

Doxiciclina em pacientes com linfangioleiomiomatose: biomarcadores e resposta funcional pulmonar*

Doxycycline use in patients with lymphangioleiomyomatosis: biomarkers and pulmonary function response

Suzana Pinheiro Pimenta, Bruno Guedes Baldi,
Ronaldo Adib Kairalla, Carlos Roberto Ribeiro Carvalho

Resumo

Objetivo: Avaliar o bloqueio da metaloproteínase da matriz (MMP)-2 e da MMP-9 e a variação do VEF₁ em pacientes com linfangioleiomiomatose (LAM) após o uso de doxiciclina, um conhecido inibidor de MMP, durante 12 meses. **Métodos:** Ensaio clínico aberto de braço único no qual as pacientes com diagnóstico de LAM receberam doxiciclina (100 mg/dia) durante 12 meses. Elas foram submetidas a prova de função pulmonar completa, teste de caminhada de seis minutos, avaliação da qualidade de vida e coleta de amostras séricas e urinárias para dosagem de MMP-2, MMP-9 e VEGF-D antes do início do tratamento com doxiciclina e após 6 e 12 meses de tratamento. **Resultados:** Trinta e uma pacientes com LAM receberam doxiciclina durante 12 meses. Embora tenha havido um bloqueio efetivo da MMP-9 urinária e da MMP-2 sérica após o tratamento, os níveis séricos de MMP-9 e VEGF-D permaneceram estáveis. Com base na resposta à doxiciclina (determinada pela variação do VEF₁), as pacientes foram divididas em dois grupos: respondedoras (doxi-R; n = 13) e não respondedoras (doxi-NR; n = 18). As pacientes com alterações espirométricas leves apresentaram melhor resposta à doxiciclina. Os efeitos colaterais mais comuns foram epigastralgia, náusea e diarreia, todos de leve intensidade. **Conclusões:** Em pacientes com LAM, o tratamento com doxiciclina resulta em um bloqueio eficaz das MMP, além de melhorar a função pulmonar e a qualidade de vida daqueles com doença menos grave. No entanto, esses benefícios não parecem estar relacionados ao bloqueio das MMP, o que sugere um mecanismo de ação diferente. (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – ReBEC; número de identificação RBR-6g8y9 [http://www.ensaiosclinicos.gov.br])

Descritores: Linfangioleiomiomatose; Doxiciclina; Metaloproteínases da matriz; Testes de função respiratória.

Abstract

Objective: To assess blockade of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9, as well as the variation in FEV₁ in patients with lymphangioleiomyomatosis (LAM) treated with doxycycline (a known MMP inhibitor) for 12 months. **Methods:** An open-label, single-arm, interventional clinical trial in which LAM patients received doxycycline (100 mg/day) for 12 months. Patients underwent full pulmonary function testing, a six-minute walk test, and quality of life assessment, as well as blood and urine sampling for quantification of MMP-2, MMP-9, and VEGF-D levels—at baseline, as well as at 6 and 12 months after the initiation of doxycycline. **Results:** Thirty-one LAM patients received doxycycline for 12 months. Although there was effective blockade of urinary MMP-9 and serum MMP-2 after treatment, there were no significant differences between pre- and post-doxycycline serum levels of MMP-9 and VEGF-D. On the basis of their response to doxycycline (as determined by the variation in FEV₁), the patients were divided into two groups: the doxycycline-responder (doxy-R) group (n = 13); and the doxycycline-nonresponder (doxy-NR) group (n = 18). The patients with mild spirometric abnormalities responded better to doxycycline. The most common side effects were mild epigastric pain, nausea, and diarrhea. **Conclusions:** In patients with LAM, doxycycline treatment results in effective MMP blockade, as well as in improved lung function and quality of life in those with less severe disease. However, these benefits do not seem to be related to the MMP blockade, raising the hypothesis that there is a different mechanism of action. (Brazilian Registry of Clinical Trials – ReBEC; identification number RBR-6g8y9 [http://www.ensaiosclinicos.gov.br])

Keywords: Lymphangioleiomyomatosis; Doxycycline; Matrix metalloproteinases; Respiratory function tests.

* Trabalho realizado na Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Carlos R. R. Carvalho. Rua Sampaio Viana, 509, ap. 21, CEP 04004-001, São Paulo, SP, Brasil. Tel. 55 11 3887-4607. Fax: 55 11 3885-7036. E-mail: crccarvalho@uol.com.br

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Recebido para publicação em 24/7/2012. Aprovado, após revisão, em 13/9/2012.

Introdução

A linfangioleiomiomatose (LAM) é uma doença rara que afeta mulheres em idade fértil. Pode ocorrer esporadicamente ou em associação com *tuberous sclerosis complex* (TSC, complexo da esclerose tuberosa) e é caracterizada por cistos pulmonares.⁽¹⁾ As mais comuns manifestações clínicas de LAM são dispneia e pneumotórax; outras manifestações, menos comuns, incluem hemoptise, tosse e quilotórax.⁽²⁻⁶⁾ Em pacientes com LAM submetidas a testes de função pulmonar, os resultados anormais mais comuns são a obstrução do fluxo aéreo e a redução da DLCO.⁽⁷⁾

No momento, não há tratamento curativo para LAM. O tratamento mais utilizado é o bloqueio hormonal. Entretanto, faltam evidências nesse campo. Um estudo retrospectivo envolvendo pacientes com LAM mostrou que as taxas de redução da DLCO foram significativamente maiores nas pacientes tratadas com progesterona.⁽⁸⁾ Os resultados de estudos pequenos envolvendo o uso de agonistas do hormônio liberador de gonadotrofina têm sido controversos.^(9,10)

Um ensaio clínico randomizado mostrou que o sirolimus, um inibidor da via do alvo da rapamicina em mamíferos, pode ser útil no tratamento de pacientes com doença pulmonar moderadamente grave relacionada a LAM.⁽¹¹⁾

