

Remodelagem Vascular Pulmonar. Considerações Sobre a Possível Participação de Fatores Peptídicos de Crescimento e Substâncias Relacionadas

Antonio Augusto B. Lopes, Vera Demarchi Aiello, Nair Yukie Maeda, Munir Ebaid
São Paulo, SP

Doença Vaso-Oclusiva Pulmonar: Conceito e Caracterização Morfo-funcional

A doença vaso-oclusiva pulmonar (DVOP) compreende uma série de entidades de etiologia variada, tendo como denominador comum a obstrução progressiva dos vasos pulmonares, sobretudo arteriais, resultando, em geral, em lesões oclusivas¹⁻⁸. Arbitrariamente, empregaremos os termos “doença vaso-oclusiva pulmonar” (DVOP) com objetivo de dar destaque aos aspectos estruturais descritos na síndrome. Julgamos não oportuno referir-nos genericamente a “hipertensão pulmonar”, termo que, embora usual, designa sobretudo a consequência hemodinâmica da doença. Considerando-se a ampla reserva funcional da circulação pulmonar, a gravidade do processo vaso-oclusivo estará essencialmente na dependência de sua extensão.

Objetivamente, a distinção entre as formas idiopática e secundária da DVOP nem sempre é simples. Neste sentido, uma tentativa de padronização de critérios clínicos e laboratoriais para o diagnóstico da assim chamada “hipertensão pulmonar primária” foi levada a efeito em 1981 pelo “National Heart, Lung and Blood Institute” nos Estados Unidos¹. Entre as entidades etiologicamente relacionadas à DVOP secundária, a hipóxia crônica tem ocupado posição de destaque, tanto do ponto de vista clínico como experimental^{2,3}. Outras entidades indiscutivelmente associáveis à DVOP são cardiopatias congênitas⁴, o uso de drogas, notadamente contraceptivos orais⁵, hepatopatias crônicas⁶, doenças do tecido conectivo⁷ e a esquistossomose⁸. Independentemente da origem, a DVOP cursa, em grande número de situações, com tendência a trombose *in situ*⁹⁻¹¹. Em nossa experiência, esta tendência está presente em diferentes formas de apresentação e estágios evolutivos^{12,16}, podendo vincular-se, portanto, primária ou secundariamente, ao processo vaso-oclusivo.

Sob o ponto de vista morfo-funcional, dois componentes participam do mecanismo de fechamento dos va-

sos arteriais pulmonares: a vasoconstrição, tendo, como substrato histopatológico, o aumento na densidade de células musculares lisas na camada média arterial e a vaso-oclusão propriamente dita, resultante de proliferação fibrocelular da camada íntima¹⁷. O aumento de células musculares lisas contráteis na parede dos vasos pulmonares, tendo como resultado o comportamento essencialmente vasoconstritivo, constitui modalidade de expressão clínico-fisiopatológica não necessariamente benigna, podendo resultar em morte súbita em alguns casos (experiência pessoal).

De outro lado, encontra-se a proliferação de células musculares transformadas em padrão sintético, expressando exageradamente proteínas de matriz extracelular, que conferem rigidez e obstrução progressiva ao vaso. Esta separação é apenas didática, pois, os componentes vasoconstritivo e vaso-oclusivo estão presentes simultaneamente em muitas situações. A natureza das alterações estruturais vasculares pode variar consideravelmente, dependendo do agente etiopatogênico. Em hipertensão pulmonar associada a hipóxia crônica, o componente vasoconstritivo pode ser o dominante. Em outras situações, predominam as lesões lúminais. Em fases avançadas da DVOP idiopática ou nas formas associadas a cardiopatias congênitas ou ainda à esquistossomose, são comuns as proliferações fibrocelulares da camada íntima, que ocluem o lúmen vascular, assim como as lesões dilatadas com adelgaçamento extremo da camada média arterial, acompanhadas de atividade celular em seu interior¹⁸⁻²⁰.

Remodelagem Vascular Pulmonar

Qualquer que seja o agente etiopatogênico, a hipertensão arterial crônica acarreta, na circulação pulmonar, diferentes graus de remodelagem vascular. O processo de remodelagem consiste em alterações estruturais qualitativas e quantitativas, envolvendo número e características fenotípicas dos elementos celulares, assim como modificação nos componentes da matriz extracelular. As consequências finais dessas alterações são a perda da elasticidade normal do vaso e a obstrução progressiva de sua luz^{2,21,22}. A importância da elucidação das particularidades dos mecanismos envolvidos na remodelagem vascular pulmonar reside na possibilidade de atuar exatamente sobre estes mecanismos com vistas em futuras aquisições terapêuticas.

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas - FMUSP e Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo

Correspondência - Antonio Augusto B. Lopes - Incor

Av. Dr. Enéas C. Aguiar 44 - 05403, São Paulo SP

Recebido para publicação em 13/4/92

Aceito em 24/3/92

Participação da Célula Endotelial (CE)

O endotélio participa passiva e ativamente do processo de remodelagem. No primeiro caso, as lesões na superfície endotelial, mecanicamente causadas pelo regime de hipertensão, podem ocasionar solução de continuidade na membrana celular, resultando na liberação de substâncias como fatores de crescimento. Este é um mecanismo de liberação, por exemplo, do fator de crescimento de fibroblastos do tipo básico (bFGF), que tem importante papel na angiogênese e no crescimento de células endoteliais^{23,24}.

A solução de continuidade na superfície endotelial pode ainda propiciar condições para que substâncias plasmáticas, como a fibronectina, entrem em contato com elementos da camada arterial média. Este é um provável mecanismo através do qual a fibronectina plasmática serve de substrato para a desdiferenciação de células musculares lisas (CML) em fenótipo secretor²⁵.

O conceito de que a lesão da barreira endotelial pode permitir o contato direto entre elementos do sangue circulante e as camadas externas da parede do vaso, contribuindo para o processo de remodelagem, revestese de importância clínica imediata. Em toda modalidade terapêutica curativa ou paliativa, deverão ocupar lugar de destaque as medidas destinadas a minimizar os fatores de agressão endotelial, como o aumento de fluxo e de pressão, a hipóxia, a policitemia, os processos inflamatórios e infecciosos.

