enfisema, inclusive aqueles que, em vida, não acusavam sintomas respiratórios notórios (229).

3 - CONCEITO

Laennec, descobridor da especificidade e da unidade das lesões da tuberculose, estabeleceu também meticulosa correlação do enfisema encontrado na autópsia e a sintomatologia clínica. É, portanto, singular que só depois de decorrido quase um século e meio, se viesse a estabelecer um acordo sobre o conceito do enfisema. Pode-se avaliar o descompasso reinante ainda há 30 anos, pelo histórico estudo de Fletcher (58) comparando doentes enquadrados em Londres como bronquíticos, com os rotulados como enfisematosos em Chicago. Apurou-se então que os dois grupos eram semelhantes na maior parte dos aspectos, concluindo-se que a distinção entre a bronquite inglesa e o enfisema americano era predominantemente semântica. Foi proposto que os pacientes com obstruções crônicas generalizadas, não-específicas, das vias aéreas, deveriam ser definidos como portadores de "doença pulmonar obstrutiva crônica", com a seguinte subclassificação: tipo A (alveolar ou enfisematoso), tipo B (bronquítico ou inflamatório) e tipo misto (os dois processos associados). Diga-se de passagem que neste estudo houve outra constatação para a qual não se deu, na época, a ênfase devida: todos os doentes, sem exceção, dos dois lados do Atlântico, eram tabagistas... e como se tratava de fumantes os dois processos estavam presentes na maioria dos pacientes.

Assim, sob o rótulo de DPOC vêm sendo englobadas duas entidades diferentes: bronquite crônica e enfisema pulmonar. Em 1959 o Ciba Guest Symposium (39) procurou defini-las: a bronquite crônica foi definida como "uma condição crônica ou recorrente de secreção de excessivo muco na árvore brônquica", e o enfisema como "uma condição do pulmão caracterizada por aumento acima do normal no tamanho dos espaços aéreos distais ao bronquíolo terminal, seja por dilatação ou por destruição de suas paredes". Esta

conceituação foi mantida depois pela American Thoracic Society (8), ficando claro que a condição de enfisema do pulmão implica não só aumento dos espaços alveolares, como também a destruição dos septos. Conceituação mais pormenorizada foi estabelecida, em 1975, em comum pela American Thoracic Society e pelo American College of Chest Physicians (7). Foi postulado que bronquite é desordem, não-neoplásica, de estrutura e função bronquiais resultante de infecção ou agentes irritativos; o termo bronquite crônica inclui a existência de hipersecreção de muco e alterações anatômicas como hipertrofia dos elementos mucíparos, de inflamação e de metaplasia epitelial. Em termos epidemiológicos o diagnóstico de bronquite é estabelecido por persistência de expectoração durante pelo menos três meses por dois anos consecutivos. Enfisema é definido como o alargamento anormal dos espaços aéreos distais ao bronquíolo terminal, acompanhado de destruição da parede alveolar. O termo enfisema pode ser modificado por palavras ou frases para indicar sua etiologia, subtipo anatômico ou qualquer disfunção associada das vias aéreas. A expressão doença pulmonar obstrutiva crônica é reservada para processos de etiologia incerta, caracterizados por retardamento persistente do fluxo aéreo durante a expiração forçada. É recomendado que expressões mais específicas, como bronquite crônica obstrutiva ou enfisema crônico obstrutivo, sejam usadas sempre que possível.

Não obstante as tentativas de uniformizar a definição desse processo pulmonar, foram recomendados vários enunciados, destacando-se: Doença generalizada do pulmão (39); Bronquite crônica obstrutiva (8); Doença broncopulmonar obstrutiva crônica (232, 459) (esta tem adeptos entre nós (407)); Doença pulmonar obstrutiva crônica (7, 459) com a sigla DPOC que é a mais difundida (nesta às vezes se inclui asma brônquica (285)). Contudo em certas ocasiões ainda permanece a confusão. Na reunião conjunta já referida da OMS e UICTMR, realizada há 2 anos, resolveu-se, ante a extrema diversidade do material apresentado, adotar a expressão, embora ambígua, de "doenças crônicas das vias respiratórias". Face a esse verdadeiro caos, não obstante o modelo enzimático produtor do enfisema que será ventilado adiante, optamos pelo clássico rótulo já de uso consagrado: Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) para definir o complexo bronquite crônica-enfisema pulmonar. Para designar a principal característica funcional que é a obstrução do fluxo aéreo aventou-se a expressão "obstrução crônica do fluxo aéreo" (450), mas está sendo mais generalizada "limitação crônica (ou persistente) do fluxo aéreo expiratório" (324).

Compreendem-se as dificuldades de separar as injúrias decorrentes da bronquite crônica e do enfisema pulmonar porque, sendo fumantes a maioria dos seus portadores, os dois processos estão geralmente associados. Aventou-se que a predominância de um desses dois processos estaria mais condicionada por dois biotipos, definindo-se: o soprador róseo longilíneo (tipo PP - *pink puffer*) com enfisema predominante e o pletórico cianótico, geralmente mediolíneo (tipo BB - *blue bloater*) com bronquite crônica predominante (53). Todavia a correlação clínico-patológica neles implicada não sustenta essa classificação (228, 324). Formas clinicamente puras de bron-

quite crônica e enfisema são exceções. É comumente difícil distinguir uma do outro, porque sempre existe algum grau de associação. Isso é afirmado por todos os especialistas e, devido à coexistência dos dois elementos, ao processo tem-se proposto o termo “complexo bronquite crônica-enfisema pulmonar”, tal como se apresenta na prática médica (19).

Geralmente se aceitam quatro formas de enfisema (228):

— *Enfisema centrolobular*: dilatação do espaço no centro do lóbulo secundário, onde se localizam os bronquíolos respiratórios, que são seletiva ou predominantemente envolvidos. Associação freqüente com bronquite crônica, bronquiolite, inflamação e demais elementos constantes destes processos; há alargamento dos espaços aéreos com grande destruição dos septos. Localiza-se predominantemente nas partes superiores do pulmão. Este tipo é comum nos fumantes.

— *Enfisema panacinar ou panlobular*: envolvimento, em graus variáveis, do ácino, com destruição dos septos alveolares, encontrado nas autópsias de pessoas idosas (acima dos 70 anos). Comumente não está associado a evidências clínicas de obstrução das vias aéreas. Este tipo de enfisema é peculiar aos indivíduos geneticamente deficientes de alfa-1-antitripsina (α_1 -AP); nesses casos, ele se instala em pessoas mais jovens. Localiza-se de preferência nas partes inferiores do pulmão.

— *Enfisema paraseptal ou distal*: envolve a periferia do ácino; os ductos e sacos alveolares são comprometidos no processo; associação com fibrose. Localiza-se com freqüência na parte posterior do pulmão.

— *Enfisema paracicatricial ou irregular*: relacionado com processos cicatriciais do parênquima pulmonar, razão por que os ácinos são alargados irregularmente. São pobres em sintomas e secundários à tuberculose, pneumoconioses e outros processos crônicos.

Descrevem-se na literatura outros tipos de enfisema, porém indiscutivelmente os de maior importância clínica são o enfisema centrolobular e o panacinar, sendo o primeiro de maior significação epidemiológica, por ser produzido pelo tabaco.

4 - FATORES DE RISCO

Bronquite crônica, enfisema do pulmão e câncer broncogênico são as doenças mais estreitamente tabaco-relacionadas, pois o tabagismo é por si só o maior fator de risco, sendo responsável por cerca de 80% de cada um dos dois primeiros processos e por cerca de 90% do último (237).

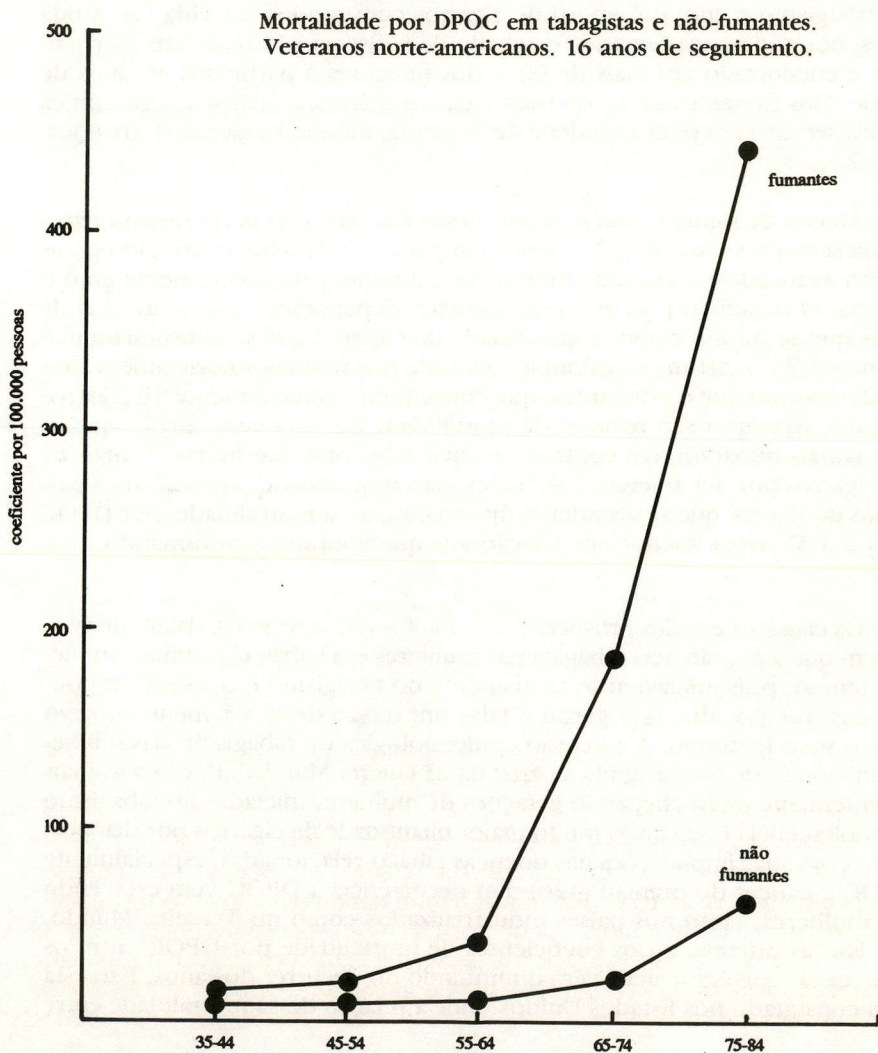
4.1 - Papel do Tabaco

Os oito maiores estudos prospectivos, hoje clássicos (193, 233, 237) com tempo de acompanhamento indo de 4 a 22 anos, totalizando 17.5 milhões de anos-pessoa de observação, confirmaram unanimemente a íntima correlação existente entre a mortalidade por DPOC e o consumo de cigarros(*). O risco relativo de mortalidade nos fumantes, em confronto com os não-fumantes, oscilou de 5.85 a 14.82 para o enfisema e de 5.11 a 11.42 para a bronquite crônica. Nos veteranos norte-americanos de 56 a 75 anos de ida-

de, com seguimento de 16 anos, o coeficiente de mortalidade por DPOC nos que nunca fumaram foi de 40 por 100.000, subindo nos fumantes a 430 por 100.000 (192) (Quadro 1).

(*) Com algumas diferenças eventuais, para igual quantidade de tabaco fumado, cachimbos e charutos têm nocividade semelhante à dos cigarros. Estes, pela universalidade de consumo são aqui empregados como sinônimo dos dois primeiros, de fumo e de tabaco.

Quadro 1



ROGOT E, MURRAY J.L. (referência 192)

O risco do fumo para a DPOC tem relação dose-resposta. Tomando como exemplo o estudo prospectivo nos médicos ingleses, com 20 anos de duração, para o consumo diário de 1 a 14, 15 a 24 e 25 e mais cigarros, os óbitos por DPOC, em comparação com os não-fumantes, foram respectivamente 17, 26 e 38 vezes mais.(314).

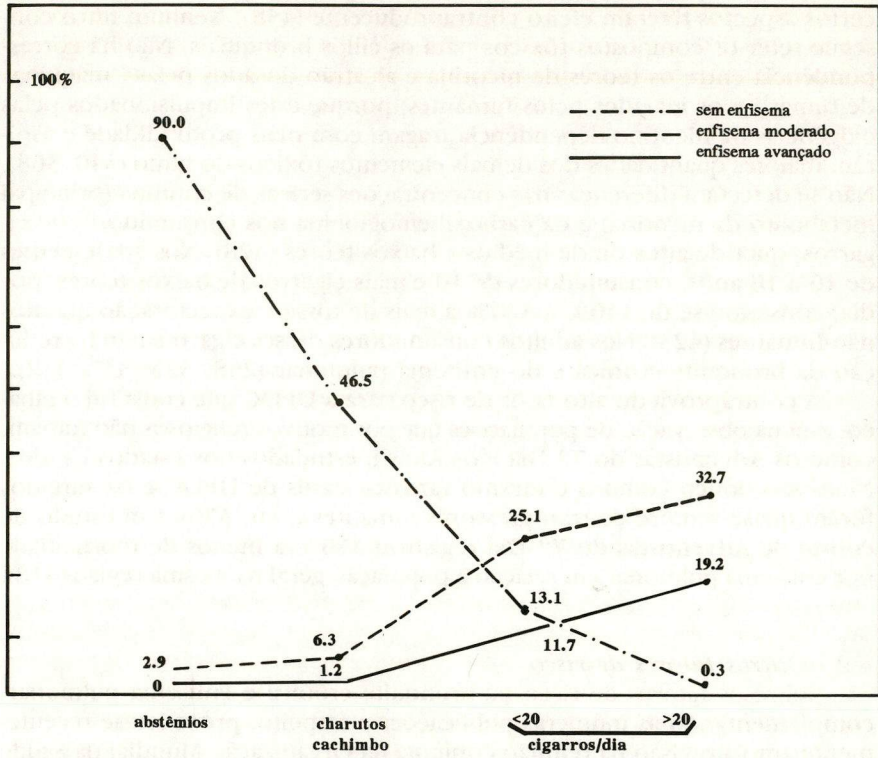
Estudos anatomopatológicos em série e por longos períodos revelam, nos pulmões de fumantes, alargamento dos alvéolos, ruptura dos septos, espessamento das paredes das artérias e arteriolas, fibrose e outras injúrias tissulares, tendo o grau e extensão desses processos estreita relação com o tempo de tabagismo e com o número de cigarros consumidos em vida (9). Ainda mais: nos que nunca fumaram o achado de enfisema é infreqüente, ao passo que é encontrado em mais de 90% dos fumantes a partir dos 40 anos de idade. Nos fumantes de 20 ou mais cigarros diários, a análise microscópica revela ser raro um pulmão indene de enfisema, mesmo moderado (10). (Quadro 2.)

Deixar de fumar é benéfico pois desde que as lesões broncopulmonares ainda sejam reversíveis, pelo menos em parte, e não tenham atingido graus muito avançados, o risco de mortalidade diminui progressivamente com o tempo. O benefício porém é estreitamente dependente com o número de anos que se fumou e com a quantidade de cigarros que se consumiam diariamente (237). Assim por exemplo, o estudo nos veteranos norte-americanos (192) mostrou que ex-fumantes, que consumiram anteriormente 10 cigarros por dia, tiveram risco relativo de mortalidade de 1.64 vezes maior que os que jamais fumaram; em contraste os que anteriormente fumavam mais de 39 cigarros por dia, tiveram 9.91 vezes mais mortalidade. Após 20 anos passados do dia em que se acendeu o último cigarro, a mortalidade, por DPOC caiu a 4.57 vezes menor em relação aos que continuavam fumando.

Os clássicos estudos prospectivos, e muitos retrospectivos, datam de épocas em que a prevalência tabágica nas mulheres era baixa; elas fumavam menos tempo, pois iniciavam-se tardiamente no tabagismo e consumiam poucos cigarros por dia. Isso gerou a falsa impressão deste ser menos nocivo para o sexo feminino. A ascensão epidemiológica do tabagismo nas mulheres iniciou-se de forma aguda a partir da 2.^a Guerra Mundial. Por isso só mais recentemente estão chegando gerações de mulheres iniciadas no tabagismo na adolescência e fumando muito maior quantidade de cigarros por dia, portanto com suas implicações nas doenças tabaco-relacionadas, especialmente DPOC e câncer do pulmão (426). Em decorrência a DPOC vem crescendo nas mulheres, tanto nos países industrializados como no Terceiro Mundo. Por isso as diferenças dos coeficientes de mortalidade por DPOC entre os dois sexos, que eram altas, vêm diminuindo no decorrer dos anos. Isso está bem constatado nos Estados Unidos onde a relação dessa mortalidade entre

Quadro 2

Enfisema pulmonar. 1443 autópsias em tabagistas e nos que jamais fumaram. Idades padronizadas.



Elaborado com dados de AUERBACH O, STOUT AP, HAMMOND E.C. et al. (referência 263).

os dois sexos vem se encurtando, como verificado em 1970, 1975 e 1980 quando ela foi respectivamente de 4.30, 3.29 e 2.36 (398). No estudo prospectivo nas médicas inglesas, com 22 anos de observação, a DPOC teve direta e estreita associação com o tabagismo, com relação dose-resposta. Sabe-se hoje por várias pesquisas (237, 313, 455) que para uma mesma quantidade de tabaco consumida o risco de doenças tabaco-associadas é o mesmo para os dois sexos, inclusive para a bronquite crônica e o enfisema do pulmão.

Os cigarros com filtro e baixos teores, não trouxeram em termos epidemiológicos os benefícios inicialmente esperados para baixar a incidência e a mortalidade por DPOC, câncer e infarto do coração e, ao contrário, sob certos aspectos tiveram efeito contraproducente (458). Nenhum filtro consegue reter os compostos tóxicos para os cílios bronquiais. Não há correspondência entre os teores de nicotina e alcatrão dosados pelas "máquinas de fumar" e os inalados pelos fumantes, porque estes impulsionados pelas exigências da nicotino-dependência trazem com mais profundidade e aspiram maiores quantidades dos demais elementos tóxicos do fumo (340, 368). Não se detectam diferenças nas concentrações séricas de cotinina (principal metabólito da nicotina) e da carboxihemoglobina nos consumidores de cigarros, quer de altos ou de médios e baixos teores (428). Nos adolescentes de 16 a 18 anos, consumidores de 10 e mais cigarros de baixos teores, por dia, constatou-se de 140% a 520% a mais de tosse e expectoração que nos não-fumantes (423). Nos adultos consumidores desses cigarros não há redução da bronquite crônica e do enfisema pulmonar (258, 326, 337, 412).

A contraprova do alto fator de risco para a DPOC que constitui o tabaco, está na observação de populações que por motivos religiosos não fumam, como os Adventistas do 7º Dia e os Amish, estudados nos Estados Unidos. Neles são pouco comuns e mesmo raros os casos de DPOC e os surgidos foram quase sempre de transgressores fumantes (336, 376). Um estudo de coorte de Adventistas do 7º Dia registrou 450% a menos de mortalidade por enfisema pulmonar em relação à população geral na mesma região (318).

4.2 - *Outros fatores de risco*

Sobre os fatores de risco da bronquite crônica e enfisema pulmonar, complementando as inúmeras publicações a respeito, procedeu-se recentemente ampla revisão na reunião conjunta da Organização Mundial da Saúde e União Internacional de Tuberculose e Doenças Respiratórias (471) mencionada no item 2. Valorizando os principais fatores como o genético, a poluição atmosférica, ocupacional e ambiental, todos os países participantes enfatizaram o tabagismo como o fator mais freqüente superpondo-se em termos epidemiológicos (296, 307, 308).

4.2.1 - *Fatores Genéticos*

Condições congênitas desfavoráveis para o desenvolvimento pulmonar do feto podem ocorrer nas gestantes fumantes, cujos filhos estarão mais sujeitos a desenvolver enfisema. Isso é fortemente sugerido pelos achados nos pulmões de filhotes de ratas expostas ao fumo durante a prenhez; aqueles têm menos tecido intersticial nos septos alveolares e os espaços destes ficam alargados (361). Hipoplasia pulmonar fetal foi encontrada com o tabagismo materno (299). A ressonância magnética celular mostra que as características morfométricas — na média dos espaços alveolares — estão severamente alteradas (311).

Indivíduos com carência genética de alfa-1-antitripsina no sangue, em

geral desenvolvem enfisema pulmonar a partir dos 30 anos de idade. Isso ocorre com mais frequência em algumas etnias, mas sempre em número relativamente pequeno. O assunto tem importância por estar ligado ao mecanismo do desequilíbrio enzimático na gênese do enfisema e é ventilado no item 6.2.2. Outrossim há casos raros de condições hereditárias produzindo defeitos na síntese do tecido conectivo e na rede elástica pulmonar (315).

Os fatores genéticos não pesam substancialmente para a epidemiologia do enfisema pulmonar.

4.2.2 - *Poluição Atmosférica*

A poluição atmosférica, conseqüência da industrialização concorre para a DPOC com elementos como o dióxido de enxofre, monóxido de carbono, dióxido de nitrogênio, e particulados orgânicos (461).

É notável que os países industrializados, pelas medidas tomadas nas três últimas décadas, tenham reduzido nos centros urbanos o dióxido de enxofre em cerca de 40%, e em 90% os poluentes em geral (296), e nem por isso reduziram a incidência e a mortalidade por DPOC pois, ao contrário, continuaram mantidas e aumentando devido ao tabagismo. Revisão de 10 dos mais extensos estudos populacionais, revela que todos identificam o tabagismo como mais importante fator de risco (341). Há 20 anos, largo estudo, na Inglaterra (372), de pessoas acima de 35 anos revelou, no confronto entre abstêmios e fumantes, que embora tosse, expectoração e bronquite crônica aumentem com o grau de poluição atmosférica, a sua incidência é o dobro nos tabagistas com qualquer nível de poluição atmosférica. Mesma constatação foi feita em escolares ingleses de 10 e 12 e meio anos, de ambos os sexos, fumantes e não-fumantes residentes na cidade ou na zona rural (271). Porque os Adventistas do 7.^o Dia não fumam, nos já citados estudos norte-americanos (376) não se verificaram praticamente casos de DPOC apesar da diversidade da poluição atmosférica onde viviam os observados (318). Por maior que seja a poluição atmosférica, está longe de atingir os níveis a que se expõe o fumante. Estima-se que nos centros urbanos 1 metro cúbico de ar contém 0,1 mg de matéria particulada; respirando-se em média 20 metros cúbicos de ar por dia, inala-se 2 mg de matéria. Ora, 1 cigarro contendo 20 mg de alcatrão faz com que o fumante de 20 cigarros diários inale 400 mg de particulados ou seja 200 vezes mais (237).

4.2.3 - *Poluentes Ocupacionais*

São muitas as profissões que expõem os trabalhadores a poluentes desencadeadores de manifestações respiratórias agudas e crônicas. Bronquite crônica e enfisema pulmonar ocorrem com mais frequência nos trabalhadores de minas, indústrias metalúrgicas, petroquímicas, têxteis e de plásticos. São muito expostos os que lidam com carvão, cimento, pedra, fibras diversas, algodão e grãos de cereais. Também aí o tabagismo entra como fator de risco e muito mais elevado por associar-se aos poluentes ocupacionais. Está demonstrado que o fumo potencializa os efeitos desses poluentes (237, 296, 471). A associação destes com o fumo é geralmente de efeito aditivo

e em alguns casos, sinérgico, notadamente com os poluentes cancerígenos (237); bronquite crônica surge mais rapidamente com sintomatologia mais intensa. Foi observado em mineiros ingleses, que os fumantes desenvolvem pneumoconiose com associação de enfisema, de 6 a 9 vezes mais que os não-fumantes; enfisema severo só foi encontrado nos primeiros (429). Independente do efeito aditivo ou sinérgico dos componentes do fumo com poluentes ocupacionais aquele pode servir de vetor quando contaminado por agentes tóxicos, em locais de trabalho, facilitando sua entrada no organismo. Essa associação desencadeia níveis tóxicos mais elevados que esses dois agentes separados (237).

4.2.4 - *Poluição Ambiental. Fumantes Passivos*

Excluindo os riscos eventuais de acidentes causando poluição em recintos fechados, as fontes mais comuns configurando riscos respiratórios são os fogões a gás, a lenha, o carvão e óleo combustível, contaminadores da atmosfera com monóxido e dióxido de carbono, dióxido de nitrogênio e elementos orgânicos que atuam em graus de extrema diversidade. As dificuldades de sua padronização resultam da variabilidade das horas de exposição diária e sua duração, nos anos, dos locais de residência, lazer e de trabalho, da intensidade das fontes poluidoras, da aeração dos recintos e outros fatores de confusão.

Menção destacada merece a poluição tabágica ambiental, por ser a mais tóxica, pois o fumo contém milhares de substâncias lesivas ao organismo (54). Nos recintos em que se fuma, detectam-se na atmosfera, além do monóxido de carbono, nicotina, aldeídos, amônia, elementos orgânicos lesivos às vias aéreas e, inclusive, agentes cancerígenos. Não-fumantes expostos à poluição tabágica ambiental (fumantes passivos), além do risco significativo de câncer broncogênico, sofrem injúrias diversas no aparelho respiratório. Nos fumantes passivos-adultos, adolescentes e crianças, registra-se redução variável da capacidade funcional respiratória. Homens e mulheres adultos, não-fumantes, vivendo durante 10 a 20 anos com cônjuges tabagistas, ou em locais de trabalho onde se fuma, têm valores funcionais respiratórios, como VEF1, FEF25-75% e CVF, abaixo do previsto e em muito maior proporção que os não-expostos à poluição tabágica ambiental (126, 195, 196, 244, 249, 276, 280, 293, 309, 346, 364, 365, 384, 441, 453, 457). Em um desses estudos constatou-se que após 20 anos de exposição à poluição tabágica no local de trabalho, a diminuição dos valores de VEF1 e FEF25-75% foi respectivamente de 13.5% e 5.5% equivalente à redução encontrada nos consumidores de 1 a 10 cigarros diários (249). (Quadro 3).

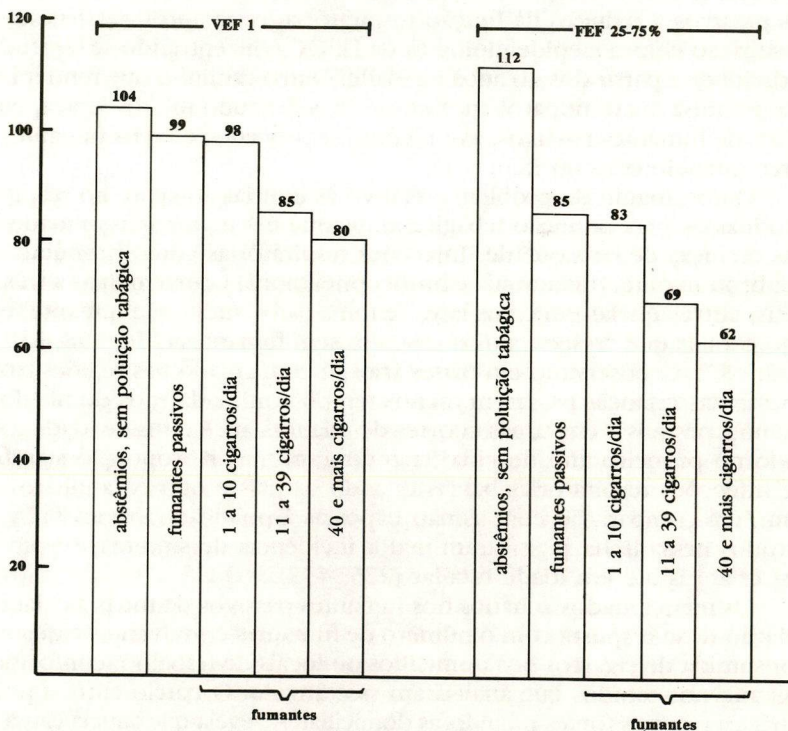
Ampla pesquisa com mais de 11 anos de seguimento de duas comunidades escocesas, revelou nos não-fumantes expostos à poluição tabágica domiciliar, em comparação com os não expostos, 10 vezes mais casos com expectoração purulenta e mais 57.4%, na média das dois sexos, de casos com dispnéia, assim como neles também foi mais freqüente a redução significativa do VEF1 (346).

Bebês com 4 meses de idade cujos genitores, especialmente mãe, fumam, têm alterações do pico do fluxo expiratório medido pela técnica da compressão rápida do tórax em atmosfera de hélio; é possível que essas alterações sofram o concurso do tabagismo materno durante a gestação (390).

Crianças e adolescentes crescendo em ambientes poluídos pelo fumo do tabaco devido especialmente ao tabagismo dos genitores, com mais frequência sofrem broncoconstrição com “chiado bronquial” e asma (402, 442) e podem apresentar capacidade funcional respiratória 7% a 11% abaixo do predito (443, 457, 466).

