

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Bárbara Feijó Wunsch

**Efeitos do tratamento com frutose-
1,6-bisfosfato sobre o perfil celular
de fibroblastos de pacientes com
fibrose pulmonar idiopática.**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2020**

Bárbara Feijó Wünsch

Efeitos do tratamento com frutose- 1,6-bisfosfato sobre o perfil celular de fibroblastos de pacientes com fibrose pulmonar idiopática.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador (a): Dra. Fernanda Bordignon Nunes
Co-orientação: Dra. Gisele Branchini
Dra. Katya Vianna Rigatto
Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira

**Porto Alegre
2020**

Ficha Catalográfica

Catálogo na Publicação

Feijó Wünsch, Bárbara

Perfil Inflamatório e biologia celular de fibroblastos de pacientes com fibrose pulmonar idiopática após o tratamento com frutose-1,6-bisfosfato / Bárbara Feijó Wünsch. -- 2020.

56 p. : graf. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2020.

Orientador(a): Dra. Fernanda Bordignon Nunes ;
coorientador(a): Dra. Gisele Branchini, Dra. Katya Vianna Rigatto, Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira.

1. Fibrose pulmonar idiopática. 2. Fibroblastos pulmonares. 3. frutose 1,6-bisfosfato. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu marido, Rommel, por me incentivar a ingressar no mestrado, sempre me motivou a crescer profissionalmente e por todo o apoio.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Fernanda Bordignon Nunes, que me aceitou como sua aluna de mestrado, sempre com muito carinho e compreensão. Obrigada pelas orientações, ensinamentos e discussões.

À Profa. Dra. Gisele Branchini que, juntamente com a Profa Dra. Fernanda Bordignon Nunes, me acolheu de uma forma que nem tenho palavras para explicar. Obrigada por toda a ajuda, orientação e carinho como co-orientadora.

À Profa. Dra. Dra. Katya Vianna Rigatto, pela co-orientação, pelo apoio, discussões, conversas e pela parceria, e seus alunos de pós-graduação e iniciação científica pelo carinho e acolhida em seu grupo de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Jarbas Rodrigues de Oliveira, pela co-orientação, ajuda, pelosuporte, pela parceria, pela acolhida ao Laboratório de Biofísica Celular e Inflamação da PUCRS, que me fez sentir parte da sua equipe, juntamente com seus alunos de pós-graduação, colaboradores e iniciação científica pelo carinho.

À Doutoranda do Laboratório de Biofísica Celular e Inflamação da PUCRS Bruna Pasqualotto Costa, pela amizade, grande ajuda em tudo que eu precisei, estava sempre disposta e sempre me fazendo ver o lado positivo de qualquer situação, com alegria e simpatia.

Ao meu aluno de Iniciação Científica, Vítor Levorse, que também foi uma pessoa muito importante nesta minha jornada, esteve comigo em todos os experimentos e ajudou muito.

Ao Doutor Henrique Bregolin Dias, pela ajuda, que mesmo longe estava sempre disposto a sanar dúvidas.

Ao Doutor Fernando Diz, pelo ensino da técnica de NMA, por toda a ajuda e pela amizade.

E a todos que de algum modo me ajudaram durante este período de grande aprendizado, a pós-graduação mudou minha vida, e graças a tudo o que aprendi sou uma pessoa e uma profissional melhor.

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo, e nunca se arrepende.”

Leonardo da Vinci

Resumo

Introdução: A fibrose pulmonar idiopática (FPI) é uma doença crônica, progressiva e fibrosante do tecido intersticial pulmonar. A população idosa é principal acometida por esta doença, com um prognóstico de sobrevida média de 3 a 5 anos após o diagnóstico. Os medicamentos disponíveis atuam reduzindo a progressão da doença, porém os pacientes vão a óbito devido à perda da função pulmonar e a insuficiência respiratória. Atualmente, nenhum tratamento disponível é eficaz para reverter às alterações funcionais causadas pela FPI e o transplante pulmonar acaba sendo o tratamento definitivo, sendo necessários estudos com novas moléculas com potencial terapêutico. A frutose 1,6-bisfosfato (FBP) é um intermediário glicolítico de alto potencial energético que demonstrou ter efeitos terapêuticos em várias patologias. **Objetivo:** O estudo teve como objetivo avaliar o efeito da FBP em fibroblastos pulmonares de pacientes com e sem o diagnóstico de FPI.

Palavras-chave: Fibroblastos pulmonares, fibrose pulmonar idiopática, frutose-1,6- bisfosfato.

Abstract

Introduction: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive, and fibrous disease of the interstitial lung tissue. The elderly population is the main affected by this disease with a prognosis of average survival of 3 to 5 years after diagnosis. The available drugs work by reducing the progression of the disease, but patients die due to loss of lung function and respiratory failure. Currently, no available treatment is effective in reversing the functional changes caused by IPF and lung transplantation turns out to be the definitive treatment, thus studies with new molecules with therapeutic potential are needed. Fructose 1,6-bisphosphate (FBP) is a glycolytic intermediate with high energy potential that has been shown to have therapeutic effects in various pathologies. **Objective:** The study aimed to evaluate the effects of FBP on pulmonary fibroblasts cells from IPF and non-IPF patients.

Keywords: Pulmonary fibroblasts, idiopathic pulmonary fibrosis, fructose-1,6-bisphosphate.

Lista de abreviaturas

α SMA: Actina do Músculo Liso α

ATS: *American Thoracic Society* - Sociedade Torácica Americana

DCVs: Doenças Cardiovasculares

DIPs: Doenças Intersticiais Pulmonares

DPOC: Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

DRGE: Doença do Refluxo

ERS: *European Respiratory Society* -

Sociedade Respiratória Européia

FCDP: Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

FCEV: Fator de Crescimento Endotelial Vascular

FCF: Fator de Crescimento de Fibroblastos

FCTC: Fator de Crescimento do Tecido Conjuntivo

FP: Fibrose Pulmonar

FPI: Fibrose Pulmonar Idiopática

ISHLT: *International Society for Heart and Lung Transplantation* - Sociedade

Internacional de Transplante de Coração e Pulmão

JRS: *Japanese Respiratory Society* - Sociedade Respiratória Japonesa

LATS: *Latin American Thoracic Society* - Sociedade Torácica Latino-Americana

LBA: Lavado Bronco-Alveolar

MEC: Matriz Extracelular

MTC: Medicina Tradicional Chinesa

MMPs: Metaloproteinases de Matriz

NF- κ B: Fator Nuclear Kappa B

NK: *natural killer cells* - células natural killer

SASP: *secretory phenotype associated with TIMPs senescence: Tissue Inhibitors*
- fenótipo secretório associado à senescência

TIMPs: *Tissue Inhibitors of Metalloproteinases* - Inibidores Teciduais de
Metaloproteinases

TCAR: Tomografia Computadorizada de Alta Resolução

TFP: Testes de Função Pulmonar

TGF- β 1: *Transforming Growth Factor β 1* - Fator de Crescimento Transformador
 β 1

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor- α* - Fator de Necrose Tumoral- α

Lista de Figuras

Figura 1: Deposição excessiva de colágeno e elementos da matriz extracelular no parênquima pulmonar.....	10
Figura 2: Fibropatogênese da Fibrose Pulmonar Idiopática	12
Figura 3: Imagem axial de TCAR	15

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO.....	09
1.1. Fisiopatologia.....	09
1.2. Epidemiologia	12
1.3 Diagnóstico	14
1.4 Resposta Inflamatória na Fibrose Pulmonar Idiopática.....	16
1.5 Tratamento	18
1.6 Frutose-1,6-Bisfosfato.....	21
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
3. ANEXOS	28
3.1. Parecer do Comitê de Ética da UFCSPA.....	28