A participação ativa da CE no processo de remodelagem vascular diz respeito à expressão de componentes da matriz extracelular, assim como à liberação de substâncias vasoativas, mitógenos e atividades proteolíticas. A endotelina, inicialmente concebida como potídeo vasoativo, é agora indiscutivelmente conhecida como potente mitógeno para CML^{26,27}.

Entre outros fatores de crescimento, potencialmente expressos pela CE, estão a interleucina-1 (IL-1), o fator de crescimento transformador do tipo beta (TGF-beta), fator de crescimento semelhante ao derivado de plaquetas (ECGF/PDGF), os fatores de crescimento de fibroblastos de tipos ácido e básico (aFGF e bFGF), fatores estimuladores de colônias (CSFs) e, possivelmente, o fator de crescimento insulina-símile do tipo I (IGF-I)^{28,29}. As CE possuem ainda receptores de alta afinidade para a maioria desses fatores, capazes portanto, de agir de maneira autócrina ou parácrina.

O endotélio sintetiza e expressa diversas atividades enzimáticas, entre elas serino-proteases como, por exemplo, a elastase. Além de exercer atividade proteolítica sobre o colágeno tipo IV e a elastina, estudos, em modelos experimentais de DVOP demonstram que esta atividade enzimática está direta ou indiretamente relacionada com a proliferação patológica de CML na periferia da árvore arterial pulmonar³⁰. Os ativadores do plasminogênio (u-PA, t-PA), assim como seu inibidor do

tipo 1 (PAI-1), todos expressos pelo endotélio, são outros exemplos de serino-proteases, reconhecidamente moduladoras do crescimento celular. Os ativadores do plasminogênio são capazes de controlar a liberação de fatores de crescimento a partir de complexos inativos, como ocorre com o TGF-beta e o bFGF^{31,32}.

Existem, portanto, provas indiscutíveis de que a CE participa das alterações estruturais em vasos pulmonares através da síntese de mediadores. Rabinovitch e col demonstraram em DVOP associada a cardiopatias congênitas, sinais evidentes de atividade metabólica aumentada em células endoteliais pulmonares, a se julgar pelo aumento de microvilosidades em sua superfície e pela exuberância do retículo endoplasmático granuloso em microscopia eletrônica de transmissão³³. Tozzi e col evidenciaram nítida correlação entre a presença do endotélio e a expressão de RNA mensageiro para componentes do tecido conjuntivo, na parede de artérias pulmonares submetidas a remodelagem crônica³⁴. Desta forma, embora não haja evidências de que a proliferação do endotélio responda pela oclusão vascular, há dados que comprovam ser a CE um legítimo modulador dos fenômenos de reorganização estrutural que ocorrem nas demais camadas do vaso.

Participação das Células Musculares Lisas (CML) e da Matriz Extracelular

Durante o processo de remodelagem vascular pulmonar, as alterações que ocorrem a partir da túnica média, envolvendo a íntima e a adventícia, revestem-se de importância prognóstica. O grau de desorganização estrutural do vaso determinará, em muitos casos, o potencial de reversibilidade frente à eliminação do fator desencadeante.

Quando se considera, por exemplo, a DVOP que se associa a cardiopatias congênitas (alterações vasculares pulmonares relacionadas com o estímulo mecânico de aumento de fluxo e de pressão), observa-se que as lesões não são uniformes, mesmo em crianças de idades semelhantes, aparentemente submetidas a estímulos de mesma intensidade. Em outras palavras, a gravidade das lesões vasculares não é necessariamente uma função do tempo. A avaliação estrutural da parede das artérias pulmonares em tais pacientes, revela, em alguns casos, apenas hipertrofia e hiperplasia de CML na túnica média, apesar de longo tempo de evolução (anos).

Em outros casos, entretanto, apesar do curto período evolutivo (meses), observam-se artérias com acentuada desorganização na estrutura de sua parede, caracterizada por intensa atividade celular proliferativa na camada íntima, acompanhada de deposição anômala de matriz extracelular^{35,36}. Essas diferenças, obrigam-nos a admitir que os fatores locais que controlam os processos de proliferação, diferenciação e migração celular em vasos pulmonares, em situações patológicas, são diferentes

de indivíduo para indivíduo. Poder-se-ia admitir que tais fatores seriam diferentes até mesmo em um único indivíduo, considerando-se lesões arteriais em diferentes níveis de desorganização estrutural.

A hipertrofia da camada média observada na DVOP está associada ao aumento do número e do tamanho das CML, assim como dos componentes da matriz, notadamente colágeno e elastina. As alterações que ocorrem na túnica média e na região neointima envolvendo elementos celulares e substâncias da matriz, foram bem caracterizadas em modelos experimentais³⁷⁻³⁹.

Em ductus arteriosus de fetos de ovelhas com 100 dias de gestação, importantes alterações na matriz extracelular parecem preceder o fenômeno da migração de células da túnica média para camada íntima⁴⁰. Foi observado aumento de dez vezes na incorporação de proteoglicanos (ácido hialurônico) pela matriz de CE e aumento de duas vezes na expressão de fibronectina por CML⁴¹. Ambos os fenômenos têm implicação fisiopatológica. A incorporação de ácido hialurônico modifica as características físicas da matriz, facilitando o movimento celular de migração. Esta propriedade está relacionada com o acúmulo de água de solvatação entre as moléculas de proteoglicanos. Por outro lado, recentes observações indicam que a fibronectina desempenha papel fundamental no início do processo de desdiferenciação celular, que precede os fenômenos de migração e proliferação. Células musculares lisas em cultura, colocadas sobre substrato contendo fibronectina, aderem a esta glicoproteína com alta eficiência e, em três a quatro dias, assumem fenótipo sintético²⁵. Analisadas em conjunto, estas informações indicam que os fenômenos de desdiferenciação e migração de CML da camada média para a íntima são precedidos por importantes modificações “preparatórias” na composição da matriz extracelular. Algumas dessas modificações são moduladas pelo endotélio.