Quadro 3

Deterioração dos VEF1 e FEF25-75%, após 20 anos de tabagismo ou na condição de fumante passivo. Média dos índices em relação aos parâmetros preditos.



Elaborado com dados de WHITE R.R., FROEB H.F. (referência 249)

Estudo em adolescentes praticantes de atletismo, uns com pais fumantes, outros sem tabagismo no domicílio, registrou redução dos valores do VEF1 e FEF25-75% em 13.6% dos primeiros e 3.3% dos segundos (454).

Em suma, as observações de grandes grupos de crianças em idade escolar e de adolescentes, revela a alta frequência com que os filhos de pais tabagistas sofrem prejuízos em sua função respiratória. Essa correlação é muito mais estreita com o tabagismo e com este tem ligação quase linear (269, 283, 294, 350, 365, 377, 384, 402, 410, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 457, 464, 466). O acompanhamento de fumantes passivos surpreende pela relativa rapidez com que a função respiratória pode se deteriorar ano a ano (269, 444).

Sabe-se que as provas funcionais respiratórias refletem disfunções das pequenas vias aéreas, isto é, dos bronquíolos membranosos (item 5.3). O palco fundamental das alterações histo-funcionais que conduzem ao enfisema são esses bronquíolos terminais. Portanto pode-se inferir o importante papel que para isso exerce a poluição tabágica ambiental. Contudo ainda não se estabeleceu o exato significado da DPOC nos fumantes passivos, ao contrário do ocorrido com o câncer broncogênico cuja relação com a exposição tabágica está comprovada (426). Considerando que está demonstrado nos fumantes passivos a redução da função respiratória, resta aprofundar nestes a investigação clínica e epidemiológica da DPOC concentrando-se o estudo nos indivíduos a partir dos 40 anos de idade. Outro caminho que renderá muito é a pesquisa anatomopatológica em série, sobretudo microscópica, em pulmões de fumantes passivos, assim como se procedeu com os fumantes regulares (mencionado no item 4.1).

Outro ângulo do problema relativo às injúrias ao aparelho respiratório produzidas pela poluição tabágica ambiental é a maior sensibilidade a esta das crianças de baixa idade. Infecções respiratórias como bronquite cataral, bronquiolite, pneumonia e broncopneumonia ocorrem duas a três vezes mais, entre aquelas em cujos lares se fuma (sobretudo mãe fumante) em cotejo com as que crescem nos domicílios sem fumantes (274, 298, 338, 375, 409, 457). O observado em países frios, é confirmado nas regiões tropicais apesar das crianças passarem menos tempo confinadas nos domicílios. Entre nós, pesquisas em largas coortes de crianças até 5 anos de idade e sobretudo no primeiro ano de vida, encontraram maior proporção significativa de infecções respiratórias baixas quando os pais e outros familiares fumavam, em comparação com as não expostas à poluição tabágica (424, 427); estudos nessa linha registraram maior incidência de sintomas respiratórios em crianças até em idade escolar (275, 432).

Os mencionados achados nos fumantes passivos de todas as idades têm relação dose-resposta com o número de fumantes conviventes e quantidade consumida de cigarros nos domicílios ou locais de trabalho, conforme consignado nos estudos que analisaram esse ângulo. O cotejo entre a poluição tabágica e outras fontes poluidoras domiciliares, revela que aquela causa maiores prejuízos ao aparelho respiratório. A comparação direta do fumo do tabaco com fogão a gás ou carvão, conclui que, embora a associação dessas fontes possa eventualmente causar risco intensificado, os efeitos destes são de pouca significância em comparação à poluição tabágica (294, 320, 383, 457, 464) e largo estudo longitudinal concluiu que essa associação não influi na redução anual das médias dos valores funcionais, ocorrida nos fu-

mantes passivos (269).

Avoluma-se a evidência de que as infecções respiratórias desencadeadas nas crianças podem ter repercussão retardada, propiciando manifestações crônicas obstrutivas respiratórias na idade adulta (286, 348). Na Inglaterra consignou-se forte relação geográfica entre os coeficientes de mortalidade por bronquite crônica nos adultos com os da mortalidade infantil por bronquite e pneumonia, 40 anos antes (264). As análises logísticas regressivas mostram que a distribuição geográfica da bronquite crônica do adulto estabelece ligações com as infecções respiratórias na infância (347).

Desse modo infere-se que, além dos componentes do fumo provocarem diretamente a DPOC nos tabagistas, eles podem concorrer indiretamente para esse processo quando esparsos na atmosfera ambiental e inalados durante a vida, na idade adulta e até na infância (347). O papel epidemiológico da poluição tabágica ambiental como fator de risco de bronquite crônica, enfisema pulmonar, câncer broncogênico e processos cardiocirculatórios vem preocupando progressivamente, pois ela chega a constituir 80% ou mais de toda a poluição domiciliar (237, 466, 470). Nos centros urbanos, cerca de dois terços das pessoas a ela se expõem longamente dado que os indivíduos passam de 70% a 80% de sua existência em recintos, mais ou menos, fechados (236). Por outro lado é elevado o número de adolescentes e crianças com disfunções das pequenas vias respiratórias em consequência de viverem expostos à poluição tabágica domiciliar. Nos Estados Unidos de 53 a 76% deles convivem com pelo menos um fumante (260). Aqui o problema não é menos grave como comprovou recente inquérito de 72.000 crianças e adolescentes de todos os Estados, dos quais metade (49,5%) tinham em média 1.7 fumantes em casa (301).

Em suma de todas as informações disponíveis, das conclusões da recente reunião internacional da Organização Mundial de Saúde — União Internacional contra a Tuberculose e Doenças Respiratórias, corroborando com os documentos da mais ampla revisão sobre o assunto efetuada pelo Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (237, 307, 471), o tabagismo é o fator predominante da doença pulmonar obstrutiva crônica. Dentre todas as causas do enfisema do pulmão o tabagismo por si só concorre com 80% a 90% (237). A exposição à poluição atmosférica das cidades industriais e aos poluentes profissionais, a interferência de infecções agudas e crônicas do trato respiratório, condições genético-constitucionais e outras causas somam apenas 10% a 20% como fatores de risco de enfisema, quando cotejados com o fumo de cigarro em análises logísticas múltiplas regressivas (88,237). Estudos retrospectivos e prospectivos, reunindo populações muito diversificadas em idade, grupos étnicos, localização geográfica, profissões, exposição a poluentes atmosféricos e ambientais, revelam que os fumantes, em confronto com os não-fumantes, têm o risco de morrer de enfisema do pulmão aumentado em 200% a 800%. Já vimos que esse risco cresce com a quantidade de cigarros fumados diariamente e com o tempo de tabagismo.

5 - ENFISEMA MEDIADO PELA BRONQUITE CRÔNICA, GERADORA DO MECANISMO OBSTRUTIVO

Como foi exposto no item 2, o tabagismo concorre com 80 a 90% das causas determinantes da bronquite crônica e do enfisema do pulmão. Até há uns 30 anos a explicação fisiopatológica do enfisema se restringia a um mecanismo inflamatório-obstrutivo das pequenas vias aéreas, obstaculizando a saída do ar dos espaços alveolares. Este fenômeno, implicando a DPOC, com o binômio bronquite-enfisema, tendo como seu principal agente o cigarro, será resumido abaixo.

Embora os brônquios de grosso calibre não estejam diretamente implicados nos processos do enfisema, eles sofrem alterações com predominância da hipertrofia das glândulas mucíparas, com aumento da secreção de muco e das células calciformes que também secretam muco; este adquire maior densidade e viscosidade (45). As paredes dos brônquios sofrem inflamação e edema (189).

Porém como já foi demonstrado há anos (342) a sede principal, onde há maior riqueza de lesões para propiciar fenômenos obstrutivos contribuidores na instalação do enfisema, se localiza nas pequenas vias aéreas, isto é, nos bronquíolos periféricos também chamados bronquíolos membranosos com diâmetro inferior a 2 ou 3 mm. Todo um cortejo de alterações morfológicas e funcionais aí se instala, crescendo com o tempo, em quantidade, extensão e severidade, e configurando a bronquiolite.

5.1 - Alterações Morfo-Funcionais

O fumo do tabaco é o maior multitóxico que o homem inala (seja tabagista ou fumante passivo) pois naquele já foram indentificados, além da nicotina, 4720 substâncias pertencentes a 15 grandes funções químicas (54), praticamente todas citotóxicas (449). A histopatologia da agressão do fumo é muito complexa devido à grande quantidade de seus elementos e porque existem no aparelho respiratório em torno de 40 células diferentes (400).

A história inicia-se ao fumar o primeiro cigarro, pois é o suficiente para provocar broncoconstrição, como demonstrado em jovens nos quais logo aumenta o volume de oclusão, podendo esse efeito durar cerca de uma hora (395,430). Bastam alguns cigarros para provocar injúrias morfo-funcionais nos cílios bronquiais por meio de mais de uma centena de elementos químicos; a verificação, em traquéias ressecadas, da ação de 316 componentes do fumo mostrou que 36% causam ciliostase, (413) destacando-se entre estes: nicotina, aldeídos, fenóis, cetona, amônia, ácidos orgânicos, monóxido de carbono, dióxido de nitrogênio (232) e demais oxidantes como peróxido de hidrogênio (284); os de ação mais rápida inibitória ciliar são acroleína, formaldeído e acetaldeído (237). O alcatrão que contém grande contingente de hidrocarbonetos policíclicos também é ciliotóxico. Cinco cigarros são suficientes para inibir os movimentos ciliares (416) e dificultar ou mesmo abolir a veiculação de partículas pelos brônquios (232,237). Com o tempo, em várias áreas, os cílios atrofiam-se e caem (319). Edema e inflamação de epitélio brônquico, nunca faltam e são a resposta inicial. Com a continuidade

dos efeitos do fumo desencadeia-se vasto cortejo de alterações, como hiperplasia e hipertrofia das glândulas mucíparas aumentando a secreção com consistência alterada; há elevação das proporções de sialo-mucina e sulfo-mucina que são proteínas ácidas (273); alterações das taxas de glicolipídios e fosfolipídios modificam a viscosidade e a elasticidade do muco (379). As células caliciformes, que também secretam muco, aumentam de número chegando a realizar verdadeira metaplasia mucípara do epitélio bronquial. Os teores de mucina alteram-se pelo aumento de mucoproteínas. As células de Clara abundantes nos bronquíolos periféricos, decrescem em número e em muitas regiões desaparecem por completo; com a ausência simultânea de cílios, formam-se focos, em maior ou menor extensão, de epitélio desnudo (319). A função dessas células é produzir surfatante; mesmo na fase assintomática há redução dessa substância no líquido de lavagem broncoalveolar. Nos sítios com ausência das células de Clara, proliferam as células caliciformes, de modo que os bronquíolos membranosos onde normalmente não há produção de muco (por não possuírem glândulas mucíparas nem células caliciformes) ficam inundados de muco espesso que associado à redução de surfatante facilita ainda mais o colapso bronquíolo alveolar. À medida que o processo avança surgem hiperplasia basal, metaplasia e estratificação escamosa do epitélio, lesões essas que assim como os focos de atipias nucleares com desaparecimento de epitélio e cílios, configuram lesões de natureza precancerosa. Essas alterações são encontradas em largas áreas em quase 100% dos fumantes e são raras nos que jamais fumaram (165, 262, 263). Inflamação da parede brônquica, hipertrofia das glândulas mucíparas, aumento das células caliciformes e diminuição das de Clara, são respostas precoces ao consumo de cigarros como se verifica nos pulmões de tabagistas, removidos cirurgicamente ou em autópsias (16, 44, 55, 159, 263). Os sintomas clínicos mais freqüentes são tosse e expectoração elevando-se rapidamente em jovens adolescentes fumantes (277,431) e até em crianças fumando 1 a 5 cigarros por semana (271,349). Um dos maiores estudos em largas coortes de adultos constatou que aos 30 e 50 anos de idade, a incidência desses sintomas foi respectivamente de 10% e 22% nos não-fumantes, elevando-se para 38% e 55% nos tabagistas, com relação dose-resposta e independentemente da poluição atmosférica (367).

Todo esse cortejo de alterações aumenta a espessura da parede brônquica; esta é usada como indicadora do grau de bronquite, que é o chamado "índice de Reid" (419). Este é baseado na espessura da camada de glândulas dividida pela espessura da submucosa; normalmente não ultrapassa 30% e nos tabagistas já se tem registrado até 80% (237). Em suma o quadro dominante é a bronquiolite com todo o conjunto das anormalidades referidas, que é quase sempre complicação dos fumantes (45). Com a cronificação da bronquite, há hipertrofia dos músculos lisos peribrônquicos e fibrose que se estende ao parênquima pulmonar englobando vasos e capilares, estreitando o leito circulatório; isso obriga o ventrículo direito a maior esforço estabelecendo-se o "cor pulmonale".

No conjunto de alterações da bronquite os transtornos no transporte

mucociliar exercem papel importante pelos prejuízos na depuração bronquial ("clearance"). Aliás o distúrbio se estabelece logo de início com apenas uns poucos cigarros fumados. Mensurações da velocidade de transporte de partículas, por meio de técnicas empregando aerossol com marcadores, constataam que imediatamente após fumar um cigarro aquelas têm trânsito mais demorado para chegar à traquéia (237). Registra-se decréscimo na velocidade do transporte de partículas entre 20% a 80% nos tabagistas em relação aos não-fumantes (396). Os distúrbios mais acentuados surgem já no primeiro ano de tabagismo; as alterações atrás mencionadas modificam a viscosidade e elasticidade do muco tendo efeito negativo no transporte de partículas (379). No início do tabagismo o transporte muco ciliar pode melhorar em torno de 3 meses após o abandono do fumo (287). Porém, com o tempo, o excesso de muco com consistência alterada, a disfunção ou ausência ciliar e o estreitamento da luz bronquial, produzem verdadeira estagnação dos bronquíolos caindo definitivamente a capacidade de depuração mesmo em jovens fumantes (331,462), tornando-se o distúrbio irreversível (433). É por isso que fumantes de muitos anos depois que abandonam o tabaco continuam a tossir e a expectorar porque as glândulas mucíparas hipertrofiadas continuam produzindo muco em excesso. Aliás, tabagistas que deixam de fumar podem ter tosse e expectoração aumentadas, o que lhes parece paradoxal; isso sucede nos casos em que os cílios voltam a funcionar plenamente melhorando a depuração bronquial, trazendo mais facilmente o muco até a traquéia.

Em resumo, o transporte mucociliar nos fumantes diminui significativamente nos jovens e adultos ainda sadios, pode melhorar total ou parcialmente nos ex-fumantes e é muito mais prejudicado nos bronquíticos crônicos em comparação com os que jamais fumaram (332). Devido a esses transtornos funcionais e à diminuição das defesas celulares, instalam-se com mais freqüência infecções agudas broncopulmonares, bacterianas e viróticas; o ciclo é em essência: hipersecreção, hiperviscosidade, alterações mucociliares, mucoestase e infecção (273).

O desenvolvimento da DPOC dificulta o transporte de oxigênio e no fumante é agravado pela inalação de monóxido de carbono que, por ter 250 vezes mais afinidade que o oxigênio para com a hemoglobina, eleva pronunciadamente as concentrações sanguíneas de carboxihemoglobina. Essa, hipoxemia é acentuada ainda pelo já citado colapso bronquioloalveolar pela inundação dos bronquíolos terminais com muco espesso, prejudicando as trocas gasosas. Acresce ainda que pela destruição da histoarquitetura alveolar provocada pelo enfisema, diminui o volume máximo de oxigênio que se pode consumir por minuto (VO₂ max). O fumante é pois um hipóxico crônico, que concorre para o seu conhecido sedentarismo (422).

5.2 - Prejuízos nas Defesas Pulmonares

O fumo aumenta o número de células defensivas nos pulmões, como macrófagos alveolares, leucócitos polimorfonucleares e linfócitos. Animais submetidos ao fumo, 30 a 60 minutos após, têm aumento de leucócitos no

líquido de lavagem broncoalveolar e entre 15 a 24 horas há afluxo dessas células nos espaços aéreos dos pulmões que persiste por uma a duas semanas (361,380). Nos tabagistas o número de células é 10 vezes maior no líquido do lavado broncoalveolar e é o dobro nos septos alveolares (291,357,380). Essas células com muita facilidade migram para os interstícios do parênquima pulmonar porque os oxidantes do fumo aumentam a sua permeabilidade (item 6.3.1).

Não obstante esse acúmulo de células, as defesas imunitárias estão prejudicadas porque aquelas sofrem a ação tóxica das substâncias do fumo. Uma das anormalidades mais precoces nos fumantes e rara nos não-fumantes, consiste no agrupamento nos bronquíolos de macrófagos com pigmento marrom constituindo o mais característico quadro histopatológico da bronquiolite dos tabagistas; o acúmulo se dá na mesma área anatômica onde se instala o enfisema centrolobular (151, 162, 165, 386).

Fibroblastos de pulmão humano, em cultura, expostos a componentes do fumo, sofrem profundas alterações na membrana (449). Dos múltiplos prejuízos que sofrem os macrófagos alveolares os principais são: aumento em número e tamanho dos vacúolos, lisossomas e fagolisossomas, acúmulo de partículas de kaolim e de materiais orgânicos, diminuição da elaboração e função do complemento C3b, menor resposta ao fator inibidor de migração, menor liberação de prostaglandina, de tromboxane B2 e de imunoglobulina A, menor resposta às linfocinas dos linfócitos T (implicando em deficiência da imunidade celular, o que, por exemplo, favorece a infecção tuberculosa), maior produção da enzima aril-hidroxilase hidrocarboneto (implicada no desenvolvimento do câncer broncogênico), diminuição da elaboração de enzimas defensivas em geral, diminuição da fagocitose e capacidade de matar bactérias e vírus e, finalmente, aumento das modificações bioativas implicadas na gênese do enfisema como a elaboração de oxidantes, de fator quimiotáxico dos leucócitos polimorfonucleares e produção de elastase (item 6.2.1). Os linfócitos por sua vez têm a membrana envolvente alterada e decréscimo na capacidade de elaboração de linfocinas e perda da resposta da transformação blastóide aos agentes mitogênicos. A redução da atividade dos linfócitos T e B é traduzida pela queda do título de anticorpos em vários tipos de vacinação. A capacidade fagocitária dos leucócitos fica seriamente comprometida. O aparelho respiratório dos fumantes torna-se assim mais vulnerável às infecções bacterianas e viróticas (232, 236, 237, 296, 324, 354, 361, 399).

5.3 - Limitação Persistente do Fluxo Aéreo Expiratório.

As alterações morfo-funcionais acima referidas criando um mecanismo obstrutivo têm significativa participação na gênese do enfisema. Até algumas décadas atrás este foi o único modelo invocado para o desenvolvimento daquele processo. A luz bronquial é angustiada pelo broncospasmo, inflamação da parede, hipertrofia dos músculos lisos e por fibrose. Isso obstaculiza a saída de ar expirado, que é ainda agravada pelo excesso de muco e sua estagnação pelas dificuldades do transporte mucociliar. É o que alguns cha-

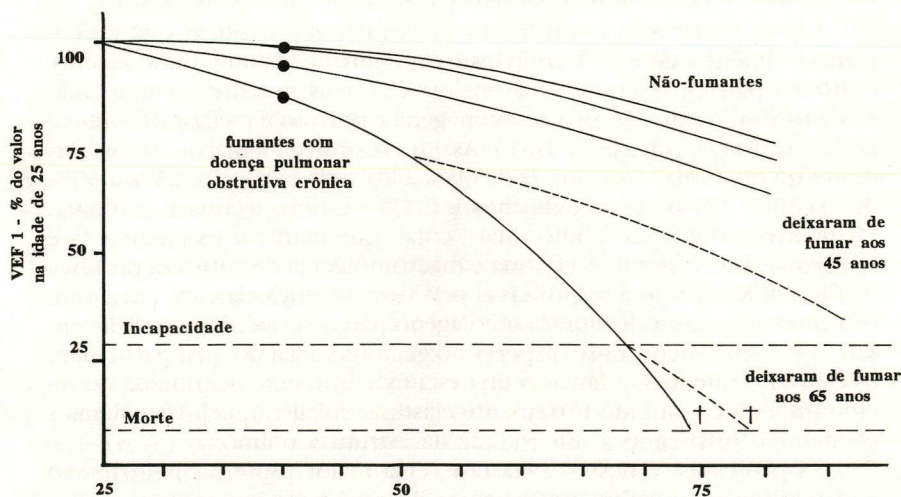
mam de doença das pequenas vias aéreas. Na inspiração os bronquíolos, especialmente os membranosos, se dilatam e o ar chega aos alvéolos; na expiração eles se estreitam e a luz bronquial, que já está reduzida, angustia-se ainda mais, bloqueando o ar expirado, distúrbio que se convencionou chamar "limitação persistente do fluxo aéreo expiratório". Há 60 anos demonstrou-se experimentalmente que nessa situação aumenta a pressão intra-alveolar (378) e o obstáculo que aprisiona o ar (air trapping) dilata os espaços alveolares com ruptura dos septos (382).

As alterações citadas determinadoras da limitação persistente do fluxo aéreo expiratório gerando o enfisema, têm tradução nas provas funcionais respiratórias. Destas, os parâmetros mais utilizados na rotina são o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1), fluxo expiratório forçado entre 25% a 75% da capacidade vital forçada (FEF25-75%), pico do fluxo expiratório (peak-flow) e o volume de oclusão (VO). Os valores dessas provas alteram-se precocemente nos fumantes. A broncoconstrição desencadeada logo ao fumar um a dois cigarros, produz aumento do VO (281, 430); a simples inflamação do epitélio dos bronquíolos já se traduz por sinais de ordem obstrutiva na mensuração do VEF1 e FEF25-75%. A melhor confirmação disso está na estreita correlação entre lesões encontradas em pulmões ressecionados cirurgicamente e essas provas funcionais (15, 16, 44). Cerca de uma centena de estudos pioneiros executados nos Estados Unidos em tabagistas, desde a adolescência à idade adulta, comparados com não-fumantes, indicam que o tabagismo é o principal fator de risco de perda nos valores do VEF1; a prevalência da disfunção das vias aéreas, nos fumantes, excede a 50% (237). Aliás, a deterioração dos índices das provas funcionais se estabelecem logo, em crianças e jovens que fumam alguns cigarros por dia, inclusive nos residentes em áreas rurais, (222, 267, 379, 408, 410, 411). Nos casos em que os processos obstrutivos ainda são reversíveis, a suspensão do cigarro faz com que as provas funcionais melhorem parcialmente e até retornem ao normal (15, 23, 25, 26, 189, 385). Quando a alteração do VEF1 é menor que 80% do previsto, há alta correspondência com extensas obstruções das pequenas vias aéreas (14, 253); isso sucede nos consumidores de 20 ou mais cigarros diários e depois de vários anos de tabagismo. Nestes fumantes, quando abandonam o cigarro, a deterioração em geral pode se estabilizar. Nesses casos há quase sempre resposta negativa aos broncodilatadores; isso porém não significa necessariamente ausência de resposta com o uso continuado por longo tempo (407). A investigação das provas funcionais em coortes de adultos fumantes mostra sempre maior prevalência de perda na função respiratória em confronto com não-fumantes (276, 293, 309, 334, 371, 395, 408, 453). O declínio do fluxo aéreo expiratório forçado aumenta com a idade devido, inclusive, à diminuição da força de retração elástica dos pulmões, mas o primeiro acelera-se significativamente nos tabagistas. Em média o VEF1 diminui em torno de 25 ml a 30 ml anualmente; nos consumidores de 15 ou mais de 15 cigarros por dia o descréscimo é respectivamente 60 ml e 80 ml por ano. Isso é bem comprovado em estudos longitudinais, como por exemplo, um realizado em Paris em bairro operário durante 12 anos

(125) e outro em sete comunidades australianas, durante 18 anos (408); neste último a queda acelerada dos valores funcionais respiratórios foi detectada em 24% dos homens e 18% das mulheres tabagistas, contra respectivamente 5% e 8% dos abstêmios (as mulheres fumantes consumiam menos cigarros que os homens). Uma das mais meticulosas pesquisas, realizada em operários ingleses (59) demonstrou que, o VEF1, que cai gradualmente durante a vida, tem esse descenso acelerado nos fumantes, diminuindo a esperança de vida; nos que deixam de fumar o declínio da função respiratória se desacelera e a perspectiva de anos de vida se prolonga. (Quadro 4). Os autores afirmam que se pode prevenir a DPOC severa e fatal, medindo a função pulmonar dos fumantes, advertindo aqueles cuja função esteja deteriorada a abandonar imediatamente o cigarro.

Quadro 4

Queda DO VEF1 ao longo da vida. Aceleração nos fumantes.
Abandonando o fumo há chances de retardar o decréscimo e prolongar a expectativa de vida.



FLETCHER C.M., PETO R. (referência 59)

A prevalência e a profundidade da deterioração do VEF1 e FEF25-75% está em correspondência com a quantidade de cigarros consumidos. Pesquisa meticulosa constatou que nas pessoas fumando há 20 anos 1 a 10 cigarros, a média dos valores registrados naquelas duas provas funcionais foi respectivamente de 98% a 83% do predito e, nos consumidores de 40 ou mais cigarros/dia, 80% e 62% do que era esperado (249). (Quadro 3). (Os fumantes passivos tiveram deterioração dessas provas equivalentes aos que consumiram 1 a 10 por dia; fato já mencionado no item 4.2.4).

Em suma, amplas revisões bibliográficas (194, 234, 237), ressaltam que os mais variados estudos comprovam que o maior responsável por valores anormais da função ventilatória é o tabaco e que há íntima correlação causal entre fumo e os processos bronquiais obstrutivos, com farta evidência de dose-resposta. O fator de risco configurado pelo tabaco é o mais importante de todos os outros agentes para o incremento da epidemiologia do enfisema. Produzindo a bronquite crônica, doença das pequenas vias aéreas (bronquiolite), o tabaco cria as condições mecânicas (morfo-funcionais) para a limitação crônica do fluxo aéreo expiratório, que é mecanismo importante para o desenvolvimento do enfisema. Em suma, esta é a mais severa ocorrência dessa desordem morfo-funcional da bronquite crônica.

Sucedendo nos últimos 30 anos, descortinou-se outro modelo fisiopatológico causal do enfisema, calcado no desequilíbrio dos sistemas protease-antiprotease e oxidantes-antioxidantes. Neste modelo o tabagismo também entra como o mais importante fator de risco, maior ainda que no modelo obstrutivo.

6 - MECANISMO ENZIMÁTICO NA GÊNESE DO ENFISEMA DO PULMÃO

Laurel e Erickson (140) foram os primeiros a verificar que a deficiência genética de alfa 1-antitripsina no soro, ocasiona quase sempre enfisema panacinar grave. Esta enzima é o mais potente inibidor, não só da tripsina, como das proteases em geral e por isso é melhor denominá-la de alfa-1-antiprotease (α 1-AP). Assim ela protege a matriz da histoarquiteta pulmonar constituída de 60% a 70% de colágeno, 25% a 30% de elastina, 1% de proteoglicanos e 0,5% de fibronectina e laminina. Os quatro últimos são como uma "cola" que mantêm os elementos e sua arquitetura normal. A elastina é macromolécula de natureza protéica de 68.000 KD sendo a responsável pela característica elástica que garante a retração após a distensão; o colágeno parece impedir a hiperdistensão. A elastina encontra-se dispersa no gel intersticial do qual participam os outros elementos; a fibronectina está extensamente distribuída no tecido intersticial, unindo fortemente elastina, colágeno, células e demais elementos, mantendo a integridade da estrutura pulmonar (57,324).

As proteases, e destas a elastase, cuja maior fonte no pulmão são os leucócitos neutrófilos polimorfonucleares, degradam a elastina. Porém isso normalmente não se verifica porque há equilíbrio no sistema protease-antiprotease de modo que a elastase é impedida pela α 1-AP de destruir a histoarquiteta do pulmão.

6.1 - Produção Experimental do Enfisema Pulmonar

Importante para a compreensão do modelo enzimático na fisiopatologia do enfisema do pulmão no homem, é a sua produção em animais.

Uma das primeiras demonstrações foi realizada com a papaina da "carica papaya" instalada por via traqueal em ratos, nos quais o enfisema instalou-se mais ou menos rapidamente (82). O mesmo foi conseguido no hamster tratado pela mesma via com elastase porcina ou colagenase (145,213). A elastase introduzida por via traqueal, chegando ao interstício do parênquima pulmonar, difunde-se rapidamente e inicia o ataque às fibras elásticas e ao colágeno (211). A degradação da elastina opera-se rapidamente, provocando a ruptura dos septos alveolares e a destruição alveolar pode ter progressão crônica (212). Em cães e nos hamsters produz-se enfisema administrando-lhes elastase humana, por meio de homogeneizados de leucócitos ou de preparações purificadas dessas células contidas no escarro, ou ainda a isolada do sangue de pessoas sadias ou com enfisema (60, 116, 201, 207, 210, 225). Da mesma forma provoca-se nesses animais, o enfisema, administrando-lhes homogeneizados de macrófagos que tenham fagocitado leucócitos, que assim estocaram elastase (150). Com a instilação intra-traqueal de cloreto de cádmio em animais, obtém-se aumento da permeabilidade do epitélio brônquico com notável afluxo de leucócitos que, liberando elastase, provocam enfisema bolhoso (163).