Recentemente, tem havido interesse no possível papel das *matrix metalloproteinases* (MMPs, metaloproteinases da matriz) na patogênese da destruição cística pulmonar em pacientes com LAM, inclusive na possibilidade de que as MMPs representam um alvo terapêutico.⁽¹²⁾ Sabe-se que as MMPs são componentes funcionais da matriz extracelular. Elas degradam vários substratos da matriz e desempenham um papel importante na remodelação pulmonar e na linfangiogênese.^(13,14) Além disso, as MMPs são inibidas por *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMPs, inibidores teciduais de metaloproteinases), que são indispensáveis à regulação das MMPs. Há relatos de que um desequilíbrio entre as MMPs e seus inibidores esteja envolvido na patogênese de doenças pulmonares como asma, DPOC e histiocitose de células de Langerhans.^(15,16) Há também relatos de desequilíbrio de protease em lesões de LAM.⁽¹⁴⁾ Um estudo de amostras obtidas por meio de biópsia pulmonar em pacientes com LAM encontrou degradação de fibras elásticas em áreas de proliferação de células musculares lisas.⁽¹⁷⁾ Da mesma forma, a análise imuno-

histoquímica de amostras obtidas por meio de biópsia pulmonar em pacientes com LAM revelou um aumento da imunoreatividade da MMP-2 e da MMP-9 (embora não da de TIMP-1 e TIMP-2) nas células de LAM em relação à da MMP-2 e da MMP-9 em células pulmonares normais.⁽¹⁸⁾ Um relato de caso mostrou melhora nos resultados de testes de função pulmonar e redução dos níveis urinários de MMPs em uma paciente com LAM e comprometimento grave da função pulmonar tratada com doxiciclina, um inibidor de MMPs.⁽¹⁹⁾ Em um ensaio aberto prévio, nosso grupo encontrou uma redução significativa dos níveis séricos de MMP-2 em uma coorte de pacientes com LAM tratadas com doxiciclina durante 6 meses.⁽²⁰⁾

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis séricos e urinários da MMP-2 e da MMP-9 em pacientes com LAM tratadas com doxiciclina durante 12 meses, bem como avaliar a variação do VEF₁ nessas pacientes.

Métodos

Trata-se de um ensaio clínico aberto intervencionista de braço único. Foram convidadas a participar do estudo todas as pacientes com LAM em tratamento ambulatorial no Ambulatório de Doenças Intersticiais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em São Paulo (SP). O diagnóstico de LAM foi estabelecido em conformidade com as diretrizes da *European Respiratory Society*.^(21,22) O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição, e todas as participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. Uma paciente com LAM havia sido submetida a transplante pulmonar e, portanto, não foi incluída no ensaio.

Antes do início do tratamento com doxiciclina, as pacientes realizaram prova de função pulmonar completa, seguida de teste de caminhada de seis minutos (TC6) e de avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde. Foram coletadas amostras de urina e sangue a fim de determinar os níveis de MMP-2, MMP-9 e VEGF-D. Após essa avaliação inicial, as pacientes passaram a receber uma dose de 100 mg/dia de doxiciclina, a qual foi mantida por no mínimo 12 meses. Todos os testes supracitados foram repetidos 6 e 12 meses após o início do tratamento.

Os desfechos primários foram o bloqueio da MMP-2 e da MMP-9, caracterizado pela redução

dos níveis de MMP-2 e MMP-9, e a variação do VEF₁ após 12 meses de tratamento com doxiciclina. Os desfechos secundários foram a variação da CVF, a variação do VR e a variação da DLCO. Avaliamos também a variação da distância percorrida no TC6 (DTC6), a variação da SpO₂ mínima (avaliada durante o TC6) e a variação dos níveis séricos de VEGF-D.

Os níveis urinários e séricos de MMP-2 e MMP-9, bem como os níveis séricos de VEGF-D, foram medidos por meio de ELISA (R&D System, Inc., Minneapolis, MN, EUA), conforme as instruções do fabricante. O procedimento é minuciosamente descrito em nosso estudo anterior⁽²⁰⁾ e no anexo deste artigo (disponível online em http://www.jornaldepneumologia.com.br/portugues/artigo_detalhes.asp?id=1975). O limite de detecção do ensaio foi de 15,6 pg/mL para MMP-9, 156,2 pg/mL para MMP-2 e 15,6 pg/mL para VEGF-D. Foram também coletadas amostras de urina e sangue de 10 não fumantes saudáveis do gênero feminino, pareadas às pacientes com LAM no que tange à idade.

Todas as pacientes foram submetidas a espirometria, medida dos volumes pulmonares e medida da DLCO por meio de um pletismógrafo de corpo inteiro (Elite D MedGraphics; Medical Graphics Co., Saint Paul, MN, EUA). A prova de função pulmonar foi realizada em conformidade com as diretrizes recomendadas para a realização da prova em adultos brasileiros. Os valores de referência para a espirometria, os volumes pulmonares e a DLCO foram aqueles estabelecidos para a população brasileira.⁽²³⁻²⁵⁾

O TC6 (limitado pelos sintomas) foi realizado em conformidade com os padrões recomendados.

⁽²⁶⁾ Um oxímetro de pulso (WristOx® 3100; Nonin Medical, Inc., Plymouth, MN, EUA) foi usado para registrar a SpO₂ em ar ambiente a cada 2 s. Os dados obtidos durante o TC6 foram analisados por meio do programa nVISION® (Nonin Medical, Inc.) e exportados para uma planilha do Microsoft Excel. Os parâmetros analisados foram a SpO₂ mínima mantida por no mínimo 10 s e a DTC6, expressa em metros e em porcentagem dos valores previstos para a população brasileira.⁽²⁷⁾

O *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey* (SF-36), previamente validado para uso na população brasileira,^(28,29) foi usado para avaliar a qualidade de vida.

A análise estatística foi realizada por meio do teste t de Student ou do teste dos postos

sinalizados de Wilcoxon para as variáveis paramétricas e do teste de Mann-Whitney para as variáveis não paramétricas. O teste exato de Fisher foi usado para as variáveis categóricas. A curva ROC foi usada para identificar a relação VEF₁/CVF capaz de prever a resposta ao tratamento com doxiciclina o mais precisamente possível.

Os dados foram analisados por meio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA), e as diferenças foram consideradas significantes se $p < 0,05$.

[Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC); número de identificação: RBR-6g8yz9 (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>)]

Resultados

Entre 2006 e 2009, 41 pacientes com LAM foram incluídas em um ensaio durante o qual receberiam doxiciclina (100 mg/dia). Dessas 41 pacientes, 10 não completaram 12 meses de tratamento com doxiciclina: 5 se retiraram do ensaio; 2 apresentaram piora dos sintomas e 3 apresentaram eventos adversos relacionados ao medicamento.

Um total de 31 pacientes completaram 12 meses de tratamento com doxiciclina (Anexo, seção 2, Tabela A1). A média de idade foi de 43 ± 8 anos. Em 29 pacientes, o diagnóstico de LAM baseou-se em características histopatológicas, ao passo que em 2, o diagnóstico baseou-se em características clínicas e radiológicas típicas. A mediana do tempo transcorrido desde o surgimento dos sintomas até o diagnóstico de LAM foi de 9 meses (variação: 6-24 meses).

Nas 31 pacientes, a função pulmonar basal caracterizou-se por obstrução leve e DLCO ligeiramente reduzida (Tabela 1). Após 12 meses de tratamento com doxiciclina, houve significativa redução média do VEF₁ (70 mL), embora não tenha havido variação significativa da DLCO. Os resultados do TC6 mostraram que houve um aumento não significativo (de 25 m) na DTC6 média e uma redução na SpO₂ mínima. Houve melhora na pontuação obtida em alguns dos domínios físicos e mentais do SF-36 (Tabela 1).