Os eventos que ocorrem a seguir sugerem fortemente a participação de fatores de crescimento peptídicos. Em modelos experimentais de DVOP induzida por monocrotalina (considerada um tóxico para a circulação pulmonar), é indiscutível a presença de CML na região subendotelial, transformadas em células sintéticas⁴².

Sabe-se que CML, fenotipicamente alteradas pelo contato com a fibronectina, necessitam exposição ao PDGF (neste caso proveniente de plaquetas, células endoteliais ou das próprias CML), para iniciar a síntese de DNA e a replicação²⁵⁻⁴³. O PDGF induz respectivamente, a expressão rápida e lenta dos proto-oncogenes *c-fos* e *c-myc*, indispensáveis para o início do ciclo celular.

Sabe-se, por outro lado, que o PDGF, considerado como um fator de “competência”, requer a co-participação de fatores ditos de “progressão” como o IGF-I, para a passagem de G₁ para S^{44,45}. De maneira semelhante ao

que se admite em outros processos, como a aterosclerose, é plausível especular-se sobre a participação fisiopatológica desses fatores na DVOP. Outros mitógenos, como a endotelina, podem estar envolvidos da mesma forma.

Os fenômenos de migração e proliferação celular na DVOP acompanham-se de extensa deposição de colágeno e elastina na parede arterial. Estudos experimentais recentes indicam aumento da síntese desses dois componentes da matriz extracelular, associado a evidente atividade degradativa sobre a elastina neoformada⁴²⁻⁴⁶. A expressão gênica relacionada com estas proteínas tem sido caracterizada pela presença de quantidades aumentadas de RNA mensageiro para tropoelastina e procolágeno de tipos I e IV, em artérias pulmonares submetidas a regime hipertensivo crônico^{33,47,48}. Além disso, há evidências de heterogeneidade na expressão desses genes, considerando-se diferentes regiões na parede de uma única artéria⁴⁸.

Muito tem sido especulado a respeito dos fatores possivelmente relacionados com o aumento na expressão vascular de colágeno e elastina em situações patológicas. No caso específico da DVOP, CML da túnica média arterial expressam um ou mais fatores que induzem a síntese de RNA mensageiro para estas proteínas, em fibroblastos⁴⁷. Recentemente, tem sido demonstrado que o TGF-beta recombinante possui efeito elastogênico sobre CML de aorta de suínos⁴⁹. Por outro lado, há evidências de que o IGF-I apresenta atividade mitogênica, além de induzir a expressão de elastina em CML obtidas de artérias pulmonares de bezerros no período neonatal^{50,51}. Avaliadas em conjunto, as informações permitem supor que estes e outros fatores, possam estar direta ou indiretamente implicados no aumento de componentes da matriz extracelular, em indivíduos portadores de DVOP.

Assim, o processo de remodelagem vascular pulmonar pode ser resumido como segue. A partir do endotélio ou através dele, determinados fatores modificam as características físicas da matriz extracelular subjacente, preparando-a para fenômenos de migração celular. Sob influência de substâncias provenientes do sangue circulante e outras com ação endócrina e parácrina, CML perdem seu caráter contrátil, dando lugar a fenótipo sintético, responsável pela expressão de diversas proteínas fibrosas e fatores elastogênicos. Concomitantemente, tais células passam a ser observadas na camada íntima.

Tendo como ponto de partida CML diferenciadas, de aspecto contrátil e em outro extremo, um complexo processo de proliferação fibrocelular responsável pela rigidez vascular e aumento de resistência ao fluxo, postula-se que o conhecimento dos mecanismos envolvidos nesta transformação constitui o caminho seguro para a aquisição de recursos terapêuticos específicos.

Fatores Peptídicos de Crescimento: Caracterização e Expressão Vascular

As considerações acima sugerem, fortemente, a participação de fatores peptídicos de crescimento no processo de remodelagem vascular pulmonar patológica. Neste sentido, diversos deles poderiam estar implicados e sua discussão pormenorizada estaria fora do propósito desta revisão. Assim, apenas com finalidade ilustrativa, passaremos, a seguir, à discussão de três fatores cujos efeitos biológicos parecem se relacionar de maneira imediata com as alterações vasculares descritas.

Fator de Crescimento Transformador (TGF) do Tipo Beta - O TGF do tipo beta-1 é um homodímero com peso molecular 25kDa (duas cadeias interligadas por pontes dissulfídicas), pertencente a uma grande família de proteínas homólogas. Esta família inclui, além dos TGF-beta de 1 a 5, uma série de outros peptídeos com cerca de 30% de homologia^{31,52}. A seqüência do DNA complementar é conhecida, sendo o RNA mensageiro expresso em diversos tipos celulares normais e malignos⁵³. A fim de que possa exercer sua atividade através de receptores específicos, o TGF-beta é liberado de complexos inativos por modificações de pH, ou atividade proteolítica a partir da ativação do plasminogênio^{31,54}.

O efeito proliferativo do TGF-beta *in vitro* não é uniforme, variando de acordo com a forma e o grau de confluência celular. Na presença do TGF-beta, células endoteliais em cultura bidimensional apresentam resposta inibitória de crescimento quando em estado não confluyente⁵². Há evidências de que o TGF-beta possa exercer sua ação inibitória sobre CE, através de alterações na composição de proteoglicanos da matriz extracelular⁵⁵, notadamente aqueles constituídos por sulfato de heparan. Por outro lado, as respostas de proliferação ou inibição observadas em CML expostas ao TGF-beta parecem estar relacionadas a diferenças no tipo de receptores de superfície, dependendo do estado de confluência das células⁵⁶.

O TGF-beta desempenha papel importante na biologia e biopatologia vascular. Sabe-se que este fator apresenta intensa atividade angiogênica. Considerando seu efeito inibitório sobre células endoteliais em várias preparações, o caráter angiogênico pode ser explicado pela liberação do fator de necrose tumoral do tipo alfa (TNF-alfa), a partir de células para as quais o TGF-beta é quimiotático (macrófagos)⁵⁷.