A lise da elastina libera desmosina como produto de degradação daquela; esta pode ser detectada na urina desses animais como contraprova da destruição da elastina no processo do enfisema (79,136). Esse conhecimento abriu perspectivas para o diagnóstico bioquímico do enfisema no homem, pela dosagem no sangue e na urina de peptídeos derivados da elastase, embora existam resultados contraditórios (48, 86, 130, 134). Recentemente conseguiu-se dosar, com mais segurança, produtos de degradação da elastina em sangue e tecido pulmonar humanos, empregando técnicas imunológicas como será relatado no item 7.3.

Fato de sumo interesse é que nos animais sob a ação da elastase pancreática ou da papaina, ou ainda da elastase humana, uma vez suspensa essa administração, inicia-se mais ou menos rapidamente a ressíntese da elastina (61, 124, 133, 221, 238). Contudo a neoformação da elastina processa-se de maneira desorganizada, não se recompondo a histoarquitetura normal (139). A ressíntese da elastina é mediada pela enzima lisil-oxidase que sintetiza a desmosina, molécula básica na estrutura daquela (174). A lisil-oxidase é fundamental no processo, por coordenar as ligações cruzadas dos grupos de cadeias polipeptídicas constituintes da desmosina (174). Esta por sua vez é imprescindível para as ligações formadoras da tropoelastina que é precursora da elastina. O bloqueio da lisil-oxidase aumenta a destruição das paredes alveolares dos animais sob efeito de proteases, como por exemplo, a elastase pancreática (137). Há uma linhagem de ratos que pode apresentar defeito constitucional da função

da lisil-oxidase; quando isso acontece esses animais desenvolvem enfisema pulmonar com freqüência (323-A). Experimentalmente pode-se reproduzir essa situação inibindo essa enzima por agente latirítico como a beta-aminopropionitrila agravando significativamente o enfisema (137, 138). Já se viu que o cloreto de cádmio provoca enfisema no hamster; este é muito agravado com a associação de beta-aminopropionitrila (163). O cobre integra a estrutura da lisil-oxidase; animais com dieta carencial desse metal, tornam-se deficientes em elastina (167) e facilmente desenvolvem enfisema bolhoso (216).

Como se depreende, pode-se criar o enfisema em animais provocando desequilíbrios enzimáticos no pulmão, por vários caminhos. Porém o mais demonstrativo é a obtenção do desequilíbrio protease-antiprotease criando situações equivalentes à deficiência genética humana de alfa-1-antiprotease, favorecedora do desenvolvimento do enfisema.

A deficiência genética de α 1-AP encontrada no homem não parece existir em animais. O hamster porém, comparado com uma dezena de outras espécies, é o que possui os mais baixos níveis séricos de α 1-AP. Devido a essa deficiência do principal inibidor da elastase, o hamster é justamente o que desenvolve, mais que qualquer outro animal de laboratório, enfisema grave quando submetido à ação de enzimas elastolíticas (105, 109). A α 1-AP é inativada por oxidação; oxidantes vários bloqueando a sua atividade induzem mais fácil e extensamente o enfisema (item 6.3.1). Nessa linha de experimentação o oxidante cloramina-T, inibe a α 1-AP propiciando rápida e enormemente o estabelecimento do enfisema no cão (3,4). Esse dado acentua o decisivo papel que têm os oxidantes na liberação do caminho para a elastase destruir a elastina.

Os dados experimentais e os que surgiram nas pesquisas em "anima nobile", ressaltam que o modelo proteases-antiproteases conjugado com o sistema de oxidantes-antioxidantes, é o mais importante mecanismo fisiopatológico no desencadeamento do enfisema pulmonar. Como se verá, o tabagismo, nesse modelo, assim como para o desenvolvimento do mecanismo obstrutivo, é o mais relevante fator de risco (32, 109, 211, 324, 392, 399, 414).

6.2 - *Equilíbrio Proteases-Antiproteases*

O equilíbrio do sistema protease-antiprotease (Quadro 5) garante a preservação dos elementos implicados na matriz intersticial porque, por sua natureza protéica, são degradados pelas proteases, quando aquele está desequilibrado. O desequilíbrio protease-antiprotease pode ser genético ou adquirido.

6.2.1 - *Proteases*

São várias as proteases endógenas com atividade elastolítica implicadas no mecanismo do enfisema.

Quadro 5
 Proteases e antiproteases do pulmão

<i>FONTES DE ELASTASE</i>	<i>INIBIDORES DA ELASTASE</i>
A - Leucócitos polimorfomonucleares. Elaboram 80% das proteases - Elastase - Catepsina G B - Macrófagos alveolares Produzem 3% das proteases - Metaloprotease (elastase similar) - Catepsina B - Liberam elastase armazenada dos leucócitos que fagocitam C - Fibroblastos D - Plaquetas sanguíneas E - Músculos lisos	A - Alfa-1-antiprotease (α 1-AP) Hepatócito principal elaborador. Constitui 90% das antiproteases B - Alfa-2-macroglobulina Origem discutível C - Inibidor brônquico (antileucoprotease) Elaborado no epitélio brônquico D - Alfa-1-antiquimotripsina Só inibe a catepsina G E - Macrófagos eventualmente produzem α 1-AP

- *Elastase dos leucócitos neutrófilos* - A elastase é uma protease com peso molecular 33.000; é o mais importante e potente agente degradador da elastina e, portanto, armazenada nas granações azurófilas dos leucócitos neutrófilos polimorfomonucleares que, com isso, são sua principal fonte endógena. Ela é libertada durante a fagocitose e logo após a morte dos leucócitos (246). A elastase leucocitária constitui 80% de todas as proteases do pulmão e tem extenso leque de ação, maior que a elastase porcina (439), degradando elastina, colágeno, proteoglicanos e fibronectina. Ataca todos os elementos do tecido conectivo de sustentação das paredes alveolares (304), razão pelo qual causa verdadeira destruição da histoarquitetura pulmonar. O teor de elastase varia nos leucócitos sugerindo diferenças genéticas; em média contém 6 microgramas da enzima por 1 milhão de células (439). Quando há acúmulo de leucócitos nos pulmões, como nas infecções bacterianas e viróticas, com a fagocitose que se estabelece, libera-se grande quantidade de elastase e há intensa produção de radicais livres (item 6.3.2) exacerbando a ação proteolítica que pode digerir os tecidos. Contudo, o sistema antiprotease (item 6.2.2) consegue neutralizar esse processo deletério, circunscrevendo-o e reparando-o com rápida neoformação de elastina (item 6.1). Já se disse que a elastase dos neutrófilos de animal produz enfisema experimental (207); do mesmo modo age a elastase dos leucócitos humanos (60, 116, 201, 210, 225). Na infecção pelo pneumococo

no homem, o exsudato é rico em leucócitos neutrófilos e, todavia, ela se resolve sem traço de destruição tissular. Este fato, que até há pouco tempo era considerado paradoxal, tem explicação pela descoberta de que o pneumococo possui em sua capsula poderoso inibidor da elastase dos neutrófilos (239, 240).

- *Catepsina G leucocitária* - Os lisossomas dos neutrófilos secretam outro agente, a catepsina G, que não possui atividade elastolítica clara, mas age sinergicamente elevando a atividade da elastase (22).

- *Elastase dos macrófagos alveolares* - Os macrófagos alveolares e os monócitos cultivados *in vitro* secretam uma elastase que é uma metaloenzima, antigênica e bioquimicamente diferente da elastase neutrófila (200). É liberada logo após sua secreção e não armazenada. Sua produção é em torno de 3% da dos leucócitos. O maior conhecimento dessa metaloprotease deriva de pesquisas sobre macrófagos de ratos e outros animais (6, 247, 252). Ao contrário do que sucede com a elastase dos leucócitos, ela não é inativada pela α 1-AP (38, 89). Enfisema moderado foi conseguido em cães submetidos a nebulização com o homogeneizado de macrófagos alveolares (150).

Os macrófagos alveolares podem armazenar a elastase neutrófila (29, 31) para liberá-la nas situações de grande estímulo, como na fagocitose, acelerando, nos locais onde se acumulam, as destruições tissulares; desse modo eles servem de transportadores da elastase leucocitária (30, 31, 109). Os macrófagos ainda interferem na elastase porque secretam, quando estimulados, inibidores da α 1-AP (no rato) e da alfa-2-macroglobulina (no homem) (250, 251).

A contribuição dos macrófagos alveolares na elastólise é sobretudo evidenciada pelo fato de, nos fumantes, se aglomerarem em torno dos bronquíolos respiratórios, desenvolvendo-se assim o enfisema centrolobular (165).

- *Catepsina B dos macrófagos* - Esta enzima e possivelmente outra, a cisteinil protease, representam 65% a 80% da atividade elastolítica própria dos macrófagos murinos (38, 172). Os macrófagos humanos também secretam essa enzima (172) e esta tem sido encontrada no material de lavagem broncoalveolar em diversas pneumopatias, inclusive na sarcoidose e no câncer (27).

- *Elastase de outras células* - Fibroblastos da pele, células dos músculos lisos e plaquetas sanguíneas produzem enzimas elastolíticas, mas pouco se sabe sobre sua possível participação no processo do enfisema do pulmão (400, 439).

6.2.2 - Antiproteases

Mantendo o equilíbrio enzimático no pulmão existem alguns agentes que, em graus diversos de eficiência, neutralizam a atividade elastolítica da elastase.

- *Alfa-1-antiprotease (α 1-AP)* - É o mais potente inibidor da elastase, impedindo sua ação destruidora da histoarquitetura do pulmão. Inicialmen-

te denominada alfa-1-antitripsina, passou a ser chamada alfa-1-inibidor de proteases ou, mais simplesmente, alfa-1-antiprotease, devido à sua propriedade de neutralizar também a elastase pancreática, a tripsina, quimotripsina, catepsina G, plasmina e trombina. Ela forma com as proteases um complexo covalente estável, inibindo-as de forma irreversível (359); essa capacidade inibitória varia conforme os tipos de proteases, sendo o seu maior poder em relação à elastase sobre a qual age 10 vezes mais rapidamente (304, 324, 399).

A alfa-1-antiprotease (α 1-AP) é uma glicoproteína produzida pelos hepatócitos e também pelos macrófagos e talvez outras fontes, porém em muito menor proporção; a expressão genética de α 1-AP é 200 vezes maior no hepatócito que nas outras células (393); cerca de 2 g da enzima entram na circulação proporcionando concentrações séricas de 150 mg/dl a 350 mg/dl. É constituída de 394 aminoácidos com 3 cadeias colaterais de complexo carboidrato, com peso molecular relativamente baixo 54.000 KD, o que lhe permite difundir-se muito bem no tecido pulmonar; sua meia vida é em torno de 7 dias (278, 324, 399). Há evidência de que eventualmente os macrófagos alveolares podem elaborar α 1-AP (261). Sua importância na manutenção do equilíbrio enzimático do pulmão está em que é responsável de 90% a mais de 95% do total do sistema antiprotease (71,278). O locus ativo da α 1-AP é a ligação peptídica com metionina na posição 358, que é a maior responsável pela ligação covalente com a elastase (120, 121, 166). Além desse, há evidência de existirem outros núcleos metionínicos adicionados, porém não tão eficientes (120, 121). A atividade da α 1-AP depende da integridade do núcleo metionina 358 que, sendo oxidado, é transformado em metionina sulfoxida (291) e o poder de inibir a elastase fica profundamente diminuído ou mesmo anulado (33, 111, 120, 121, 209, 266, 321). Oxidantes como a cloramina-T, como foi visto no item 6.1, oxidantes endógenos do organismo (item 6.3.2) e exógenos como bactérias diversas (estreptococo, clostridium, *Pseudomonas aeruginosa*) produzem inibidores da α 1-AP e facilitam e elastólise no local (119, 256, 391). Porém, dos oxidantes exógenos, o principal é indiscutivelmente o fumo do tabaco (item 7.2) que, inativando o locus metionina, incapacita a α 1-AP de neutralizar a elastase e outras proteases, o que é verificado experimental e clinicamente (3, 120, 121, 237, 304, 324, 392, 399, 414). A inativação da α 1-AP por oxidação deixa o curso livre para a elastase degradar a elastina; é a fase fundamental para o desenvolvimento do enfisema pulmonar, e de alta significação para a epidemiologia deste.

Existem condições genéticas produzindo transtornos na síntese dessa glicoproteína, diminuindo suas concentrações no sangue ou abolindo-a de todo, dando, por esse caminho, também curso livre para a ação elastolítica da elastase. Notável avanço nesse terreno decorreu com a biologia molecular.

A deficiência sérica de α 1-AP é desordem hereditária autossômica recessiva caracterizada pela redução de seus níveis na circulação, com alto risco de desenvolver enfisema pulmonar. A desordem provém de mutações do gene que codifica a α 1-AP, sediada no cromossomo 14 (417). Várias com-

binacões homozigóticas e heterozigóticas de pelo menos 17 mutacões diferentes desse gene estão ligadas com a reducao de α 1-AP no sangue (304). A α 1-AP é codificada por expressao de 2 alelos independentes dos genitores, resultando em codominancia hereditaria (278,304). O gene codificador é altamente pleomórfico; dos 20 alelos diferentes conhecidos há poucos anos atrás (57) já se identificaram aproximadamente 75 (278, 304, 438). Existe um amplo leque de fenótipos classificados em um sistema Pi ("protease inibitor"); o gene normal com concentrações normais de α 1-AP no sangue é o PiM; o gene implicado nas maiores reduções das concentrações de α 1-AP é o PiZ; outro, talvez intermediário PiS, é responsável por certo grau de diminuicao das concentrações.

O fenótipo normal homozigótico - PiMM - tem concentrações séricas, como vimos, de 150 mg/dl a 350 mg/dl. O fenótipo homozigótico - PiZZ - exterioriza-se com os níveis sorológicos os mais baixos: concentrações sanguíneas de 15% das normais (56) ou seja de 15 mg/dl e a maioria desenvolve enfisema (135,358). Não se sabe porque certa proporcao desse fenótipo não sofre de enfisema (282). A maior frequência de PiZZ está nos descendentes caucasianos nórdicos europeus; na Suécia é em torno de 1 para 1.700 (321) e nos Estados Unidos é de 1 para 1.600 a 4.000 (282, 317, 358) ou de 0.02% a 0.03% nos descendentes caucasianos (415). Há o fenótipo PiSS com concentrações séricas em torno de 52% do normal, com menor risco de enfisema, mais encontrado nos descendentes espanhóis (304).

Existem os heterozigóticos mistos (um alelo normal e outro anormal) - MZ, MS, SZ - com deficiências parciais de α 1-AP exibindo concentrações plasmáticas proporcionalmente alteradas, como por exemplo, PiZ_a que tem em média 35% do normal (304); todavia não está bem estabelecido se desenvolvem enfisema com a mesma facilidade que os PiZZ.

Os alelos identificados são classificados em 4 grupos fundamentais de acordo com o nível sanguíneo de α 1-AP e sua função (278).

- Normal - alelos produzindo moléculas de α 1-AP em quantidade normal suficiente para obstar a ação proteolítica da elastase.

- Deficiente - produção de α 1-AP abaixo das quantidades normais.

Variante Z - é clássica, descoberta por Laurell e Erickson (140). O codon GAG que codifica glutamina na posição 342, por erro genético, é substituído pelo codon AAG codificando lisina (401). Concentrações de α 1-AP no sangue em torno de 15% do normal (401).

Variante S - o codon GAA que codifica glutamina na posição 264, é substituído pelo codon GTA codificador de valina (327). Concentrações de α 1-AP em torno de 50% do normal (327).

- Ausente (Null) - Pi Null-Null: o nível de α 1-AP no sangue é zero. Há deplecao de uma base; o codon TAC codificador de tirosina é substituído por TAG (stop) parando a codificacao de α 1-AP (394, 434).

- Disfuncional - a quantidade de α 1-AP é normal mas completamente inativa porque o codon ATG que codifica metionina 358 é substituído por AGG que codifica arginina (406).

Em suma, os carentes genéticos de α 1-AP, independente de outros fatores, como por exemplo o tabaco, constituem grupo de alto risco de enfi-

sema do pulmão, que é progressivo na razão direta da diminuição dos seus níveis no sangue. Análise conjugando os fenótipos homozigóticos e heterozigóticos conforme as taxas de α 1-AP no sangue, estabelece a seguinte graduação de risco de enfisema em relação à população geral não fumante (304): MM, MZ, MS, mesmo risco; SZ, risco aumentado significativamente; ZZ e Null-Null, alto risco.

No geral, e há evidência epidemiológica disso, o risco de instalação do enfisema surge com as concentrações abaixo de 80 mg/dl de α 1-AP no sangue; este nível parece ser o limiar (278, 324, 327). Abaixo deste, a α 1-AP recolhida do líquido de lavagem broncoalveolar tem capacidade reduzida de inibir a elastase (71, 469). É a partir dos 20 anos de idade que os deficientes de α 1-AP começam a apresentar sintomas, pois os sinais de doença pulmonar raramente se instalam antes, mesmo nos PiZZ (279, 374, 451). As provas de função respiratória seriadas pouco acusam na adolescência. Nos jovens adultos, por anos, o VEF1 se mantém em torno de 10% a 15% a menos do predito. Porém, com o aparecimento de outros sintomas, a deterioração dos parâmetros funcionais se acelera atingindo a redução anual de 110 ml ou mais do VEF1 em contraste com o declínio de 25 ml a 30 ml nos normais; os valores caem de 30% até 65% do predito (259, 414). A dispnéia de início insidioso progride e o enfisema está claramente instalado aos 30 anos. Quando há associação com bronquite crônica as alterações das provas funcionais e demais manifestações surgem mais precocemente. Mas ao contrário do que sucede nos tabagistas nos quais o complexo bronquite crônica e enfisema é a regra, só metade dos deficientes genéticos de α 1-AP tem essa associação (438). Nestes, independente da presença de bronquite, aos 40 anos metade já tem enfisema severo, chegando a dois terços deles aos 70 anos (237, 304, 324, 374, 399, 414). Há neles risco aumentado de doença hepática na infância, cuja incidência chega a 10% (440) e de cirrose e hepatoma na idade adulta (322). A histopatologia pulmonar mostra enfisema difuso, com alargamento dos espaços alveolares e ruptura dos septos, de preferência nas bases pulmonares e quadro típico de enfisema panacinar (237).

A forma disfuncional de α 1-AP é rara e seus portadores, além do enfisema são propensos a diátese hemorrágica (406).

Os indivíduos fenótipos Null-Null são mais raros ainda; poucos sobrevivem até os 10 anos de idade, desenvolvendo enfisema antes dos 30 anos.

O enfisema pulmonar por causa genética atinge entre 30 a 40 mil indivíduos nos Estados Unidos e um pouco mais nos países nórdicos europeus (57, 316, 317, 319, 387, 399) e não tem grande significação epidemiológica; o seu conhecimento porém é imprescindível para a compreensão de sua gênese por meio do desequilíbrio enzimático e através do qual o tabagismo é o primordial agente causal do enfisema pulmonar adquirido. Está implícito que os deficientes genéticos de α 1-AP, quando fumam, têm seu processo enfisematoso acelerado e extremamente agravado com encurtamento da vida (item 7.4).

- *Alfa-2-macroglobulina* - É uma glicoproteína sérica de origem mal conhecida. Há evidência de que pode ser sintetizada pelos monócitos e ma-

crófaos humanos (106). Seu peso molecular é 730.000 e sua concentração no soro é de 200-400 mg/100 ml. Tem propriedades inibidoras sobre a elastase neutrófila: diminui parcialmente a ação da elastase pancreática (84). Devido a seu alto peso molecular, difunde-se com dificuldade no pulmão, dispersando melhor quando há aumento da permeabilidade do órgão; por isso sua concentração na lavagem broncoalveolar é 20 vezes menor que no sangue e, neste, seus níveis se elevam nos casos de deficiência de α 1-AP (24, 71, 209). Seu exato papel no sistema protease-antiprotease não está completamente estabelecido. Há informações de que a alfa-2-macroglobulina se liga irreversivelmente a diversas proteases, inclusive à elastase neutrófila e à metaloenzima dos macrófagos alveolares (57). A elastase assim ligada à alfa-2-macroglobulina ainda manteria parte de sua atividade elastolítica (124). Revelou-se também que nos fenótipos PiMM a elastase leucocitária se fixa em torno de 90% à alfa-2-macroglobulina, ao passo que nos PiZZ (mais deficientes em α 1-AP) essa fixação cairia para 50%, sugerindo que a ação dessa enzima inibidora pode ter dependência com α 1-AP e com a quantidade de elastase a neutralizar (170).

- *Inibidor brônquico* - Também denominado inibidor antileucoprotease. É antiprotease de baixo peso molecular - 10.500 - ácido-estável, do muco bronquial, e portanto isolada nas secreções brônquicas (166, 168, 171); também foi detectada no pulmão profundo (63). Representa cerca de 80 a 90% da atividade antielastásica das secreções brônquicas, ao passo que no líquido de lavagem broncoalveolar mais de 90% dessa atividade é atribuída à α 1-AP (70, 227). O inibidor brônquico é secretado pelas glândulas mucíparas e pelo epitélio brônquico, estando presente desde a nasofaringe, traquéia e brônquios, até às pequenas vias aéreas (50, 63). É inativado "in vitro" por oxidantes e, portanto, pelo fumo (3, 34). Protege o epitélio das injúrias proteolíticas. Todavia, a exata contribuição do inibidor brônquico ao sistema antiprotease ainda não está suficientemente esclarecida (109, 178, 209).

- *Alfa-1-antiquimiotripsina* - Não inativa a elastase neutrófila, mas inibe a catepsina G (178).

- *Inibidores de proteases secretados pelos macrófagos* - Em estado normal os macrófagos sintetizam e secretam quantidades discretas de inibidores da elastase, tais como a α 1-AP (251) e a alfa-2-macroglobulina (250).

No estado atual dos conhecimentos, alfa-2-macroglobulina, inibidor brônquico e inibidores dos macrófagos não têm papel relevante no complexo antiprotease do pulmão (57). Por outro lado, a alfa-1-antiprotease é o agente inibidor mais potente, representando praticamente a totalidade da ação neutralizadora das proteases, e portanto, quase por si só, mantém o equilíbrio do sistema protease-antiprotease pulmonar.

O fato de a maioria dos enfisematosos ter teores normais de α 1-AP sugere fortemente que, para o desenvolvimento do enfisema, deve haver períodos mais ou menos prolongados de desequilíbrio entre inibidores e enzimas elastolíticas. Por outro lado o fato de uma certa porcentagem dos PiZZ não desenvolver enfisema ou apenas sofrer enfisema relativamente moderado, sugere que as demais antiproteases, além da α 1-AP, têm poder inibidor

suficiente.

6.3 - Sistemas Oxidantes-Antioxidantes

Nos últimos anos acumulou-se vasta literatura sobre os oxidantes e antioxidantes. (Quadro 6).

São múltiplos os efeitos prejudiciais dos oxidantes e já estão arroladas mais de 50 doenças nas quais eles têm interferência fisiopatológica. Escapa dos objetivos deste artigo sua abordagem ampla; aqui nos limitaremos a mencionar seus efeitos no pulmão e especialmente a faculdade que possuem de desequilibrar a relação protease-antiprotease à favor da primeira, inativando a α 1-AP pela oxidação do seu locus funcional metionina, favorecendo a capacidade elastolítica daquela, gerando o enfisema. Para esse tema existe substancial documentação (20, 32, 62, 66, 85, 123, 206, 208, 265, 297, 305, 306, 325, 335, 448, 463).

Quadro 6
Oxidantes e Antioxidantes do Pulmão

PRINCIPAIS RADICAIS LIVRES DE OXIGÊNIO	ANTIOXIDANTES
<ul style="list-style-type: none">• O_2^- - ion superóxido de oxigênioH_2O_2 - peróxido de hidrogênio• HO - hidroxila	Endógenos
FONTES DE OXIDANTES	A - Superóxido desmutase (cataliza O_2 em H_2O_2)
Endógenas	B - Catalase (reduz H_2O_2 em H_2O)
Leucócitos e macrófagos ativados liberam radicais livres e mielo peroxidase, mediadora destes. Liberação em grande quantidade durante o processo de fagocitose.	C - Glutaciona (sistema glutaciona-peroxidase). É a mais poderosa. Com base na cisteína é a principal fonte do grupo sulfidrila dentro da célula.
Exógenas	D - Ceruloplasmina Inibidora da peroxidação lipídica.
A - Fumo do tabaco é a mais importante fonte (Quadro 7)	Exógenos
B - Radiação	A - N-acetilcisteína (radical tiólico, grupo ativo sulfidrila). É o mais potente redutor suprindo a célula de cisteína e conduzindo à biossíntese da glutaciona.
C - Poluentes atmosféricos e ocupacionais (SO_2 , NO_2 , CO, O_3 , hidrocarbonetos)	B - Vitamina C, E, (Tocoferol). Auxiliares da óxido-redução.
D - Gorduras e álcool	

6.3.1 - Oxidantes (radicais livres)

Os oxidantes também chamados radicais livres de oxigênio, são átomos ou moléculas com número ímpar de elétrons; isso os torna ávidos de elétrons que são arrancados de outras moléculas, o que caracteriza a oxidação. Os radicais livres são altamente reativos e têm meia vida curta; alguns com milésimos de segundo, mas muitos são estáveis com tempo de provocar reações lesivas (184). Quando dois radicais se combinam são simbolizados por um ponto; os mais frequentemente envolvidos nos processos de oxidação são: ion superóxido de oxigênio ($\bullet\text{O}_2^-$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e radical hidroxila ($\bullet\text{HO}$). O acúmulo dos dois primeiros potencializa a produção de hidroxila. Esta é a mais ativa e potente nos fenômenos de oxidação, pois reage rapidamente com todas as moléculas biológicas (335); o radical hidroxila é extremamente ativo e tóxico e não é metabolizado por nenhuma enzima do organismo.

Os radicais livres reagem com aminoácidos, glicídios, fosfolipídios e ácido desoxirribonucléico. Alteram a permeabilidade da membrana celular, são citotóxicos, rompem ligações de cadeias de ácidos graxos insaturados, neutralizam enzimas oxidoredutoras, especialmente as que contêm grupos sulfidrilas (SH), lesam capilares, alteram estruturas do DNA com morte de células e participam com mutações na carcinogênese (57, 62, 123, 297, 325, 335).

No caso particular do pulmão, os oxidantes além de inativarem a α 1-AP, exercem papel decisivo na destruição da histoarquitetura, pelas lesões celulares exercidas diretamente e pelo aumento da permeabilidade tecidual facilitando a difusão nos tecidos de elementos prejudiciais.

Provavelmente, o maior e mais potente mediador de radicais livres endógenos do pulmão é a mieloperoxidase dos leucócitos neutrófilos e dos macrófagos alveolares, catalizadora da oxidação de ions de cloro pelo H_2O_2 , produzindo ácido hipocloroso que é possante bactericida e portanto também notável citotóxico (265, 325, 335). Essa enzima, na presença de peróxido de hidrogênio, inativa rapidamente a α 1-AP e o inibidor brônquico (34, 40, 43). Leucócitos neutrófilos, eosinófilos, monócitos, macrófagos alveolares e de todos os tipos, quando ativados, e especialmente durante o processo da fagocitose, geram verdadeira explosão de radicais livres como ion superóxido de oxigênio, peróxido de hidrogênio e radical oxidrila (em maior quantidade o primeiro) com os quais se capacitam a matar bactérias (11, 12, 78, 92, 95, 96, 243, 297, 310, 325, 335).

Evidentemente, se esses radicais não forem neutralizados pelo sistema de antioxidantes, passarão a lesar o próprio pulmão.

Os oxidantes exógenos são também altamente nocivos e já foi referido (item 6.1) que o agente oxidante cloramina-T, inativando a α 1-AP, produz enfisema pulmonar em animais. Poluentes atmosféricos e ocupacionais, como dióxido de enxofre, monóxido e dióxido de nitrogênio, monóxido de carbono, hidrocarbonetos, ozona, são oxidantes. A exposição diária prolongada de hamsters ao NO_2 diminui a elastina pulmonar, que retorna ao normal quando cessa a ação desse oxidante (131). Foi diretamente demonstrado que ozona inativa a α 1-AP (118). As maiores fontes exógenas de oxidantes são fumo do tabaco, radiação, ingestão de gorduras e álcool. Contudo

o tabagismo é de longe o mais importante oxidante exógeno do pulmão, inativador das enzimas antiproteases, e de maior significação epidemiológica pela universidade do consumo de cigarros.