Como mostra a Figura 1A, houve uma redução significativa dos níveis urinários de MMP-9 (de 10.487 pg/mL antes do início do tratamento com doxiciclina para 4.061 pg/mL após 12 meses de tratamento; $p < 0,001$). A MMP-2 sérica também foi bloqueada. Entretanto, não houve

Tabela 1 – Resultados da prova de função pulmonar, resultados do teste de caminhada de seis minutos, biomarcadores e pontuação no *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey* antes do início do tratamento com doxiciclina e após 12 de tratamento em 31 pacientes com linfangioleiomiomatose.^a

Variável	Resultado		p
	Antes do tratamento	Após o tratamento	
	(n = 31)	(n = 31)	
Prova de função pulmonar			
CVF, L	3,17 ± 0,60	3,19 ± 0,60	0,792
CVF, % do previsto	92 ± 14	93 ± 14	0,751
VEF ₁ , L	2,24 ± 0,70	2,17 ± 0,70	0,034
VEF ₁ , % do previsto	79 ± 23	77 ± 25	0,042
Relação VEF ₁ /CVF	0,70 ± 0,20	0,67 ± 0,20	0,003
CPT, L	5,03 ± 0,80	5,09 ± 0,70	0,408
CPT, % do previsto	103 ± 14	105 ± 14	0,393
VR, L	1,82 ± 0,60	1,91 ± 0,70	0,263
VR, % do previsto	130 ± 47	137 ± 52	0,282
Relação VR/CPT	0,36 ± 0,08	0,37 ± 0,10	0,295
DLCO, mL/min/mmHg	17,0 ± 6,8	16,76 ± 6,0	0,713
DLCO, % do previsto	65 ± 25	64 ± 22	0,745
Teste de caminhada de seis minutos ^b			
Distância, m	490 ± 109	515 ± 90	0,132
Distância, % do previsto	90 ± 20	95 ± 17	0,113
SpO ₂ basal, % ^c	96 (95-98)	96 (94-97)	0,282
SpO ₂ mínima, % ^c	94 (87-95)	93 (84-95)	0,020
Biomarcadores ^c			
MMP-9 sérica, ng/mL	933 (730-1,202)	1,076 (809-1,367)	0,140
MMP-9 urinária, pg/mL	10,487 (4,565-20,963)	4,061 (712-9,985)	< 0,001
MMP-2 sérica, pg/mL	0 (0-833)	0 (0-179)	0,005
VEGF-D, pg/mL	821 (407-2,113)	913 (313-2,262)	0,590
Domínios do SF-36 ^c			
Capacidade funcional	70 (60-85)	70 (50-88)	0,465
Função física	50 (50-50)	75 (25-100)	0,054
Dor corporal	78 (56-95)	70 (58-90)	1,000
Estado geral de saúde	75 (48-80)	75 (58-80)	0,717
Vitalidade	65 (53-80)	65 (55-80)	0,611
Função emocional	100 (33-100)	100 (67-100)	0,147
Saúde mental	62 (52-84)	80 (58-84)	0,006
Aspectos sociais	88 (56-94)	88 (63-100)	0,165

SpO₂ mínima: SpO₂ mínima mantida durante 10 s; MMP: *matrix metalloproteinase* (metaloproteinase da matriz); e SF-36: *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey*. ^aValores expressos em média ± dp, exceto onde indicado. ^bUma paciente não realizou o teste de caminhada de seis minutos após os 12 meses de tratamento. ^cValores expressos em mediana (intervalo interquartil).

diferenças significativas entre os níveis séricos de MMP-9 pré-tratamento e os pós-tratamento (Figura 1B), e os níveis urinários de MMP-2 foram imperceptíveis. Todos os dados a respeito das MMPs são apresentados na Tabela 1.

Foram colhidas amostras de sangue e urina de 10 mulheres saudáveis (grupo controle), cuja média de idade foi de 40 ± 4 anos (p = 0,29 vs. a média de idade das pacientes com LAM).

A mediana dos níveis séricos e urinários de MMP-9 antes do início do tratamento com doxiciclina foi significativamente maior nas pacientes com LAM que nas mulheres saudáveis do grupo controle (933 vs. 89,6 ng/mL, p < 0,0001, e 10.487 vs. 200 pg/mL, p < 0,0001, respectivamente). Os níveis séricos e urinários basais de MMP-2 foram imperceptíveis no grupo controle, e não houve diferenças significativas