Há evidências de anormalidades na expressão vascular do TGF-beta em estados patológicos. Em ratos, geneticamente hipertensos, as CML da aorta apresentam aumento na expressão do RNA mensageiro para TGF-beta-1, independentemente do estado de proliferação e demonstram aumento na síntese de DNA, em resposta ao TGF-beta exógeno⁵⁸. Além de seu papel no crescimento celular, as alterações na expressão vascular do TGF-

beta em estados hipertensivos, poderiam explicar modificações que ocorrem na estrutura da matriz extracelular. De fato, sabe-se que o TGF-beta induz a expressão de diversos componentes da matriz como pro-colágenos de tipos I, II, III e V, elastina, fibronectina além de vários receptores para estas substâncias^{31,49,59}. Por fim, os efeitos do TGF-beta podem ser amplificados por outros fatores como o PDGF-AA (abaixo), uma vez que ambos têm a capacidade de aumentar mutuamente a expressão de RNA mensageiro⁶⁰.

Fatores de Crescimento Derivados de Plaquetas (PDGFs) - Os PDGFs constituem uma família de proteínas relacionadas, formadas por cadeias ligadas por pontes dissulfídicas originando dímeros de aproximadamente 30 kDa⁶¹. Cadeias A e B combinam-se para constituir as isotornnas AA, BB e AB (PDGF-AA, PDGF-BB e PDGF-AB). As cadeias são codificadas por dois genes distintos porém estruturalmente relacionados, localizados nos cromossomos 7 e 22^{62,63}. O gene que codifica a cadeia B (PDGF-B) constitui a contra-parte celular normal do oncogene *v-sis* do vírus de sarcoma de símios⁶⁴. As cadeias maduras apresentam 60% de homologia na seqüência de aminoácidos. No homem, três espécies de RNA mensageiro de 1,9, 2,3 e 2,9 kilobases relacionam-se com a cadeia A e uma espécie de 3,8 kilobases, com a cadeia B^{62,65}.

Um dos fatores que dificulta a compreensão dos efeitos *in vivo* dos PDGFs é a existência de dois tipos de receptores denominados alfa e beta, que apresentam diferentes afinidades pelas isoformas. Assim, ligam-se ao receptor alfa ambas as cadeias, mas ao receptor beta com alta afinidade, apenas a cadeia B^{66,67}. Diferenças regionais na resposta mitogênica ao PDGF, tanto em situações normais como patológicas, podem portanto refletir simplesmente alterações na distribuição de seus receptores.

Outro fator que dificulta a caracterização dos efeitos do PDGF, isoladamente, é sua interação com substâncias vasoativas ou fatores de crescimento. Sabe-se, por exemplo, que a endotelina, a angiotensina II e a norepinefrina, multiplicam suas ações vasculares pela indução da expressão gênica do próprio PDGF (cadeia A) ou de seus receptores (particularmente do tipo beta)^{60,68,69}. Alguns fatores de crescimento exercem suas ações em parte através do PDGF. O efeito inibitório do TGF-beta está, de certa forma, relacionado com a dessensibilização de receptores para o PDGF, rompendo seu circuito de retroalimentação positiva. Em contrapartida, a interleucina-6 estimula o crescimento de CML de aorta de rato, caracteristicamente de maneira PDGF-dependente⁷⁰.

Observadas essas dificuldades de análise, os PDGFs podem ser considerados fatores essencialmente mitogênicos, embora necessitem de fatores de progressão para induzir síntese de DNA e replicação celular.

Plaquetas, macrófagos, células endoteliais e musculares lisas podem ser consideradas como fontes de PDGFs para a parede vascular. Células endoteliais e CML expressam e possuem receptores para este fator, caracterizando sua capacidade de agir de maneira autócrina e parácrina^{43,71}. A participação dos PDGFs em doenças vasculares, como a aterosclerose, está bem caracterizada pela presença tanto do peptídeo como de seu mensageiro no local da lesão, em todas as fases da aterogênese^{72,73}. Expressão anômala de seus receptores tem sido igualmente observada em hipertensão arterial sistêmica experimental⁷⁴. Por inferência, seu envolvimento em outros processos de obstrução vascular, como a DVOP, tem sido cogitado⁴⁶.

Fatores de Crescimento Insulina-Símile (IGF-I e IGF-II) - Os fatores de crescimento insulina-símile (IGF) são peptídeos mitogênicos estruturalmente homólogos à pró-insulina, descritos no homem sob duas formas IGF-I e IGF-II, de acordo com análise de seqüência de aminoácidos e caracterização de DNAs complementares. Embora o fígado tenha sido apontado como o principal local de síntese, evidências recentes sugerem que os IGF estão distribuídos por um grande número de tecidos em mamíferos.

Os IGFs são constituídos por cadeias lineares semelhantes, possuindo o IGF-I e o IGF-II, respectivamente, 70 e 67 aminoácidos. Existem duas subespécies de RNA mensageiro para o IGF-I, designadas por IA e IB. Estas parecem constituir variantes de um mesmo gene IGF-I, por "splicing" na região 3', conservando quatro domínios na região traduzida. O RNA mensageiro para o IGF-II humano é estruturalmente semelhante às subespécies IA e IB, especialmente no que diz respeito aos domínios "B", "C", "A" e "D", diferindo no terminal 3' não traduzido⁷⁵.

O IGF-I é encontrado em grande quantidade no fígado e no plasma de diversas espécies. Sua ação foi inicialmente concebida como endócrina e dependente do hormônio de crescimento (GH)⁷⁶. Hoje, admite-se entretanto, a produção local do IGF-I em diversos órgãos e tecidos, tendo, nessas circunstâncias, atuação do tipo autócrina e parácrina, menos dependente do GH⁷⁷. Estudos recentes indicam que a proporção entre o IGF-I produzido localmente e aquele derivado do sangue circulante varia consideravelmente de tecido para tecido. Isto comprova a heterogeneidade do seu efeito endócrino em diferentes órgãos⁷⁸.