Em síntese, os fenômenos de oxidação são altamente lesivos ao pulmão e, pelo desequilíbrio protease-antiprotease que determinam, são o pilar da gênese do enfisema.

6.3.2 - Antioxidantes

O sistema regulador da óxido-redução é constituído por enzimas antioxidantes das quais se destacam superóxido-dismutase, catalase e sistema glutathiona; estas protegem as células da geração contínua desses oxidantes tóxicos e impedem com isso a inativação das enzimas antielastase.

- *Superóxido-dismutase* - A primeira linha envolvida nos processos de óxido-redução é a superóxido-dismutase (57). Cataliza a transformação do $\bullet\text{O}_2$ em H_2O_2 . Essa enzima estabelece integração benéfica entre catalase e peroxidases, oferecendo proteção contra a oxidação, pois facilita a redução da H_2O_2 em água.

- *Catalase* - Essa enzima está presente em todas as células animais e a sua principal função é transformar o peróxido de hidrogênio em água.

- *Glutathiona* - É um tripéptido contendo glicina, cisteína e ácido glutâmico; é a fonte principal dos grupos sulfidrila dentro da célula que decompõe o peróxido de hidrogênio, e sua ação é mediada pela glutathionaperoxidase (66, 154, 156). Devido ao seu grupo sulfidrila, é molécula versátil protetora das células contra oxidantes e xenobióticos tóxicos (288). Sua síntese requer alguns aminoácidos apropriados e um complexo de enzimas específicas. Seu maior produtor é o fígado. A glutathiona pode oxidar-se, mas é reduzida de novo pela NADPH na presença da glutathionaredutase (325). Ela é a mais importante e essencial no sistema de proteção contra os oxidantes (46). Todavia ela pode exaurir-se pelo esgotamento dos seus estoques ou da cisteína. Por isso para a síntese da glutathiona é imprescindível o aporte à célula de cisteína. Esta todavia se oxida facilmente, anulando suas propriedades, a menos que exista um abastecimento contínuo. Estudos recentes, "in vitro" e em culturas de células epiteliais, vêm demonstrando que, na proteção celular contra oxidantes e xenobióticos tóxicos, a N-acetilcisteína surge como elemento importante, porque contém em sua estrutura um grupo sulfidrila reativo, protegendo assim a integridade celular do pulmão de oxidantes como o fumo, agentes citotóxicos em geral e quimioterápicos (17, 46, 142, 157, 179,, 204, 205, 218, 241, 254). Ainda, a biossíntese da glutathiona se faz adequadamente nas células dos pulmões de ratos, quando perfundidos com líquido contendo seja cisteína, seja N-acetilcisteína (268). Demonstrou-se também o efeito protetor da N-acetilcisteína contra a ação tóxica do condensado do fumo de tabaco, em células cultivadas "in vitro", nas quais a depleção rápida de glutathiona precede o processo tóxico. A N-acetilcisteína protege contra esta depleção e os consequentes efeitos tóxicos, favorecendo a síntese de glutathiona, assegurando assim função normal e viabilidade celular (388). A N-acetilcisteína, por outro lado, reduz a H_2O_2 exercendo extensa gama de intervenções no processo de óxido-redução; sua

ção não é porém de tipo enzimático, necessitando de concentrações adequadas para desencadear os efeitos antioxidantes.

Por sua capacidade de promover a biossíntese da glutathiona, suas propriedades protetoras antitóxicas das células e outras que vêm sendo evidenciadas, a N-acetilcisteína desperta grande interesse no combate à oxidação endógena e exógena do pulmão, inclusive como elemento preventivo de injúrias teciduais e portanto profilático (389, 473) (item 8.2).

- *Ceruloplasmina* - É um antioxidante de interesse e uma glicoproteína transportadora de cobre, com peso molecular 32.000, sintetizada no fígado. É o maior inibidor circulante de peroxidação lipídica e protege a α 1-AP contra a inativação pela oxidação; pode impedir a inativação de α 1-AP induzida pela mieloperoxidase e pelo peróxido de hidrogênio (226); tem ainda a propriedade de prevenir a conversão de peróxido de hidrogênio em radicais hidroxilas, que são muito tóxicos. A ceruloplasmina é encontrada na lavagem broncoalveolar. Sua concentração sérica aumenta, como mecanismo de defesa, na vigência de oxidantes exógenos como fumo e poluentes ambientais, e por ocasião de reações inflamatórias (76). Contudo, o papel da ceruloplasmina como preventivo do enfisema não deve ser superestimado (57).

- *Outros agentes antioxidantes* - Foi isolada enzima de neutrófilos humanos, de células alveolares do coelho e de forma purificada da E. coli, agindo como antioxidante indireto, por reativar a α 1-AP oxidada por agentes químicos como o cloramina-T, (5,35). Também se noticia que as hemácias fabricam antioxidantes que podem proteger o pulmão (230). Finalmente, ao lado dos antioxidantes maiores, há substâncias que contribuem para a óxido-redução sem ser por meios enzimáticos, como as vitaminas C e E (123). A vitamina C por meio de combinação com Fe^3 e a vitamina E-Tocoferol, têm propriedades antioxidantes próprias e diminuem significativamente as conseqüências prejudiciais da superoxidação lipídica nas lipoproteínas plasmáticas e nas membranas celulares (297, 335, 465).

7 - PAPEL DO CIGARRO NO DESENVOLVIMENTO DO ENFISEMA DO PULMÃO, PELO DESEQUILÍBRIO ENZIMÁTICO

É ponto pacífico que o cigarro é o mais importante e mais comum causador do desequilíbrio enzimático do pulmão. Com seus componentes oxidantes e tóxicos ele desencadeia o enfisema pulmonar por três caminhos essenciais: provocando aumento da elastase, obstaculizando sua inibição e dificultando a ressíntese da elastina.

7.1 - Aumento da Elastase

Nos fumantes há sempre aumento de leucócitos no sangue (233). Como se disse no item 5,2, neles cresce substancialmente, a quantidade de leucócitos polimorfonucleares e de macrófagos alveolares. O fumo aumenta o complemento C5a que, conjuntamente à nicotina, toma parte em extenso recrutamento de leucócitos (359). As mencionadas células acumulam-se principalmente nos bronquíolos respiratórios (165, 217) onde frequentemente dobram em quantidade em relação aos não-fumantes (357, 380). O aumen-

to significativo dessas células também é comprovado por autópsias, biópsias e nos líquidos de lavagem broncoalveolar (49, 65, 101, 104, 129, 146, 181, 245, 361, 380). Com o acúmulo dessas células eleva-se a quantidade de elastase no pulmão elaborada pelos leucócitos e armazenada pelos macrófagos que fagocitaram leucócitos (65, 129, 191); conseqüentemente há maior proteólise, notadamente maior elastólise. Tenha-se em mente que a quantidade de enzimas isoladas nessas secreções deve representar fração do total da elastase contida no tecido pulmonar. Por outro lado, o cigarro estimula essas células na produção de proteases (91, 103); há ainda o fato dos neutrófilos dos enfisematosos se tornarem mais susceptíveis à citotoxicidade do cigarro e, com isso, passam a liberar maiores quantidades de elastase (18, 97). Isolam-se quantidades significantes de metaloproteases das culturas de macrófagos de tabagistas e dos macrófagos presentes na lavagem broncoalveolar (89,91,103); desta se extrai uma enzima elastase-simile (115, 161). Com técnicas sensíveis, pode-se comprovar nas secreções brônquicas, uma hora após terem sido fumados dois cigarros, elevação da atividade enzimática dos leucócitos e macrófagos (108). Nem sempre é fácil demonstrar o fato, devido à rapidez com que a α 1-AP pode neutralizá-la criando complexo inativo (257). Contudo os neutrófilos isolados do líquido da lavagem broncoalveolar têm grande quantidade de grânulos azurófilos contendo muita elastase. Por meio de imuno-reações dosa-se a elastase liberada naquele líquido logo após fumar; por esse procedimento pode-se constatar que o aumento dessa enzima ocorre também nos interstícios das fibras elásticas (361). A atividade elástica pode ser avaliada pelo grau de destruição das paredes alveolares em animais. Para avaliá-la no homem, medem-se os níveis de polipeptídeo do fibrinogênio (A1-21) produzido pela degradação causada pela elastase; esta produz fragmentos específicos de A1-21 do fibrinogênio detectados por radio-imuno-ensaio. As concentrações sanguíneas de A1-21 são mais elevadas nos fumantes, diminuindo nos ex-fumantes sendo, nestes, ainda mais altas que nos não-fumantes. Nos tabagistas, bastam algumas horas sem fumar para os níveis de concentrações caírem. Os fumantes com bronquite crônica severa, têm concentrações séricas de A1-21 altas, associadas (467).

Os macrófagos alveolares ativados pelo fumo sofrem várias modificações na sua bioatividade (item 5.2), mas a que mais nos interessa é que eles passam a secretar um potente fator quimiotático sobre os leucócitos; isso não ocorre com os macrófagos dos não-fumantes (101, 102, 153). Esse fator quimiotático está bem patente, inclusive, nas culturas de macrófagos; os macrófagos dos não-fumantes não secretam o fator quimiotático, passando a fazê-lo quando postos em contato com o fumo (101). Este e o fator quimiotático dos macrófagos estimulam os leucócitos a liberar elastase em maior quantidade (69). Esse fator quimiotático atrai os leucócitos para as regiões centrais do lóbulo pulmonar, bronquíolos respiratórios e intersticiais do parênquima. Ele é de baixo peso molecular e há evidência que é o leucotrene B₄. A, acroleína adicionada às culturas de macrófagos alveolares, induz a mudanças no metabolismo araquidônico favorecendo a produção de leucotrene B₄; isso ocorre nos tabagistas, pois o fumo é rico em acroleína. Além desse há outros agentes quimiotáticos para leucócitos como a nicotina (231)

ácidos graxos insaturados, e alguns tipos de fosfolipídios que exercem potente atração sobre os macrófagos, atribuída à ativação de fosfolipases específicas exercida pelo fumo (381).

O acúmulo de macrófagos e de leucócitos pela ação quimiotática dos primeiros, se dá em áreas esparsas do pulmão, nas quais desencadeiam-se os efeitos proteolíticos sobre a matriz. A destruição da histoarquitetura não é pois homogênea, mas antes multifocal.

7.2 - Oxidantes do fumo provocam o desequilíbrio enzimático do pulmão e lesam o parênquima

O cigarro condiciona situações de oxidação permanente nos pulmões, causando a inativação da α 1-AP pelo mecanismo referido nos itens 6.2 a 6.3.2; com isso desequilibra de modo desfavorável o sistema protease-antiprotease, causando injúrias tissulares que levam ao enfisema.

O fumo é um dos mais ricos em radicais livres de oxigênio e o mais poderoso oxidante exógeno a lesar o pulmão. Na fase gasosa do fumo existem 10^{17} oxidantes por tragada, com carga enorme de íon superóxido, peróxido de hidrogênio e hidroxila, os quais são extremamente reativos (57, 188, 361); existem também radicais livres orgânicos de meia vida em torno de 5 minutos. Todavia todos têm tempo suficiente para penetrar no interstício pulmonar (361). A fase particulada contém 2×10^{15} radicais livres por tragada e 10^{18} por grama; são mais estáveis por serem predominantemente fenoxipoliméricos, com meia vida de 10 horas em solventes orgânicos. O principal é um complexo quinona-hidroquinona que se mantém no seio da matriz. As suspensões aquosas do alcatrão produzem radical hidroxila; essas suspensões provocam rupturas no DNA (361).

O potencial oxidante do fumo não está circunscrito à atuação direta dos seus elementos químicos, pois é também mediado pelos macrófagos alveolares e leucócitos polimorfonucleares que, ativados, passam a gerar radical superóxido (310). Macrófagos alveolares de jovens fumantes há pouco tempo, assintomáticos, liberam íon superóxido e outros radicais livres (344, 345). Macrófagos recuperados, por vários procedimentos, dos pulmões de tabagista, liberam espontaneamente oxidantes vários (343, 353, 421) e até oito vezes mais peróxido de hidrogênio como constatado no líquido de lavagem broncoalveolar, o que não sucede com os colhidos de não-fumantes (355). Após uma semana sem fumar a exaltação oxidante dos macrófagos volta ao normal (361). Por outro lado, macrófagos alveolares de não-fumantes passam a liberar $\bullet O_2$, $\bullet H_2O_2$, $\bullet HO$, quando ativados com fumo de tabaco "in vitro" (290, 397).

A atividade quimioluminescente dos leucócitos é significativamente superior nos fumantes, produzindo a inibição da superóxido-dismutase (enzima antioxidante, item 6.3.2). Verificou-se que o fato está associado à peroxidação lipídica; isso evidencia que o tabaco eleva a capacidade dos leucócitos produzirem oxidantes (363), o que está comprovado pela sua ação inativante sobre o α 1-AP.

Macrófagos e leucócitos, sob a ação do fumo do tabaco, liberam quantidades apreciáveis de mieloperoxidase - enzima mediadora de radicais li-

vres; item 6.3.1. - acelerando o processo de oxidação (113, 290).

Em síntese, os macrófagos alveolares e os leucócitos polimorfonucleares, isolados de fumantes por várias técnicas e das lavagens broncoalveolares, liberam maiores quantidades de radicais livres em comparação com essas células provindas de não-tabagistas (81, 92). Acrescente-se que diversos oxidantes do fumo e dos fagócitos dos tabagistas, podem potencializar o acúmulo de elastase nos bronquíolos (93).

O efeito oxidante do tabaco se faz também indiretamente por provocar a depleção de antioxidantes como a cisteína e a glutathiona — que é o mais importante redutor (item 6.3.2) — como constatado em células do rato 1 hora após sua exposição ao fumo (302). Células cultivadas *in vitro* sofrem depleção rápida da glutathiona quando em contato com o fumo (388). Em grau menor talvez, outro caminho do fumo em aumentar os processos oxidantes por via indireta é, por exemplo, a redução da absorção da vitamina C (177), a qual faz parte do sistema de oxido-redução (item 6.3.2).

Além do desencadeamento de processos tóxico-celulares no pulmão, o efeito mais importante dos oxidantes do cigarro é a inativação da α 1-AP, deixando assim o campo livre para a destruição tissular pelas proteases. Por esse caminho, o fumo é um poderoso inativador do sistema antiprotease, facultando à elastase todo seu poder elastolítico (68). Demonstra-se a ação direta dos radicais livres “*in vitro*”, com a α 1-AP perdendo sua atividade quando em contato com o condensado integral do cigarro (110, 114, 169, 187) ou com solução aquosa do fumo (33); como se disse no item 6.3.2, esta enzima antielastásica perde sua atividade por oxidação. Por outro lado leucócitos e macrófagos ficam estimulados, não só aumentando a produção de elastase, como foi visto, como inibindo o sistema antiprotease, especialmente a α 1-AP e o inibidor brônquico (93). Leucócitos e macrófagos alveolares ativados “*in vitro*” com fumo de tabaco, liberam oxidantes que rapidamente inativam a α 1-AP (118, 269, 289, 290, 291, 472). Essas células, extraídas das lavagens broncoalveolares de tabagistas, liberam espontaneamente quantidades de oxidantes suficientes para inativar a α 1-AP (98). A inalação, por ratos, de apenas 3 a 6 tragadas de fumo, diminui a capacidade da α 1-AP de inibir a protease obtida dos lavados pulmonares (112).

Nas lavagens broncoalveolares de ratos expostos à inalação do fumo (112) e de tabagistas inveterados (36, 68), a α 1-AP tem sua atividade diminuída por efeito da oxidação sofrida (36). Análises dessa enzima no sangue e nas secreções brônquicas de tabagistas, assinalam que suas concentrações são normais mas com perda da atividade em até 50% do normal (68, 399); a primeira demonstração disso nas secreções brônquiais de fumantes data de mais de 10 anos (68). Alguns pesquisadores não têm detectado a inativação da α 1-AP, que depende do tempo decorrido entre a exposição ao fumo e a análise, já que a atividade da enzima volta ao normal em torno de quatro horas (108). A colheita do material deve ser efetuada no máximo até uma hora após a inalação do fumo (1); é nesse intervalo que a produção dos agentes oxidantes pode chegar ao máximo nos macrófagos fumo-estimulados (2). É de interesse ressaltar que nos tabagistas o processo de inativação pode ocorrer também na α a-AP circulante no sangue, caindo a potência da

enzima em até 20% (13, 112).

O fumo integral ou frações do alcatrão inativam inclusive o inibidor brônquico (34, 179). Nos aspirados traqueais de fumantes de muitos anos, além da α 1-AP, o inibidor brônquico está com sua atividade muito diminuída (34).

Também se constatou a redução da atividade antioxidante da ceruloplasmina, nos tabagistas (108).

Como se infere, o tabaco, por meio de seus agentes oxidantes, inativa todo o sistema antiprotease do pulmão, deixando o caminho livre às proteases destrutoras da histoarquitetura pulmonar.

7.3 - O fumo Obstaculiza a Neoformação da Elastina

Já foi referido que a lisil-oxidase coordena as ligações peptídicas para a formação da desmosina precursora na síntese da elastina; que no balançamento normal protease-antiprotease, quando ocorre destruição da elastina, esta é rapidamente ressintetizada; que a neoformação da elastina fica obstaculizada em animais pelo bloqueio da lisil-oxidase por agentes químicos, agravando o enfisema experimental (item 6.1). Ora, o fumo impede a neoformação da elastina por meio dos seus oxidantes, inativando a lisil-oxidase; isso está demonstrado de diversas maneiras (361). Colocando essa enzima em contato com a fase gasosa do fumo, impede-se a elastogênese (111, 141). A atividade da lisil-oxidase decresce nos animais expostos ao fumo (173) e pode mesmo cessar completamente (361). Animais com enfisema experimental expostos ao fumo têm redução de até 7 vezes dos níveis de lisil-oxidase nos pulmões em relação aos controles. Neles a C-lisina diminui em quase a metade na incorporação da desmosina, tornando impossível a ressíntese da elastina (173, 405). Demonstrou-se também, "in vivo", que o fumo não só impede a ressíntese da elastina como a do colágeno, e, inclusive, a de proteínas em geral (77).

A destruição da elastina nos tabagistas é confirmada pelo fato de haver em seu sangue níveis elevados de péptides derivados daquela proteína, mesmo nos indivíduos aparentemente sadios, em confronto com o verificado nos não-fumantes (134). Péptides de degradação da elastina podem ser identificados no sangue por métodos imunológicos, valendo-se do complexo peroxidase-antiperoxidase (370), e da utilização de anticorpos contra fragmentos peptídicos da desmosina obtidos por hidrólise da elastina do pulmão humano (369). Por técnicas imunohistoquímicas que facultam avaliar a elastase inserida nas fibras elásticas de pulmões removidos de enfisematosos, pode-se determinar o grau de degradação daquela e mensurar a extensão do enfisema (366).

7.4 - Tabagismo e Produção do Enfisema

Certamente é pelo mecanismo fisiopatológico exposto nos itens anteriores que o fumo desenvolve em animais, quando a ele expostos por tempos variáveis, lesões em graus diversos, como alargamento dos espaços alveolares, ruptura dos septos, até enfisema extenso (64, 87, 99, 209). A inalação de fumo pelo hamster estende e agrava o enfisema induzido pela elasta-

se (94, 164, 248). A nicotina pura em altas concentrações e o fumo com elevados teores desse alcalóide aumentam a produção de leucócitos e da elastase pancreática do cão (158, 231).

Evidente que não se podem fazer demonstrações experimentais em “*anima nobile*” para comprovar que o tabaco produz enfisema. Contudo, um bilhão de pessoas no mundo fazem essa autodemonstração inalando fumo do cigarro. Está comprovado por exames histopatológicos que não há fumante sem grau de enfisema pulmonar (9, 10). Nos pulmões dos tabagistas, como se verifica “*in vitro*”, e dos animais, os macrófagos alveolares se ativam pela constante inalação do fumo, libertando proteases, exercendo o efeito quimiotáxico sobre os leucócitos e produzindo agentes oxidantes. Nos macrófagos alveolares dos fumantes têm-se encontrado elementos particulados do tabaco, que evidentemente exercem ação tóxica e ativante nessas células (93). Pelas alterações e situações mencionadas, os macrófagos dos tabagistas têm maior facilidade de lisar fibroblastos e inativam a transglutaminase tissular que é necessária para a síntese da fibronectina, importante na estruturação da matriz pulmonar (361).

Muitos outros aspectos poderiam ser considerados. Por exemplo, sabe-se que o cádmio oferecido em aerosol aos ratos tem um notável efeito elastolítico nos pulmões (175). No fumo do tabaco há altas concentrações de cádmio (160) e nos pulmões enfisematosos dos tabagistas têm sido encontradas grandes quantidades desse metal (90).

Normalmente as proteases se difundem no interstício do parênquima pulmonar ou para aí são levadas pelos macrófagos e leucócitos. Para ganhar o interstício, as proteases devem atravessar o epitélio alveolar que, de alguma forma, constitui uma barreira. O consumo — mesmo relativamente baixo — de cigarros já produz plétora de oxidantes e altera as ligações intercelulares e aumenta a permeabilidade do epitélio alveolar, facilitando a difusão de elementos vários para o interstício, o que foi demonstrado por técnicas de rádio-aerosol, em animais (21, 203) e no homem (100, 122, 148, 149). Compreende-se, pois, como o cigarro pode facilitar a penetração nos interstícios de substâncias tóxicas e de enzimas, no caso proteases, contribuindo para o enfisema no homem. Aliás, o agravamento do enfisema em animais que recebem elastase em associação com o fumo pode ser explicado pelo aumento da permeabilidade epitelial por este produzida.

Os agentes quimiotáxicos citados no item 7.1 acumulam os macrófagos alveolares nas áreas centrais dos lóbulos secundários, o que é constatado inclusive nos tabagistas de pouco tempo e ainda assintomáticos (147, 151, 162). Aqueles, por sua vez, pelas substâncias quimiotáxicas que elaboram, atraem os leucócitos para esses sítios. Essas células, pelo referido aumento da permeabilidade do epitélio bronquiolar, penetram com mais facilidade nos interstícios parenquimatosos onde se liberam grandes quantidades de elastase e radicais livres, produzindo a proteólise da matriz da área em torno dos bronquíolos respiratórios (165). Isso esclarece porque o tipo primordial do enfisema nos tabagistas, é o centrolobular (237, 295, 361, 399, 414). O acúmulo das citadas células não se faz homogeneamente e sim em sítios esparsos. Dessa forma a carga de oxidantes não é distribuída uniformemente nos

pulmões. É compreensível portanto que nos tabagistas existam áreas onde a α 1-AP é inativada e outras onde isso não sucede. Em decorrência, a α 1-AP colhida no líquido de lavagem broncoalveolar, é uma mistura dessa enzima inativada e ativa; a proporção de cada uma delas é extremamente variável — não há meios de separá-las — e isso explica os resultados discrepantes nas análises dessa enzima (403). Procedimento de purificação da α 1-AP permite dosar quantitativamente seu potencial anti-elastase pelo tempo que ela leva para neutralizar a elastase “in vitro”, que é tanto mais curto quanto mais for ativa (403). Pelos dados encontrados, esse método comprova que a distribuição, nos pulmões, das diferentes α 1-AP, não é uniforme, variando com as áreas. Sabe-se que o enfisema centrolobular dos tabagistas localiza-se de preferência nos andares superiores dos pulmões, enquanto o panacinar, típico dos deficientes genéticos de α 1-AP, situa-se nas regiões inferiores. Por técnica imunológica constata-se que, logo após fumar uns cigarros, a elastase aumenta no líquido de lavagem broncoalveolar, sendo os teores mais elevados no material colhido dos lobos superiores que naquele dos inferiores (323). A explicação mais plausível das diferentes distribuições do enfisema dos tabagistas e dos deficientes de α 1-AP, está no aumento, no lobo inferior, de células contendo elastase devido à maior perfusão vascular nessa área, no homem ereto. Isso propicia deposição de leucócitos nessas áreas. As partículas inaladas depositam-se de preferência nas bases e os leucócitos ativos aí fazem a fagocitose, liberando elastase que não é inibida na sua ação proteolítica, devido à carência de α 1-AP. Por outro, nos fumantes com concentrações séricas normais de α 1-AP, não obstante a maior distribuição do fumo nas bases, as coisas se passam de modo diferente. Nos lobos superiores, embora menos ventilados, é mais elevada a relação ventilação-perfusão; a inativação da α 1-AP pelos oxidantes do cigarro, portanto, pode não ser compensada, devido ao aporte em menores quantidades da enzima, estabelecendo-se o desequilíbrio protease-antiprotease. Ainda mais: estudos recentes sobre a deposição de particulados do fumo no pulmão sugerem mudança do padrão ventilatório, possivelmente durante o ato de tragar, provocando sua distribuição maior para os lobos superiores (41, 83, 155, 176).

Do exposto até aqui não resta a menor dúvida que o tabagismo reúne todas as condições para ser o maior fator de risco na gênese do enfisema pulmonar, pelo desequilíbrio enzimático. A contraprova disso está em que se os deficientes genéticos de α 1-AP (fenótipos Pizz) começam a fumar, têm o enfisema acelerado e agravado (107, 374). A razão é simples. O fumo inativa por oxidação a pouca quantidade dessa enzima que esses organismos têm, acentuando profundamente o desequilíbrio enzimático já existente, decorrendo enfisema mais precocemente e extremamente severo: os sintomas mais marcantes, que se instalam aos 20 anos de idade, surgem antes (337); o declínio da função respiratória, aferido pelo VEF1, que é de 80 ml/ano aprofunda-se até 317 ml por ano (362); a expectativa de vida encurta-se (374) em média em torno de 10 anos, chegando em alguns estudos até 23 anos, em comparação com os que não fumam (374); o êxito letal oscila entre 45 a 60 anos (282). Decorre que os fenótipos PIZZ, não podem em absoluto fumar nem viver em locais com poluição tabágica, pois os oxidantes do fu-

mo difundem-se na atmosfera ambiente. Entre eles há óxidos de nitrogênio, poderosos radicais livres, em concentrações em torno de 80 ppm (52). Aliás, mesmo os não-fumantes, com concentrações séricas normais de α 1-AP, quando expostos por tempos variáveis à poluição tabágica (fumantes passivos), acabam sofrendo os efeitos nocivos dos agentes oxidantes do fumo que, entre outros distúrbios, concorrem para a deterioração da função pulmonar traduzida pela redução significativa dos valores das provas, como VEF1 e FEF25-75%, tanto nos adolescentes como nos adultos, o que foi suficientemente ventilado no item 4.2.4.

O sistema enzimático implicado no desenvolvimento do enfisema pulmonar vem sendo comprovado experimental e clinicamente. A ação do cigarro consolida os conhecimentos sobre esse modelo fisiopatológico. O mecanismo enzimático do enfisema é evidenciado pelos seguintes dados, em síntese:

a) associação entre deficiência genética de α 1-AP e enfisema precoce e grave;

b) produção de enfisema experimental pela instilação intratraqueal, em animais, de proteases elastolíticas, inclusive com a elastase dos leucócitos neutrófilos polimorfonucleares humanos;

c) detecção, no soro e na urina de enfisematosos, de péptides de degradação da elastina;

d) inativação da α 1-AP e do inibidor brônquico por ação de oxidantes;

e) inativação da lisil-oxidase impedindo a neoformação de elastina;

O cigarro produz desequilíbrio do sistema enzimático do pulmão pelo seguinte processo:

a) produção de grande carga de oxidantes oriundos diretamente dos componentes do fumo e da ativação dos macrófagos e leucócitos polimorfonucleares que aumentam a liberação de radicais livres de oxigênio;

b) depleção dos redutores do sistema antioxidante do organismo, especialmente da glutatona;

c) aumento do número de macrófagos alveolares nos lóbulos secundários e sua ativação, produzindo o fator quimiotático que atrai os leucócitos para esses sítios;

d) aumento da produção de elastase pelos neutrófilos polimorfonucleares e de proteases pelos macrófagos;

e) inativação, por oxidação, da α 1-AP, que assim não neutraliza a elastase;

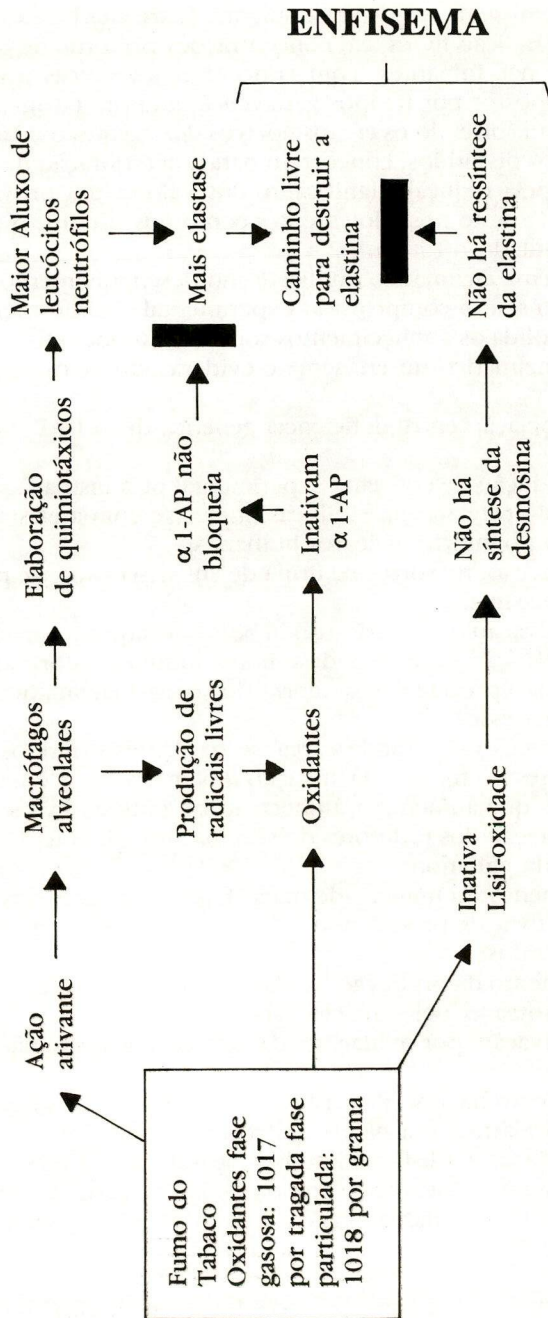
f) aumento da ação da elastase e demais proteases que, pela proteólise, destroem a elastina e a histoarquitetura do pulmão;

g) oxidação da lisil-oxidase bloqueando a ressíntese da elastina.