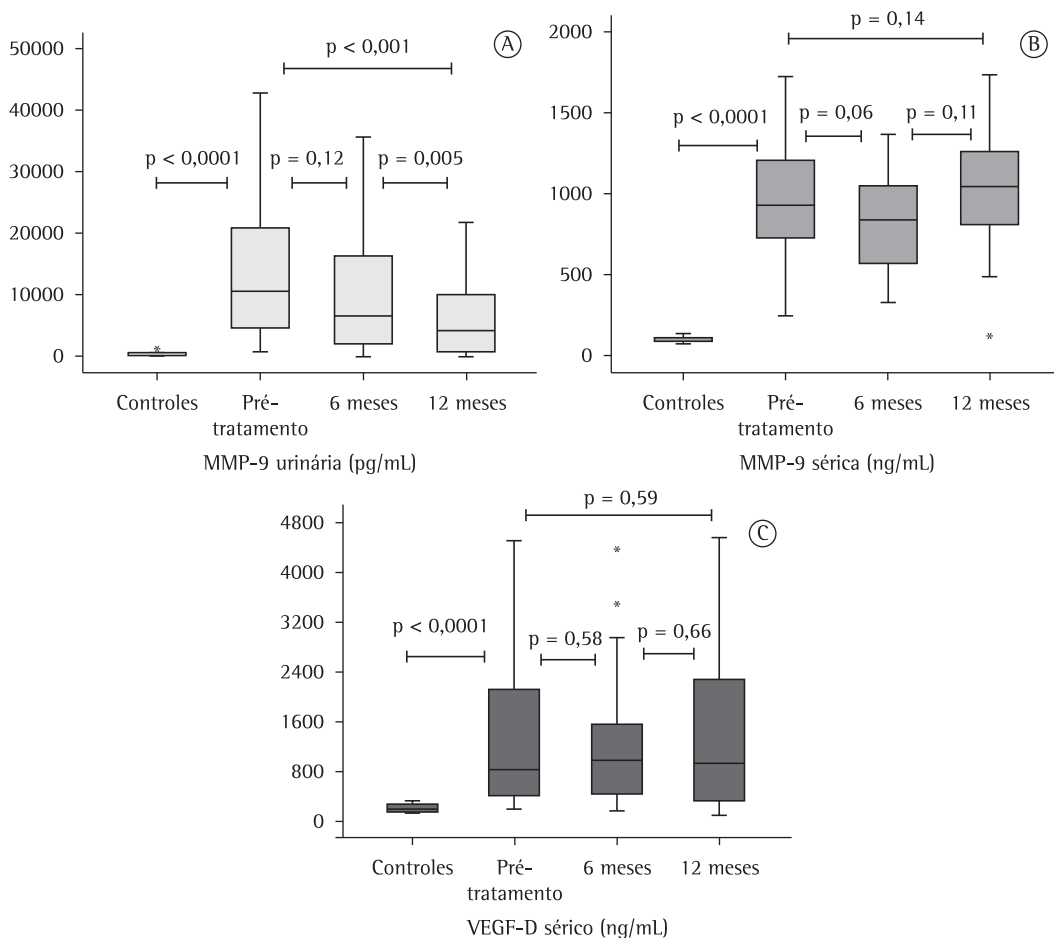


Figura 1 - Níveis urinários de metaloproteinase da matriz (MMP)-9 (em A), níveis séricos de MMP-9 (em B) e níveis séricos de VEGF-D (em C) em 31 pacientes com linfangioleiomiomatose tratadas com doxiciclina durante 12 meses em comparação com os observados em 10 mulheres saudáveis (grupo controle).

entre as mulheres do grupo controle e as pacientes com LAM no que tange a esses níveis.

A mediana dos níveis séricos de VEGF-D foi significativamente menor nas mulheres do grupo controle que nas pacientes com LAM (185 vs. 821 pg/mL), nas quais os níveis séricos de VEGF-D permaneceram estáveis ao longo do tratamento com doxiciclina (Figura 1C).

Embora todas as 31 pacientes tenham apresentado redução do VEF₁ médio após o tratamento com doxiciclina, um subgrupo de pacientes apresentou aumento ou estabilização do VEF₁. As 31 pacientes foram divididas em dois grupos com base na resposta ao tratamento com doxiciclina, determinada pela variação do VEF₁ (do valor medido antes do início do tratamento para aquele medido aos 12 meses de tratamento com doxiciclina): o grupo de respondedoras (doxi-R),

composto por 13 pacientes com VEF₁ aumentado ou estável e o grupo de não respondedoras (doxi-NR), composto por 18 pacientes com VEF₁ diminuído (Figura 2A).

Os parâmetros funcionais, a pontuação no SF-36, os níveis de MMPs e os níveis de VEGF-D nos grupos doxi-R e doxi-NR são apresentados nas Tabelas 2 e 3. As pacientes do grupo doxi-NR apresentaram um padrão obstrutivo, com aprisionamento aéreo, ao passo que as do grupo doxi-R não o fizeram. Foi calculada a mediana da variação do VEF₁ (em mL), ou seja, do valor medido antes do início do tratamento com doxiciclina para o valor medido aos 12 meses de tratamento. Houve um aumento mediano de 70 mL (variação: 30-110 mL) no grupo doxi-R e uma redução mediana de -140 mL (variação: -260 a -110) no grupo doxi-NR. A mediana da

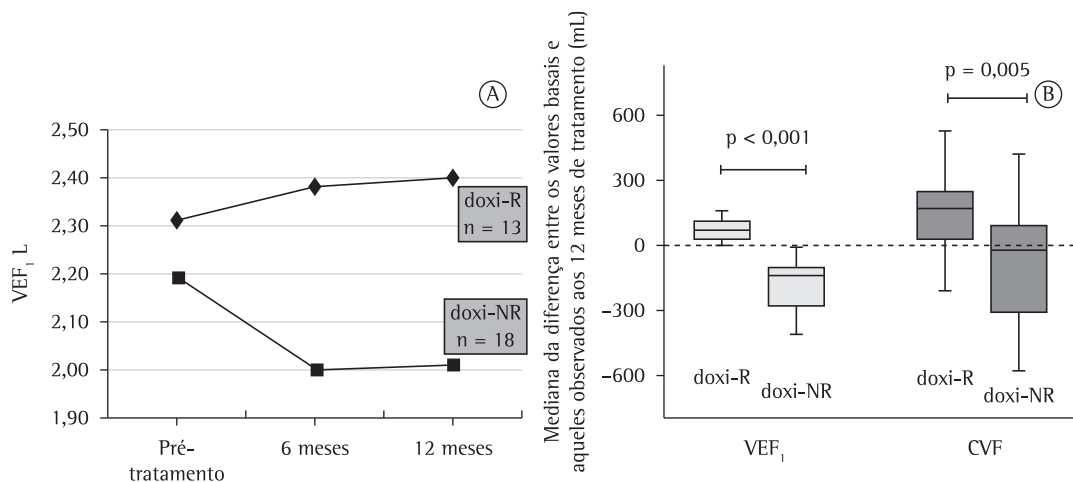


Figura 2 – Em A, variação do VEF₁ ao longo de 12 meses de tratamento com doxiciclina nas pacientes com linfangioleiomiomatose que responderam ao medicamento – o grupo de respondedoras (doxi-R) – e naquelas que não o fizeram – o grupo de não respondedoras (doxi-NR). Em B, mediana da diferença entre o VEF₁ antes do início do tratamento com doxiciclina e o VEF₁ aos 12 meses de tratamento e entre a CVF antes do início do tratamento com doxiciclina e a CVF aos 12 meses de tratamento nos grupos doxi-R e doxi-NR. O grupo doxi-R foi composto pelas pacientes com linfangioleiomiomatose que responderam ao tratamento com doxiciclina, o que se comprovou pelo aumento ou estabilização do VEF₁ aos 12 meses de tratamento com doxiciclina em relação ao VEF₁ medido antes do início do tratamento. O grupo doxi-NR foi composto pelas pacientes com linfangioleiomiomatose que não responderam ao tratamento com doxiciclina, o que se comprovou pela redução do VEF₁ aos 12 meses de tratamento com doxiciclina em relação ao VEF₁ medido antes do início do tratamento.

variação da CVF em ambos os grupos seguiu a tendência da variação do VEF₁, com diferenças significativas entre os dois grupos ($p = 0,005$; Figura 2B). O prejuízo funcional foi maior no grupo doxi-NR, assim como o foram os níveis de MMPs e de VEGF-D (Tabelas 2 e 3).

Após o tratamento com doxiciclina, as pacientes do grupo doxi-R apresentaram melhora na pontuação obtida no SF-36, que foi significativamente maior nos domínios “aspectos sociais” e “função física”. As pacientes do grupo doxi-NR apresentaram melhora na pontuação obtida nos domínios físicos e mentais. Entretanto, essa melhora não foi significativa. A pontuação obtida no SF-36 é apresentada nas Tabelas 2 e 3.