1. REFERENCIAL TEÓRICO

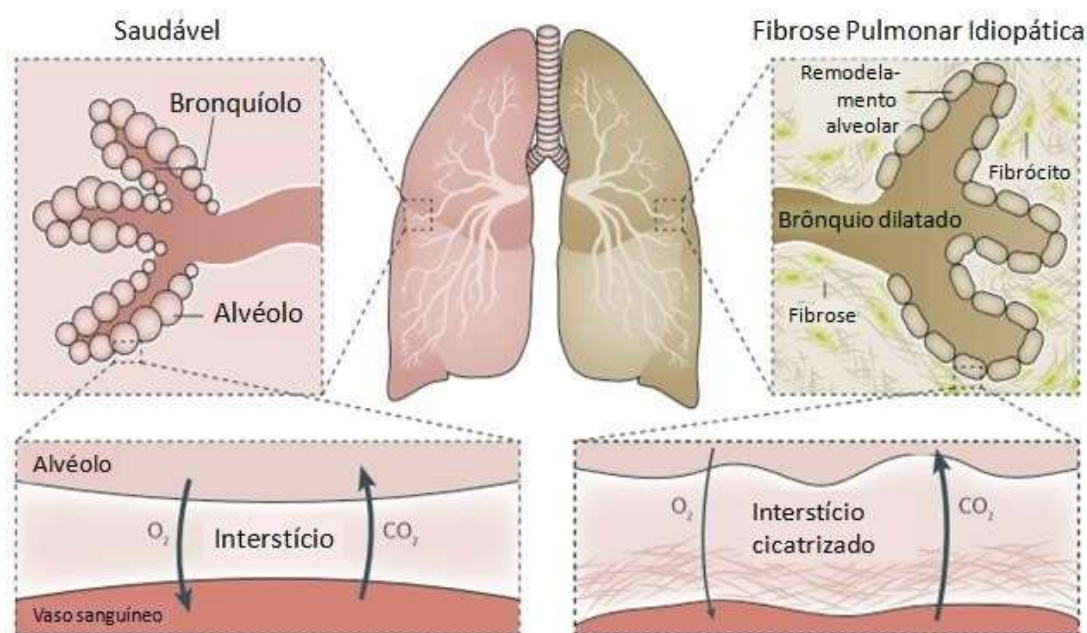
A fibrose pulmonar idiopática (FPI) é uma doença pulmonar intersticial que se caracteriza por ser uma doença pulmonar crônica, progressiva e fibrosante do tecido pulmonar que geralmente afeta os idosos (1–4). De acordo com a *American Thoracic Society* (ATS) e a *European Respiratory Society* (ERS), a FPI foi definida como “uma forma específica de pneumonia intersticial fibrosante crônica de origem desconhecida, limitada ao pulmão e associada ao padrão histológico de Pneumonia Intersticial Usual” (5).

O seu prognóstico é pouco positivo, com uma sobrevida média de 3 a 5 anos após o diagnóstico (6), e sua taxa de sobrevida é pior do que o câncer de pâncreas e pulmão (2). A FPI afeta drasticamente a qualidade de vida do indivíduo, apresenta uma incidência de aproximadamente 10 a cada 100.000 habitantes ao ano mundialmente, sua prevalência é maior em pacientes do sexo masculino a partir de 65 anos e seu surgimento é raro abaixo dos 45 anos. O tratamento mais eficaz existente é o transplante pulmonar. Tratamentos medicamentosos só diminuem a progressão da doença, e somente dois desempenham este papel: pirfenidona e nintedanib. Os pacientes acabam morrendo devido à perda da função pulmonar e insuficiência respiratória caso não forem submetidos ao transplante pulmonar(7).

1.1 Fisiopatologia

A fisiopatologia da doença caracteriza-se por um desequilíbrio fibroproliferativo envolvendo a deposição excessiva de colágeno e elementos da matriz extracelular (MEC) no parênquima pulmonar como consequência da proliferação e ativação de fibroblastos para miofibroblastos (1,2,6,8) (Fig.1). Uma importante etapa na formação da MEC em desequilíbrio é a construção de uma matriz de fibronectina fibrilar, que conduz a ligação de colágenos e outras proteínas da MEC (9).

Figura 1: Deposição excessiva de colágeno e elementos da matriz extracelular no parênquima pulmonar decorrente da FPI.



Fonte: Adaptado de Martinez et. al. 2017.

Os fibroblastos são vastamente distribuídos em todas as estruturas pulmonares e desempenham uma grande função na homeostase da MEC, e por esta razão são considerados alvos-chave na patogênese da FPI. Os fibroblastos modulam a renovação da MEC através da expressão de metaloproteinases da matriz (MMPs) (10), um importante grupo de enzimas proteolíticas zinco-dependentes responsáveis pela degradação de matriz extracelular e membranas basais. Diferem entre si estruturalmente e em sua habilidade em degradar um grupo particular de proteínas da matriz extracelular.

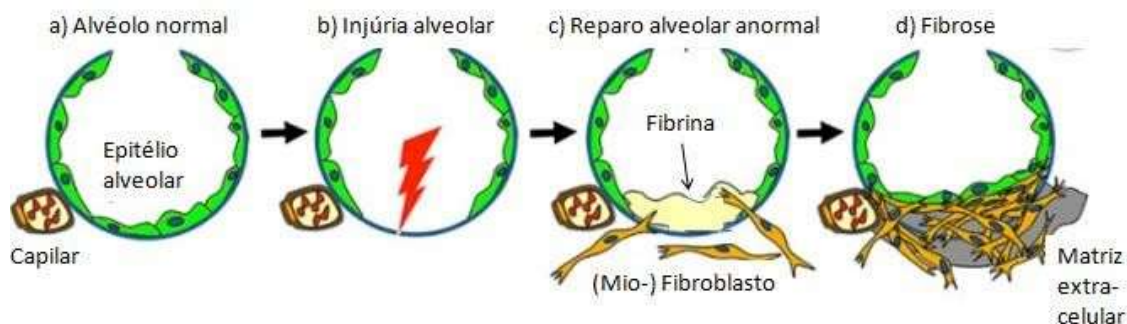
As MMPs dos tipos 2 (MMP-2) e 9 (MMP-9), apresentam a capacidade de degradar o colágeno IV que compõe a lâmina basal, sendo por isso provavelmente relevantes na aquisição do fenótipo invasivo das neoplasias malignas, por exemplo. Em contrapartida, a expressão dos inibidores teciduais das MMPs, os (TIMPs) é observada durante a remodelação tecidual fisiológica, contribuindo para a manutenção do equilíbrio metabólico e estrutural da MEC. Alterações na homeostasia entre as MMPs e os TIMPs têm sido identificadas em doenças associadas à produção descontrolada da MEC, como artrite, câncer, doenças cardiovasculares (DCVs), nefrites, desordens neurológicas e fibroses (11). A fibrose é induzida pela ativação, proliferação e migração dessas células para o local da lesão e deposição de proteínas da MEC. Os fibroblastos possuem

vários padrões de diferenciação relacionados ao local em que estão localizados e, apesar dos fatores que determinam sua origem tecidual permanecerem incertos, os fibroblastos viscerais e cutâneos têm diferentes programas transcricionais (10).

Os miofibroblastos são altamente contráteis e expressam actina do músculo liso α (α -SMA) e, por esta razão, acredita-se que desempenham um importante papel no remodelamento da matriz extracelular devido a duas características: capacidade de sintetizar colágeno e capacidade contrátil. Os filamentos de actina desempenham a força contrátil para o fechamento de feridas (12). O pulmão possui mais de 40 tipos celulares diferentes, mas a maior parte da deposição aumentada de MEC encontrada na FPI é devido à ativação de miofibroblastos nos focos de fibroblastos. Atualmente, acredita-se que os miofibroblastos derivam de várias fontes, incluindo pericitos, fibrócitos derivados da medula óssea, fibroblastos residentes e transição mesenquimal de células endoteliais e epiteliais (10,13).

A fibrose progressiva ocorre no interstício pulmonar e envolve o espaço intersticial alveolar existente entre o endotélio vascular e o epitélio alveolar. O interstício do pulmão se assemelha a uma rede que se estende pelos pulmões e fornece suporte aos sacos aéreos (alvéolos). Neste espaço, o gás é trocado entre glóbulos vermelhos circulando nos pequenos vasos sanguíneos e no ar alveolar. Quando esse espaço é alterado por células inflamatórias ou deposição de colágeno, as trocas gasosas são prejudicadas e os espaços intersticiais funcionais são reduzidos (bronquiectasia) (14). Coletivamente, as doenças que afetam esse espaço são chamadas de doenças intersticiais pulmonares (DIPs) e foram inicialmente descritas por Hamman e Rich na década de 1940 (Fig.2) (15).