Em resumo, o cigarro destrói o pulmão pela tríade: aumento da elastase — inativação dos inibidores da elastase - bloqueio na neoformação da elastina (Quadro 7).

Pelos dados aqui expostos, conclui-se que o cigarro conduz ao enfisema pulmonar por dois mecanismos, que na imensa maioria das vezes são simultâneos, concorrendo para o processo em graus diversos: bronquite crô-

Quadro 7
 Ação do fumo na gênese do enfisema do pulmão
 pelo meio enzimático



Pormenores no texto, itens 7 a 7.4

nica e desequilíbrio do sistema protease-antiprotease.

Contudo,, a fisiopatologia do enfisema pulmonar ainda não é de todo conhecida. Muitas indagações não têm respostas satisfatórias: porque alguns fumantes desenvolvem mais enfisema do que bronquite e vice-versa? porque há tabagistas cujo enfisema não assume graus de exteriorização clínica? porque há deficientes genéticos de α 1-AP que não desenvolvem enfisema? Deve haver fatores genéticos que elevam a quantidade de células produtoras da elastase no pulmão, ou aumentam a capacidade de sintetizá-la, ou ainda fatores reguladores da sua produção e liberação, e/ou determinando variações no sistema oxidante-antioxidante, como deve haver outras implicações.

8 - PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS E PREVENÇÃO

Novas perspectivas terapêuticas do enfisema pulmonar abriram-se com as novas noções sobre a fisiopatologia enzimática. As propostas de tratamento são de manter o equilíbrio oxidante-antioxidantes para vencer o desequilíbrio protease-antiprotease. A finalidade é tentar evitar a progressão e o agravamento do enfisema, já que a estrutura pulmonar destruída não pode mais ser reparada, e se sabe que o tratamento sintomático é paliativo. Investigações estão em curso em muitos laboratórios (414).

As tentativas de tratamento, "grosso modo", se dirigem a dois grupos: enfisema por deficiência genética de α 1-AP e enfisema em indivíduos com níveis normais de α 1-AP, porém inativa por desequilíbrio do sistema oxidante-antioxidante.

8.1 - Enfisema nos Fenótipos PiZZ e PiMZ

Nos deficientes genéticos de α 1-AP - fenótipos PiZZ e PiMZ - além do tratamento sintomático, os que estão no limite de 35% do normal de α 1-AP no sangue, devem merecer cuidados específicos e cinco caminhos fundamentais têm sido experimentados: terapêutica de substituição; aumento da produção de α 1-AP; inibição da elastase; combate à oxidação; identificação precoce dos casos.

A - *Terapêutica de substituição* - Administração repetida de α 1-AP obtida por fracionamento do sangue (42, 67, 75). A fração Cohn IV-1, usada na produção de imunoglobulinas e albumina, é uma das fontes de obtenção de α 1-AP (112). As perspectivas melhoram com α 1-AP humana, isolada do plasma purificada e liofilizada (Prolastina) (282). É aplicada por via intravenosa, semanalmente, pois sua meia vida é de 5 a 6 dias; tem boa difusão no pulmão alcançando todos os sítios com concentração suficiente para neutralizar a elastase (73). A administração das frações do plasma e da Prolastina, nos indivíduos PiZZ com enfisema avançado, eleva os teores de α 1-AP no lavado broncoalveolar e sua concentração no sangue a mais de 35% do normal; nos casos tratados o líquido de lavagem broncoalveolar não tem mais elastase (42, 67, 75). Contudo a administração continuada por anos, de α 1-AP encerra implicações técnico-operacionais de grandes dificuldades (67, 73, 75) embora não haja reações sérias nem sequelas como verificado após 507 infusões (468, 469). Não há melhora dos valores das provas funcionais, mas a progressão do enfisema é retardada (282). Recentemente anunciou-se

que a aplicação de α 1-AP com intervalos de 28 dias, triplicando a dose (de 90 mg/kg subindo para 250 mg/kg) obtém concentrações séricas de α 1-AP até 3 vezes superiores ao limiar protetor, assim se mantendo por 25 dias. O regime mensal mostra-se tão eficiente quanto o semanal e também sem complicações (356).

Nenhum tratamento de substituição até agora preveniu inteiramente a progressão final do enfisema por deficiência genética de α 1-AP. Aconselha-se não iniciar o tratamento com Prolastina antes dos 18 anos exceto nos casos raros em que o enfisema já esteja instalado (282). Os indivíduos devem ser controlados com provas respiratórias e só iniciar o tratamento ao sinal de deterioração porque, antes, ele é inoperante como preventivo (414) e pode nem ser necessário (282). O tratamento é desaconselhado nos fumantes por ser totalmente inútil. Esta terapêutica de reposição de α 1-AP é caríssima, custando nos Estados Unidos de 25.000 a 50.000 dolares (400, 438). É portanto tratamento para magnatas.

Todavia há perspectiva do seu barateamento, pelas possibilidades de técnicas que consomem doses menores do medicamento e de sua produção em larga escala. A administração em forma de aerossol de α 1-AP isolada do plasma humano e da obtida por técnica recombinante, reduz em dois terços a quantidade necessária. A inalação de uma dose de 200 mg consegue, após 4 horas, concentrações no soro de até 40 vezes maior que antes da aplicação, ressaltando-se a facilidade com que ela atravessa o epitélio brônquico e atinge os interstícios do pulmão. Não há efeitos colaterais indesejáveis, sugerindo que o método é factível na prática (351, 354). Há possibilidade de obtenção de α 1-AP em larga escala, com a recombinação do DNA de bactérias (109); a forma recombinante pode ser reproduzida no lêvedo e sua ação é idêntica à forma natural humana (292, 356). Com técnica recombinante o gene humano codificador de α 1-AP foi inserido no genoma do bacilo *E. coli* que a replica em massa. Porém a molécula recombinada não tem a cadeia lateral de carboidrato, o que lhe dá meia vida muito curta (452). Outros avanços estão surgindo, como a implantação do gene normal codificador da α 1-AP nas células da medula óssea de deficientes dessa enzima, que por sua vez pode ser transplantado a outros pacientes (261). Macrófagos alveolares que normalmente podem elaborar α 1-AP poderiam substituir a população de macrófagos dos organismos deficientes, tornando-se em pouco tempo, fonte normal de α 1-AP; a técnica ainda está incompleta (261). Outro caminho que parece promissor é a introdução, por meio de retrovirus como vector, do gene normal humano codificante de α 1-AP no genoma de fibroblastos de ratos que passam a elaborar a enzima em grandes quantidades (328, 329).

B - Elevação da produção endógena de α 1-AP - Tem-se conseguido aumentar a produção de α 1-AP, pelo hepatócito, com o Danazol, esteróide sintético (etil-testostona), antigonadotrópico (impede a liberação de gonadotrofinas hipofisárias em ambos os sexos). Na dose de 600 mg diários, por 30 dias, demonstrou elevar em cerca de 40% os níveis sanguíneos de α 1-AP nos PiZZ (72). Seu emprego merece cuidados por causar retenção hídrica

e ser masculinizante; por ser metabolizado no fígado, é necessária a integridade deste.

C - Inibição da elastase - Há várias opções em experimentação objetivando inibir a elastase por agentes outros que não a α 1-AP. Com essa finalidade substâncias diversas são empregadas nos fenótipos PiMM com desequilíbrio enzimático; este aspecto é abordado no item 8.2.

D - Combate à oxidação - Nos fenótipos PiZZ, os oxidantes anulam a pouca quantidade existente de α 1-AP, apressando o enfisema, tornando-o mais grave. É importante, pois, combater os oxidantes endógenos e exógenos. Entre os primeiros estão os processos inflamatórios que aumentam a fagocitose, importante fonte de oxidantes; entre os segundos estão as poluições ambientais contendo oxidantes e, entre elas, a principal é o consumo de cigarros. Está portanto indicada a administração de antioxidantes e anti-inflamatórios. A N-acetilcisteína vem sendo utilizada por conter essas duas propriedades, por meio da oxido-redução. Com esse objetivo a sua indicação é estendida aos fenótipos normais PiMM quando sofrem desequilíbrio do sistema protease-antiprotease. O assunto é abordado com pormenores no item 8.2.

E - Pesquisas de engenharia genética com objetivo profilático - Há boas perspectivas para o diagnóstico pré-natal da deficiência de α 1-AP, por meio de técnicas de recombinação do DNA, facultando a análise de "locus" mutante do gene. Isolou-se no hepatócito a codificação complementária do fenótipo normal PiMM (37,144). Detectando o gene mutante de α 1-AP no feto, por meio de culturas de células do líquido amniótico, extraindo cromossomos ou usando outras técnicas (127, 128), o fenótipo PiZZ pode ser diagnosticado logo após o nascimento com anticorpos monoclonais da proteína Z (242). Todavia, ainda não se conhece a codificação responsável pela atuação do gene Z, causador da deficiência de α 1-AP. O gene normal de 1-AP já foi clonado no levedo de cerveja (28,197). Estudos mais avançados prometem possibilidade de modificar genes do fenótipo PiZZ.

Com isso se espera poder tratar desde cedo os geneticamente deficientes de α 1-AP e mantê-los afastados do cigarro, prevenindo o desenvolvimento do enfisema. Embora estatisticamente os fenótipos PiZZ sejam poucos, os estudos acima referidos despertam grande interesse. A terapêutica e a profilaxia do enfisema nesses organismos ainda não são uma realidade prática. Entretanto as investigações trazem fundadas esperanças para se prosseguir nesse caminho.

8.2 - *Enfisema nos fenótipos normais com desequilíbrio do sistema protease-antiprotease*

Este tipo de enfisema é da maior importância epidemiológica. Dos fatores desencadeadores do desequilíbrio do sistema protease-antiprotease, os dominantes são os produtores de oxidantes e, entre estes, a pandemia tabágica. Os poluentes oxidantes ocupacionais vêm em segundo lugar, porém, em termos epidemiológicos, estão muito distantes da primeira. São dois os principais caminhos em pauta:

A - Combate à oxidação - Com a pesada carga de oxidantes fornecida

pelo fumo nos tabagistas, o sistema de antioxidantes orgânicos quase sempre não é suficiente para manter o equilíbrio oxidantes-antioxidantes. Pelas conseqüências deletérias do excesso de oxidantes, como inativação da α 1-AP, intoxicação das células e demais distúrbios que levam ao enfisema pulmonar, a estratégia é restabelecer aquele equilíbrio (32). A conduta preconizada para os tabagistas que não conseguem abandonar o fumo e para os deficientes genéticos de α 1-AP mesmo não-fumantes, é tentar minorar o processo oxidante com a administração de redutores e anti-inflamatórios. Tem-se ressaltado o valor terapêutico dos antioxidantes. Documentos experimentais apoiam esse procedimento: nos ratos, três a seis tragadas de fumo, diminuem, por oxidação, a atividade antielastásica da α 1-AP isolada no líquido de lavagem broncoalveolar, sendo porém esta logo restaurada com a agregação de redutores e da mesma forma isso se constata com a α 1-AP no sangue dos animais (112); a inalação de fumo por esses animais causa depleção de glutathione e cisteína nas células (302).

Dos redutores exógenos existentes, o mais poderoso é a N-acetilcisteína que confere proteção contra todos os radicais livres de oxigênio do tabaco (333). Esta substância, conhecida pelas suas propriedades mucolíticas, adquiriu maior relevância pela descoberta de outras qualidades, notadamente seu efeito antioxidante, cujas investigações se intensificaram entre 1984 a 1988 (325, 473). Ela exerce papel decisivo na biosíntese da glutathione (325). A garantia para manter o sistema orgânico de óxido-redução, é o armazenamento de glutathione nas células (item 6.3.2.). A cisteína é imprescindível para a biosíntese celular de glutathione. Porém, sob o aspecto da utilização a este fim, a N-acetilcisteína é amplamente superior à cisteína: é mais resistente e penetra íntegra e facilmente no hepatócito e nos espaços intracelulares onde é rapidamente desacetilada e utilizada para a síntese da glutathione; inibe a depleção intracelular desta pela interação com os radicais livres e por defender as células das agressões tóxicas, inclusive aquelas causadas pelo fumo (157, 268, 333, 390, 460). Essa proteção comprova-se "in vitro" nas culturas de células, inclusive as epiteliais brônquicas, às quais ela é associada ou incluída previamente, decorrendo diminuição da susceptibilidade aos oxidantes, prevenindo injúrias (157, 352, 420, 436, 437). Exemplo disso são: a integridade de fibroblastos e células epiteliais brônquicas humanas e de células pulmonares de ratos coincubadas com condensados de fumo e N-acetilcisteína (389); a preservação da membrana de hepatócitos de ratos tratados com condensado de fumo e solução de N-acetilcisteína (388); a proteção de células pulmonares de carneiros submetidos a endotoxina (270). Nos ratos expostos ao fumo de tabaco, a N-acetilcisteína administrada por via oral os protege contra a hiperplasia das células secretórias brônquicas, o que não ocorre nos controles (117). A propriedade anti-inflamatória da N-acetilcisteína está também estreitamente relacionada com os suprimentos de glutathione (288), sendo isso vantajoso sobretudo nos portadores de DPOC por estarem periodicamente sujeitos a infecções broncopulmonares nos quais esses episódios são mais prejudiciais (352, 418) pelas contínuas cargas de oxidantes liberados. Há evidência de que a mencionada proteção celular pode ocorrer por outro mecanismo alterando a reatividade da acroleína contida

no fumo com os grupos sulfidríla (208, 339). Contudo constatações recentes comprovam que a linha fundamental de proteção da N-acetilcisteína é pela redução direta dos radicais livres de oxigênio (46,198), evidenciando que ela se comporta como "oxidant scavenger", isto é, como varredora de oxidantes, fato demonstrado "in vivo" e "in vitro" (17, 142, 218, 241, 312). Essa substância pode, portanto, neutralizar oxidantes por reposição dos estoques de glutatona e pela sua propriedade de ligação direta com as várias espécies de radicais livres (80, 182, 183, 199). Estas faculdades óxido-redutoras, têm estimulado pesquisas múltiplas (80, 157, 190, 206, 215, 218, 255, 312, 352, 388, 418, 420, 436, 437): várias delas se ocupam da correção do desequilíbrio do sistema oxidante-antioxidante provocado por poluentes vários, sobretudo pelo tabaco, e sugerindo a administração de N-acetilcisteína como medida protetora aos que não conseguem se libertar do cigarro. A poluição tabágica ambiental, por conter radicais livres de oxigênio e pelos sintomas observados nos indivíduos expostos à mesma (fumanes passivos item 4.2.4), ressalta o interesse do desenvolvimento de estudos longitudinais para averiguar se a N-acetilcisteína pode protegê-los dos efeitos nocivos dessa situação.

Para vencer o desequilíbrio enzimático, outros agentes antioxidantes têm sido sugeridos, como por exemplo, a vitamina C, que é muito menos atuante (74, 80), e a própria glutatona (352), de administração menos prática; contudo recentemente anunciou-se seu emprego em nebulização com resultados preliminares satisfatórios (288).

A administração de redutores pode ser também de interesse nos ex-fumantes, porque os macrófagos alveolares são substituídos mais ou menos lentamente, subsistindo no organismo os macrófagos ativados produtores de radicais livres de oxigênio, o que pode explicar porque em alguns indivíduos que abandonam o fumo continua a destruição pulmonar por certo tempo (272).

Alguns indagam se a administração de redutores por muitos anos pode ter consequências indesejáveis pela intervenção no sistema enzimático natural, visto que na fagocitose os oxidantes contribuem para matar as bactérias (324). Faltam provas para esclarecer o problema. É preciso ponderar que fumantes intensamente adictos à nicotina, que não conseguem libertar-se do tabaco, precisam ser ajudados objetivando minorar os efeitos tóxicos do tabagismo. Contra a vasta constelação tóxica do fumo, estamos melhor armados para combater os oxidantes, sendo que, no estado atual dos nossos conhecimentos, a droga de eleição é a N-acetilcisteína por ser o mais poderoso antioxidante.

B - Combate à elastase - O interesse nesse procedimento estende-se ao esfema tanto dos fenótipos PiZZ como os PiMM.

Agentes inibidores da elastase vêm sendo estudados há alguns anos (42) e recentes revisões do assunto (321-A, 415) arrolam grande variedade deles, cada qual atuando por mecanismo diferente, estabelecendo ligações covalentes com elementos ativos daquela protease, como por exemplo a histidina, formando complexos permanentes ou transitórios (415). Esses inibidores devem ter peso molecular baixo para poder penetrar nas fibras de elasti-

na; seu efeito inibidor da elastase é demonstrado "in vitro"; a proteção contra o enfisema tem sido averiguada em animais, e alguns oferecem perspectivas maiores de uso clínico. Entre eles destacam-se: carbanilimidazóis, cloroisocumarinas, cloropironas e ácidos peptidilborônicos (415). A clorometilcetona é da classe dos oligo-péptides; liga-se à elastase de modo irreversível, inativando-a. Em animais revelou-se capaz de impedir o efeito enfisematoso da elastase, inclusive da pancreática (112, 132, 233), mas é muito tóxica para ser empregada clinicamente. Substâncias menos tóxicas estão sendo conseguidas na cadeia de ácidos aminados desse péptide, as quais conseguem diminuir a gravidade do enfisema induzido pela elastase pancreática (113, 132, 202, 220), ou mesmo impedir o enfisema no hamster e no rato previamente submetidos a extratos das secreções bronquiais ou da própria elastase dos leucócitos humanos (211, 224). Um agente acilante azopeptídico revela as mesmas propriedades, mas é muito tóxico (180). A grande maioria dos agentes mencionados, mesmo os mais promissores como os ácidos peptidilborônicos, ainda não foi experimentada no homem por dificuldades técnicas; é o que está sucedendo com uma nova classe de inibidores das proteases em geral que são os derivados da heparina. Diversos glicosaminoglicanos, e dentro deles a heparina, têm destacadas propriedades inibidoras das proteases, inclusive da elastase. Um fragmento da heparina com peso de 4.500 KD, denominada Cy 222, impede à elastase humana de produzir enfisema no hamster; seu efeito anticoagulante está dificultando investigações no homem (371-A).

Outro agente inibidor da elastase é o polipéptide Eglin C, de 70 aminoácidos, de 8.100 KD, isolado da "Hirudo medicinalis". Mostrou-se capaz de dar proteção completa ao hamster contra a elastase evitando o desencadeamento do enfisema; já foi sintetizado e por técnica recombinante foi clonado no *E. coli*, podendo ser produzido em larga escala (415). Sua toxidez não está bem estabelecida e tem o inconveniente de efeito antigênico (214, 435).

Outra linha de combate à elastase é a tentativa de diminuir sua produção endógena, impedindo a elaboração do fator quimiotático dos macrófagos alveolares, diminuindo o acúmulo dos leucócitos neutrófilos polimorfonucleares no pulmão e obstaculizando sua liberação. Nesse sentido tem-se indicado N-acetilcisteína pelas suas propriedades anti-flogísticas mencionadas atrás, corticóides e drogas citotóxicas como colchicina, ciclofosfamida e outras (78, 80, 324, 359, 399, 414). Também se propõe conseguir em larga escala agentes inibidores produzidos por bactérias (42), especialmente pelo pneumococo que tem eficiente antielastásico em sua cápsula (109).

Finalmente outra modalidade de combate à elastase, que está em apreciável progressão, é a obtenção por engenharia genética de uma estrutura da α 1-ap resistente à oxidação. Por mutagênese conseguiu-se produzir uma variante substituindo o "locus" ativo metionina 358, que se inativa por oxidação, pela valina que não se oxida (28, 109, 197, 303, 355). Já se constata que macrófagos e leucócitos ativados pelo fumo do tabaco, não obstante elaborarem grande quantidade de radicais livres, não inativam a α 1-AP valina 358 (330, 360). Comprovou-se que essa mutante de α 1-AP resistente à oxi-

dação, mantém a mesma capacidade de neutralizar a elastase quanto o tipo normal (360). Essa enzima mutante foi clonada no lêvedo de cerveja e no *E. coli* (47, 194, 415); ainda se conseguiu sua produção em larga escala (352). Em lugar de valina conseguiu-se outro mutante com a arginina que resiste à oxidação e também clonada na *E. coli*; contudo seus efeitos não são decisivos quanto ao da α 1-AP valina (47). Esta última poderá ser de grande valia para impedir o desenvolvimento do enfisema nos casos de desequilíbrio enzimático incontornável por exposição inevitável a oxidantes exógenos.

8.3 - Prevenção do Enfisema do Pulmão

Já foi comentado que nos indivíduos geneticamente deficientes de α 1-AP, nos quais precocemente aparece enfisema do tipo panacinar, impõe-se o emprego de anti-oxidantes e de medidas visando impedir a ação de oxidantes como o fumo, que é o mais importante. Aguardam-se com fundadas esperanças, técnicas de engenharia genética com finalidade profilática. Felizmente esse tipo de enfisema é pouco comum. O enfisema mais frequente é predominantemente do tipo centrolobular, independentemente dos níveis sanguíneos de α 1-AP, muito mais importante epidemiologicamente, e sua principal causa é o cigarro, pela plétora de oxidantes que despeja nas vias aéreas. Nos tabagistas a ação prioritária deve ser a suspensão do consumo de tabaco. Enquanto não se deixa de fumar e nos casos específicos de insuperável nicotino-dependência impedindo o abandono do fumo, conta-se sobretudo, como foi visto, com os antioxidantes para obstaculizar a progressão do enfisema e neutralizar os demais efeitos nocivos dos radicais livres. Paralelamente abrem-se perspectivas para bloquear a elastase. Por outro lado não há terapêutica que restaure a histoarquitetura destruída dos pulmões; essa impotência tem elevado à opção extrema do transplante de um pulmão e até de ambos, com o consolo de poupar o coração quando o ventrículo direito ainda é aproveitável funcionalmente (300, 373).

Há acordo unânime em que o complexo bronquite crônica-enfisema pulmonar, está epidemiologicamente vinculado à epidemia tabágica. Centros especializados e pneumologistas estão convictos que, quando o consumo do tabaco for abolido, dentro de uma geração, a DPOC deixará de ser problema de saúde pública.

Deve ficar bem patente, que no estado atual dos nossos conhecimentos, o problema do enfisema do pulmão tem que ser enfrentado em sua base, pela prevenção primária combatendo o tabagismo. O enfisema é apenas uma das facetas dos malefícios do tabagismo, pois este é também fator de alto risco do câncer broncogênico, do infarto do miocárdio e, em graus diversos, de cerca de duas dezenas de doenças (232, 234, 235, 236, 237, 404, 456).

Bronquite crônica, enfisema e câncer do pulmão têm aspectos em comum: armamento terapêutico de fraco rendimento ou mesmo nulo em termos de saúde pública e o fato de ser estritamente tabaco-relacionados. Podem e devem ser enfrentados de modo global pela prevenção primária nos programas de saúde de controle da epidemia tabágica. Urge a intensificação do Programa Nacional de Combate ao Fumo no qual estão integrados a As-

9. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

9.1 Referências I

1. Abboud, R. T., Fera, T., Richter, A. *et al.* — Acute effect of smoking on the functional activity of alpha-1-proteinase inhibitor: effects of proteolysis and cigarette smoke — *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.*, 363: 387-393, 1982.
2. Abboud, R.T., Richter, A., Fera, T. *et al.* — Acute effect of smoking on superoxide production by pulmonary alveolar macrophages — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129, Part 2: 315, 1984.
3. Abrams, W.R., Cohen, A.B., Damiano, V.V. *et al.* — A model of decreased functional alpha-1 proteinase inhibitor. Pulmonary pathology of dogs exposed to chloramine T. — *J. Clin. Invest.*, 68: 1132-1139, 1981.
4. Abrams, W.R., Eliraz, A., Kimbel, P. *et al.* — The effect of the oxidizing agent chloramine-T and cigarette smoke on dog serum proteinase inhibitors — *Exp. Lung. Res.*, 1: 211-223, 1980.
5. Abrams, W.R., Weinbaum, G., Weissbach, L. *et al.* — Enzymatic reduction of oxidized alpha-1-proteinase inhibitor restores biological activity — *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 78: 7483-7486, 1981.
6. Ackerman, N.R., Beebe, J.R. — Release of lysosomal enzymes by alveolar mononuclear cells. — *Nature*, 247: 475, 1974.
7. American College of Chest Physicians, American Thoracic Society — Pulmonary terms and symbols. A report of the ACCP-ATS Joint Committee of Pulmonary Nomenclature — *Chest*, 67: 583-593, 1975.
8. American Thoracic Society — Chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. A statement by the committee on diagnostic standards for non tuberculous respiratory diseases — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 85: 762-768, 1962.
9. Auerbach, O., Hammond, E.C., Garfinkel, L. *et al.* — Relation of smoking and age to emphysema — *N. Engl. J. Med.*, 286: 853-857, 1972.
10. Auerbach, O., Stout, A.P., Hammond, E.C. *et al.* — Smoking habits and age in relation to pulmonary changes rupture of alveolar septums, fibrosis, and thickening of walls of small arteries and arterioles — *N. Engl. J. Med.*, 269: 1045-1051, 1963.
11. Babior, B.M. — Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes — *N. Engl. J. Med.*, 298: 659-668, 1978.
12. Babior, B.M. — The respiratory burst of phagocytes — *J. Clin. Invest.*, 73: 599-601, 1984.
13. Beaty, K., Robertie, P., Senior, R.M. *et al.* — Determination of oxidized alpha-1-antitrypsin inhibitor in serum — *J. Lab. Clin. Med.*, 100: 186-192, 1982.
14. Beck, G.J., Doyle, C.A., Schachter, E.N. — Smoking and lung function — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 123: 149-155, 1981.
15. Berend, N., Thurlbeck, W.M. — Correlation of maximum expiratory flow with small airway dimensions and pathology — *J. Ap. Phys. Respir. Env. Exer. Physiol.*, 52: 346-351, 1982.
16. Berend, N., Woolcock, A.J., Marlin, G.E. — Correlation between the function and structure of the lung in smokers — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 119: 695-705, 1979.
17. Bernard, G.R., Lucht, W.D., Niedermeyer, M.L. *et al.* — Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function — *J. Clin. Invest.*, 73: 1772-1784, 1984.
18. Blue, M.L., Janoff, A. — Possible mechanisms of emphysema in cigarette smokers. Release of elastase from human polymorphonuclear leukocytes by cigarette smoke condensate in vitro — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 117: 317-325, 1978.
19. Blundi, E. — DPOC: Exacerbação, tratamento e reabilitação — *J. Bras. Med.*, 44: 39-58, 1983.
20. Bors, W., Saran, M., Tait, D. — Oxygen Radicals in Chemistry and Biology — Berlin: Ed. Walter de Gruyter, 1984.
21. Boucher, R.C., Johnston, J., Inoue, S. *et al.* — The effect of cigarette smoke on the permeability of guinea pig airways — *Lab. Invest.*, 43: 94-100, 1980.
22. Boudier, C., Holle, C., Bieth, J.G. — Stimulation of the elastolytic activity of leukocyte elastase by leukocyte cathepsin G — *J. Biol. Chem.*, 256: 10256-10258, 1981.
23. Bouse, R., Sparrow, D., Rose, C.L. *et al.* — Longitudinal effect of age and smoking cessation on pulmonary function — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 123: 378-381, 1981.
24. Brissenden, J.E., Cox, D.W. — Alpha-2-macroglobulin in patients with obstructive lung disease with and without alpha-1-antitrypsin deficiency — *Clin. Chim. Acta*, 128: 241-248, 1983.
25. Buist, A.S., Nagy, J.M., Sexton, G.J. — The effect of smoking cessation on pulmonary function: a 30 month follow-up of two smoking cessation clinics — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 120: 953-957, 1979.
26. Buist, A.S., Sexton, G.L., Nagy, J.M. *et al.* — The effect of smoking cessation and modification on lung function — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 114: 115-122, 1976.
27. Burnett, D., Stockley, R.A. — Cathepsin B-like cysteine proteinase activity in sputum and bronchoalveolar lavage samples: relationship to inflammatory cells and effects of corticosteroids and antibiotic treatment — *Clin. Sci.*, 68: 469-474, 1985.