Grande parte dos efeitos mitogênicos dos IGFs, é modulada por proteínas de ligação. Incidentalmente, o PDGF é capaz de induzir a expressão tanto daquele fator, como de suas proteínas moduladoras⁷⁹. Hoje, são conhecidas pelo menos cinco proteínas de ligação (24, 30, 34, 38,5 e 41,5kDa), que se agrupam para dar origem a complexos de baixo e alto peso molecular⁸⁰. Exemplo do

efeito modulador dessas proteínas pode ser observado com a forma de 29kDa, que potencia a ação mitogênica do IGF-I em CML *in vitro*.

Há evidências indiscutíveis de produção local e ação autócrina do IGF-I em parede arterial. Em CE aórticas de bovinos e musculares lisas de ratos, identificaram-se diferentes espécies de RNA mensageiro para IGF-I⁸¹. Em músculo liso obtido da parede de artérias pulmonares de bovinos no período neonatal, demonstraram-se duas vias distintas e sinérgicas de atividade mitogênica deste fator⁵⁰. Em acréscimo, CML vasculares apresentam receptores para ambos os IGFs, cuja expressão varia durante o desenvolvimento.

Além da característica mitogênica que requer a presença de fatores de competência, o IGF-I é capaz de induzir a síntese de tropoelastina em tecido pulmonar⁸², inclusive em CML arteriais⁵¹. Entretanto, o efeito elastogênico do IGF-I tem sido caracteristicamente observado em tecidos embrionários e no período neonatal. Seria interessante especular a respeito da expressão dos IGF e de seus receptores, assim como de sua ação elastogênica, em condições de desdiferenciação celular patológica como ocorre na DVOP.

DVOP Associada a Cardiopatis Congênitas

As considerações que seguem referem-se, em sua maioria, à experiência desenvolvida em nossa instituição^{35,36}. A transição da vida intra-uterina para o período neonatal e pós-natal cursa com alterações importantes na circulação pulmonar, que podem ser consideradas como remodelagem vascular normal ou fisiológica. Este processo caracteriza-se por redução na massa de células musculares lisas na túnica média das pequenas artérias, acompanhada de vasodilatação. A partir dos primeiros meses de vida extra-uterina, inicia-se o crescimento dos vasos pulmonares em número, em maior velocidade até 18 meses e, lentamente, a partir de então até os 5 anos. O resultado fisiológico dessas alterações é a queda na resistência arterial pulmonar, que no indivíduo adulto atinge cerca de 1/10 do valor da resistência sistêmica.

Existem determinadas condições, na faixa etária pediátrica, que se associam com frequência a alteração do padrão normal de remodelagem vascular pulmonar. Os exemplos mais marcantes de tais condições são: a) todas as situações que levam à hipoventilação e à hipóxia alveolar crônica; b) doenças cardíacas congênitas com comunicações intercavitárias. Nessas circunstâncias, observa-se ausência de regressão da massa de células musculares lisas em artérias pulmonares, muscularização precoce e exagerada de pequenos terminais vasculares em parede de alvéolos e detenção do crescimento dos vasos em número. Segue-se todo o processo de remodelagem patológica descrito acima.

Em alguns pacientes, mas definitivamente não em todos, a retirada da condição patológica associada (por

exemplo, a correção precoce de um defeito cardíaco (significante) pode ser seguida da regressão parcial ou total das alterações vasculares pulmonares. Até o presente, não há nenhum índice que possa prever, com segurança, quais pacientes apresentarão esta ou aquela evolução. Entretanto, em relação à DVOP associada a cardiopatias congênitas, alguns níveis de alterações estruturais em artérias pulmonares observadas no exame histopatológico podem ser indicativos de evolução desfavorável: a) muscularização densa de pequenas artérias (menos de 200µ de diâmetro), que adquirem espessura superior a 20% do raio; b) proliferação fibrocelular exuberante na camada íntima, chegando a ocluir a luz do vaso; c) ocorrência de lesões arteriais dilatadas, com ou sem atividade celular em seu interior; d) redução no número de artérias abaixo de 50% do valor previsto para a idade.

Ao contrário do que se admitia até há alguns anos, as alterações expostas no item "a" acima, não são necessariamente benignas, tampouco revestem-se de bom prognóstico em todos os casos. De fato, alguns pacientes apenas com muscularização anômala de vasos pulmonares, portadores de hipertensão essencialmente vasoconstritiva, apresentam evolução altamente desfavorável podendo ocorrer morte súbita (experiência pessoal).

Em suma, na doença vascular pulmonar associada a cardiopatias congênitas, aspectos fisiopatológicos com implicações clínicas devem ser destacados. Pacientes portadores de anomalias cardíacas congênitas, complicadas por DVOP, podem apresentar acentuadas diferenças de evolução clínica e de níveis tensionais em território pulmonar, ainda que tenham lesões cardíacas de magnitude semelhante. A doença vascular pulmonar hipertensiva essencialmente vasoconstritiva, não é uma modalidade homogênea sob o ponto de vista evolutivo.

A ocorrência de lesões vasculares pulmonares oclusivas, com intensa atividade celular na camada íntima e deposição anômala de matriz extracelular, não é necessariamente uma função do tempo, podendo estar presente em pacientes com menos de dois anos de idade. Apenas alguns pacientes com DVOP apresentam severas lesões arteriais de tipo plexiforme (dilatação intensa, adelgaçamento da túnica média e atividade celular exuberante no interior); mais que um dado histológico, essas lesões parecem caracterizar um subtipo específico de DVOP. Crianças, com redução no número de artérias pulmonares em relação ao previsto para a idade, apresentam mau prognóstico evolutivo.

Em resumo, o processo de remodelagem vascular pulmonar é caracterizado por seqüências de eventos fisiopatológicos complexos, que dependem da natureza do agente etiopatogênico, do tempo de evolução da doença e de fatores individuais ainda desconhecidos.

Há evidências recentes de envolvimento de sistemas de histocompatibilidade na gênese da DVOP. De fato, al-

guns desses antígenos têm sido detectados, simultaneamente, em crianças portadoras de hipertensão pulmonar primária e em seus familiares⁸³. Em particular, a expressão de alelos HLA-DR3 abre a possibilidade de associação entre a DVOP e entidades auto-imunes. Entretanto, é importante salientar-se que tais associações não têm sido observadas em outros subgrupos da DVOP, o que, novamente, comprova sua natureza complexa⁸⁴.