Figura 2: Fibropatogênese da Fibrose Pulmonar Idiopática.



Fonte: Adaptado de Chambour, Geiser 2015.

As causas da fibrogênese descontrolada, que é característica da doença, ainda são desconhecidas, sendo de difícil prevenção pois os pacientes são diagnosticados em estágio tardio da doença (1). Entretanto, os seguintes eventos sobre a patogênese da FPI são aceitos: lesão epitelial broncoalveolar constante por vários agentes que ativam as células epiteliais a secretar inúmeros mediadores químicos e citocinas, como fator de crescimento transformador (TGF- β 1) (16). Essas moléculas induzem a migração, proliferação e ativação dos fibroblastos e diferenciação em miofibroblastos, seguidas da destruição do parênquima pulmonar com excesso de matriz extracelular fibrilar (16). Esses processos são chamados coletivamente de "remodelamento anormal do tecido pulmonar", resultando em FPI e a perda da função de trocas gasosas (16). Acredita-se que a FPI inicie na base e na periferia dos pulmões, com acentuações subpleurais, aparência grosseira e saliente, progredindo gradualmente para todo o tecido pulmonar. Este padrão foi denominado de faveolamento (17).

1.2 Epidemiologia

Nos últimos anos, a FPI apresentou um aumento em sua incidência mundial. A América do Norte e Europa (3 a 9 novos casos a cada 100.000 habitantes ao ano) mostraram maior prevalência do que América do Sul e Leste da Ásia (1 a 3 novos casos a cada 100.000 habitantes ao ano). Nos Estados Unidos, foi descrito que a prevalência de FPI varia entre 10 a 60 novos casos/100.000 habitantes ao ano, entretanto um estudo de 2011 mostrou que a prevalência foi de 494 casos/100.000 habitantes ao ano entre adultos com mais

de 65 anos. O aumento de internações e óbitos por FPI também sugere o aumento da incidência da doença (18–20). No Brasil, um estudo em 2010 registrou que a incidência de FPI foi de 4,48 casos/1.000.000, enquanto a mortalidade foi de 12,11 óbitos /1.000.000.(21).

Estes estudos epidemiológicos mostraram que um dos principais fatores de risco para o diagnóstico da FPI é, de fato, a idade (6). Tem sido colocada uma suposição de que a FPI é uma consequência do envelhecimento acelerado dos pulmões, ou que os mecanismos se desenvolvem mais facilmente após uma certa idade em indivíduos geneticamente predispostos. Foi sugerido que diversos fatores exógenos, considerados de risco para FPI, como exposição ambiental, ocupacional, tabagismo, infecção viral crônica e certas comorbidades atacam o epitélio alveolar, gerando o processo fibrótico. A exposição a substâncias inaladas aumento o risco de desenvolvimento de FPI, em especial o tabagismo, mas também há relatos de associação de risco para FPI a exposição ao pó de metal (latão, chumbo e aço), pó de madeira (pinheiro), agricultura, cosmetologia, alvenaria e exposição a poeiras de plantas e pelos de animais (22). No entanto, a etiologia desses fatores no desenvolvimento da FPI ainda é desconhecida (11,17).

Diferentes comorbidades podem afetar o desenvolvimento da FPI. Os pacientes que apresentam várias comorbidades demonstram pior sobrevida do que os outros pacientes com FPI. Hipertensão pulmonar, apneia obstrutiva do sono, câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doença arterial coronariana e doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) foram as comorbidades mais prevalentes na FPI. Além destas comorbidades, os pacientes com FPI apresentam um risco maior em desenvolver doença vascular, diabetes e hipertensão (25–27).

Uma característica da FPI é o declínio constante da função pulmonar ao longo da progressão da doença. Porém, alguns pacientes podem apresentar piora da função pulmonar mais precocemente, com deteriorizações agudas do estado respiratório. As deteriorizações agudas são de etiologia desconhecida e foram descritas como exacerbações agudas da FPI. As exacerbações agudas são deteriorizações agudas clinicamente significativas de causas não

identificáveis em pacientes com FPI subjacente e que apresentam piora na capacidade pulmonar (28).

As exacerbações agudas representam um aspecto relevante na progressão clínica da FPI (2). Estes acontecimentos são caracterizados por um aumento na falta de ar durante um período de 30 dias ou menos e uma tomografia computadorizada de alta resolução (TCAR) mostra uma infiltração dos pulmões sem causa identificável. A frequência destas exacerbações geralmente é de 5 a 15% ao ano e estão associadas à alta mortalidade. Após uma exacerbação aguda da FPI, aproximadamente 50% dos pacientes vão a óbito entre três a quatro meses após exacerbação aguda e aproximadamente 80 a 90% em 12 meses (25,26).

Embora a causa da FPI ainda não esteja totalmente estabelecida e entendida, por ser uma doença multifatorial (1), resultados de pesquisas de 2013 foram associados à FPI pois mostraram que em casos de fibrose pulmonar familiar e esporádica, houve evidência de mutações dos genes para proteínas surfactantes A e C, mutações no complexo telomerase e polimorfismo de nucleotídeo único no promotor MUC5B (1,2).

1.3 Diagnóstico

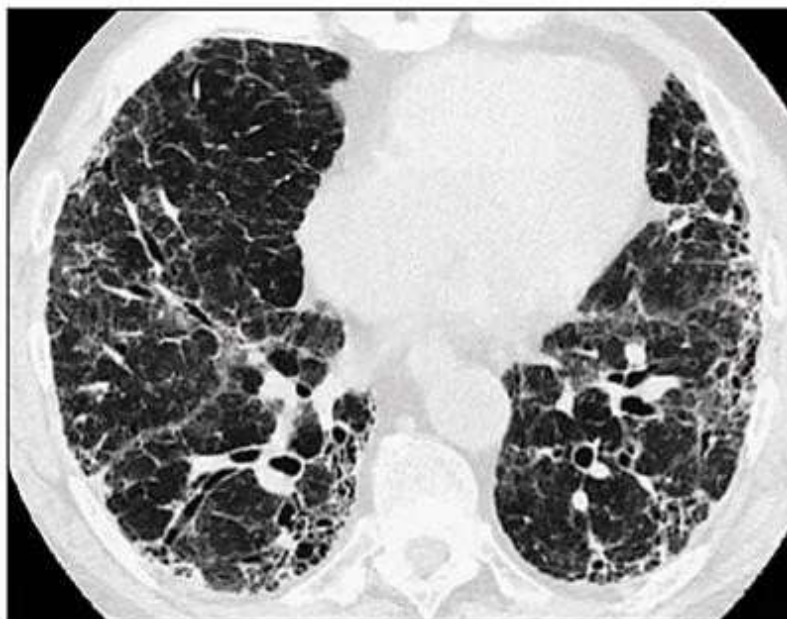
A FPI é uma das formas mais comuns de DIP cujo curso progressivo crônico é inconclusivo, não possui opções de tratamento eficazes, além do transplante pulmonar. A FPI foi um termo confuso com inúmeras definições ao longo dos anos. Isso levou à variabilidade na literatura sobre as categorias específicas de doenças pulmonares. Alguns, grupos de especialistas internacionais padronizaram os protocolos de diagnóstico, classificação e tratamento (1).

Geralmente os pacientes demoram para receber o diagnóstico de FPI, pois os sintomas costumam ser parecidos e facilmente confundidos com os de doenças mais comuns, como DPOC, DRGE, e outras doenças já citadas anteriormente. Pacientes com suspeita de DIP devem ser encaminhados imediatamente a um pneumologista com experiência no diagnóstico de DIP, e é de grande importância que o especialista considere a FPI como um diagnóstico em potencial, principalmente em pacientes idosos e que apresentem dispnéia

crônica inexplicável e/ou tosse persistente, crepitações inspiratórias, baqueteamento digital, e uso de medicamentos clinicamente significantes. Nestes casos, a TCAR do tórax deve ser realizada para avaliar se a DIP está presente, pois permite uma melhor definição dos padrões morfológicos pulmonares obtidos nas imagens, além da observação de presença ou não de padrão de pneumonia intersticial usual (PIU), que é observado tanto no exame histopatológico, quanto no radiológico, seguindo as recomendações da ATS, juntamente com a ERS, Japanese Respiratory Society (JRS) e Latin American Thoracic Society (LATS), para posteriormente ser dado o diagnóstico de FPI (31–33).