28. Cabezon, T., De Wilde, M., Herion, P. *et al.* — Expression of human alpha - 1 - antitrypsin and DNA in the yeast *Saccharomyces cervisiae* — *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 81: 6594-6598, 1984.
29. Campbell, E.J. — Human leukocyte elastase, cathepsin G, and lactoferrin: family of neutrophil granule glycoprotein that bind to an alveolar macrophage receptor — *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 79: 6941-6945, 1982.
30. Campbell, E.J., Walds, M.S. — Hypoxic injury to human alveolar macrophages accelerates release of previously bound neutrophil elastase: implications for lung connective tissue injury including pulmonary emphysema — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: 631-635, 1983.
31. Campbell, E.J., White, R.R., Senior, R.M. *et al.* — Receptor-mediated binding and internalization of leukocyte elastase by alveolar macrophages in vitro — *J. Clin. Invest.*, 64: 824-833, 1979.
32. Cantin, A., Crystal, R.G. — Oxidants, antioxidants and the pathogenesis of emphysema. — *Eur. J. Resp. Dis.*, 66 (Suppl. 139): 7-17, 1985.
33. Carp, H., Janoff, A. — Possible mechanisms of emphysema in smokers. In vitro suppression of serum elastase inhibitory capacity by fresh cigarette smoke and its prevention by antioxidants — *Am. Rev. Resp. Dis.*, 118: 617-621, 1978.
34. Carp, H., Janoff, A. — Inactivation of bronchial mucous proteinase inhibitor by cigarette smoke and phagocyte derived oxidants — *Exp. Lung. Res.*, 1: 225-237, 1980.
35. Carp, H., Janoff, A., Abrams, W.R. *et al.* — Human methionine sulfoxide - peptide reductase: an enzyme capable of reactivating oxidized alpha - 1 - proteinase inhibitor in vitro. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: 301-305, 1983.
36. Carp, H., Miller, F., Hoidal, J. *et al.* — Alpha - 1 - antiproteinase inhibitor purified from lungs of cigarette smokers contains oxidized methionine and has decreased elastase inhibitor capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 770: 2041-2045, 1982.
37. Carrel, R.W., Jeppson, J.O., Laurell, C.B., *et al.* — Structure and variation of human alpha - 1 - antitrypsin. *Nature*. 298: 329-334, 1982.
38. Chapman, H.A., Stone, O.L. — Comparison of live human neutrophil and alveolar macrophage elastolytic activity in vitro. Relative resistance of macrophage elastolytic activity to serum and alveolar proteinase inhibitors. *J. Clin. Invest.*, 74: 1693-1700, 1984.
39. Ciba Foundation Guest Symposium — Terminology definition and classification of chronic pulmonary emphysema and related conditions. *Thorax*, 14: 286-299, 1959.
40. Clarck, R., Stone, P.J., El Hag, A. *et al.* — Myeloperoxidase — catalized inactivation of α - 1 - proteinase inhibitor by human neutrophils. *J. Biol. Chem.*, 256: 3348-3353, 1981.
41. Cockcroft, D.W., Horne, S.L. — Localization of emphysema within the lung. *Chest*. 82: 483-487, 1982.
42. Cohen, A.N.B. — Opportunities for the development of specific therapeutic agents to treat emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 120: 723-727, 1979.
43. Cohen, A.N.B., Rossi, M. — Neutrophils in normal lungs. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: (Suppl.): 53-59, 1983.
44. Cosio, M.G., Chezzo, H., Hogg, J.C. *et al.* — The relation between structural changes in small airways and pulmonary function test. *N. Engl. J. Med.*, 298: 1277-1281, 1978.
45. Cosio, M.G., Hale, K.A., Niewoehner, D.E. — Morphologic and morphometric effects of prolonged cigarettes smoking on the small airways. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 122: 265-271, 1980.
46. Cotgreave, L.A., Grafstrom, R.C., Moldeus, P. — Modulation of pneumotoxicity by cellular glutathione and precursors *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 22: 263S-266S, 1986.
47. Courtney, M., Jollat, S., Tessier, L.H. *et al.* — Synthesis in *E. coli* alaphatrypsin variant T with potential in the therapy emphysema and bronchitis. *Nature*, 313: 149-151, 1985.
48. Darnule, T.V.M., McKee, A.T., Darnule, G.M. *et al.* — Solid-phase radioimmunoassay for estimation of elastin peptides in human sera. *Ann. Biochem. Exp. Med.*, 122: 302-307, 1982.
49. Dermarest, G.B., Hudson, L.D., Altman, L.C. — Impaired alveolar macrophages chemotaxis in patients with acute smoke inhalation. *Am. Rev. Dis.*, 119: 279-286, 1979.
50. Dijkman, J.H., Franken, C., Kramps, J.A. *et al.* — Enzymes and enzyme-inhibitors in the small airways. *Eur. J. Resp. Dis.*, 63 (Suppl. 121): 53-59, 1982.
51. Dolfuss, R.E., Milic-Emili, J., Bates, D.V., — Regional ventilation of the lung, studied with boluses of 133 xenon. *Resp. Physiol.*, 2: 234-240, 1967.
52. Dooley, M.N., Pryor, W.A. — Free radical pathology: inactivation of human α -1- proteinase inhibitor by products from the reaction of nitrogen dioxide with hydrogen peroxide and the etymology of emphysema. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 106: 981-987, 1982.
53. Dornhorst, A.C. — Respiratory insufficiency. *Lancet*, 1: 1185-1187, 1955.
54. Dube, M., Green, C.R. — Methods of collection of smoke for analytical purposes. *Recent. Adv. Tobacco Sci.*, 8: 42-102, 1982.

55. Ebert, R.V., Terracio, M.J. — The bronchial epithelium in cigarette smokers. Observations with the scanning electron microscope. *Am. Rev. Dis.*, 111: 4-11, 1975.
56. Ericksson, S. — Studies on alpha - 1 - antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand.*, 117 (Suppl. 432): 1-85, 1965.
57. Flenley, D.C. Downing, I., Greeming, A.P. — The pathogenesis of emphysema. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 22: 245S-252S, 1986.
58. Fletcher, C.M., Burrows, N.L.J., Niden, A.H. — American emphysema and British bronchitis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 90: 1-13, 1964.
59. Fletcher, C.M., Peto, R. — The natural history of the chronic airflow obstruction. *Brit. Med. J.*, 1: 1645-1648, 1977.
60. Fonzi, L., Lungarella, G. — Elastolitic activity in rabbit leukocyte extracts; effects of the whole leukocyte homogenate on the rabbit lung. *Exp. Mol. Pathol.*, 31: 217-223, 1979.
61. Fonzi, L., Lungarella, G. — Correlation between biochemical and morphological repair in rabbit lung after elastase injury, *Lung*, 158: 165-171, 1980.
62. Franl, L., Massaro, D. — Oxygen toxicity. *Am. J. Med.*, 69: 117-126, 1980.
63. Franken, C., Kramp, J.A., Meyer, C.J.C. *et al.* — Localization of the low molecular weight proteinase inhibitor in the respiratory tract. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 16: 231, 1980.
64. Frasca, J.M., Auerbach, O., Carter, H.W. *et al.* — Morphologic alterations induced by short-term cigarette smoking. *Am. J. Pathol.*, 111: 11-20, 1983.
65. Frasca, J.M., Auerbach, O., Parks, V.R. *et al.* — Electron microscopic observations on pulmonary fibroses and emphysema in smoking dogs. *Exp. Mol. Pathol.*, 15: 108-125, 1971.
66. Fridovich, I. — The biology of oxygen radicals. The superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defense. *Science*, 201: 875-880, 1978.
67. Gadek, J.E., Crystal, R.G. — Experience with replacement therapy in the destructive lung disease associated with severe alpha - 1 - antitrypsin deficiency. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127 (Suppl.): S45-S46, 1983.
68. Gadek, J.E., Fells, G.A., Crystal, R.G. — Cigarette smoking induces functional antiproteinase deficiency in the respiratory tract of humans. *Science*, 206: 1315-1316, 1979.
69. Gadek, J.E., Fells, G.A., Hunninghake, G.W. *et al.* — Interaction of the alveolar macrophages and the circulating neutrophil alveolar macrophages induced neutrophil activation. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 119 (Suppl. 66-A): 1979.
70. Gadek, J.E., Fells, G.A., Zimmerman, R. *et al.* — The antielastase screen of the human lower respiratory tract: an assessment of the α - 1 - antitrypsin hypothesis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121 (Part 2): 341, 1980.
71. Gadek, J.E., Fells, G.A., Zimmermann, R. *et al.* — Antielastases of the human alveolar structures. Implication for the protease-antiproteinase theory of emphysema. *J. Clin. Invest.*, 68: 889-898, 1981.
72. Gadek, J.E., Fulmer, J.D., Gelfand, J. *et al.* — Danazol-induced augmentation of serum alpha - 1 - antitrypsin levels in individuals with marked deficiency of this antiprotease. *J. Clin. Invest.*, 66: 82-84, 1980.
73. Gadek, J.E., Hunninghake, G.W., Fells, G.A. *et al.* — Validation of the α 1 - antitrypsin hypothesis: recovery of active, connective tissue-specific proteases from the lung of PiZ patients and reversal with α - 1 - antitrypsin replacement therapy. *Clin. Res.*, 49: 550A, 1981.
74. Gadek, J.E., Keogh, B.A., Crystal, R.G. — Opportunities for the specific therapy of destructive lung disease. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 16 (Suppl.): 389-396, 1980.
75. Gadek, J.E., Klein, H.G., Holland, P.V. *et al.* — Replacement therapy of alpha - 1 - antitrypsin deficiency. Reversal of protease-antiprotease imbalance within the alveolar structures of PiZ subjects. *J. Clin. Invest.*, 68: 1158-1165, 1981.
76. Galdston, M., Levytska, V., Schowartz, M.S. *et al.* — Ceruloplasmin. Increased serum concentration and impaired antioxidant activity in cigarette smokers, and ability to prevent suppression of elastase inhibitory of alpha - 1 - proteinase inhibitor. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129: 258-263, 1984.
77. Garret, R.J.B., Jackson, M.A. — Cigarette smoke and protein synthesis in the lung. *Environ. Res.*, 21: 399-406, 1980.
78. Goldstein, I.M., Lerequeira, M., Lind, S. *et al.* — Evidence that the superoxide-generating system of human leukocytes is associated with the cell surface. *J. Clin. Invest.*, 59: 249, 1974.
79. Goldstein, R.A., Starcher, B.C. — Urinary excretion of elastin peptides containing desmosine after intratracheal injection in hamsters. *J. Clin. Invest.*, 61: 1286-1290, 1978.
80. Grassi, C., Pozzi, E., Nonis, A. — Enfisema pulmonare: attualità patogenetiche e prospettive terapeutiche. *Med. Toracica*, 6: 525-549, 1984.
81. Greening, A.P., Lowrie, D.B. — Extracellular release of hydrogen peroxide by human alveolar macrophages: the relation to cigarette smoking and lower respiratory tract infection. *Clin. Sci.*, 65: 661-664, 1983.

82. Gross, P.E.A., Peitzer, E., Toker, M.A. *et al.* — Experimental emphysema. Its production with papain in normal and silicotic rats. *Arch. Environ. Health*, 11: 50-58, 1965.
83. Guenter, C.A., Coalson, J.J., Jacques, J. — Emphysema associated with intravascular leukocyte sequestration. Comparison with papain-induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 123: 79-84, 1981.
84. Gustavson, E., Ohlsson, K., Olsson, A. *et al.* — Interaction between human pancreatic elastase and plasma protease inhibitors. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.*, 361: 169-176, 1980.
85. Hakim, J., Torres, M. — International conference on molecular mechanisms of oxygen toxicity. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 17 (Suppl.): 1-288, 1981.
86. Harel, S.A., Janoff, S.Y., Yu, A. *et al.* — Desmosine radioimmunoassay for measuring elastin degradation in vivo. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 122: 769-773, 1980.
87. Heckman, C.A., Dalbey, W.E. — Pathogenesis of lesions induced in rat lung by chronic tobacco smoke inhalation. *J. Natl. Cancer Inst.*, 69: 117-129, 1982.
88. Higgins, M. — Epidemiology of COPD. *Chest*, 85 (Suppl.): 35-85, 1984.
89. Hinman, L.M., Stevens, C.A., Matthay, R.A. *et al.* — Elastase and lysozyme activities in human alveolar macrophages; effects of cigarette smoking. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121: 263-271, 1980.
90. Hirst, R.N., Perry Jr., H.M., Cruz, M.G. *et al.* — Elevated cadmium concentration in emphysematous lungs. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 108: 30-39, 1978.
91. Hocking, W.G., Golde, D.W. — The pulmonary alveolar macrophage. *N. Engl. J. Med.*, 301: 639-645, 1979.
92. Hoidal, J.R., Fox, R., Lemarbe, P. *et al.* — Altered oxidative metabolic responses in vitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 123: 85-89, 1981.
93. Hoidal, J.R., Niewoehner, D.E. — Pathogenesis of emphysema. *Chest*, 83: 679-685, 1983.
94. Hoidal, J.R., Niewoehner, D.E. — Cigarette smoke inhalation potentiates elastase-induced emphysema in hamster. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: 478-481, 1983.
95. Hoidal, J.R., Repine, J.R., Beall, G.D. *et al.* — The effects of phorbol myristate acetate on the metabolism and ultrastructure of human alveolar macrophages. *Am. J. Pathol.*, 91: 469-476, 1978.
96. Homan Muller, J.W., Weening, R.S., Roos, D. — Production of hydrogen peroxide by phagocytosing human granulocytes. *J. Lab. Clin. Med.*, 85: 198, 1975.
97. Hopkin, J.M., Tomlinson, V.S., Jenkins, R.M. — Variation in response to cytotoxicity of cigarette smoke. *Br. Med. J.*, 283: 1209-1211, 1981.
98. Hubbard, R.C., Cantin, A., Straus, S. *et al.* — Alveolar macrophages recovered from lung of cigarette smokers spontaneously oxidize and inactivate α -1-antitrypsin. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 131 (Suppl.): A371, 1985.
99. Huber, G.L., Davies, P., Zwiling, G.R. *et al.* — Morphologie and physiologie bioassay for quantifying alterations in the lung following experimental chronic inhalation of tobacco smoke. *Clin. Respir. Physiol.*, 17: 269-327, 1981.
100. Huchon, G.J., Russel, J.A., Barritault, L. G. *et al.* — Chronic air-flow limitation does not increase respiratory epithelial permeability assessed by aerosolized solute, but smoking does. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 130: 457-460, 1984.
101. Hunninghake, G.W., Crystal, R.G. — Cigarette smoking and lung destruction: accumulation of neutrophils in the lungs of cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 128: 833-838, 1983.
102. Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Crystal, R.G. — Human alveolar macrophage neutrophil chemotactic factor: stimuli and partial characterization. *J. Clin. Invest.*, 66: 473-483, 1980.
103. Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Crystal, R.G. — Mechanism by which smoke attracts polymorphonuclear leukocytes to lung. *Chest*, 77: 273-276, 1980.
104. Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Kawanami, O. *et al.* — Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease: evaluation by broncho-alveolar lavage. *Am. J. Pathol.*, 97: 149-206, 1979.
105. Ihrig, J., Keinermann, J., Rynbrandt, D.J. — Serum antitrypsin in animals: studies of species variation components and the influence of certain irritants. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 103: 377-387, 1971.
106. James K. — Alpha - 2 - macroglobulin and its possible importance in immune systems. *Trends. Biochem. Sci.*, 5: 43-47, 1980.
107. James, E.D., Phillips, N.T., Carrel, R.W. — Smoking lung function and α - 1 - antitrypsin deficiency. *Lancet*. 1: 152-154, 1985.
108. Janoff, A. — Biochemical links between cigarette smoking and pulmonary emphysema. *J. Appl. Physiol. Resp.*, 55: 285-293, 1983.
109. Janoff, A. — Elastase and emphysema. Current assessment of the protease-antiprotease hypothesis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 132: 417-433, 1985.
110. Janoff, A., Carp, H. — Possible mechanism of emphysema in cigarette smokers: cigarette smoke condensate suppresses proteinase inhibitors in vitro. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 116: 65-72, 1977.

111. Janoff, A., Carp, H., Laurent, P. *et al.* — The role of oxidative processes in emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127 (Suppl.): S31-S38, 1983.
112. Janoff, A., Carp, H., Lee, D.K. *et al.* — Cigarette smoke inhalation decreases α -1-antitrypsin activity in rat. *Science*, 206: 1313-1314, 1979.
113. Janoff, A., Dearing, R. — Prevention of elastase induced experimental emphysema by oral administration of a synthetic elastase inhibitor. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121: 1025-1029, 1980.
114. Janoff, A., Dearing, R. — Alpha proteinase inhibitor is more sensitive to inactivation by cigarette smoke than leukocyte elastase. *Am. Rev. Dis.*, 126: 25-30, 1982.
115. Janoff, A., Raju L. Dearing, R. — Levels of elastase activity in bronchoalveolar lavage fluids of healthy smokers and nonsmokers. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: 540-544, 1983.
116. Janoff, A., Sloan, B., Weinbaum, G. *et al.* — Experimental emphysema induced with purified human neutrophil elastase; tissue localization on the instilled protease. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 115: 461-478, 1977.
117. Jeffery, P.K., Rogers, D.F., Ayers, M.M. — Effect of oral acetylcysteine on tobacco smoke — induced secretory cell hyperplasia. *Eur. J. Resp. Dis.*, 66 (Suppl. 139): 117-122, 1985.
118. Johnson, D.A. — Ozone inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121: 1031-1038, 1980.
119. Johnson, D., Travis, J. — Inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by thiol proteinase. *Biochem. J.*, 163: 639, 1977.
120. Johnson, D., Travis, J. — Structural evidence for methionine at the reactive site of human alpha-1-proteinase inhibitor. *J. Biol. Chem.*, 253: 7142-7144, 1978.
121. Johnson, D., Travis, J. — The oxidative inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor; further evidence for methionine at the reactive center. *J. Biol. Chem.*, 254: 4022-4026, 1979.
122. Jones, J.G., Minty, B.D., Lawler, P. *et al.* — Increased alveolar epithelial permeability in cigarette smokers. *Lancet*, 1: 66-68, 1980.
123. Junod, A.F. — Data on oxidants and antioxidants. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 26: 253S-255S, 1986.
124. Karlinsky, J.B., Snider, G.L. — Animals models of emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 117: 1109-1133, 1978.
125. Kauffman, F., Drouet, D., Lellouch, J. *et al.* — Twelve years spirometric changes among Paris area worker. Report from Unité de Recherche Physio-pathologie respiratoire de l'INSERM, Paris, 1978.
126. Kauffman, F., Tessier, J.F., Oriol, P. — Adult passive smoking in the home environment: a risk factor for chronic air flow limitation. *Am. J. Epidemiol.*, 117: 269, 1983.
127. Kidd, V.J., Golbus, M.S., Wallace, R.B. *et al.* — Prenatal diagnosis of alpha-1-antitrypsin deficiency: detection by direct analysis of the mutation site in the gene. *N. Engl. J. Med.*, 301: 639-642, 1984.
128. Kidd, V.J., Wallace, R.B., Itakura, K. *et al.* — Alpha-1-antitrypsin deficiency: detection by direct analysis of the mutation site in the gene. *Nature*, 304: 230-234, 1983.
129. Kilburn, K.H., Mckenzie, W. — Leukocyte recruitment to airways by cigarette smoke and particle phases in contrast to cytotoxicity of vapor. *Science*, 189: 634-637, 1975.
130. King, G.S., Starcher, B.C., Kuhn, C. — The measurement of elastin turnover by the radioimmunoassay of urinary desmosine excretion. *Clin. Resp. Physiol.*, 16 (Suppl.): 61-64, 1980.
131. Kleineremann, J. — Effects of nitrogen dioxide on elastin and collagen contents of lung. *Arch. Environ. Health*, 34: 228-232, 1979.
132. Kleinerman, J., Ranga, V., Rynbrandt, D. *et al.* — The effect of the specific elastase inhibitor alanyl-prolyl alanine chloromethylketone on elastase-induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121: 381-387, 1980.
133. Kobrley, V., Hurrych, J., Holusa, R. — Changes in pulmonary connective tissue after a single intratracheal instillation of papain in the rat. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 125: 239-243, 1982.
134. Kucich, U., Christner, P., Lippmann, M. *et al.* — Immunologic measurement of elastin-derived peptides is human serum. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 124 (Suppl.): S28-S30, 1983.
135. Kueppers, F. — inherited differences in alpha-1-antitrypsin. In: Litivin, S.D., *Genetic Determinants Pulmonary Disease*. New York: M. Dekker, 1978, pp: 23-74.
136. Kuhn, C., III, Engleman, W., Chraplyvy, M. *et al.* — Degradation of elastin in experimental elastase induced emphysema measured by a radioimmunoassay for desmosine. *Exp. Lung Res.*, 5: 115-123, 1983.
137. Kuhn, C., III, Słodkowska, J., Smith, T. *et al.* — The tissue response to exogenous elastase. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 16 (Suppl.): 127-139, 1980.
138. Kuhn, C., Starcher, B. — The effect of iatrogens on the evolution of elastase induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 131: 169-170, 1985.
139. Kuhn, C., Yu, S., Chraplyvy, M. *et al.* — The induction of emphysema with elastase, II: changes in connective tissue. *Lab. Invest.*, 34: 372-380, 1976.

140. Laurell, C.B., Ericsons, S. — The electrophoretic Alpha - 1 - globulin Pattern of Serum in Alpha - 1 - Antitrypsin Deficiency. *Scand. J. Clin. Invest.*, 15: 132-140, 1963.
141. Laurent, P., Janoff, A., Kagan, H.M. — Cigarette smoke blocks cross-linking of elastin in vitro. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: 189-192, 1983.
142. Lawrance, M., Suttorp, S. — Lung cell oxidant injury: decrease in oxidant mediated by N-acetylcysteine. *In: op. cit. ref. 206.*
143. Lindskog, G.E., Van Allen, C.M. — the aerodynamics of bronchial obstruction. *Arch. Surg.*, 24: 204-230, 1932.
144. Long, G.L., Chandra, T., Woo, S.L.C. *et al.* — Complete sequence of the DNA for human alpha - 1 - antitrypsin and the gene for the S variant. *Biochemistry*, 23: 4828-4837, 1984.
145. Lucey, E.C., Clark, B.D. — Differing susceptibility of young and adult hamster lungs to injury with pancreatic elastase. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 126: 877-888, 1982.
146. Ludwig, P.W. Schwartz, B.A., Hoidal, J.R. *et al.* — Cigarette smoking causes accumulation of polymorphonuclear leukocytes lung parenchyma. *Clin. Res.*, 31: 746A, 1983.
147. Ludwig, P.W. Schwartz, B.A., Hoidal, J.R. *et al.* — Cigarette smoking causes accumulation of polymorphonuclear leukocytes in alveolar septum. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 131: 828-830, 1985.
148. Mason, G.R., Reid, E., Uszler, J.M. *et al.* — Evidence for reversible increase in pulmonary epithelial permeability induced by smoking. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 125 (Part 2): 280, 1982.
149. Mason, G.R., Uszler, J.M., Effros, R.M. *et al.* — Rapidly reversible alterations of pulmonary epithelial permeability, induced by smoking, chest, 83, 6, 1983.
150. Mass, B., Ikeda, T., Meranze, D.R. *et al.* — Induction of experimental emphysema. Cellular species and specificity. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 106; 384-391, 1972.
151. Matsuba, K., Thurebeck, W. M. — Disease of the small airways in chronic bronchitis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 107: 552-558, 1973.
152. Meister, A. — Selective modification of glutathione metabolism. *Science*, 220; 472-477, 1983.
153. Merrill, W. W., Naegel, G. P., Matthay, R. A. *et al.* — Alveolar macrophage derived chemotactic factor. Kinetics of in vitro production and partial characterization. *J. Clin. Invest.*, 65: 268-276, 1980.
154. Michelson, A. M., MacCord, J. M.; Fridovich, I. — *Superoxide and Superoxide-desmutases*, Londres: Academic Press, 1977.
155. Milic-Emili, J., Henderson, J. A.M., Dolovich, M.R. *et al.* — Regional distribution of inspired gas in the lung. *J. Appl. Physiol.*, 21: 749-759, 1966.
156. Moldeus, P. — Role of glutathione and others thiols. *In: op. cit. ref. 206.*
157. Moldeus, P., Berggren, M., Grafstrom, R. — N-acetylcysteine protection against the toxicity of cigarette smoke and cigarette smoke condensates in various tissues and cells in vitro. *In: op. cit. ref. 206, Eur. J. Resp. Dis.*, 66: (Suppl. 139): 123-129, 1985.
158. Morosco, G.J., Nightingale, T.E., Frasinell, C — Pancreatic elastase activation as possible indicator of the relative hazard of different cigarettes. *J. Toxicol. Environ. Health*, 8: 89-94, 1981.
159. Naeye, R.L., Mahon, J.R., Dellinger, W.S. — Effects of smoking on lung structure of Appalachian coal workers. *Arch. Environ. Health*, 22: 190-1971.
160. Nandi, M., Slone, D., Jick, H. *et al.* — Cadmium content of cigarettes. *Lancet*, 2: 1329-1330, 1969.
161. Niederman, M.S., Fritts, L.L., Merrill, W.W. *et al.* Demonstration of a free elastolytic metalloenzyme in human lung lavage fluid and its relationship to alpha-1-antitrypsin. *Am. Rev. Resp. Dis.* 129: 943-947, 1984.
162. Niewoehner, D.E., Cosio, M.G. — Chronic obstructive lung disease, with special emphasis on the pathology of small airways. *In: The Lung*. Baltimore: Williams and Wilkins Co., 1978, p. 160.
163. Niewoehner, D.E., Hoidal, J.R. — Lung fibrosis and emphysema: divergent responses to a common injury? *Science*, 217: 359-361, 1982.
164. Niewoehner, D.E., Hoidal, J.R. — Cigarette smoke. Elastase interactions in the pathogenesis of emphysema. *Chest*, 83 (Suppl.): 62S-63S, 1983.
165. Niewoehner, D.E., Kleinerman, J., Rice, D.P. — Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N. Engl. J. Med.*, 291: 755-758, 1974.
166. Ochstrasser, K. — The acid stable proteinase inhibitors of the respiratory tract, chemistry and function. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 16: 223, 1980.
167. O'Dell, B.L., Kilburn, K.L., Mckenzie, W.N. *et al.* — The lung of the copper-deficient rat. A model for developmental pulmonary emphysema. *Am. J. Pathol.*, 91: 413-432, 1978.
168. Ohlsson, K. — The low molecular weight proteinase inhibitor bronchial mucus. *In: Le Lavage Broncho-alveolar chez l'Homme*. Ed. Biserte G. INSERM., 1979, 84: 105.