Qualquer que seja o agente patogênico, a DVOP de maneira semelhante a outras doenças vasculares, cursa com modificações no comportamento de diversas espécies celulares como endoteliais, musculares lisas, fibroblastos, leucócitos, plaquetas e, possivelmente, do sistema monocítico-macrofágico. Em sua maioria, tais alterações são moduladas *in situ* por fenômenos biológicos de âmbito essencialmente pericelular. A progressiva aquisição de conhecimentos neste nível, constitui caminho lento por um seguro, em direção a recursos terapêuticos hoje precariamente disponíveis para esta entidade.

Referências

1. Rich S, Dantzker DR, Ayers SM et al - Primary pulmonary hypertension: a national prospective study. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 216-23.
2. Stenmark KR, Fasules J, Voelkel NF, Henson J, Tucker A, Wilson H, Reeves JT - Severe pulmonary hypertension and arterial adventitial changes in newborn calves at 4.300 m. *J Appl Physiol.* 1987; 62: 821-30.
3. Twarog BM, Takuno H, Petrou S, Wahlquist I, Marcus R, Campbell GL - Pathogenesis of pulmonary hypertension in the rat model. *Chest.* 1988; 93 (suppl 3): 100S-101S.
4. Rabinovitch M - Problems of pulmonary hypertension in children with congenital cardiac defects. *Chest.* 1988; 93 (suppl 3): 119S-126S.
5. Oakley C, Somerville J - Oral contraceptives and progressive pulmonary vascular disease. *Lancet.* 1968; 1: 890-3.
6. Lebec D, Capron J-P, Dhumeaux D, Behhamon JP - Pulmonary hypertension complicating portal hypertension. *Am Rev Respir Dis.* 1979; 120: 849-56.
7. Quismorio FP, Sharma O, Koss M et al - Immunopathologic and clinical studies in pulmonary hypertension associated with systemic lupus erythematosus. *Sem Arthr Rheum.* 1984; 13: 349-59.
8. Guimarães A, Guimarães I - Pulmonary schistosomiasis. *In* Sharma OP, Luag Disease in the Tropics. New York Marcel Dekker, 1991 p. 319-40.
9. Fuster V, Steele PM, Edwards WD, Gersh BJ, McGoon MD, Frye RL - Primary pulmonary hypertension: natural history and the importance of thrombosis. *Circulation.* 1984; 70: 580-87.
10. Eisenberg PR, Lucore C, Kaufman L, Sobel BE, Jaffe AS, Rich S - Fibrinopeptide A levels indicative of pulmonary vascular thrombosis in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation.* 1990; 82: 841-7.
11. Rostagno C, Prisco D, Boddi M, Poggessi L - Evidence for local platelet activation in pulmonary vessels in patients with pulmonary hypertension secondary to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J.* 1991; 4: 147-51.
12. Lopes AAB, Maeda NY, Ebaid M, Pileggi F, Chamone DF - Effect of intentional hemodilution on platelet survival in secondary pulmonary hypertension. *Chest.* 1988; 95:1207-10.
13. Maeda NY, Lopes AAB, Rocha TRF, Chamone DF - Plasma anticoagulant system in patients with pulmonary hypertension. *Brazilian J Med Biol Res.* 1990; 23: 251-4.
14. Lopes AAB, Maeda NY, Ebaid M, Chamone DF - Aggregation of platelets in whole blood from children with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol.* 1990; 28: 173-8.
15. Lopes AAB, Maeda NY, Almeida A, Jaeger R, Ebaid M, Chamone D - Scanning electron microscopic characterization of circulating platelet aggregates in pulmonary hypertension. *J Moll Cell Cardiol.* 1992; 24 (suppl I): S-174.
16. Lopes AAB, Maeda NY, Bydlowski S, Ebaid M, Chamone D - Von Willebrand factor in severe pulmonary vascular obstructive disease: a structural and functional study in patients with schistosomiasis. *J Moll Cell Cardiol.* 1992; 24 (suppl I): S-174.