Na avaliação radiológica, uma das principais características do padrão PIU observadas através da TCAR é padrão reticular e o faveolamento. O faveolamento representa o estágio final do processo fibrótico com a destruição de espaços aéreos distais e possui esse nome por se assemelhar a favos de mel. O faveolamento acomete principalmente as regiões pulmonares subpleurais e os lobos pulmonares inferiores. O processo de estabelecimento da FPI, tanto patologicamente quanto radiologicamente, é mais intenso na periferia pulmonar, mesmo estando na fase inicial ou final da doença (**Fig.3**) (17).

Figura 3: Imagem axial de TCAR de um paciente do sexo masculino de 79 anos com FPI.



Fonte: Silva et al. 2005.

Fazer um diagnóstico de FPI requer conhecimento especializado para excluir outras condições com uma apresentação clínica e radiológica semelhante, como pneumonite de hipersensibilidade crônica ou DIPs relacionadas a doenças autoimunes. A forma mais eficaz de diagnóstico é uma discussão com uma equipe multidisciplinar, envolvendo um pneumologista, radiologista, reumatologista e um patologista para permitir um diagnóstico mais preciso, discutindo os dados clínicos, radiológicos e histológicos do paciente. Por estes motivos, a equipe multidisciplinar tornou-se o novo padrão-ouro para diagnosticar e tratar a FPI (31,32).

O diagnóstico de FPI é determinado por um pneumologista, em conjunto com a equipe multidisciplinar, de acordo com as diretrizes da ATS e da ERS associado com as características da TCAR e/ou dados de biópsia pulmonar cirúrgica e exclusão clínica de causas alternativas de DPI (34).

1.4 Resposta Inflamatória na Fibrose Pulmonar Idiopática

A discussão sobre o papel da inflamação na FPI não é novo. Primeiramente, os pesquisadores sugeriram que a fibrose observada na FPI resultava de uma super resposta inflamatória alveolar e intersticial a uma injúria desconhecida. A patologia pulmonar de pacientes com a doença tem um influxo de células inflamatórias. Além disso, existe uma expectativa de que a doença responda à imunossupressão (1).

Especialistas aceitam que a inflamação é de fato um fator crítico na FPI. No entanto, especulam que o mecanismo da inflamação pode ser não-tradicional. Eles sugerem cinco hipóteses para a inflamação: a hipótese direta da inflamação, a hipótese da matriz extracelular, a hipótese do fator de crescimento-receptor, a hipótese da plasticidade e a hipótese vascular (1).

As respostas inflamatórias estão associadas ao estágio inicial da FPI e ao fator nuclear kappa B (NF- κ B) que é um complexo proteico que desempenha funções como um fator de transcrição e possuindo um papel fundamental na regulação de muitos genes responsáveis pela geração de citocinas pró-inflamatórias e pró-fibrogênicas. Foi identificado que o Fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é uma potente citocina inflamatória expressa durante a fase

inflamatória da cicatrização de feridas e foi associado com a progressão da FPI. O TNF- α pode acelerar a transição epitelial para a transição mesenquimal e suprarregular a expressão do TGF- β 1 em fibroblastos primários de pulmão de camundongo. Estes dados sugerem que um microambiente pró-inflamatório rico em TNF- α pode ter um papel importante no desenvolvimento da inflamação intersticial e fibrose através da ativação da sinalização de NF- κ B (35).

Os pacientes com FPI têm várias células imunes no pulmão, incluindo macrófagos alveolares, neutrófilos e linfócitos, os quais contribuem para a patogênese dessa doença. Numerosos mediadores da inflamação têm sido citados na patogênese da FPI. Como citado anteriormente, Bringardner e colaboradores (2008) propuseram cinco hipóteses possíveis para a patogênese da FPI: (A) A hipótese da inflamação direta: as células inflamatórias danificam diretamente os tecidos por meio de substâncias como as elastases, bem como as citocinas e os fatores de crescimento, que expandem esse processo. (B) A hipótese da matriz: mediadores inflamatórios liberados como resultado de uma lesão remota são aprisionados na matriz extracelular pulmonar. Isto conduz a um mecanismo de reparação de feridas prolongado e amplificado que resulta no fenótipo fibrótico. (C) A hipótese do fator de crescimento-receptor: sugere que alguns tipos de células com receptores do fator de crescimento proliferam sem controle nesse ambiente, resultando na ativação e amplificação da cascata inflamatória. Além disso, esses receptores são regulados positivamente na presença de esteróides, sugerindo a razão pela qual a imunossupressão não é bem-sucedida no tratamento da FPI. (D) A hipótese da plasticidade: sugere que vários tipos de células podem se diferenciar em outros tipos celulares (por exemplo, células epiteliais a células mesenquimais, neutrófilos e monócitos a macrófagos), e essa diferenciação é resultado de interações complexas da inflamação. Essas células ativadas fazem intermédio ao fenótipo fibrótico. (E) A hipótese vascular: sugere que alguma lesão endotelial inicial ative a cascata inflamatória com subsequente deposição de anticorpos e fibrose resultante (1,2). O recrutamento de células inflamatórias pode ser mediado por quimiocinas como CCL2, CCL3 e IL8. Elas facilitam a deposição de células inflamatórias no tecido com liberação adicional de mediadores inflamatórios tais como TGF- α , TNF- α e outros com efeitos tóxicos diretos. Essas citocinas pró-inflamatórias estão ligadas a mediadores prófibróticos como o fator de

crescimento do tecido conjuntivo (CTGF). O CTGF é considerado um mediador secundário do TGF- β 1 (36). Essas interações complexas e não muito compreendidas casualmente resultam na ativação de miofibroblastos e deposição de colágeno. Algumas dessas sinalizações e interações já foram estudados, mas muitos outros ainda precisam ser mais investigados. Os dados que apóiam essa hipótese giram em grande parte em torno da elevação consistente desses mediadores inflamatórios e células que são encontradas em amostras patológicas de biópsia pulmonar, assim como no lavado broncoalveolar (LBA) de pacientes com FPI (1).

1.5 Tratamento

Após o paciente ser diagnosticado com FPI, o monitoramento constante deve ser feito com o especialista, pois é essencial para avaliar a progressão da doença. O intervalo ideal para as avaliações deve ser a cada 3 ou 4 meses. Os testes de função pulmonar (TFP) são uma parte vital do monitoramento dos pacientes, mas, as avaliações de acompanhamento não devem se limitar aos TFP (37).

Nas últimas décadas, foram propostos alguns tratamentos, mas não obtiveram aprovação terapêutica. Um estudo em 2005 mostrou que a mortalidade de pacientes com FPI que fizeram uso de terapia com o anticoagulante varfarina foi significativamente reduzida durante exacerbações agudas em comparação aos pacientes que não tiveram este tratamento (38). Posteriormente, um estudo maior com varfarina demonstrou que o uso em longo prazo deste anticoagulante causava um aumento da mortalidade dos pacientes (39). Em 2012 um estudo demonstrou que os pacientes apresentavam agravamento da doença com o tratamento associando prednisona, azitromicina e N-acetilcisteína, assim como o aumento da mortalidade destes pacientes (40).

Atualmente dois medicamentos são aprovados para o tratamento da FPI na maioria dos países: Esilato de Nintedanibe (Ofev[®]) e Pirfenidona (Esbriet[®]). Ambos os medicamentos receberam recomendações condicionais para uso nas últimas diretrizes internacionais de tratamento para FPI, indicando que são escolhas apropriadas para a maioria dos pacientes, desde que o paciente esteja de acordo com o uso do tratamento (34).