169. Ohlsson, K., Fryksmark, L., Tegner, H. — The effects of cigarette smoke condensate on alpha-1-antitrypsin, antileukoprotease and granulocyte elastase. *Eur. J. Clin. Invest.*, 10: 373-379, 1980.
170. Ohlsson, K., Olsson, I. — Neutral proteases of human granulocytes: III. Interaction between human granulocyte elastase and plasma protease inhibitors. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 34: 349, 1974.
171. Ohlsson, K., Tegner, H., Akesson, U. — Isolation and partial characterization of a low molecular weight acid stable protease inhibitor from human bronchial secretion. *Hopper Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 358: 583-589, 1977.
172. Orlowski, M., Orlowski, J., Lesser, M. et al. — Proteolytic enzymes in bronchopulmonary lavage fluids: cathepsin B-like activity and prolylendopeptidase. *J. Lab. Med.*, 97: 467, 476, 1981.
173. Osman, M., Cantor, J. O., Roffman, S. et al. — Cigarette smoke impairs elastin resynthesis in lungs of hamsters with elastase induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 132: 640-643, 1985.
174. Osman, M., Kildany, R., Cantor, J. O. et al. — Stimulation of lung lysyl oxidase activity in hamsters with elastase induced emphysema. *Am. Rev. Dis.*, 131: 169-170, 1985.
175. Padmanabhan, R.V., Gudapaty, S.R., Liener, I.J. et al. — Elastolytic activity in the lung of rats exposed to cadmium aerosolization. *Eviron. Res.*, 29: 90-96, 1982.
176. Pearson, M.G., Vinitski, S., Chamberlain, M. I. et al. — Regional deposition of particles in lung. *Thorax*, 39: 716-717, 1984.
177. Pelletier, O. — Vitamin C and cigarette smokers. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 258: 156-168, 1975.
178. Pelletier, A., Pauli, G., Bieth, J. G. — Proteases, antiproteases and emphysema pulmonaire. *Rev. Fr. Mal. Respir.*, 10: 369-389, 1982.
179. Piperno, E., Berssenbrugge, D.A. — Reversal of experimental paracetamol toxicosis with N-acetylcysteine. *Lancet*, 2: 738-739, 1976.
180. Powers, J.C. — Synthetic elastase inhibitors: prospects for use in the treatment of emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: S54-S58, 1983.
181. Pratt, S.T., Finley, M., Smidt, A. et al. — A comparison of alveolar macrophages and pulmonary surfactant obtained from lung of human smokers and non-smokers by endobronchial lavage. *Anat. Rec.*, 163: 497-506, 1969.
182. Prescott, L.F. — Glutathione, a protective mechanism against hepatotoxicity. *Biochem. Soc. Trans.*, 10: 84-85, 1982.
183. Prescott, L.F., Park, J., Sutherland, G.R. et al. — Cysteamine, methionine and penicillamine in the treatment of paracetamol poisoning. *Lancet*, 2: 109, 1976.
184. Proctor, P. H., Reynolds, E.S. — Free radicals and disease in man. *Physiol. Chem. Phys. Med.*, NMR, 16: 175-195, 1984.
185. Pryor, W.A. — Methods for detecting free radical and free radical mediated pathology in environmental toxicology. *In: op. cit.* ref. 111.
186. Pryor, W. A., Chopard, C., Tamura, M. et al. — Mechanisms for radical mediated damage by cigarette smoke. *In: op. cit.* ref. 111.
187. Pryor, W.A., Dooley, M.M., Church, D.F. — Inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by gas-phase cigarette smoke. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 122: 676-681, 1984.
188. Pryor, W. A., Prier, D. O., Church, D. F. — Electronspin resonance study of mainstream and sidestream cigarette smoke: nature of the free radicals in gas-phase smoke and in cigarette tar. *Environ. Health Perspect.*, 47: 345-355, 1983.
189. Reid, L.M. — Pathology of chronic bronchitis. *Lancet*, 1: 275-278, 1974.
190. Renart, M.A. — Perspectivas alentadoras para un tratamiento causal del enfisema. *El Medico*, 161: 34, 1985.
191. Rodriguez, R.J., White, R.R., Senior, R. M. et al. — Elastase release from human alveolar macrophages: comparison between smokers and nonsmokers. *Science*. 198: 313-314, 1977.
192. Rogot, E., Murray, J.L. — Smoking and causes of death among U.S. veterans: 16 years of observation. *Public Health Reports*, 95: 213-222, 1980.
193. Rosemberg, J. — *Tabagismo. Sério Problema de Saúde Pública*. São Paulo: Ed. Almed./Edusp, 1981.
194. Rosemberg, J. — Bronquite crônica e enfisema pulmonar (doença pulmonar obstrutiva crônica). *In: op. cit.* ref. 193.
195. Rosemberg, J. Nocividade à saúde das crianças consequente do tabagismo dos pais. *Rev. Ass. Med. Brasil.*, 31: 2-6, 1985.
196. Rosemberg, J. — Riscos a que se expõem os fumantes passivos. Direitos dos não-fumantes. *Rev. Ass. Med. Brasil.*, 31: 7-12, 1985.
197. Rosenberg, S., Barr, P.J., Narjarian, R.C. et al. Synthesis in yeast of a functional oxidation resistant mutant of human alpha-1-antitrypsin. *Nature*, 312: 77-80, 1984.
198. Ross, D., Albano, E., Nilsson, U. et al. — Thiyl radicals formation during peroxidase-catalyzed metabolism of acetaminophen in the presence of thiols. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 125: 109-115, 1984.
199. Rumack, B. H., Peterson, R.G., Kogh, G.G. et al. — Acetaminophen overdose: 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *Arch. Intern. Med.*, 141: 380-385, 1981.

200. Senior, R.M., Campbell, E. J., Landis, J. A. *et al.* Elastase of U-937 monocyte-like cells. Comparisons with elastases derived from human monocytes and neutrophils and murine macrophage like cells. *J. Clin. Invest.* 69: 384-393, 1982.
201. Senior, R. M., Tegner, H., Kuhn, C. *et al.* — The induction of pulmonary emphysema with human leukocyte elastase. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 116: 469-475, 1977.
202. Seshagiri, R. G., Liener, I.E., Hoidal, J.R. *et al.* — The prevention of elastase induced emphysema by the intratracheal administration of a synthetic elastase inhibitor bound to albumin microspheres. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 132: 159-163, 1985.
203. Simani, A.S., Inove, S., Hogg, J. C. — Penetration of the respiratory epithelium of guinea pigs following exposure of cigarette smoke. *Lab. Invest.*, 31: 75-81, 1974.
204. Simon, L.M., Suttorp, N. — Lung cell oxidant injury: decrease in polymorphonuclear leukocyte mediated cytotoxicity by N-acetylcysteine. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127: (Suppl.): A286, 1983. *Eur. J. Respir. Dis.*, 66 (Suppl. 139): 132-135, 1985.
205. Simon, L., Suttorp, N. — Intracellular protection by N-acetylcysteine against oxidant mediated lung cell damage. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129: 324-A, 1984.
206. Simpósio Internacional — Fumo do tabaco e obstrução crônica das vias aéreas; mecanismos de defesa do trato respiratório e implicações terapêuticas. 13-14 abril, 1984, Lugano, Suíça.
207. Sloan, B., Abrams, W. R., Meranze, D.R. *et al.* — Emphysema induced in vitro and in vivo in dogs by purified elastase from homologous leukocytes. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 124: 295-301, 1981.
208. Snapper, J. R., Bernard, G.R., Bricham, K.L. — in vivo oxidants and pulmonary inflammation. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 22: 257S-260S, 1986.
209. Snider, G.L. — The pathogenesis of emphysema. Twenty years of progress. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 124: 321-324, 1981.
210. Snider, G.L., Lucey, E.C., Christensen, T. G. *et al.* — Emphysema and bronchial secretory cell metaplasia induced in hamster by human neutrophil products. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129: 155-160, 1984.
211. Snider, G.L., Lucey, E.C., Stone, P.J. — Animal models of emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 133: 149-169, 1986.
212. Snider, G.L., Sherter, C.B. — A one-year study of the evolution of elastase-induced emphysema in hamsters. *J. Appl. Physiol.*, 43: 721-729, 1977.
213. Snider, G.L., Sherter, C.B., Koo, K. W. *et al.* — Respiratory mechanism in hamster following treatment with endotracheal elastase or collagenase. *J. Appl. Physiol.*, 42: 206-215, 1977.
214. Snider, G.L., Stone, P. J., Lucey, E.C. *et al.* — Eglin C, a polypeptide derived from the medicinal leech, prevents human neutrophil elastase induced emphysema and bronchial secretory cell metaplasia in the hamster. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 132: 1155-1161, 1985.
215. Société Européenne de Pneumologie, 4^o Congresso — Bronchite et emphysema, Itália, 23-28 set., 1985. Resumos, *Le J. Medecin* n^o 271, supl. 1985.
216. Sosnel, N. T., Watanabe, S., Sandberg, L.B. *et al.* — Mechanism of lung injury in the cooper deficient hamster model of emphysema. *Chest*, 85 (Suppl.): 70-73, 1984.
217. Spain, D.M., Kaufman, G. — The basic lesion in chronic pulmonary emphysema. *Am. Rev. Tuberc.*, 68: 24-30, 1953.
218. Sprince, H. — Protective action of sulfur compounds against aldehyde toxicants of cigarette. *In: op. cit.* ref. 206.
219. Stedman, R. L. — The chemical composition of tobacco and tobacco smoke. *Chem. Rev.* 68: 1132-1139, 1968.
220. Stone, P. J., Lucey E.C., Caldre J. D. *et al.* — The moderation of elastase-induced emphysema in the hamster by intratracheal pretreatment or post-treatment with succinyl alanyl prolyl valine chloromethylketone. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 124: 56-59, 1981.
221. Sy, Yu, Keller, N.R., Yoshida, A. — Biosynthesis of insoluble elastin in hamster lung during elastase emphysema. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 157: 369-373, 1978.
222. Tager, I.B., Munoz, A., Rosner, B. *et al.* — Effect of cigarette smoking on the pulmonary functions of children and adolescents. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 131: 752-759, 1985.
223. Tarantino, A.B., — *Doenças Pulmonares*. 2^a ed. Guanabara, 1982.
224. Tarjan, E., Peto, L., Appel, J. *et al.* — Prevention of elastase-induced emphysema by aerosol administration of specific synthetic elastase inhibitor. *Eur. J. Resp. Dis.*, 64: 442-448, 1983.
225. Tarjan, E., Toinay, P., Appel, J. *et al.* — Experimental pulmonary emphysema; its induction in rats by leuko-elastase extracted from purulent sputum. *Acta Med. Acad. Sci Hung.*, 37: 217-223, 1980.
226. Taylor, J.C., Oey, L. — Ceruloplasmin: plasma inhibitor of the oxidative inactivation of alpha-1-protease inhibitor. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 126: 476-482, 1982.

227. Tegner, H. — Quantification of human granulocyte protease inhibitors in non purulent bronchial lavage fluids. *Acta Otolaringol.*, 85: 282, 1978.
228. Thurlbeck, W. M. — Chronic airflow obstruction in lung disease. *Series on Major Problems in Pathology*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, vol. 5., 1976.
229. Thurlbeck, W.M., Ryder, R.C., Sternby, N. — A comparative study of the severity of emphysema in necropsy populations in three different countries. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 109: 239-248, 1974.
230. Toth, K.M., Berger., E.M. Beehler, C.J. *et al.* — Intact human erythrocytes prevent hydrogen peroxide-mediated damage to isolated perfused rats lung and cultured bovine pulmonary artery endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, 74: 292-295, 1984.
231. Totti, N., McCusker, K. T., Campbell, E.J. *et al.* — Nicotine is chemotactic for neutrophils and enhanced neutrophil responsiveness to chemotactic peptides. *Science*, 233: 169-171, 1984.
232. U. S. Department of Health, Education and Welfare — Smoking and health. Report of the Surgeon General, Public Health Service, USA, 1979.
233. U.S. Department of Health, Education and Welfare — Smoker and nonsmoker responses to diagnostic test. *In: op. cit.* ref. 232.
234. U.S. Department of Health, Education and Welfare — Non-neoplastic bronchopulmonary diseases. *In: op. cit.* ref. 232.
235. U.S. Department of Health, and Human Services — The health consequences of smoking. Cancer. Report of the Surgeon General, USA, 1982.
236. U.S. Department of Health, and Human Services — The health consequence of smoking. Cardiovascular disease. Report of the Surgeon General, USA, 1983.
237. U.S. Department of Health, and Human Services — The health consequence of smoking. Chronic obstructive lung disease. Report of the Surgeon General, USA, 1984.
238. Valentine, R., Rucker, R. B., Chrisp, C.E. *et al.* — Morphological and biochemical features of elastase-induced emphysema in strain A/J mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 68: 451-461, 1983.
239. Vered, M., Dearing, R., Janoff, A. — A new elastase inhibitor from *Streptococcus pneumoniae* protects against acute lung injury induced by neutrophil granules. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 131: 131-133, 1985.
240. Vered, M., Schtzbank, T., Janoff, A. — Inhibitors of human neutrophil elastase in stracts of *Streptococcus pneumoniae*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 130: 1118-1124, 1984.
241. Voisin, C., Aerts, C., Fournier, E. — Short term effects of tobacco smoke on alveolar macrophages cultured in gas phase. *In: op. cit.* ref. 206.
242. Waldmark, A., Alm, R., Ericksson, S. — Monoclonal antibody specific for the mutant PiZ alpha-1-antitrypsin and its application in an ELISA procedure for identification of PiZ gene carriers. *Proc. Natl. Acad. Sc.* 81: 5690-5693, 1984.
243. Ward, P.A. — The chemotaxis system. *In: Current Topics. In: Cohen, R.S., Kauffman, N., Inflammation and Infection*, Baltimore: Williams and Wilkins, 1982, pp. 54-61.
244. Ware, J.H., Dockery, D.W., Spiro, A. *et al.* — Passive smoking, gas cooking and respiratory health of children living in six cities. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129: 366-374, 1984.
245. Warr, G.A., Martin, R.R. — Chemotactic responsiveness of human alveolar macrophages: effect of cigarette smoking. *Inf. Immun.*, 9: 769-771, 1974.
246. Weismann, G., Smolen, J.E., Korchak, H.M. — Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N. Engl. J. Med.*, 303: 27-34, 1980.
247. Werb, Z., Gordon, S. — Elastase secretion by stimulated macrophages. *J. Exp. Med.*, 142: 361-377, 1975.
248. White, R.R., Coggins, C.R.E. — Effects of cigarette smoke exposure on elastase induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 125: (Suppl.): 214-A, 1982.
249. White, J.R., Froeb, H.F. — Small airways dysfunction in nonsmokers exposed to tobacco smoke. *N. Engl. J. Med.*, 302: 770, 1980.
250. White, R., Janoff, A., Geodfrey, H.P. — Secretion of alpha-2-macroglobulin by human alveolar macrophages. *Lung*, 158: 9-14, 1980.
251. White, R., Lee, D., Habicht, G.S. *et al.* — Secretion of alpha-1-proteinase inhibitor by cultured rat alveolar macrophages. *Am. Rev. Resp., Dis.*, 123: 447-449, 1981.
252. White, R.R., Lin, H.S., Kuhn, C — Elastase secretion by peritoneal exudative and alveolar macrophages. *J. Exp. Med.*, 146: 802-808, 1977.
253. Wright, J.L., Lawson, L.M., Parr, P.D. *et al.* — The detection of small airways disease. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 129: 989-994, 1984.
254. Yarbrow, J.W. — N-acetylcysteine a significant chemoprotective agent. *Semin. Oncol.*, 10 (Suppl.): 1-92, 1983.
255. Ziment, I., Van Nuys, C.A. — Perspectives of antioxidant treatment of emphysema with N-acetylcysteine 4^o Congresso da Sociéte Européene de Pneumologie, 23-28 setembro, 1985, Stressa, Itália.

256. Zuber, H. — Bacterial proteolytic enzymes. In: Junod, A.E., Haller, R. (eds.), *Lung Metabolism*, Academic Press, 1975, 53.
- Referências II**
- 257 - Abboud R.T., Richter AM, Fera T. *et al.* - Smoking induces release of neutrophil elastase in the bronchoalveolar lining: a pathogenic mechanism in emphysema — In Taylor J.C.: Pulmonary and proteolysis, Academic Press, 197, 1987.
- 258 - Alderson MR, Lee PN, Wang R - Risk of lung cancer, chronic bronchitis, ischaemic heart disease, and stroke in relation to type of cigarette smoked - *J. Epidemiol. Comm. Health*, 39, 286, 1985.
- 259 - Allen R.C., Black L.F., Buist AS *et al.* - The natural history of air-flow obstruction in PiZ emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 127, S43, 1983.
- 260 - American Academy of Pediatrics - Committee on Genetic and Environmental Hazards - Involuntary smoking. Hazards to children. *Pediatrics*, 77, 755, 1986.
- 261 - Anderson W.F. - Prospects for human gene therapy - *Science* 226, 401, 1984.
- 262 - Auerbach O, Stout A.P., Hammond E.C. *et al.* - Changes in bronchial epithelium in relation to cigarette smoking and in relation to lung cancer - *N. Engl. J. Med.* 265, 253, 1961.
- 263 - Auerbach O, Stout A.P., Hammond E.C. *et al.* - Changes in bronchial epithelium in relation to sex, age, residence, smoking and pneumonia - *N. Engl. J. Med.* 267, 111, 1962.
- 264 - Barker DJP, Osmond C - Childhood respiratory infection and adult chronic bronchitis in England and Wales - *Brit. Med. J.* 293, 1271, 1986.
- 265 - Bast A, Haenen G.R.M., Doelman C.J.A. - Oxidants and antioxidants: State of the Art. *Am. J. Med.*, 91, (3c) 2S, 1991.
- 266 - Beaty K. Bieth J., Travis J. - Kinetics of association of serine proteinases with native and oxidized -1 - proteinase inhibitor and -1 - antichymotrypsin - *J. Biol. Chem.* 255; 3931, 1980.
- 267 - Beck G.J. Doyle C.A., Schachter E.N. - A longitudinal study of respiratory health in a rural community - *Am. Rev. Resp. Dis.* 125, 375, 1982.
- 268 - Berggren M., Dawson J., Moldeus P. - Glutathione biosynthesis in the isolated perfused rat lung: utilization of extracellular glutathione - *FEBS*, 176, 189, 1984.
- 269 - Berkey C.A., Ware J.H., Dokery D.W. *et al.* - Indoor air pollution and pulmonary function growth in preadolescent children - *Am. J. Epidemiol.*, 123, 250, 1986.
- 270 - Bernard G.R., Lucht W.D., Niedermeyer M.E. *et al.* - Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function - *J. Clin. Invest.* 73, 1772, 1984.
- 271 - Bewley BR, Bland J.M. - Smoking and respiratory symptom in two groups of schoolchildren - *Prev. Med.* 5, 63, 1976.
- 272 - Bitterman PBLE, Saltzman S., Adelberg V.J. *et al.* - Alveolar macrophage replication: one mechanism for the expansion of the mononuclear phagocyte population in the chronically inflamed lung. *J. Clin. Invest.* 74, 460, 1984.
- 273 - Blasi A - Bronchite cronica - CNM. Ed. Scientifiche. Italia.
- 274 - Bonham GS, Wilson RW - Children's health in families with cigarettes smokers. *Am. J. Public Health*, 71, 290, 1981.
- 275 - Botelho C, Barbosa LS, Barros MD - Sintomas respiratórios e tabagismo passivo em crianças - 2ª Parte. *J. Pneumologia* 15, 15, 1989.
- 276 - Botelho C, Guedes Barbosa LS, Jardim JRB - Sintomáticos respiratórios, espirometria e tabagismo em adultos - *J. Pneumologia* 14 (supl. nº 1), 131, 1988.
- 277 - Bouchard J, Cooreman S, Perdrizet G *et al.* - Tabaquismo y sintomas respiratórios entre los adolescentes de un departamento francés. *Bol. Union. Int. Tuberc.* 54, 88, 1979.
- 278 - Brantly M, Nukiwa T, Cristal RG - Molecular basis of alpha-1-antitrypsin deficiency - *Am. J. Med.*, 84 - (supl. 6A) 13, 1988.
- 279 - Brantly ML, Paul D.L., Miller BH *et al.* - Clinical features and history of the destructive lung disease associated with alpha-1-antitrypsin deficiency of adults with pulmonary symptoms - *Am. Rev. Resp. Dis.* 138, 327, 1988.
- 280 - Brunekreef B., Fischer P, Remis B - *et al.* - Indoor air pollution and its effects on pulmonary function of adult non-smoking women. III - Passive smoking and pulmonary function. *Int. J. Epidemiol.* 14, 227, 1985.
- 281 - Buist AS - Early detection of airways obstruction by the closing volume technique - *Chest*, 64, 495, 1973.
- 282 - Buist AS, Burrows B, Cohen A *et al.* - Guidelines for the approach to the individual with severe hereditary alpha-1-antitrypsin deficiency. An official statement of the American Thoracic Society - *Am. Rev. Resp. Dis.* 140, 1494, 1989.
- 283 - Burchfiel CM, Higgins MW, Keller JB *et al.* - Passive smoking in childhood. Respiratory conditions and pulmonary function in Techumseh, Michigan. *Am. Rev. Resp. Dis.* 133, 966, 1986.
- 284 - Burman WJ, Martin WJ - Oxidant-mediated ciliary dysfunction. *Chest*, 89, 411, 1986.

- 285 - Burrows B - The Medical Clinics of North America. Vol. 65, 1981.
- 286 - Burrows B, Knudson RJ, Lebowitz MD - The relationship of childhood respiratory illness to adults obstructive airway disease. *Am. Rev. Resp. Dis.* 115, 751, 1977.
- 287 - Camner P, Mossberg B, Philipson K - Tracheobronchial clearance and chronic obstructive lung disease. *Scand. J. Respir. Dis.* 54, 272, 1973.
- 288 - Cantin AM, Bégin R - Glutathione and inflammatory disorders of the lung. *Lung*, 169, 123, 1991.
- 289 - Carp H, Janoff A - In vitro suppression of serum elastase inhibitory capacity by reactive oxygen species generated by phagocytosing polymorphonuclear leukocytes - *J. Clin. Invest.* 63, 793, 1979.
- 290 - Carp H, Janoff A - Potential mediator of inflammation: phagocyte-derived oxidants suppress the elastase-inhibitory capacity of alpha-1-proteinase inhibitor in vitro - *J. Clin. Invest.* 66, 987, 1980.
- 291 - Carrel RW, Jeppson JO, Laurell CB *et al.* - Structure and variation of human α -1-antitrypsin *Nature*, 298, 329, 1982.
- 292 - Casolaro MA, Fells G, Wewers JE *et al.* - Augmentation of lung antineutrophil elastase capacity with recombinant human α -1-antitrypsin - *J. Appl. Physiol.* 63, 2015, 1987.
- 293 - Chaieb JA, Vitola D, Silva MS *et al.* - Epidemiologia das doenças respiratórias obstrutivas em relação com o hábito de fumar. *Bol. Of. Sanit. Panam* - 96, 119, 1984.
- 294 - Chen Y, Li WX - The effect of passive smoking on children's pulmonary function in Shanghai - *Amer. J. Pub. Health.* 76, 515, 1986.
- 295 - Chretien J - Tabac et bronchite chronique. *Med. Hygiène*, 46, 145, 1988.
- 296 - Chretien J - La pollution (atmosphérique, domestique et professionnelle), facteur de risque de maladies chroniques des voies respiratoires. *Bul. Union Int. Tuberc. Mal. Respir.* 64 (4), 24, 1989.
- 297 - Cochrane CG - Cellular injury by oxidants. *Am. J. Med.* 91, (3C), 23S, 1991.
- 298 - Colley JRT - Respiratory symptoms in children and parental smoking and phlegm production. *Brit. Med. J.* 2, 201, 1974.
- 299 - Collins MH, Moessinger AC, Kleinerman J *et al.* - Fetal hypoplasia associated with maternal smoking: a morphometric analysis. *Pediatrics Research*, 19, 408, 1985.
- 300 - Cooper JD, Patterson GA, Grossman *et al.* - Double-lung transplant for advanced chronic obstructive lung disease - *Am. Rev. Resp. Dis.* 139, 303, 1989.
- 301 - Costa e Silva VL - Concurso Nacional de frases e desenhos contra o fumo. Programa Nacional de Combate ao Fumo. 1989.
- 302 - Cotgreave IA, Johansson U, Moldeus P *et al.* - The effect of acute cigarette smoke inhalation on pulmonary and systemic cysteine and glutathione redox states in the rat. *Toxicology*, 45, 203, 1987.
- 303 - Courtney M; Jallat S, Tessier LH *et al.* - The construction of novel protease inhibitor by modification of the active centre of α 1-antitrypsin. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. A* 317, 381, 1986.
- 304 - Crystal RG - α -1-antitrypsin deficiency, emphysema and liver disease. Genetic bases and strategies for therapy - *J. Clin. Invest.* 85, 1343, 1990.
- 305 - Crystal RG - Oxidants and respiratory tract epithelial injury: pathogenesis and strategies for therapeutic intervention - *Am. J. Med.* 91, (3C) 39S, 1991.
- 306 - Crystal RG, Bast A - Oxidants and antioxidants: pathophysiologic determinants and therapeutic agents. *Am. J. Med.* 91, (3C) 1991.
- 307 - Crofton J, Bjartveit K - Le tabagisme, facteur de risque demaladies chroniques des voies respiratoires - *Bul. Union Int. Tuberc. Mal. Respir.* 64(4), 13, 1989.
- 308 - Crofton J, Masironi - Facteurs Adjuvants. Maladies Respiratoires Chroniques: la composante tabagique - *Bul. Union Int. Tuberc Respir* 64(4), 62, 1989.
- 309 - Cukier A, Terra M. F^o, Vargas F. *et al.* - Alterações da função pulmonar determinadas pelo tabagismo. *J. Pneumologia*, 6, 59, 1980.
- 310 - Curnutte JT, Babior BM - Chronic granulomatous disease. *Adv. Hum. Genet.* 16, 229, 1987.
- 311 - Cuttillo AG, Morris AH, Allion DC *et al.* - Alveolar geometry: a determinant of the unique nuclear magnetic resonance behavior of lung. *Am. Rev. Resp. Dis.* 135, A216, 1987.
- 312 - Derrene JP - N-acetylcysteine in lung protection. First Annual Congress European Respiratory Society. Acetylcysteine and lung protection. Bruxelas, Set. 21, 1991.
- 313 - Doll R, Gray R, Hafner B *et al.* - Mortality in relation to smoking: 22 years' observation on female British doctors. *Brit. Med. J.* 280, 967, 1980.
- 314 - Doll R; Petro R - Mortality in relation to smoking: 20 years observation of British doctors. *Brit. Med. J.* 2, 1525, 1976.
- 315 - Dwyer E.M. Jr., Troncal F. - Spontaneous pneumothorax and pulmonary disease in the Marfan syndrome. *Ann. Intern. Med.* 62, 1285, 1965.
- 316 - Dykes DD, Miller SA, Polesky HF - Distribution of α -1-antitrypsin variants. *Adv. Hum. Genet.* 11, 1, 1981.