17. Hogg JC - Primary pulmonary hypertension. *Chest*, 1988; 93 (3 suppl): 172S-175S.
18. Heath D, Edwards JE - The pathology of hypertensive pulmonary vascular disease. A description of six grades of structural changes in the pulmonary arteries with special reference to congenital cardiac septal defects. *Circulation*, 1958; 18: 533-47.
19. Wagenvoort CA, Wagenvoort N - Primary pulmonary hypertension: a pathologic study of the lung vessels in 156 clinically diagnosed cases. *Circulation*, 1970; 42: 1163-184.
20. Pietra GG, Edwards WD, Kay JM et al - Histopathology of primary pulmonary hypertension. A qualitative and quantitative study of pulmonary blood vessels from 58 patients in The National Heart, Lung and Blood Institute, primary pulmonary hypertension registry. *Circulation*, 1989; 80: 1198-206.
21. Stenmark KR, Orton EC, Reeves JT et al - Vascular remodeling in neonatal pulmonary hypertension. Role of smooth muscle cell. *Chest* 1988; 93 (suppl 3): 127S-133S.
22. Haworth SG - Pulmonary vascular remodeling in neonatal pulmonary hypertension. *State of the art. Chest*, 1988; 93 (suppl 3): 133S-138S.
23. McNeil PL, Muthukrishnan L, Warder E, D'Amore PA - Growth factors are released by mechanically wounded endothelial cells. *J Cell Biol*, 1989; 109: 811-22.
24. Joseph-Silvenstein J, Rifkin DB - Endothelial cell growth factors and the vessel wall. *Sem Thromb Haemostasis*, 1987; 13: 504-13.
25. Hedin U, Thyberg J - Plasma fibronectin promotes modulation of arterial smooth-muscle cells from contractile to synthetic phenotype. *Differentiation*, 1987; 33: 239-46.
26. Komuro I, Kurikawa H, Sugiyama T, Takaku F, Yasaki Y - Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 1988; 238: 249-52.
27. Hirata Y, Takagi Y, Fukuda Y, Marumo F - Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 1989; 78: 225-8.
28. Fibbe WE, Daha MR, Hiemstra PS et al - Interleukin I and poly(rI).poly(rC) induce production of granulocyte CSF, macrophage CSF, and granulocyte-macrophage CSF by human endothelial cells. *Exp Hematol*, 1989; 17: 229-34.
29. Boes M, Dake BL, Bar RS - Interactions of cultured endothelial cells with TGF-beta, bFGF, PDGF and IGF-I. *Life Sci*, 1991; 48: 811-21.
30. Ilkiw R, Todorovich-Hunter L, Maruyama K, Shin J, Rabinovitch M - SC-39026, a serine elastase inhibitor, prevents muscularization of peripheral arteries, suggesting a mechanism of monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Circ Res*, 1989; 64: 814-25.
31. Laiho M, Keski-Oja J - Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis: a review. *Cancer Res*, 1989; 49: 2433-553.
32. Saksela O, Rifkin DB - Release of basic fibroblast growth factor-heparan sulfate complexes from endothelial cells by plasminogen activator-mediated proteolytic activity. *J Cell Biol*, 1990; 110: 767-75.
33. Rabinovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN et al - Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension. A correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. *Lab Invest*, 1986; 55: 632-653.
34. Tozi CA, Poiani GJ, Harangozo AM, Boyd CJ, Riley DJ - Pulmonary vascular endothelial cells modulate stretch-induced DNA and connective tissue synthesis in rat pulmonary artery segments. *Chest*, 1988; 93 (3 suppl): 169S-170S.
35. Lopes AAB - Doença vascular pulmonar e cardiopatas congênitas: implicações terapêuticas e análise evolutiva tardia. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1990, 65p.
36. Aiello VD - Estudo morfológico e imuno-histoquímico das alterações arteriais na hipertensão pulmonar secundária a cardiopatas congênitas. Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1992, 106p.
37. Rosenberg HC, Rabinovitch M - Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am J Physiol*, 1988; 155: H1484-H1491.
38. Rabinovitch M - Structure and function of the pulmonary vascular bed: an update. *Cardiol Clin*, 1989; 7: 895-914.
39. LaBourene JL, Coles JG, Johnson DJ, Mehre A, Keeley FW, Rabinovitch M - Alterations in elastin and collagen related to the mechanism of progressive pulmonary venous obstruction in a piglet model. A hemodynamic, ultrastructural and biochemical study. *Circ Res*, 1990; 66: 438-56.
40. Rabinovitch M, Beharry S, Bothwell T, Jackowski G - Qualitative and quantitative differences in protein synthesis comparing fetal lamb ductus arteriosus endothelium and smooth muscle with cells from adjacent vascular sites. *Develop Biol*, 1988; 130: 250-8.
41. Boudreau N, Rabinovitch M - Developmentally regulated changes in extracellular matrix associated with intimal proliferation in the ductus arteriosus. *Lab Invest*, 1991; 64: 187-201.
42. Todorovich-Hunter L, Johnson DJ, Ranger P, Keeley FW, Rabinovitch M - Altered elastin and collagen synthesis associated with progressive pulmonary hypertension induced by monocrotaline. A biochemical and ultrastructural study. *Lab Invest*, 1988; 58: 184-95.
43. Sjolund M, Hedin U, Sejersen T, Heldin CH, Thyberg J - Arterial smooth muscle cells express platelet-derived growth factor (PDGF) A chain mRNA, secrete a PDGF-like mitogen, and bind exogenous PDGF in a phenotype-and growth state-dependent manners. *J Cell Biol*, 1988; 106: 403-413.
44. Clemmons DR - Exposure to platelet-derived growth factor modulates the porcine aortic smooth muscle cell response to somatomedin - C. *Endocrinology*, 1985; 117: 77-83.
45. Stiles CD, Capone GT, Scher CD, Antoniadis HN, Van Wyk JJ, Pledger WJ - Dual control of cell growth by somatomedin and platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977; 76: 1279-83.
46. Rabinovitch M - Pulmonary vascular obstructive disease: basic mechanisms and applications to therapy. *Current Opin in Pediatrics*, 1989; 1: 110-19.
47. Cronch EC, Parks WC, Rosenbaum JL et al - Regulation of collagen production by medial smooth muscle cells in hypoxic pulmonary hypertension. *Am Rev Resp Dis*, 1989; 140: 1045-51.
48. Prosser IW, Stenmark KR, Suhtar M, Cronch EC, Mecham RP, Parks WC - Regional heterogeneity of elastin and collagen gene expression in intralobar arteries in response to hypoxic pulmonary hypertension as demonstrated by *in situ* hybridization. *Am J Pathol*, 1989; 135: 1073-88.
49. Liu J, Davidson JM - The elastogenic effect of recombinant transforming growth factor-beta on porcine aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988; 154: 895-901.
50. Dempsey EC, Stenmark KR, McMurtry IF, O'Brien RF, Voelkel NF, Badesh DB - Insulin-like growth factor I and protein kinase C activation stimulate pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through separate but synergistic pathways. *J Cell Physiol*, 1990; 144: 159-65.
51. Badesch DB, Lee PDK, Parks WC, Stenmark KR - Insulin-like growth factor I stimulates elastin synthesis by bovine pulmonary arterial smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989; 161: 382-7.
52. Sutton AB, Canfield AE, Schor SL, Grant ME, Schor AM - The response of endothelial cells to TGF-beta, is dependent upon cell shape, proliferative state and the nature of the substratum. *J Cell Sci*, 1991; 99: 777-87.
53. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY et al - Human transforming growth factor-beta complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature (London)*, 1985; 316: 701-5.
54. Lyons RM, Kesh-Oja J, Moser H - Proteolytic activation of latent transforming growth factor-beta from fibroblast-conditioned medium. *J Cell Biol*, 1988; 106: 1659-65.
55. Newton LK, Yung WKA, Pethgnew LC, Steck PA - Growth regulatory activities of endothelial extracellular matrix: mediation by transforming growth factor-beta. *Exp Cell Res*, 1990; 190: 127-32.
56. Goodman LV, Majack RA - Vascular smooth muscle cells express distinct transforming growth factor-beta receptor phenotypes as a function of cell density in culture. *J Biol Chem*, 1989; 264: 5241-44.
57. Wisman DM, Polverri PJ, Kamp DW, Leibovich SJ - Transforming growth factor-beta (TGF-beta) is chemotactic for human monocytes and induces their expression of angiogenic activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988; 157: 193-200.
58. Hamet P, Hadrava V, Kruppa U, Tromblay J - Transforming growth factor-beta1 expression and effect in aortic smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1991; 17: 896-901.
59. Wang A, Cohen DS, Palmer E, Sheppard D - Polarized regulation of fibronectin secretion and alternative splicing by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem*, 1991; 266: 15598-15601.
60. Hahn AW, Resnik TJ, Bernhardt J, Ferracin F, Buhler FR - Stimulation of autocrine platelet-derived growth factor AA-homodimer and transforming growth factor-beta in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; 178: 1451-8.
61. Westermarck KB, Heldin C-H - Platelet-derived growth factor in autocrine transformation. *Cancer Res*, 1991; 51: 5087-92.
62. Betsholtz C, Johnson A, Heldin C-H et al - CDNA sequence and chromosomal localization of human platelet-derived growth factor A-chain and its expression in tumour cell lines. *Nature*, 1986; 320: 695-9.
63. DallaFavera R, Gallo RC, Giallongo A, Croce CM - Chromosomal localization of the human homolog (c-sis) of the simian sarcoma virus oncogene. *Science*, 1982; 218: 686-8.
64. Doolittle RF, Hunkapiller MW, Hood LE et al - Sunian sarcoma virus onc gene, v-sis, is derived from the gene (orgenes) encoding a platelet-derived growth factor. *Science*, 1983; 221: 275-7.
65. Eva A, Robbins KC, Andersen PR et al - Cellular genes analogous to retroviral onc genes are transcribed in tumour cells. *Nature*, 1982; 295: 116-9.
66. Seifert RA, Hart CE, Phillips PE, Forstrom JW, Ross R, Murray MJ, Bowen Pope DF - Two different subunits associated to create isoform-specific platelet-