Estudos realizados em modelos animais de fibrose pulmonar sugerem que o nintedanibe e a pirfenidona inibem processos fundamentais para a progressão da fibrose, como a proliferação, migração e diferenciação de fibroblastos e a deposição de componentes da matriz extracelular, como o colágeno tipo I. Foi demonstrado que o nintedanibe reduziu significativamente o colágeno V e fibronectina e que tanto o nintedanibe quanto a pirfenidona tiveram grande impacto na formação de fibrilas de colágeno nos fibroblastos, encurtaram o tamanho da fibra e a espessura da fibrila em comparação com os controles. Os dois medicamentos apresentaram importante regulação na síntese de colágeno, entretanto o nintedanibe teve maior efetividade na regulação negativa da expressão gênica profibrótica e da secreção de colágeno (41).

A pirfenidona mostrou propriedades anti-inflamatórias e antifibróticas, demonstrou reduzir os níveis de TNF- α , fator de crescimento derivado de plaquetas (FCDP) e TGF- β 1, entre outros. O nintedanib apresentou ser um inibidor intracelular da tirosina quinase, exibe efeitos antifibróticos ao atuar nos receptores de FCDP, fator de crescimento endotelial vascular (FCEV) e fator de crescimento de fibroblastos (FCF). Os ensaios clínicos randomizados para nintedanib e pirfenidona mostraram uma redução na taxa de declínio da função pulmonar com perfis de efeitos adversos aceitáveis e tolerabilidade ao medicamento (34,42,43). Embora a Pirfenidona tenha demonstrado atividades antifibróticas e anti-inflamatórias bem descritas, *in vitro* e *in vivo*, seus alvos moleculares e mecanismos de ação ainda não foram esclarecidos (44). A pirfenidona e o nintedanibe obtiveram sucesso em fornecer alívio sintomático e são utilizados para reduzir a progressão da doença (5).

Na Medicina Tradicional Chinesa (MTC), é comum se testar terapias com fórmulas herbais chinesas. Há atualmente três principais tratamentos da MTC que são utilizados para amenizar os sintomas comuns da FPI, que são “ativar a circulação sanguínea e remover a estase sanguínea”, “tonificar o Qi e ativar a circulação sanguínea”, e o método de “dragagem” (45). O Qi ou Chi na MTC corresponde à energia que existe e sustenta os seres vivos, e está associado ao conceito de Yin e Yang, desequilíbrios que conduzem ao desenvolvimento de sintomas e de estados patológicos. A MTC procura aliviar estes desequilíbrios ajustando a circulação do Qi no corpo com a Medicina herbal (46). As três terapias da MTC já foram prescritas como complemento da FPI na

medicina ocidental e apresentaram benefícios promissores nos sintomas clínicos e na qualidade de vida do paciente. Contudo, há poucas evidências comparativas diretas e isso representa um desafio para determinar a total eficácia da terapia (45). Apesar dos tratamentos farmacológicos existentes, ainda nenhuma terapia atual pode alterar o prognóstico da FPI, com exceção do transplante pulmonar (5).

O transplante pulmonar tornou-se uma opção viável de tratamento para pacientes com doenças pulmonares progressivas, como as doenças obstrutivas crônicas (DPOC) e que não respondem a outros tratamentos (47,48). Segundo o registro de 2014 da *International Society of Heart and Lung Transplantation* (ISHLT) foi relatado à realização de 47.647 transplantes de pulmão e 3.772 transplantes combinados coração-pulmão mundialmente até junho de 2013 (49). Um número bem inferior em relação ao de outros transplantes de órgãos sólidos, como fígado, rins e coração. Este dado se justifica pela alta complexidade do procedimento, com poucos centros no mundo habilitados a realizá-lo, além da dificuldade de se encontrarem doadores com pulmões que preencham requisitos mínimos para sua utilização do órgão pelo receptor (48).

Para entrar na lista de espera para transplante pulmonar, as principais indicações em todo o mundo são: DPOC, com 34%; FPI, com 24%; fibrose cística (FC), com 17%; deficiência de alfa-1-antitripsina (alfa-1), com 6%; hipertensão arterial pulmonar idiopática (HAPI), com 3%; fibrose pulmonar (não FPI), com 4%; bronquiectasias, com 3%; retransplante, com 2,6%; e sarcoidose, com 2,5%. Há outras indicações para transplante pulmonar como: doenças do tecido conjuntivo, bronquiolite constrictiva, linfangioleiomiomatose, hipertensão pulmonar secundária a cardiopatias congênitas, histiocitose de células de Langherans (49).

A sobrevida pós-transplante dos pacientes melhorou gradativamente com os avanços nas técnicas cirúrgicas e manejo perioperatório. Contudo, ainda muitas complicações como a disfunção primária do enxerto, uma lesão alveolar que pode ocorrer entre as primeiras 72 horas após o transplante e pode ser ocasionada por consequência das agressões referentes ao próprio transplante, que podem comprometer a funcionalidade do órgão transplantado. Outras complicações tardias como disfunção crônica do aloenxerto pulmonar, podem surgir após um ano ao transplante, também as infecções oportunistas continuam

afetando significativamente a sobrevida dos pacientes e seus resultados em longo prazo (47).

A ISHLT recomenda o transplante pulmonar para pacientes com doença pulmonar crônica de alto risco de morte dentro de dois anos, no caso da FPI (50). Um índice da ISHLT baseado em 11.609 pacientes com FPI transplantados de 1990 a 2014 relatou que a sobrevida média pós-transplante destes pacientes foi de 4,8 anos (51). A sobrevida dos pacientes com FPI pós-transplante foi significativamente menor em comparação aos pacientes com Fibrose Cística (8,9 anos) transplantados, por exemplo (51,52).

Estudos demonstraram que o número total de transplantes em pacientes com FPI aumentou gradualmente, e atualmente representa a principal categoria de doença para a realização do transplante pulmonar no mundo todo. Devido à rápida progressão e alta mortalidade na FPI, os pacientes são encaminhados à lista de transplante precocemente, com um rigoroso acompanhamento antes e após listagem. Muitas evidências sugerem uma melhor sobrevida em longo prazo para pacientes que realizaram o transplante pulmonar bilateral (transplante dos dois pulmões), mas o transplante unilateral (transplante de apenas um pulmão) apresenta menor espera na lista pelo transplante, e sucessivamente menor risco de morte na espera pelo transplante bilateral. Mais estudos se fazem necessários para melhor entendimento das complicações pós-transplante (53).

1.6 Frutose 1,6-bisfosfato

Como já se sabe que a FPI é uma doença fibrosante, progressiva e debilitante, que não possui um tratamento eficaz, mais estudos com novas moléculas são necessários para descobrir e entender totalmente os mecanismos de ação da FPI, e assim encontrar um método de combater esta doença. E para este possível novo tratamento, foi testada a Frutose 1,6-bisfosfato (FBP), um intermediário glicolítico de alto potencial energético produzido pela enzima fosfofrutoquinase (PFK), que catalisa a fosforilação da frutose-6-fosfato. Esse açúcar demonstrou ter efeitos terapêuticos em várias patologias que tinham como gatilho a isquemia e lesões tóxicas. Outro mecanismo pelo qual a FBP exerce sua atividade protetora é pela capacidade de quelar íons divalentes,

como cálcio e Fe^{+2} , que é responsável pela geração de ROS na reação de Fenton (54,55). Também há evidências de efeitos benéficos da FBP em outros órgãos como coração, cérebro, rins, fígado e intestino delgado (56,57). A FBP aumenta a captação de potássio, reduzindo a concentração de sódio intracelular e edema celular citotóxico (58). A FBP modula a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), apresenta atividades imunomodulatórias, inibindo a ativação de neutrófilos (59) e reduzindo a proliferação de linfócitos T (60).

Nunes e colaboradores mostraram que o uso da FBP em animais com sepse experimental aumentou a taxa de sobrevivência após a indução (61). Estudos mostram que a FBP possui ação protetora contra radicais livres (62) em modelos *in vitro* com células expostas a peróxido de hidrogênio (63), impedindo a produção de malondialdeído, um indicador de peroxidação lipídica (64) e reduzindo a formação de produtos de oxidação de proteínas (65). Em hepatócitos lesados com galactosamina, a FBP aumenta a relação glutatona oxidada/glutatona reduzida que é um importante sistema antioxidante celular (66).