A fim de avaliar marcadores funcionais de resposta à doxiciclina, comparamos os grupos doxi-R e doxi-NR antes do início do tratamento e constatamos que as pacientes com doença menos grave (menor CPT e obstrução mais leve) apresentaram melhor resposta à doxiciclina (Anexo, seção 2, Tabela A2). A análise da curva ROC mostrou que a relação VEF₁/CVF capaz de prever a resposta ao tratamento com doxiciclina o mais precisamente possível foi a de 0,71 (área sob

a curva = 0,690; IC95%: 0,50-0,88; $p = 0,07$; Anexo, seção 2, Figura A1, painel A).

Das 31 pacientes que completaram o ensaio, 22 haviam recebido algum tipo de terapia de bloqueio hormonal. Entretanto, não houve diferença significativa entre os grupos doxi-R e doxi-NR no que tange à prevalência de terapia de bloqueio hormonal prévia ($p = 0,696$; Anexo, seção 2, Tabela A3).

Vinte pacientes continuaram a receber doxiciclina durante uma mediana de tempo de 18 meses após o término do período de estudo. No que tange à variação do VEF₁ após o término do estudo, as pacientes do grupo doxi-R apresentaram ligeira redução do VEF₁, ao passo que as do grupo doxi-NR apresentaram considerável redução; a variação do VEF₁ após o término do estudo seguiu a tendência da variação do VEF₁ durante o período de estudo (Anexo, seção 2, Figura A1, painel B).

Os eventos adversos mais comuns foram dor epigástrica (45%), náusea (19%), diarreia (16%) e prurido (6%). Esses eventos foram leves e autolimitados e raramente exigiram tratamento específico. Das 41 pacientes incluídas no ensaio, 3 (7%) apresentaram eventos adversos que levaram

Tabela 2 – Parâmetros funcionais, níveis de metaloproteinasas da matriz, níveis de VEGF-D e pontuação no *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey* antes e depois do tratamento com doxiciclina nas 13 pacientes com linfangioleiomiomatose colocadas no grupo de respondedoras^a com base em sua resposta à doxiciclina (determinada pela variação do VEF₁).^b

Variável	Grupo doxi-R		p
	Pré-doxiciclina	Pós-doxiciclina	
Prova de função pulmonar			
CVF, L	3,0 ± 0,3	3,2 ± 0,3	0,023
CVF, % do previsto	90 ± 13	95 ± 12	0,026
VEF ₁ , L	2,31 ± 0,40	2,40 ± 0,40	0,003
VEF ₁ , % do previsto	84 ± 14	86 ± 14	0,002
Relação VEF ₁ /CVF	0,77 ± 0,10	0,76 ± 0,10	0,173
CPT, L	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,6	0,310
CPT, % do previsto	98 ± 13	101 ± 15	0,327
VR, L	1,6 ± 0,5	1,6 ± 0,6	0,956
VR, % do previsto	117 ± 43	118 ± 47	0,940
Relação VR/CPT	0,34 ± 0,08	0,33 ± 0,08	0,640
DLCO, mL/min/mmHg	18,5 ± 6,0	18,0 ± 5,0	0,514
DLCO, % do previsto	72 ± 20	70 ± 18	0,448
Teste de caminhada de seis minutos			
Distância, m	515 ± 66	523 ± 52	0,633
SpO ₂ mínima, % ^c	94 (93-95)	94 (91-95)	0,500
Biomarcadores^c			
MMP-9 sérica, ng/mL	837 (716-1.033)	1.103 (773-1.237)	0,328
MMP-9 urinária, pg/mL	8.905 (5.607-21.829)	6.735 (674-8.983)	0,050
MMP-2 sérica, pg/mL	0 (0-182)	0 (0-40)	0,144
VEGF-D, pg/mL	413 (277-2.113)	328 (257-2.008)	0,374
Domínios do SF-36^c			
Capacidade funcional	75 (65-85)	80 (75-95)	0,281
Função física	50 (50-50)	100 (50-100)	0,020
Dor corporal	57,5 (55-90)	70 (55-77,5)	1,000
Estado geral de saúde	80 (45-90)	75 (70-85)	0,412
Vitalidade	70 (45-90)	70 (70-85)	0,428
Função emocional	33 (33-100)	100 (33-100)	0,158
Saúde mental	68 (40-84)	76 (52-88)	0,051
Aspectos sociais	75,0 (50,0-88,5)	87,5 (62,5-100)	0,040

Grupo doxi-R: grupo de pacientes que responderam ao tratamento com doxiciclina; SpO₂ mínima: SpO₂ mínima mantida durante 10 s; MMP: *matrix metalloproteinase* (metaloproteínase da matriz); e SF-36: *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey*. ^aGrupo de pacientes que responderam ao tratamento com doxiciclina, o que se comprovou pelo aumento ou estabilização do VEF₁ aos 12 meses de tratamento com doxiciclina em relação ao VEF₁ medido antes do início do tratamento. ^bValores expressos em média ± dp, exceto onde indicado. ^cValores expressos em mediana (intervalo interquartil).

à suspensão do tratamento com doxiciclina. Dessas 3 pacientes, 1 apresentou colite aguda, 1 apresentou diarreia crônica e 1 apresentou doença hemorroidária.

Discussão

Até onde sabemos, o presente estudo é o primeiro a demonstrar os efeitos da doxiciclina, um conhecido inibidor de MMPs, sobre os níveis

séricos de MMPs, os níveis urinários de MMPs e os níveis séricos de VEGF-D, bem como sobre os resultados da prova de função pulmonar e a qualidade de vida em uma coorte de pacientes com LAM. Os principais achados do presente estudo incluem o bloqueio eficaz da MMP-9 urinária e da MMP-2 sérica induzido por 12 meses de tratamento com doxiciclina, sem influência significativa sobre os níveis de VEGF-D. Acreditamos que o tratamento com doxiciclina pode ser benéfico

Tabela 3 – Parâmetros funcionais, níveis de metaloproteinases da matriz, níveis de VEGF-D e pontuação no *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey* antes e depois do tratamento com doxiciclina nas 18 pacientes com linfangioleiomiomatose colocadas no grupo de não respondedoras^a com base na ausência de resposta à doxiciclina (determinada pela variação do VEF₁).^b