- denved growth factor receptors. *J Biol Chem*, 1989; 264: 8771-8.
67. Hammacher A, Mellstrom K, Heldin C-H, Westermark B - Isoform-specific induction of actin reorganization by platelet-derived growth factor suggests that the functionally active receptor is a dimer. *EMBO J*, 1989; 8: 2489-95.
68. Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ - Induction of platelet-derived growth factor and c-myc gene expression by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989; 83: 1419-24.
69. Bobik A, Grinpukel S, Little PJ, Grooms A, Jackman G - Angiotensin II and noradrenaline increase PDGF BB receptor and potentiate PDGF BB stimulated DNA synthesis in vascular smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990; 166: 580-8.
70. Ikeda U, Ikeda M, Oohara T, Oguchi A, Kamitani T, Tsuruya Y, Kano S - Interleukin 6 stimulates growth of vascular smooth muscle cells in a PDGF-dependent manner. *Am J Physiol*, 1991; 260: H1713-H1717.
71. Beitz JG, Kim IS, Calabresi P, Frackelton Jr R - Human microvascular endothelial cells express receptors for platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1991; 88: 2021-5.
72. Wilcox JN, Smith KM, Williams LT, Schwartz SM, Gordon D - Platelet-derived growth factor mRNA detection in human atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *J Clin Invest*, 1988; 82: 1134-43.
73. Ross R, Masuda J, Raines EW et al - Localization of PDGF B protein in macrophages in all phases of atherogenesis. *Science*, 1990; 248: 1009-12.
74. Sarzani R, Arnaldi G, Chobanian AV - Hypertension-induced changes of platelet-derived growth factor receptor expression in rat aorta and heart. *Hypertension*, 1991; 17: 888-95.
75. Han VK, D'Ercole AJ, Lund PK - Cellular localization of somatomedin (Insulinlike growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science*, 1987; 236: 193-7.
76. Gluckman PD, Douglas RG, Ambler GR et al - The endocrine role of insulinlike growth factor I. *Acta Paediatr Scand*, 1991; 372 (supl): 97-105.
77. Chatelain P, Naville D, Avallet O, Penhoat A, Jaillard C, Sanchez P, Saez J - Paracrine and autocrine regulation of insulin-like growth factor I. *Acta Paediatr Scand*, 1991; 372 (supl): 92-5.
78. Hodgkinson SC, Spencer GSG, Bass JJ, Davis SR, Gluckman PD - Distribution of circulating insulin-like growth factor-I (IGF-I) into tissues. *Endocrinology*, 1991; 129: 2085-93.
79. Giannella-Neto D, Kamyar A, Sharifi B et al - Platelet derived growth factor isoforms induce insulin-like factor I gene expression in rat vascular smooth muscle cells and stimulate the biosynthesis of insulin-like growth factor binding proteins. *Circ Res*, 1992 (no prelo).
80. Binoux M, Roghni M, Hossenlopp P, Hardoum S, Gourmelen M - Molecular forms of human IGF binding proteins: physiological implications. *Acta Endocrinol*, 1991; 124: 41-7.
81. Delafontaine P, Bernstein KE, Alexander W - Insulin-like growth factor I gene expression in vascular cells. *Hypertension*, 1991; 17: 693-4.
82. Noguchi A, Nelson T - IGF-I stimulates tropoelastin synthesis in neonatal rat pulmonary fibroblasts. *Pediatr Res*, 1991; 30: 248-51.
83. Barst RJ, Flaster ER, Menon A, Fotino M, Morse JH. Evidence for the association of unexplained pulmonary hypertension in children with the major histocompatibility complex. *Circulation*, 1992; 85: 249-58.
84. Rabinovitch M - Autoimmune disease and unexplained pulmonary hypertension. *Circulation*, 1992; 85: 380-1.