Sobre a toxicidade da FBP, Nunes e colaboradores mostraram que a dose letal média em ratos é de aproximadamente 1,0g/kg quando administrada em *bolus* por via endovenosa e que esse efeito pode ser causado pelo aumento de fosfato que é liberado quando a FBP é hidrolisada (67). Em outro trabalho, a administração de até 4,0 g/kg de FBP por via intraperitoneal em ratos neonatos não teve indício de toxicidade nem de mudanças estruturais de órgãos como coração, fígado, pulmões e rins (68). Também foi observado que a administração de FBP via intraperitoneal foi capaz de prevenir o desenvolvimento de FP induzida por bleomicina (BLM) em camundongos, além de reduzir a perda de função pulmonar e, *in vitro*, reduzir a taxa de proliferação de fibroblastos pulmonares pela indução de senescência celular (69).

Os estudos citados acima demonstram que a FBP possui um grande efeito terapêutico, com diferentes propriedades protetoras em vários órgãos, mas o seu potencial farmacológico ainda não foi totalmente explorado.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Molyneaux PL, Maher TM. The role of inflammation in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev*. 2008;22(129):376–81.
2. Lin CC. *The Diagnosis and Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis*. Medicine (Baltimore). 2013;
3. Li C, Yu Y, Li W, Liu B, Jiao X, Song X, et al. Phycocyanin attenuates pulmonary fibrosis via the TLR2-MyD88-NF- κ B signaling pathway. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-06021-5>
4. Raghu G. Pharmacotherapy for idiopathic pulmonary fibrosis: Current landscape and future potential. *Eur Respir Rev* [Internet]. 2017;26(145). Available from: <http://dx.doi.org/10.1183/16000617.0071-2017>
5. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, et al. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(6):788–824.
6. Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Nat review* [Internet]. 2017;389(10082):1941–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.74>
7. Nalysnyk L, Cid-Ruzafa J, Rotella P, Esser D. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: Review of the literature. *Eur Respir Rev*. 2012;21(126):355–61.
8. Baddini-martinez J, Baldi BG, Henrique C, Jezler S, Lima MS, Rufino R, et al. Atualização no diagnóstico e tratamento da fibrose pulmonar idiopática. *JBP*. 2015;41(5):454–66.
9. Scherl A, Coute Y, De C, Calle A, Sanchez J, Greco A, et al. Fibronectin Polymerization Regulates the Composition and Stability of Extracellular Matrix Fibrils and Cell-Matrix Adhesions. *Mol Biol Cell*. 2002;13(November):4100–9.
10. Bagnato G, Harari S. Cellular interactions in the pathogenesis of interstitial lung diseases. *Eur Respir Rev*. 2015;24(135):102–14.
11. Iara R, Azambuja M De, Candelori I, Cassali GD, Loyola AM. Expressão de metaloproteinases de matriz e de seus inibidores teciduais em carcinomas basocelulares. 2008;115–21.
12. Waters DW, Blokland KEC, Pathinayake PS, Burgess JK, Mutsaers SE, Prele CM, et al. Fibroblast senescence in the pathology of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2018;315(2):L162–72.
13. Kramann R, Dirocco DP, Humphreys BD. Understanding the origin, activation and regulation of matrix-producing myofibroblasts for treatment of fibrotic disease. *J Pathol*. 2013;231(3):273–89.
14. Gross T, Gary H. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med*. 2001;345(7):517–25.
15. Potter BP, Gerber IE. ACUTE DIFFUSE INTERSTITIAL FIBROSIS OF THE LUNGS. *Arch Intern Med*. 1948;82:163–71.
16. Funke-Chambour M, Geiser T. Idiopathic pulmonary fibrosis: The turning point is now! *Swiss Med Wkly*. 2015;145(May):1–13.
17. Silva CIS, Müller NL. Modelo de interpretação da tomografia computadorizada de alta resolução do diagnóstico diferencial das doenças intersticiais crônicas. *Radiol Bras*. 2005;38(2):125–32.
18. Hutchinson J, Fogarty A, Hubbard R, McKeever T. Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review. *Eur Respir*

- J [Internet]. 2015;46(3):795–806. Available from: <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00185114>
19. Hutchinson JP, McKeever TM, Fogarty AW, Navaratnam V, Hubbard RB. Increasing global mortality from idiopathic pulmonary fibrosis in the twenty-first century. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11(8):1176–85.
 20. Navaratnam V, Fogarty AW, Glendening R, McKeever T, Hubbard RB. The increasing secondary care burden of idiopathic pulmonary fibrosis: Hospital admission trends in England from 1998 to 2010. *Chest* [Internet]. 2013;143(4):1078–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.12-0803>
 21. Baddini-Martinez J, Pereira CA. How many patients with idiopathic pulmonary fibrosis are there in Brazil? *J Bras Pneumol*. 2015;41(6):560–1.
 22. Hubbard R, Lewis S, Richards K, Johnston I, Britton J. Occupational exposure to metal or wood dust and aetiology of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet*. 1996;347(8997):284–9.
 23. López-Ramírez C, Suarez Valdivia L, Rodríguez Portal J. Causes of Pulmonary Fibrosis in the Elderly. *Med Sci* [Internet]. 2018;6(3):58. Available from: <http://www.mdpi.com/2076-3271/6/3/58>
 24. Sgalla G, Iovene B, Calvella M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenesis and management. *Respir Res*. 2018;19(1):1–18.
 25. Kreuter M, Ehlers-Tenenbaum S, Palmowski K, Bruhwylter J, Oltmanns U, Muley T, et al. Impact of comorbidities on mortality in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One*. 2016;11(3):1–18.
 26. Raghu G, Amatto VC, Behr J, Stowasser S. Comorbidities in idiopathic pulmonary fibrosis patients: A systematic literature review. *Eur Respir J* [Internet]. 2015;46(4):1113–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.02316-2014>
 27. Hyldgaard C, Hilberg O, Bendstrup E. How does comorbidity influence survival in idiopathic pulmonary fibrosis? *Respir Med* [Internet]. 2014;108(4):647–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2014.01.008>
 28. Avdeev SN. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;28(4):469–82.
 29. Caminati A, Harari S. IPF: New insight in diagnosis and prognosis. *Respir Med* [Internet]. 2010;104(SUPPL. 1):S2–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2010.03.012>
 30. Collard HR, Ryerson CJ, Corte TJ, Jenkins G, Kondoh Y, Lederer DJ, et al. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis an international working group report. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(3):265–75.
 31. Naqvi M, West A. Clinical course and management of idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Pharm*. 2019;11(4):1–9.
 32. Aburto M, Herráez I, Iturbe D, Jiménez-Romero A. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Differential Diagnosis. *Med Sci*. 2018;6(3):73.
 33. Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, Richeldi L, Ryerson CJ, Lederer DJ, et al. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(5):e44–68.
 34. Raghu G, Rochweg B, Zhang Y, Garcia CAC, Azuma A, Behr J, et al. An