- 317 - Dykes DD, Miller SA, Plesky HF - Distribution of α -1-antitrypsin variants in a US white population - *Hum. Hered.* 34, 308, 1984.
- 318 - Dysinger PW, Lemon FR - Pulmonary emphysema in a non-smoking population. *Dis. Chest*, 43, 17, 1963.
- 319 - Ebert RV, Terratio MJ - The bronchiolar epithelium in cigarette smokers. Observations with the scanning electron microscope - *Am. Rev. Resp. Dis.* 111, 4, 1975.
- 320 - Ekwo EE, Weinberger MM, Lachembruch PA *et al.* - Relationship of smoking and gas cooking to respiratory disease in children. *Chest*, 84, 662, 1983.
- 321 - Erickson S - Studies in 1-antitrypsin deficiency - *Acta Med. Scand.* 177 (suppl. 432) 1, 1965.
- 321 - A - Erickson S. - the potential role of elastase inhibitors in emphysema treatment. *Eur. Respir. J.* 4, 1041, 1991.
- 322 - Erickson S, Carlson J., Velez R - Risk of cirrhosis and primary liver cancer in alpha-1-antitrypsin deficiency - *N. Engl. J. Med.* 314, 736, 1986.
- 323 - Fera T, Abboud RT, Richter A *et al.* - Acute effect of smoking on the functional activity of alpha-1-proteinase inhibitor in bronchoalveolar lavage fluid. *Am. Rev. Resp. Dis.* 131, 79, 1985.
- 323 - A - Fisk DE, Kuhn C - Emphysema - like changes in the lung the botchy mouse. *Am. Rev. Resp. Dis.* 113, 787, 1976.
- 324 - Flenley DC - Pathogenesis of pulmonary emphysema - *Quartely J. Med. New. Series* 61, N^o 234, 901, 1986.
- 325 - Forum Medical, Marbella 1990 - Oxidants et antioxydants: rôle physiopatologique et rôle pathologique dans certains maladies respiratoires, cardio-vasculaires, le cancer et les maladies immunologiques. *Med. Higién.* N^o 1880, 904, 1991.
- 326 - Fourht Scarborough Conference of Preventive Medicine - Is there a futur for lower-tar-yield cigarettes? *Lancet*, 2, 1111, 1985.
- 327 - Gadek JE, Crystal RG - α -1-Antitrypsin deficiency. In Starbury JB *et al.* - Metabolic basis of inherited disease - N. York, 1982.
- 328 - Garver RI, Chytil A, Courtney M *et al.* - Clonal gene therapy: transplanted mouse fibroblast clones express human α -1-antitrypsin gene in vivo. *Science* 237, 762, 1987.
- 329 - Garver RI, Chytil A, Karlsson S - Production of glycosated, physiologically normal human alpha-1-antitrypsin by mouse fibroblasts modified by insertion of a human alpha-1-antitrypsin cDNA using a retroviral vector. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* in Hubbard RC, Crystal RG, referència 454.
- 330 - George PM, Vissers MCM, Travis J *et al.* - A genetically engineered, mutant human alpha-1-antitrypsin protects connective tissue from neutrophil damage and may be useful in lung disease - *Lancet* 2, 1426, 1984.
- 331 - Goodman RM, Yergin BM, Landa JF *et al.* - Tracheal mucus velocity in non-smokers, smokers, and patients with obstructive lung disease. In, Vannêr A. *Am. Rev. Resp. Dis.* 116, 73, 1977.
- 332 - Goodman RM, Yergin BM, Land JF *et al.* - Relationship of smoking history and pulmonary function test to tracheal mucous velocity in nonsmokers, young smokers, ex-smokers and patients with chronic bronchitis. *Am. Rev. Resp. Dis.* 117, 205, 1978.
- 333 - Grassi C - N-acetylcysteine: new perspectives. First Annual Congress European Respiratory Society. Acetylcysteine and lung protection. Bruxelles. Set. 21, 1991.
- 334 - Grimes CA, Hanes B - Influence of cigarette smoking on the spirometric evolution of employees of a large insurance company. *Am. Rev. Resp. Dis.* 108, 273, 1973.
- 335 - Halliwell B - Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am. J. Med.* 91 (3C), 145, 1991.
- 336 - Hamman RF, Barancik JL, Lilienfeld AM - Patterns of mortality in the Old Order Amish. Background and major causes of death. *Am. J. Epidemiol* 114, 845, 1981.
- 337 - Hammond EC, Garfinkel L - Tar and nicotine content of cigarette smoke in relation to death rates. *Environ. Res.* 12, 263, 1976.
- 338 - Harlap S, Davies AM - Infant admissions to hospital and maternal smoking. *Lancet* 1, 529, 1974.
- 339 - Hellstern KH, Curtis CG, Upshall DG *et al.* - Inhibition by cigarette smoke and acrolein of pulmonary protein biosynthesis. *Biochem. Soc. Trans.* 13, 761, 1985.
- 340 - Herning RI, Jones RT, Bachman J *et al.* - Puff volume increase when low nicotine cigarette are smoked. *Brit. Med. J.* 283, 187, 1981.
- 341 - Higgins MW - Les maladies chroniques des voies respiratoires aux Etats-Unis. Evolution et facteurs determinants. *Bul. Union Int. Tuberc. Mal. Respir.* 64 (4), 38, 1989.
- 342 - Hogg JC, Macklem PT, Thurlbeck WM - Site and nature of airway obstructin in chronic obstructive lung disease - *N. Engl. J. Med.* 278, 1355, 1968.
- 343 - Hoidal JR, Fox RB, LeMarre PA *et al.* - Altered oxidative metabolic responses in vitro of alveolar macrophages from a symptomatic cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 123, 85, 1975.

- 344 - Hoidal JR, Fox RB, LeMarre PA *et al.* - Oxidative metabolism of alveolar macrophages from young asymptomatic cigarette smokers. *Chest*, 77 (suppl.) 270, 1980.
- 345 - Hoidal JR, Fox RB, LeMarre PA *et al.* - Altered oxidative metabolic response in vitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.* 123; 85, 1981.
- 346 - Hole DJ, Gillis CR, Chopra C *et al.* - Passive smoking and cardiorespiratory health in a general population in the west of Scotland - *Brit. Med. J.* 299, 423, 1989.
- 347 - Holland WW - Les maladies chroniques des voies respiratoires au Royaume - Uni. *Bull. Union Int. Tuberc. Mal. Respir.* 64, (4), 27, 1989.
- 348 - Holland WW, Bailley P, Bland JM - Long term consequences of respiratory disease in infancy - *J. Epidemiol. Comm. Hlth.* 36, 256, 1978.
- 349 - Holland WW, Elliota R. Cigarette smoking, respiratory symptoms and anti-smoking propaganda: an experiment. *Lancet*, 1, 41, 1968.
- 350 - Howatt WF, Keller JB, Butler WJ *et al.* - Passive smoking, respiratory symptoms and pulmonary function in the pediatric population of Tecumseh. *Am. Rev. Resp. Dis.* 127, 156 (Part 2) 1983.
- 351 - Hubbard RC, Brantly ML, Sellars SE *et al.* - Antineutrophil elastase defenses of the lower respiratory tract in alpha-1-antitrypsin deficiency directly augmented with an aerosol of alpha-1-antitrypsin. *Ann. Intern. Med.* 111, 206, 1989.
- 352 - Hubbard RC, Crystal RG - Antiproteases and antioxidants: strategies for pharmacologic prevention of lung destruction. *Respiration* 50 (suppl 1) 56, 1986.
- 353 - Hubbard RG, Fells A, Cantin F *et al.* - Recombinant DNA produced vol 358 alpha-1-antitrypsin more effectively resist oxidative inactivation by alveolar macrophages of cigarette smokers than plasmaderived MiMi alpha-1-antitrypsin or met 358 alpha-1-antitrypsin. *Am. Rev. Resp. Dis.* 133, A 218, 1986.
- 354 - Hubbard RC, McElvaney NG, Sellers SE *et al.* - Recombinant DNA - produced alpha-1-antitrypsin administered by aerosol augments lower respiratory tract antineutrophil elastase in individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency. *J. Clin. Invest.* 84, 1349, 1989.
- 355 - Hubbard RC, Ogushi F, Fells GA *et al.* - Oxidants spontaneously release by alveolar macrophages of cigarette smokers can inactivate the active site of alpha-1-antitrypsin, rendering it ineffective as an inhibitor of neutrophil elastase. *J. Clin. Invest.* 80, 1289, 1987.
- 356 - Hubbard RC, Sellers S, Czerski D *et al.* - Biochemical efficacy and safety of monthly augmentation therapy for alpha-1-antitrypsin deficiency - *JAMA*, 260, 1259, 1988.
- 357 - Hunninghake GW, Crystal RG - Cigarette smoking and lung destruction. Accumulation of neutrophils in the lung of cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.* 128, 833, 1983.
- 358 - Hutchison DC - Natural history of alpha-1-protease inhibitor deficiency. *Am. J. Med.* 84, (suppl. 6A) 3, 1988.
- 359 - Janof A - Investigation in to the biochemical mechanisms of pulmonary emphysema: effects of cigarette smoke on enzymes and ante-enzymes in the lung - *Respiration* 50 (suppl 1) 13, 1986.
- 360 - Janoff A, Nascimento GC, Rosenberg S - A genetically engineered, mutant human alpha-1-proteinase inhibitor is more resistant than the normal inhibitor to oxidative activation by chemicals, enzymes, cells, and cigarette smoke - *Am. Rev. Resp. Dis.* 133, 353, 1986.
- 361 - Janoff A, Pryor WA, Bengali ZH - Effect of tobacco smoke component on cellular and biochemical processes in the lung - NHLBI shop summary. *Am. Rev. Resp. Dis.* 136, 1058, 1987.
- 362 - Janus ED, Phillips NT, Carrel RW - Smoking lung function and alpha-1-antitrypsin deficiency - *Lancet* I (jan. 19) 1985.
- 363 - Karla J, Chaudhary AK, Prasad K - Increase production of oxygen free radicals in cigarette smokers - *Int. J. Exp. Pathol.* 72, 1, 1991.
- 364 - Kauffman F, Dockery DW, Speizer FE *et al.* - Respiratory symptoms and lung function in women with passive and active smoking - *Am. Rev. Resp. Dis.* 133, A157, abstract. 1986.
- 365 - Kauffman F, Perdrizet S - Effect of passive smoking on respiratory function. *Eur. J. Resp. Dis.* 62, Suppl. 113, 109, 1982.
- 366 - Kimbel P, Weinbaum G, Damiano VV - Immunolocalization of elastase in human emphysematous lungs. In: Proceeding of the 2nd International Symposium on pulmonary emphysema and proteolysis. 1986.
- 367 - Kourilsky R, Brille D; Hatte J *et al.* - Enquete sur l'etiologie et la prophylaxie de la bronchite chronique et l'emphysema pulmonaire. *Paris. Caisse Regionale de Securité Sociale.* 1 vol. 1960.
- 368 - Kozlowski LT - Tar and nicotine delivery of cigarettes. What a difference a puff makes. *JAMA*, 245, 158, 1981.
- 369 - Kubich U, Christner P, Lippman M *et al.* - Immunologic measurement of elastin - derived peptides in human serum. *Am. Rev. Resp. Dis.* 127, S28, 1983.

- 370 - Kucich U, Christner P, Lippman M *et al.* - Utilization of a peroxidase antiperoxidase complex in an enzyme-linked immunosorbent assay of elastin peptides in human plasma. *Am. Rev. Resp. Dis.* 131, 709, 1985.
- 371 - Kuperman AS, Riker JB - The variable effect of smoking on pulmonary function. *Chest.* 63, 655, 1973.
- 371 -A- La Fuma C, Frisdale E, Harfa A *et al.* - Prevention of leucocyte elastase induced emphysema in mice by heparin fragments. *Eur. Respir. J.* 8, 1004, 1991.
- 372 - Lambert PM, Reid DD - Smoking, air pollution, and bronchitis in Britain. *Lancet*, 1, 853, 1970.
- 373 - Lancet Editorial - Single lung transplantation for pulmonary emphysema. *Lancet* 339, 216, 1992.
- 374 - Larson C - Natural history and life expectancy in severe alpha-1-antitrypsin deficiency, *PiZ - Acta Med. Scand.* 204; 345, 1978.
- 375 - Leeder SR, Corkhill R, Irwig LM *et al.* - Influence of family factors on the incidence of lower respiratory illness during the first year of life. *Brit. J. Prev. Soc. Med.* 30, 203, 1976.
- 376 - Lemond FR, Walden RT - Death from respiratory system diseases among Seventh-Day Adventist men. *JAMA*, 198, 137, 1966.
- 377 - L'Hotellier MTR, Lundgren FLC, Jardim RB *et al.* - Valor propedéutico do tempo médio de trânsito no estudo de fumantes jovens. *J. Pneumologia*, 13, 191, 1987.
- 378 - Lindskog GE, Van Allen CM - The aerodynamic of bronchial obstruction. *Arch. Surg.* 24, 204, 1932.
- 379 - Lopez-Vidriero MT, Allegra L; Sackner MA *et al.* - The physical properties of mucus and their clinical significance. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 22, 207, 1986.
- 380 - Ludwig PW, Schwartz BA, Hoidal JR *et al.* - Cigarette smoking causes accumulation of polymorphonuclear leukocytes in the lungs of cigarette smokers. *Am. Rev. Resp. Dis.* 131, 828, 1985.
- 381 - Lynn WS, Mukherjee C - Motility of rabbit alveolar cells. Role of unsaturated fatty acids. *Am. J. Pathol.* 96, 663, 1979.
- 382 - Macklen PT - The pathophysiology of chronic bronchitis and emphysema. *Med. Clin. North. AM.* 57, 669, 1973.
- 383 - Masi MA, Hanley JA, Ernst P *et al.* - Environmental exposure to tobacco smoke and lung function in young adults. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 138, 296, 1988.
- 384 - Masjedi MA, Kazemi H, Johnson DC - Effect of passive smoking on the pulmonary function of adults. *Thorax*, 45, 27, 1990.
- 385 - McCarthy DS, Craig DB, Cherniac RM - Effect of modification of the smoking habit on lung function. *Am. Rev. Resp. Dis.* 114, 103, 1976.
- 386 - McLaughlin RF, Tueller EE - Anatomic and histologic changes of early emphysema. *Chest*, 59, 592, 1971.
- 387 - Mittman C, Lieberman N, Rumsfeld J - Prevalence of abnormal protease inhibitor phenotypes in patients with chronic obstructive lung disease. *Am. Rev. Resp. Dis.* 109, 295, 1974.
- 388 - Moldeus P, Berggren M, Grafstrom R - N-acetylcysteine protection against the toxicity of cigarette smoke and cigarette smoke condensates in various tissues and cells in vitro - *Eur. J. Respir. Dis.* 66, Suppl. 139, 123, 1985.
- 389 - Moldeus P, Cotgreave IA, Beggren M - Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration* 50 (suppl. 1) 31, 1986.
- 390 - Morgan W, Wright A, Cota K *et al.* - Effect of parental smoking on lung function in infants under 4 months of age. *Am. Rev. Resp. Dis.* 129, PART 2, A21, 1984.
- 391 - Morihara K, Tsuzuki H, Oda R - Protease and elastase of *Pseudomonas aeruginosa*: inactivation of human plasma α 1-proteinase inhibitor. *Inf. Immunity.* 24, 188, 1979.
- 392 - Morison HM - The proteinase-antiproteinase theory of emphysema: time for a reappraisal? *Clin. Science*, 72, 151, 1987.
- 393 - Mornex JF, Chytil A, Courtney M *et al.* - Expression of the alpha-1-antitrypsin-deficient individuals - *J. Clin. Invest.* 77, 1952, 1986.
- 394 - Muensch H., Gaidulis L; Kueppers F *et al.* - Complete absence of serum alpha-1-antitrypsin in conjunction with an apparently normal gene structure. *Am. J. Hum. Genet.* 38, 898, 1986.
- 395 - Nadel JA, Comroe JH - Acute effects of inhalation of cigarette smoke on airway conductance - *J. Appl. Physiol.* 16, 713, 1961.
- 396 - Naskhosteen JA, Lindmann L, Vieira J - Mucociliary clearance. Data for smoker, nonsmokers, and patients with respiratory disease. *Deut. Med. Wochenschr.* 107:1713, 1982.
- 397 - Nathan CF - Secretory products of macrophages. *J. Clin. Invest.* 79, 319, 1987.
- 398 - National Center for Health Statistics - Mortality from Diseases associated with smoking. United States. Publication n.º (PHS 81-1854 Office of Health Research Statistics and Technology), 1982.
- 399 - Niewoehner DE - Cigarette smoking, lung inflammation, and the development of emphysema. *J. Lab. Clin. Med.* 111, 15, 1988.

- 400 - Niewoehner DE - What lies ahead? Future research and treatment for chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Med.* 91, (suppl 4A) 4A-415, 1991.
- 401 - Nukiwa T, Satoh K, Brantly ML *et al.* - Identification of a second mutation in the protein-coding sequence of the Z-Type alpha-1-antitrypsin gene. *J. Biol. Chem.* 34, 15,989, 1986.
- 402 - O'Connor GT, Weiss St, Tager IB *et al.* - The effect of passive smoking on pulmonary function and nonspecific bronchial responsiveness in a population-based sample of children and young adults. *Am. Rev. Resp. Dis.* 135, 800, 1987.
- 403 - Ogushi F, Hubbard RC, Vogelmeier C *et al.* - Risk factors of emphysema. Cigarette smoking is associated with a reduction in the association rate constant of the 1-antitrypsin for neutrophil elastase. *J. Clin. Invest.* 87, 1060, 1991.
- 404 - Organization Mondiale de La Sante - 1ère journée mondiale sans tabac. Le tabac ou la santé: choisissez la santé. 7 abril, 1988.
- 405 - Osman M, Cantor JO, Roffman S *et al.* - Cigarette smoke impairs elastin resynthesis lung of hamster with elastase induced emphysema. *Am. Rev. Resp. Dis.* 132, 640, 1985.
- 406 - Owen MC, Brennan SO, Lewis JH *et al.* - Mutation of antitrypsin to antithrombin: 1-antitrypsin Pittsburg (358 Met-Arg). *N. Engl. J. Med.* 309, 694, 1983.
- 407 - Palombini BC, Corrêa da Silva LC, Moreira JS - Doença broncopulmonar crônica obstrutiva. In Corrêa da Silva LC, Compêndio de Pneumologia 2ª ed. F. Ed. Byk, 1991.
- 408 - Peat JK, Woolcock AJ, Cullen K - Decline of lung function and development of chronic airflow limitation; a longitudinal study on non-smokers in Bussiton, Western Australia. *Thorax*, 45, 32, 1990.
- 409 - Pedreira FA, Quandolo VL - Involuntary smoking and incidences of respiratory illness during first year of life - *Pediatrics*, 75, 594, 1985.
- 410 - Pereira RP - Fumo e permeabilidade de pequenas vias aéreas em jovens não pneumopatas. Tese de Mestrado em Pneumologia. UFRGS. 1975.
- 411 - Petes JM, Ferris B - Smoking, pulmonary function and respiratory symptoms in a college-age group - *Amer. Rev. Resp. Dis.* 95, 714, 1967.
- 412 - Petitti DB, Friedman GD - Respiratory morbidity in smokers of low and high yield cigarettes - *Prev. Med.* 14, 217, 1985.
- 413 - Petterson B, Curvall M; Enzell CR - Effects of tobacco smoke compounds on the ciliary activity of the embryo chicken trachea in vitro. *Toxicology* 23, 41, 1982.
- 414 - Pierce JA - Antitrypsin and emphysema - Perspective and prospect. *JAMA*, 259, 2890, 1988.
- 415 - Powers JC, Bengali ZH - Elastase inhibitor for treatment of emphysema approaches to synthesis and biological evaluation. *Am. Rev. Resp. Dis.* 134, 1097, 1986.
- 416 - Proetz A - Some preliminary experiments in this study of cigarette smoke and its effects upon respiratory tract. *Am. Cytology.* 48, 176, 1939.
- 417 - Rabin M; Watson M, Kidd V *et al.* - Regional location of 1-antichymotrypsin and 1-antitrypsin genes on human chromosome 14 - *Som. Cell Mol. Genetics* 12, 209, 1986.
- 418 - Radmecker MM - N-acetylcysteine and the respiratory system. First Annual Congress European Respiratory Society. Acetylcysteine and lung protection. Bruxelas. Set 21, 1991.
- 419 - Reid LM - Pathology of chronic bronchitis. *Lancet* 1, 275, 1954.
- 420 - Repine JE - N-acetylcysteine in chronic bronchitis. How does it work. First Annual Congress European Respiratory Society. Acetylcysteine and lung protection. Bruxelas. Set 21, 1991.
- 421 - Richter AM, Abbout RT, Johal SS *et al.* - Acute effect of smoking on superoxide production by pulmonary alveolar macrophages. *Lung*, 164, 233, 1986.
- 422 - Rigatto M - Tabagismo. In Corrêa da Silva LC, Compêndio de Pneumologia - 2ª ed. F. Ed. Byk. 1991.
- 423 - Rimpela AH, Rimpela MK - Increased risk of respiratory symptoms in young smokers of low tar cigarettes - *Brit. Med. J.* 290, 1461, 1985.
- 424 - Rosemberg J - Rischio d'infezioni broncopulmonari in bambini esposti passivamente a fumo di tabaco. Congresso Italiano di Tisiologia e Malatie Polmonari Sociali. 22-25 agosto. Napoli, 1980.
- 425 - Rosemberg J - Modernas concepções sobre a fisiopatologia do enfisema pulmonar: papel do tabagismo. *J. Pneumologia*, 13, 87, 1987.
- 426 - Rosemberg J - Tabagismo e Cancer. 1 vol. Impressora CEFRAFF, Senado Federal. 1991.
- 427 - Rosemberg J, Schmidt BJ, Palmieri IT *et al.* - Fumo e perturbações respiratórias nos primeiros 5 anos de vida. - Anais - Temas Livres pg 141. XXI Congresso Brasileiro de Pediatria. 6-12 out. Brasília. 1979.
- 428 - Rossel MaH, Wilson C, Patel A *et al.* - Plasma nicotine levels after smoking cigarettes with high, medium and low nicotine yields. *Brit. Med. J.* 24 maio, 414, 1975.
- 429 - Ruckley VA, Gauld SJ, Shapman JS *et al.* - Emphysema and dust exposure in a group of coal workers - *Am. Rev. Resp. Dis.* 129, 528, 1984.

- 430 - Ruf F, Salem A, Busy F *et al.* - La fermeture des voies aériennes périphériques. Son augmentation Chez les fumeurs - *Rev. Tuberc. Pneumologia* 36, 308, 1972.
- 431 - Ruffino Netto A, Caron - Ruffino M, Costa-Passos A *et al.* - Tabagismo e sintomas/doenças do aparelho respiratório entre acadêmicos ligados à área de saúde - *Ribeirão Preto. J. Pneumologia* 15, 8, 1989.
- 432 - Santa'Anna CC, Andrade GN, Viana Mag. O tabagismo passivo e problemas respiratórios na infância. *Prog. Nac. Atual. Med. Fontoura-Wieth* (13), 3, 1983.
- 433 - Santa Cruz R, Landa J, Hirch J *et al.* - Tracheal mucus velocity in normal man and patients with obstructive lung disease. *Am. Rev. Resp. Dis.* 109, 458, 1974.
- 434 - Satoh K, Nukiwa T; Brantly M *et al.* - Emphysema associated with complete absence of α -1-antitrypsin in serum and the homozygous inheritance of stop codon in α -1-antitrypsin codin exon - *Am. J. Hum. Genet.* 42, 77, 1988.
- 435 - Schnebli HP, Eglin C, an elastase/cathepsin inhibitor with therapeutic potencial in emphysema. In ARDS a reveiw. In Flenley referência 366.
- 436 - Simon LM, Suttorp N - Intracellular protection by N-acetylcysteine against oxidant mediated lung cell damage - *Am. Rev. Resp. Dis.* 129, A324, 1984.
- 437 - Simon LM, Suttorp N - Lung cell oxidant injury: decrease in oxidant mediated cytotoxicity by N-acetylcyteine - *Eur. J. Respir. Dis.* 66, Suppl 139, 132, 1985.
- 438 - Snider GL - Pulmonary disease in alpha-1-deficiency. *Ann. Intern. Med.* 111, 957, 1989.
- 439 - Stone PJ, Franzblau C, Kagan HM - Proteolysis in insoluble elastin. *Meth. Enzymol.* 82, 588, 1982.
- 440 - Sveger T - Liver disease in alpha-1-antitrypsin deficiency detected by screening of 200.000 infants. *N. Engl. J. Med.* 294, 316, 1976.
- 441 - Svenden KH, Kuller LH, Martin MJ, *et al.* - Effects of passive smoking in the multiple risk factor intervention trial - *Am. J. Epidemiol.* 126, 783, 1987.
- 442 - Tager IB - Passive smoking-bronchial responsiveness and atopy. *Am. Rev. Resp. Dis.* 138, 507, 1988.
- 443 - Tager IB, Segal MR, Muñoz A *et al.* - The effect of maternal cigarette smoking on the pulmonary function of children and adolescent. *Am. Rev. Resp. Dis.* 136, 1366, 1987.
- 444 - Tager IB, Weiss St, Muñoz MS *et al.* - Longitudinal study of the effect on maternal smoking on pulmonary function children - *N. Engl. J. Med.* 309, 699, 1983.
- 445 - Tager IB; Weiss St, Rosner B *et al.* - Effect of parental cigarette smoking on the pulmonary function of children. *Am. J. Epidemiol.* 110, 15, 1979.
- 446 - Tager IB, Weiss ST Speizer TE *et al.* - Longitudinal assessment of the relationship of parents' cigarette smoking and level of pulmonary function in children. *Am. Rev. Resp. Dis.* 125 (Part 2), 145, 1982.
- 447 - Tashkin DP, Clark V, Simmons M *et al The.* - UCLA population studies of chronic obstructive respiratory disease. VII - Relationship between parental and children's lung function. *Am. Rev. Resp. Dis.* 129, 891, 1984.
- 448 - Taylor JC, Madison R, Kosinska D - Is antioxidant deficiency related to chronic obstructive pulmonary disease? *Am. Rev. Resp. Dis.* 134, 285, 1986.
- 449 - Thelestam M, Curvall M, Enzel CR - Effect of tobacco smoke compounds on plasma membrane of cultured human lung fibroblasts. *Toxicology*, 15, 203, 1980.
- 450 - Thurlbeck WM - Aspects of chronic air flow obstruction - *Chest*, 72, 341, 1977.
- 451 - Tobin MJ, Cook PJ; Hutchinson DC - Alpha-1-antitrypsin deficiency: the clinical and physiological features of pulmonary emphysema in subjects homozygous for Pi type Z. A survey by Thoracic Association. *Brit. J. Dis. Chest*, 77, 14, 1983.
- 452 - Travis J, Owen M, George P - Isolation and properties of recombinant DNA produced variant of human alpha-1-antiproteinase inibidor. *J. Biol. Chem.* 260, 4384, 1985.
- 453 - Tregnaco R; Telbon M, Rigatto M *et al.* - Estudo longitudinal da função pulmonar em fumantes não pneumopatas - *J. Pneumologia* 14, (supl n.º 1) 65, 1988.
- 454 - Tsimoyianis GV, Jacobson MS - Redution pulmonary function and increase frequency of cough associated with passive smoking in teenage athlety. *Pediatrics*, 80, 32, 1987.
- 455 - U.S. Department of Health and Human Services - The health consequence of smoking for women. A report of the Surgeon General USA, 1984.
- 456 - U.S. Department of Health and Human Services - The health consequences of smoking. Cancer. A report of the Surgeon General. USA, 1985.
- 457 - U.S. Department of Health and Human Services. The health consequences of involuntary smoking. A report of the Surgeon General, USA. 1986.
- 458 - U.S. Department of Health and Human Services - Reducing the health consequences of smoking 25 years of progress. A report of the Surgeon General. USA, 1989.

- 459 - U.S. Public Health Service - The health consequences of smoking. A report of the Surgeon General. Pub. n.º (HSM). USA. 1971.
- 460 - Wagner PD, Mathieu - Costello O, Bebout DE *et al.* - Protection against pulmonary O₂ toxicity by N-acetylcysteine - *Eur. Respir. J.* 2, 116, 1989.
- 461 - Waller RE - Pollution atmospherique (facteurs adjvants de maladies chroniques des voies respiratoires). *Bul. Union Int. Tuberc. Mal. Respir* 64 (4), 78, 1989.
- 462 - Wanner A - Clinical aspects of mucociliary transport. *Am. Rev. Resp. Dis.* 116, 73, 1977.
- 463 - Ward PA, Johnson KJ, Till GO - Animal models of oxidant lung injury. *Respiration* 50, (suppl. 1), 5, 1986.
- 464 - Ware JH, Dokery DW, Spiro A *et al.* - Passive smoking, gas cooking and respiratory health of children living in six cities. *Am. Rev. Resp. Dis.* 129, 366, 1984.
- 465 - Wefers H, Sies H - The protection by ascorbate and glutathione against micromosomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur. J. Biochem.* 174, 353, 1988.
- 466 - Weiss ST, Tager JB, Schenker M *et al.* - The health effects of involuntary smoking. *Am. Rev. Resp. Dis.* 128, 933, 1983.
- 467 - Weitz JL; Landman SL, Crowley KA *et al.* - Development of an assay for in vivo human neutrophil elastase activity increased elastase activity in patients with alpha-1-antiprotease inhibitor deficiency. *J. Clin. Invest.* 78, 155, 1986.
- 468 - Wewers M, Casolaro A, Sellers S *et al.* - Pulmonary branch NHLBI, alpha-1-antitrypsin deficiency replacement study: chronic augmentation of the antineutrophil elastase capacity of the lower respiration tract of AAT deficient individuals with weekly infusion of AAT. *Am. Rev. Resp. Dis.* 133, A103, 1986.
- 469 - Wewers M, Casolaro MA; Sellers S *et al.* - Replacement therapy for alpha-1-antitrypsin deficiency associated with emphysema - *N. Engl. J. Med.* 316, 1055, 1987.
- 470 - World Health Organization - Health aspect related to indoor air quality. Who. Regional Office for Europe. Reports and Studies N.º 21, 1979.
- 471 - World Health Organization/Union Internationale Contre La Tuberculose et les Maladies Respiratoires - Reunion sur les maladies chroniques de voies respiratoires. *Bul. Union Int. Tuberc. Mal. Respir.* 64, (4), 6, 1989.
- 472 - Zaslow MRA, Klark PJ, Stone JD *et al.* - Human neutrophil elastase does not bind to alpha-1-antiproteinase inhibitor that has been exposed to activated human neutrophils - *Am. Rev. Resp. Dis.* 128, 434, 1983.
- 473 - Ziment I - Acetylcysteine: a drug with and interesting past and fascinating future. *Respiration*, 50 (suppl. 1) 26, 1986.

NOTA: Referências I são da primeira revisão e incorporadas neste artigo. Referências, II, são as acrescentadas para a presente atualização.

Apoio:

Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia
Associação Italo-Latino Americana de Pneumologia
e Alergologia Respiratória

616.2
R81
199
MEMO