Variável	Grupo doxi-NR		p
	Pré-doxiciclina	Pós-doxiciclina	
Prova de função pulmonar			
CVF, L	3,2 ± 0,7	3,2 ± 0,7	0,114
CVF, % do previsto	94 ± 15	91 ± 16	0,151
VEF ₁ , L	2,2 ± 0,9	2 ± 0,9	< 0,001
VEF ₁ , % do previsto	75 ± 28	70 ± 28	< 0,001
Relação VEF ₁ /CVF	0,65 ± 0,2	0,61 ± 0,2	0,009
CPT, L	5,3 ± 0,8	5,3 ± 0,7	0,922
CPT, % do previsto	107 ± 13	107 ± 12	0,844
VR, L	2 ± 0,6	2,1 ± 0,7	0,129
VR, % do previsto	140 ± 49	150 ± 54	0,155
Relação VR/CPT	0,37 ± 0,08	0,4 ± 0,11	0,032
DLCO, mL/min/mmHg	15,9 ± 7,5	15,8 ± 6,6	0,967
DLCO, % do previsto	60 ± 27	60 ± 24	0,948
Teste de caminhada de seis minutos			
Distância, m	472 ± 130	509 ± 112	0,119
SpO ₂ mínima, % ^c	92,5 (83-95)	92 (78-95)	0,087
Biomarcadores ^c			
MMP-9 sérica, ng/mL	1.011 (748-1.272)	1.042 (809-1.307)	0,756
MMP-9 urinária, pg/mL	10.487 (4.526-15.653)	3.970 (765-9.985)	0,001
MMP-2 sérica, pg/mL	188 (0-905)	0 (0-214)	0,017
VEGF-D, pg/mL	995 (535-2.000)	1.124 (810-2.262)	0,211
Domínios do SF-36 ^c			
Capacidade funcional	70 (51-84)	62,5 (46-81)	0,084
Função física	50 (50-50)	50 (25-100)	0,668
Dor corporal	79,0 (60,0-97,5)	67,5 (57,5-90,0)	0,821
Estado geral de saúde	70 (51-80)	67,5 (50-80)	0,905
Vitalidade	63 (55-79)	65 (55-80)	0,954
Função emocional	100 (33-100)	100 (67-100)	0,426
Saúde mental	66 (57-83)	80 (63-84)	0,053
Aspectos sociais	87,5 (75,0-97,0)	87,5 (62,5-97,0)	1,000

Grupo doxi-NR: grupo de pacientes que não responderam ao tratamento com doxiciclina; SpO₂ mínima: SpO₂ mínima mantida durante 10 s; MMP: *matrix metalloproteinase* (metaloproteinase da matriz); e SF-36: *Medical Outcomes Study 36-item Short-form Health Survey*. ^aGrupo de pacientes que não responderam ao tratamento com doxiciclina, o que se comprovou pela redução do VEF₁ aos 12 meses de tratamento com doxiciclina em relação ao VEF₁ medido antes do início do tratamento. ^bValores expressos em média ± dp, exceto onde indicado. ^cValores expressos em mediana (intervalo interquartil).

para pacientes com prejuízo funcional menos grave e que a doxiciclina é segura para pacientes com LAM.

Um dos fatores provavelmente envolvidos na destruição cística pulmonar em pacientes com LAM é a superexpressão de MMPs. Sabe-se que as MMPs são enzimas que são capazes de degradar colágeno e elastina na matriz extracelular do tecido pulmonar.⁽¹²⁾ Chang et al. demonstraram o efeito in vitro da doxiciclina sobre a adesão de

células de TSC2 nulo, bem como sobre a expressão da MMP-2 e da MMP-9, revelando redução da proliferação de células de LAM, embora tenham sido necessárias altas doses de doxiciclina e não tenha havido bloqueio significativo da expressão de MMPs.⁽³⁰⁾ Os autores também sugeriram que é improvável que os efeitos antiproliferativos da doxiciclina se devam diretamente à inibição das MMPs, já que a proliferação celular não foi inibida por ilomastat, um potente inibidor de

MMPs.⁽³⁰⁾ Entretanto, Moir et al. demonstraram que a doxiciclina reduziu de forma significativa os níveis de MMP-2 em células derivadas de LAM e em fibroblastos embrionários de TSC2 nulo em camundongos.⁽³¹⁾

Estudos prévios de outras doenças descreveram a doxiciclina como um bloqueador de MMPs, capaz de suprimir a expressão de MMP-9 cerebral e a angiogênese em camundongos e de reduzir os níveis de MMP-2 e MMP-9 a fim de evitar aneurismas da aorta torácica.^(32,33)

No presente estudo, constatamos que a doxiciclina induziu o bloqueio eficaz das MMPs, um achado que corrobora nossos achados anteriores em uma coorte de pacientes ligeiramente maior.⁽²⁰⁾ Entretanto, não houve associação entre o bloqueio das MMPs e a melhora funcional. Encontramos também uma redução dos níveis de MMPs nos grupos doxi-R e doxi-NR, um achado que sugere a existência de um mecanismo de ação da doxiciclina que é independente das MMPs. Entretanto, testamos apenas a MMP-2 e a MMP-9 e não exploramos a possibilidade de envolvimento de outras MMPs, tais como a MMP-1 e a MMP-8, ou a inibição da atividade de TIMPs, ambas descritas anteriormente.^(34,35)

Os níveis séricos de VEGF-D permaneceram estáveis após o tratamento com doxiciclina (Figura 1A). Embora haja relatos de que a doxiciclina induza a permeabilidade vascular e a inibição da angiogênese,^(36,37) a via parece ser independente das MMPs. Embora a mediana dos níveis basais de VEGF-D tenha sido maior nas pacientes do grupo doxi-NR do que nas do grupo doxi-R (995 ng/mL vs. 413 ng/mL), a diferença não foi significativa ($p = 0,325$). Esses achados vão ao encontro dos achados de estudos prévios nos quais não se encontrou nenhuma associação entre os níveis de VEGF-D e o comprometimento da função pulmonar.⁽³⁸⁻⁴⁰⁾

Após 12 meses de tratamento com doxiciclina, encontramos uma redução média de 70 mL no VEF_1 e uma redução média de 0,24 mL/min/mmHg na DLCO. Em comparação com as taxas anuais de redução do VEF_1 relatadas por Taveira et al.⁽⁸⁾ e Johnson & Tattersfield,⁽⁴¹⁾ ou seja, 75 mL e 118 mL, respectivamente, a taxa de redução do VEF_1 no presente estudo foi ligeiramente menor, embora tenhamos constatado que a doxiciclina não teve nenhum impacto sobre a redução da função pulmonar. A taxa de redução da DLCO em nossas pacientes também foi menor que as relatadas nos

dois estudos supracitados (0,69 e 0,90 mL/min/mmHg, respectivamente). No presente estudo, as pacientes do grupo doxi-R não apresentaram redução do VEF_1 ; ao contrário, apresentaram um pequeno, porém significativo, aumento da CVF e do VEF_1 e SpO_2 estável durante o TC6. Entretanto, o grupo doxi-NR apresentou redução do VEF_1 e da relação VEF_1/CVF , bem como um aumento da relação VR/CPT. Ao compararmos os grupos doxi-R e doxi-NR (Anexo, seção 2, Tabela A2), constatamos que a doxiciclina pode ser benéfica para pacientes com alterações espirométricas leves. Esse achado foi corroborado pela análise da curva ROC, a qual mostrou que a relação VEF_1/CVF capaz de prever a resposta à doxiciclina o mais precisamente possível foi a de 0,71. Além disso, devido ao fato de que a prevalência de bloqueio hormonal foi semelhante nos grupos doxi-R e doxi-NR, levantamos a hipótese de que a terapia hormonal não tem nenhuma influência sobre a resposta à doxiciclina.