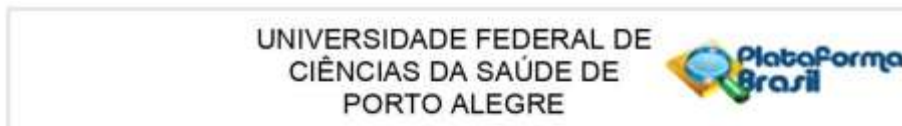
- official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline: Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: An update of the 2011 clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(2):e3–19.
35. Hou J, Ma T, Cao H, Chen Y, Wang C, Chen X, et al. TNF- α -induced NF- κ B activation promotes myofibroblast differentiation of LR-MSCs and exacerbates bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Cell Physiol*. 2018;233(3):2409–19.
 36. Scotton CJ, Chambers RC. Molecular targets in pulmonary fibrosis: The myofibroblast in focus. *Chest* [Internet]. 2007;132(4):1311–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.06-2568>
 37. Wuyts WA, Bondue B. Idiopathic Pulmonary Fibrosis : Best Practice in Monitoring and Managing a Relentless Fibrotic Disease. 2019;73–82.
 38. Kubo H, Nakayama K, Yanai M, Suzuki T, Yamaya M, Watanabe M, et al. Anticoagulant therapy for idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* [Internet]. 2005;128(3):1475–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1378/chest.128.3.1475>
 39. Noth I, Anstrom KJ, Calvert SB, De Andrade J, Flaherty KR, Glazer C, et al. A placebo-controlled randomized trial of warfarin in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186(1):88–95.
 40. Raghu G, Anstrom KJ, King TE, Lasky JA, Martinez FJ. Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2012;366(21):1968–77.
 41. Knuppel L, Ishikawa Y, Aichler M, Heinzelmann K, Hatz R, Behr J, et al. A novel antifibrotic mechanism of nintedanib and pirfenidone inhibition of collagen fibril assembly. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;57(1):77–90.
 42. Schaefer CJ, Ruhmundt DW, Pan L, Seiwert SD, Kossen K. Antifibrotic activities of pirfenidone in animal models. *Eur Respir Rev*. 2011;20(120):85–97.
 43. Wollin L, Maillet I, Quesniaux V, Holweg A, Ryffel B. Antifibrotic and anti-inflammatory activity of the Tyrosine Kinase inhibitor Nintedanib in Experimental Models Of Lung Fibrosiss. *J Pharmacol Exp Ther*. 2014;349(2):209–20.
 44. Conte E, Gili E, Fagone E, Fruciano M, Iemmolo M, Vancheri C. Effect of pirfenidone on proliferation, TGF- β -induced myofibroblast differentiation and fibrogenic activity of primary human lung fibroblasts. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2014;58(1):13–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2014.02.014>
 45. Pang LJ, Liu JP, Lv XD. Comparative effectiveness of 3 Traditional Chinese Medicine treatment methods for idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review and network meta-analysis protocol. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(30):e16325.
 46. Ximenes CSF. Medicina Tradicional Chinesa: Fundamentos em Medicina Erval Chinesa e Formulação no Síndrome de Estagnação do Qi. 2014;156.
 47. Meyer KC. Recent advances in lung transplantation [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research*. 2018;7(0):1–11.
 48. Afonso Júnior JE, Werebe E de C, Carraro RM edeiro., Teixeira RH enriqu. de OB rag., Fernandes LM ato., Abdalla LG ustav., et al. Lung transplantation. *Einstein (Sao Paulo)*. 2015;13(2):297–304.
 49. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Christie JD,

- Dipchand AI, et al. The registry of the international society for heart and lung transplantation: Thirty-first official adult heart transplant report - 2014; Focus theme: Retransplantation. *J Hear Lung Transplant*. 2014;33(10):996–1008.
50. Weill D, Benden C, Corris PA, Dark JH, Davis RD, Keshavjee S, et al. A consensus document for the selection of lung transplant candidates: 2014 - An update from the Pulmonary Transplantation Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2015;34(1):1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2014.06.014>
 51. Yusen RD, Edwards LB, Dipchand AI, Goldfarb SB, Kucheryavaya AY, Levvey BJ, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-third Adult Lung and Heart–Lung Transplant Report—2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Hear Lung Transplant* [Internet]. 2016;35(10):1170–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2016.09.001>
 52. Thabut G, Mal H, Castier Y, Groussard O, Brugière O, Marrash-Chahla R, et al. Survival benefit of lung transplantation for patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;126(2):469–75.
 53. Kumar A, Kapnadak SG, Girgis RE, Raghu G. Lung transplantation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Expert Rev Respir Med* [Internet]. 2018;12(5):375–85. Available from: <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1462704>
 54. Gilg K, Mayer T, Ghaschghaie N, Kl P. The metal-binding sites of glycose phosphates †. 2009;(Scheme 1):7934–45.
 55. Bajić A, Zakrzewska J, Godjevac D, Andjus P, Jones DR, Spasić M, et al. Relevance of the ability of fructose 1,6-bis(phosphate) to sequester ferrous but not ferric ions. *Carbohydr Res*. 2011;346(3):416–20.
 56. de Oliveira JR, Rosa JL, Ambrosio S, Bartrons R. Effect of galactosamine on hepatic carbohydrate metabolism: Protective role of fructose 1,6-bisphosphate. *Hepatology*. 1992;15(6):1147–53.
 57. De Mello RO, Lunardelli A, Caberlon E, De Moraes CMHB, Christ Vianna Santos R, Da Costa VL, et al. Effect of N-acetylcysteine and fructose-1,6-bisphosphate in the treatment of experimental sepsis. *Inflammation*. 2011;34(6):539–50.
 58. Tamaki T, Nakai T, Yamaue H. Fructose-1,6-bisphosphate inhibits excess activation of Kupffer cell function induced by endotoxin. *Dig Dis Sci*. 2002;47(10):2179–85.
 59. Sola A. Fructose-1,6-biphosphate and nucleoside pool modifications prevent neutrophil accumulation in the reperfused intestine. 2002; Available from: <http://www.jleukbio.org>
 60. Nunes FB, Graziottin CM, Alves Filho JCF, Lunardelli A, Caberlon E, Peres A, et al. Immunomodulatory effect of fructose-1,6-bisphosphate on T-lymphocytes. *Int Immunopharmacol*. 2003;3(2):267–72.
 61. Bordignon Nunes F, Simões Pires MG, Alves Filho JCF, Wächter PH, De Oliveira JR. Physiopathological studies in septic rats and the use of fructose 1,6-bisphosphate as cellular protection. *Crit Care Med*. 2002;30(9):2069–74.
 62. Spasic D, Mojovic M, Blagojevic D, Jones DR, Spasojevic I, Spasic MB. Relevance of the capacity of phosphorylated fructose to scavenge the

- hydroxyl radical. 2009;344:80–4.
63. Spasojević I, Bajić A, Jovanović K, Spasić M, Andjus P. Protective role of fructose in the metabolism of astroglial C6 cells exposed to hydrogen peroxide. *Carbohydr Res*. 2009;344(13):1676–81.
 64. Sano W, Watanabe F, Tamai H, Furuya E, Mino M. Beneficial effect of fructose-1,6-bisphosphate on mitochondrial function during ischemia-reperfusion of rat liver. *Gastroenterology*. 1995;108(6):1785–92.
 65. Bochi GV, Torbitz VD, Cargnin LP, Sangoi MB, Christ Vianna Santos R, Gomes P, et al. Fructose-1,6-bisphosphate and N-acetylcysteine attenuate the formation of advanced oxidation protein products, a new class of inflammatory mediators, in vitro. *Inflammation*. 2012;35(6):1786–92.
 66. Calafell R, Boada J, Santidrian AF, Gil J, Roig T, Perales JC, et al. Fructose 1,6-bisphosphate reduced TNF- α -induced apoptosis in galactosamine sensitized rat hepatocytes through activation of nitric oxide and cGMP production. *Eur J Pharmacol [Internet]*. 2009;610(1–3):128–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.03.044>
 67. Nunes FB, Gaspareto PB, Vianna Santos RC, De Assis M, Graziottin CM, Biolchi V, et al. Intravenous toxicity of fructose-1,6-bisphosphate in rats. *Toxicol Lett*. 2003;143(1):73–81.
 68. Vexler Z, Berrios M, Ursell PC, Sola A, Ferriero DM, Gregory GA. Toxicity of fructose-1,6-bisphosphate in developing normoxic rats. *Pharmacol Toxicol*. 1999;84(3):115–21.
 69. Jost RT, Dias HB, Krause GC, de Souza RG, de Souza TR, Nuñez NK, et al. Fructose-1,6-Bisphosphate Prevents Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice and Inhibits the Proliferation of Lung Fibroblasts. *Inflammation*. 2018;41(5):1987–2001.