Vinte pacientes continuaram a receber doxiciclina após os 12 meses de estudo. Uma avaliação realizada após o término do estudo revelou diferenças entre os dois grupos no que tange à taxa de redução do VEF_1 . Esse achado sugere que a doxiciclina é mais eficaz em retardar o prejuízo funcional em pacientes com LAM menos grave (Anexo, seção 2, Figura A1, painel B).

As pacientes com LAM investigadas no presente estudo foram submetidas a uma avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde antes e depois do tratamento com doxiciclina. Tal avaliação não foi realizada em estudos prévios. Houve melhora na pontuação obtida em alguns dos domínios físicos e mentais após o tratamento com doxiciclina, principalmente nas pacientes do grupo doxi-R.

A doxiciclina mostrou-se segura e foi bem tolerada. Os efeitos colaterais mais comuns foram digestivos e autolimitados.

Nosso estudo tem algumas limitações. Como o ensaio não foi controlado com placebo, o fato de termos incluído pacientes com formas menos graves de LAM pode ser considerado um viés, que poderia explicar o efeito benéfico da doxiciclina nas pacientes do grupo doxi-R, pois essas pacientes apresentaram menor prejuízo funcional antes do início do tratamento. Outra possível limitação é o fato de que mais de 10% das pacientes incluídas no ensaio não o completaram. Além disso, não avaliamos nenhuma outra MMP além

da MMP-2 e da MMP-9, além de não termos avaliado TIMPs. Ademais, testamos apenas uma dose de doxiciclina.

Em suma, o presente estudo mostrou que, em pacientes com LAM, o tratamento com doxiciclina resultou em bloqueio eficaz das MMPs. O tratamento com doxiciclina também resultou em função pulmonar melhor ou estável e em melhor qualidade de vida, particularmente nas pacientes com LAM que apresentaram alterações espirométricas leves. Entretanto, esses benefícios não parecem estar relacionados ao bloqueio das MMPs, o que levanta a hipótese de um mecanismo de ação diferente. Como a ausência de um grupo placebo limita a análise dos benefícios clínicos da doxiciclina, estudos randomizados controlados com placebo são necessários para que se possa estabelecer o verdadeiro papel da doxiciclina no tratamento de pacientes com LAM.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer à Dra. Milena Acencio sua contribuição à análise de biomarcadores.

Referências

- Costello LC, Hartman TE, Ryu JH. High frequency of pulmonary lymphangioleiomyomatosis in women with tuberous sclerosis complex. *Mayo Clin Proc.* 2000;75(6):591-4. PMID:10852420. <http://dx.doi.org/10.4065/75.6.591>
- Chu SC, Horiba K, Usuki J, Avila NA, Chen CC, Travis WD, et al. Comprehensive evaluation of 35 patients with lymphangioleiomyomatosis. *Chest.* 1999;115(4):1041-52. PMID:10208206. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.115.4.1041>
- Taveira-DaSilva AM, Steagall WK, Moss J. Lymphangioleiomyomatosis. *Cancer Control.* 2006;13(4):276-85.
- Johnson SR, Tattersfield AE. Clinical experience of lymphangioleiomyomatosis in the UK. *Thorax.* 2000;55(12):1052-7. PMID:1745654. <http://dx.doi.org/10.1136/thorax.55.12.1052>
- Taylor JR, Ryu J, Colby TV, Raffin TA. Lymphangioleiomyomatosis. Clinical course in 32 patients. *N Engl J Med.* 1991;323(18):1254-60.
- Baldi BG, Pimenta SP, Kawassaki Ade M, Bernardi Fdel C, Dolhnikoff M, Carvalho CR. Pulmonary arterial involvement leading to alveolar hemorrhage in lymphangioleiomyomatosis. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(7):1301-3. PMID:2148482. <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322011000700031>
- Ryu JH, Moss J, Beck GJ, Lee JC, Brown KK, Chapman JT, et al. The NHLBI lymphangioleiomyomatosis registry: characteristics of 230 patients at enrollment. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(1):105-11. PMID:16210669 PMID:2662978. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200409-1298OC>
- Taveira-DaSilva AM, Stylianou MP, Hedin CJ, Hathaway O, Moss J. Decline in lung function in patients with lymphangioleiomyomatosis treated with or without progesterone. *Chest.* 2004;126(6):1867-74. PMID:15596686. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.126.6.1867>
- Baldi BG, Medeiros Junior P, Pimenta SP, Lopes RI, Kairalla RA, Carvalho CR. Evolution of pulmonary function after treatment with goserelin in patients with lymphangioleiomyomatosis. *J Bras Pneumol.* 2011;37(3):375-9. PMID:21755194. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000300015>
- Harari S, Cassandro R, Chiodini I, Taveira-DaSilva AM, Moss J. Effect of a gonadotrophin-releasing hormone analogue on lung function in lymphangioleiomyomatosis. *Chest.* 2008;133(2):448-54. Erratum in: *Chest.* 2009;136(2):653. PMID:18071009 PMID:2946894. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.07-2277>
- McCormack FX, Inoue Y, Moss J, Singer LG, Strange C, Nakata K, et al. Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med.* 2011;364(17):1595-606. PMID:21410393 PMID:3118601. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1100391>
- Matsui K, Takeda K, Yu ZX, Travis WD, Moss J, Ferrans VJ. Role for activation of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of pulmonary lymphangioleiomyomatosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124(2):267-75. PMID:10656737.
- Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Inoue H, Seyama K, Nishimura M. Matrix metalloproteinases in blood from patients with LAM. *Respir Med.* 2009;103(1):124-9. PMID:18760908. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2008.07.017>
- Ji RC. Lymphatic endothelial cells, lymphangiogenesis, and extracellular matrix. *Lymphat Res Biol.* 2006;4(2):83-100. PMID:16808670. <http://dx.doi.org/10.1089/lrb.2006.4.83>
- Vignola AM, Paganin F, Capieu L, Scichilone N, Bellia M, Maakel L, et al. Airway remodelling assessed by sputum and high-resolution computed tomography in asthma and COPD. *Eur Respir J.* 2004;24(6):910-7. PMID:15572531. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.04.00032603>
- Hayashi T, Rush WL, Travis WD, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG, Ferrans VJ. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in pulmonary Langerhans' cell granulomatosis. *Arch Pathol Lab Med.* 1997;121(9):930-7. PMID:9302924.
- Fukuda Y, Kawamoto M, Yamamoto A, Ishizaki M, Basset F, Masugi Y. Role of elastic fiber degradation in emphysemalike lesions of pulmonary lymphangioleiomyomatosis. *Hum Pathol.* 1990;21(12):1252-61. [http://dx.doi.org/10.1016/S0046-8177\(06\)80039-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0046-8177(06)80039-0)
- Hayashi T, Fleming MV, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Moss J, Ferrans VJ, et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in pulmonary lymphangioleiomyomatosis (LAM). *Hum Pathol.* 1997;28(9):1071-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S0046-8177\(97\)90061-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0046-8177(97)90061-7)
- Moses MA, Harper J, Folkman J. Doxycycline treatment for lymphangioleiomyomatosis with urinary monitoring for MMPs. *N Engl J Med.* 2006;354(24):2621-2. PMID:16775248. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc053410>
- Pimenta SP, Baldi BG, Acencio MM, Kairalla RA, Carvalho CR. Doxycycline use in patients with lymphangioleiomyomatosis: safety and efficacy in metalloproteinase blockade. *J Bras Pneumol.* 2011;37(4):424-30. PMID:21881731. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000400003>
- Johnson SR, Cordier JF, Lazor R, Cottin V, Costabel U, Harari S, et al. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis and management of lymphangioleiomyomatosis. *Eur Respir J.* 2010;35(1):14-26. PMID:20044458. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00076209>