8. ANEXOS

8.1. Parecer do Comitê de Ética da UFCSPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise Transfatorial da participação do sistema renina-angiotensina e de citocinas inflamatórias na fibrose pulmonar

Pesquisador: Katya Vianna Rigatto

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 69947517.2.0000.5345

Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.468.439

Apresentação do Projeto:

A Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI) é uma doença intersticial pulmonar com sobrevida média de três anos, que limita a capacidade respiratória dos pacientes e possui alta morbimortalidade devido à falta de opções terapêuticas. A etiologia e o mecanismo fisiopatológico da doença são bastante complexos e ainda desconhecidos, impossibilitando alternativas de tratamento que reduzam as internações e a necessidade de transplante pulmonar. Atualmente, a hipótese mais aceita para a patogênese da doença é a fibroproliferação e o acúmulo excessivo de matriz extracelular. Tal evento no tecido pulmonar ocorre durante o reparo de lesões epiteliais alveolares, com a liberação de mediadores com atividade pró-inflamatória. Fortes evidências demonstram o envolvimento do sistema renina-angiotensina (SRA) com a Fibrose Pulmonar (FP). Dados ainda não publicados do nosso laboratório mostraram, em pacientes com FPI, uma significativa redução das concentrações plasmáticas de Alamandina nesses pacientes, sem alteração nas concentrações plasmáticas dos demais peptídeos. De fato, está bem estabelecido na literatura que o eixo ECA-AngII-AT1 promove vasoconstrição, proliferação e fibrose, enquanto que o eixo ECA2-Ang-(1-7)-Mas induz intrinsecamente efeitos de proteção aos pulmões, contrapondo-se as ações geradas pelo eixo ECA-AngII-AT1. Acreditamos que, na FPI, há um aumento da relação entre a participação do eixo ECA-AngII-AT1 versus o eixo ECA2-Ang-(1-7)-Mas ou o ECA2-Ang-(1-7)-Alamandina-MrgD, contribuindo para o desenvolvimento e o avanço da inflamação e da fibrose. Apesar do evidente envolvimento do sistema renina-angiotensina relacionados a FPI, nenhum estudo foi

Endereço: Rua Sarmiento Lente, 245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 2.468.439

encontrado na literatura demonstrando a participação desses eixos na fisiopatologia da doença. Acreditamos que nos pulmões dos pacientes com FPI há um desequilíbrio na expressão dos peptídeos que compõem o SRA em favor do eixo fibrosante e constritor, representado pela ECA-AngII-AT1. Outro aspecto importante a ser pontuado é que o SRA não tem sido considerado clinicamente no tratamento da FPI. Provavelmente isso se deva ao fato de que o uso dos inibidores da enzima conversora da angiotensina e dos bloqueadores do receptor AT1, não trouxeram benefícios aos pacientes com FPI. No entanto, os avanços no conhecimento sobre o SRA e a descoberta recente de novos peptídeos, alteram a interpretação sobre este sistema, exigindo um novo olhar sobre a participação desses peptídeos. Nossa proposta é inédita e de grande interesse clínico, já que pretende investigar a participação do "novo" SRA diretamente em tecido pulmonar transplantado de pacientes com FPI e os possíveis efeitos benéficos do tratamento com Alamandina e/ou Frutose-1,6-bisfosfato (FBP). Nosso grupo tem demonstrado as ações protetoras da FBP em uma variedade de condições patológicas. Um desses efeitos é a sua capacidade em diminuir a proliferação e reverter o fenótipo de miofibroblastos hepáticos através da diminuição da síntese de TGF-1, da expressão de colágeno tipo 1 (Col-1) e aumento da expressão de PPAR- in vitro. Além disso, a FBP possui ação protetora contra radicais livres in vitro com células expostas a peróxido de hidrogênio, impedindo a produção de malondialdeído, um indicador de peroxidação lipídica, reduzindo a formação de produtos de oxidação de proteínas. Em hepatócitos lesados com galactosamina, a FBP aumenta a relação glutatona oxidada/glutatona reduzida (GSH/GSSG) que é um importante sistema antioxidante celular e utilizado para avaliar o estado oxidativo celular. Em conjunto, esses achados nos levam a acreditar que o tratamento com FBP pode ser uma alternativa como tratamento complementar na FPI, assim como a Alamandina constitui um peptídeo com ações fisiológicas protetoras, muito convidativas do ponto de vista da fibrose. É nosso objetivo contribuir para elucidar os possíveis mecanismos envolvidos nesta patologia ainda sem cura e sem tratamento resolutivo. Se ficar demonstrado uma redução no tecido pulmonar do eixo Alamandina na FPI, assim como observamos anteriormente no plasma de pacientes com FPI, e ainda um aumento dos efeitos inflamatórios e fibrosantes será razoável acreditar que mais importante do que bloquear o eixo ECA-AngII-AT1, poderá ser estimular o eixo ECA2-Ang-(1-7)-Alamandina-MrgD. Além disso, pretendemos testar os possíveis efeitos benéficos do tratamento com FBP e/ou Alamandina, tanto in vitro quanto in vivo. Assim, no presente trabalho, o efeito desses tratamentos estará sendo avaliado em modelos experimentais de fibrose pulmonar in vivo, e in vitro em fibroblastos provenientes tanto de pulmões humanos quanto de animais. A nossa proposta é inédita, factível, interinstitucional e, se nossas hipóteses forem demonstradas, podem gerar

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** oep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 2.468.439

conhecimentos compatíveis: 1- com a melhoria do manejo da FP e da qualidade de vida dos pacientes; e 2- com a redução do número de internações, de transplantes e dos custos para o Sistema Único de saúde.

Objetivo da Pesquisa:

Contribuir para o conhecimento da fisiopatologia da Fibrose Pulmonar ao analisar, tanto em pulmões de pacientes com fibrose pulmonar idiopática quanto em animais com fibrose pulmonar induzida por bleomicina, se há diferença na razão entre os eixos ECA-AngII-AT1 e ECA2-Ang-(1-7)-MAS/Alamandina-MrgD do sistema renina angiotensina; e a participação de citocinas inflamatórias e do estresse oxidativo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Este estudo nao oferece riscos adicionais com relacao ao procedimento cirurgico, visto que o pedaco de pulmao que sera utilizado seria retirado de qualquer forma e desprezado. Alem disso, embora todos os cuidados serao observados no sentido de preservar a identidade dos pacientes, existe a possibilidade remota de vazamento de informacoes.

Benefícios:

A nossa proposta e inedita, factivel, interinstitucional e, se nossas hipoteses forem demonstradas, podem gerar conhecimentos compatíveis: 1- com a melhoria do manejo da FP e da qualidade de vida dos pacientes; e 2- com a reducao do numero de internacoes, de transplantes e dos custos para o Sistema Unico de saude.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa apresenta caráter relevante para a melhoria na assistência oferecida a pacientes transplantados no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS).

Todas as solicitações feitas em parecer emitido em dezembro de 2017 foram atendidas e explicadas pela pesquisadora por Carta-Resposta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados.

Os termos de anuência necessários foram incluídos a partir da modificação feita nos locais de recrutamento dos participantes, explicada pela pesquisadora na Carta-Resposta.

Recomendações:

Recomenda-se que, em todos os documentos apresentados futuramente, seja incluída informação

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** oep@ufcspa.edu.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE**



Continuação do Parecer: 2.468.439

de local e data de emissão (considerando que autorização da chefia do Centro Cirúrgico do Hospital Dom Vicente Scherer não apresenta tal informação).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_944989.pdf	05/01/2018 14:59:10		Aceito
Outros	Carta_Resposta_05_01_2018.pdf	05/01/2018 14:56:33	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Outros	autorizacao_chefia_responsavel_dom_vicente_scherer.pdf	05/01/2018 14:55:58	Katya Vianna Rigatto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_05_01_18.pdf	05/01/2018 14:55:30	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_com_alteracoes_VERSAO_4.doc	05/01/2018 13:29:50	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Outros	anuencia_Fisiologia_Translacional_assinado_por_pedro.pdf	05/01/2018 13:27:55	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Outros	Anuencia_laboratorio_PUCRS.pdf	05/01/2018 13:23:22	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	19/06/2017 14:55:12	Katya Vianna Rigatto	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termodecompromissokatya.pdf	19/06/2017 13:10:30	Katya Vianna Rigatto	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspe.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 2.468.439

PORTO ALEGRE, 17 de Janeiro de 2018

Assinado por:
ELIANE DALLEGRAVE
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmiento Leite, 245
Bairro: Sarmiento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** oep@ufcspa.edu.br