22. Rubin AS, Santana AN, Costa AN, Baldi BG, Pereira, CA, Carvalho CR, et al. Diretrizes de doenças pulmonares intersticiais da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. *J Bras Pneumol*. 2012;38(Suppl 2): S1-S133.
23. Pereira CA, Sato T, Rodrigues SC. New reference values for forced spirometry in white adults in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2007;33(4):397-406. PMID:17982531. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132007000400008>
24. Neder JA, Andreoni S, Castelo-Filho A, Nery LE. Reference values for lung function tests. I. Static volumes. *Braz J Med Biol Res*. 1999;32(6):703-17. PMID:10412549.
25. Neder JA, Andreoni S, Peres C, Nery LE. Reference values for lung function tests. III. Carbon monoxide diffusing capacity (transfer factor). *Braz J Med Biol Res*. 1999;32(6):729-37. PMID:10412551. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X1999000600008>
26. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(1):111-7. PMID:12091180.
27. Soares MR, Pereira CA. Six-minute walk test: reference values for healthy adults in Brazil. *J Bras Pneumol*. 2011;37(5):576-83. PMID:22042388. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000500003>
28. Zimmermann CS, Carvalho CR, Silveira KR, Yamaguti WP, Moderno EV, Salge JM, et al. Comparison of two questionnaires which measure the health-related quality of life of idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(2):179-87. PMID:17273654. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2006005000056>
29. Ciconelli RM, Ferraz MB, Santos W, Meinão I, Quaresma MR. Tradução para língua portuguesa e validação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). *Rev Bras Reumatol*. 1999;39:143-50.
30. Chang WY, Clements D, Johnson SR. Effect of doxycycline on proliferation, MMP production, and adhesion in LAM-related cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2010;299(3):L393-400. PMID:20581100. <http://dx.doi.org/10.1152/ajplung.00437.2009>
31. Moir LM, Ng HY, Poniris MH, Santa T, Burgess JK, Oliver BG, et al. Doxycycline inhibits matrix metalloproteinase-2 secretion from TSC2-null mouse embryonic fibroblasts and lymphangioleiomyomatosis cells. *Br J Pharmacol*. 2011;164(1):83-92. PMID:21418186 PMID:3171862. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01344.x>
32. Lee CZ, Xu B, Hashimoto T, McCulloch CE, Yang GY, Young WL. Doxycycline suppresses cerebral matrix metalloproteinase-9 and angiogenesis induced by focal hyperstimulation of vascular endothelial growth factor in a mouse model. *Stroke*. 2004;35(7):1715-9. PMID:15166398. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000129334.05181.b6>
33. Chung AW, Yang HH, Radoski MW, van Breemen C. Long-term doxycycline is more effective than atenolol to prevent thoracic aortic aneurysm in marfan syndrome through the inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9. *Circ Res*. 2008;102(8):e73-85. PMID:18388324. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.174367>
34. Steagall WK, Glasgow CG, Hathaway OM, Avila NA, Taveira-Dasilva AM, Rabel A, et al. Genetic and morphologic determinants of pneumothorax in lymphangioleiomyomatosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;293(3):L800-8. PMID:17616646. <http://dx.doi.org/10.1152/ajplung.00176.2007>
35. Yao JS, Shen F, Young WL, Yang GY. Comparison of doxycycline and minocycline in the inhibition of VEGF-induced smooth muscle cell migration. *Neurochem Int*. 2007;50(3):524-30. PMID:17145119 PMID:1876824. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2006.10.008>
36. Fainaru O, Adini I, Benny O, Bazinet L, Pravda E, D'Amato R, et al. Doxycycline induces membrane expression of VE-cadherin on endothelial cells and prevents vascular hyperpermeability. *FASEB J*. 2008;22(10):3728-35. PMID:18606869. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.08-110494>
37. Gilbertson-Beadling S, Powers EA, Stamp-Cole M, Scott PS, Wallace TL, Copeland J, et al. The tetracycline analogs minocycline and doxycycline inhibit angiogenesis in vitro by a non-metalloproteinase-dependent mechanism. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1995;36(5):418-24. PMID:7543375. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00686191>
38. Glasgow CG, Avila NA, Lin JP, Stylianou MP, Moss J. Serum vascular endothelial growth factor-D levels in patients with lymphangioleiomyomatosis reflect lymphatic involvement. *Chest*. 2009;135(5):1293-300. PMID:19420197 PMID:2818417. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.08-1160>
39. Young LR, Vandyke R, Gulleman PM, Inoue Y, Brown KK, Schmidt LS, et al. Serum vascular endothelial growth factor-D prospectively distinguishes lymphangioleiomyomatosis from other diseases. *Chest*. 2010;138(3):674-81. PMID:20382711 PMID:2940071. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.10-0573>
40. Chang WY, Cane JL, Blakey JD, Kumaran M, Pointon KS, Johnson SR. Clinical utility of diagnostic guidelines and putative biomarkers in lymphangioleiomyomatosis. *Respir Res*. 2012;13:34. PMID:22513045 PMID:3431996. <http://dx.doi.org/10.1186/1465-9921-13-34>
41. Johnson SR, Tattersfield AE. Decline in lung function in lymphangioleiomyomatosis: relation to menopause and progesterone treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160(2):628-33. PMID:10430739.

Sobre os autores

Suzana Pinheiro Pimenta

Pneumologista. Hospital A. C. Camargo, São Paulo (SP) Brasil.

Bruno Guedes Baldi

Médico Assistente. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Ronaldo Adib Kairalla

Professor Assistente. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

Carlos Roberto Ribeiro Carvalho

Professor Associado Livre-Docente. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.