

Influência da bromohexine sobre os níveis de lisozima da secreção lacrimal, o teste de rosa bengala e os sintomas oculares na síndrome de Sjögren

Golda Cencipers; Morton Aaron Scheinberg; Fábio Ikedo; Consuelo Bueno Diniz

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Sjögren é uma enfermidade inflamatória crônica multissistêmica, de provável etiologia auto-imune. Caracteriza-se pela presença de infiltrado mononuclear nas glândulas lacrimais e salivares¹² e glândulas mucossecretantes dos tratos gastrointestinal e respiratório e da vagina¹¹, decorrente de uma produção irrestrita de linfócitos B e auto-anticorpos, com conseqüente destruição tecidual, atrofia e hipofunção glandular¹².

Fatores genéticos e componentes hormonais já foram apontados como desencadeantes desta enfermidade¹².

Devido à disfunção das glândulas lacrimais e ao decréscimo da secreção da camada aquosa do filme lacrimal, manifesta-se a ceratoconjuntivite seca. Apresenta, como sinais, menisco lacrimal escasso, injeção pericorneal branda, irregularidade da imagem refletida sobre a córnea, aspecto embaçado da córnea e da conjuntiva bulbar, ceratitis punctata superficial na região interpalpebral, dilatação dos vasos bulbares conjuntivais e secreções viscosas e filamentosas endurecidas sobre a conjuntiva.

Os sintomas são referidos como ardência, sensação de arranhadura ou de corpo estranho, secura, fotofobia, vermelhidão, incapacidade de chorar em resposta às emoções, prurido, dificuldade em movimentar as pálpebras, principalmente ao abrir os olhos pela manhã, e secreções viscosas no canto nasal ou na pálpebra inferior¹².

Observa-se também diminuição de lisozima, enzima presente na camada aquosa do filme lacrimal¹², utilizada como teste quantitativo da secreção lacrimal de maior fidelidade^{9,10}.

Este quadro representa, em 21% dos casos, a forma inicial de aparecimento da síndrome¹¹. Em relação ao comprometimento salivar, instala-se a xerostomia.

Em 60% dos pacientes portadores da Síndrome de Sjögren, observa-se o aparecimento de conectivopatias autoimunes, entre as quais a artrite reumatóide (distúrbio

mais comum, presente em 25% dos pacientes), lupus eritematoso sistêmico, esclerodermia, poliarterite nodosa, polimiosite e miopatia¹². Também já foi relacionada com Tireoidite de Hashimoto e hemopatia crônica²⁰.

Acomete o sexo feminino em 86% dos casos, entre a 3.ª a 5.ª década de vida¹¹.

Pode-se observar a existência de duas formas clínicas distintas: 1 — Síndrome de Sjögren primária: caracterizada pela presença de ceratoconjuntivite seca e/ou xerostomia.

2 — Síndrome de Sjögren secundária: ceratoconjuntivite seca e/ou xerostomia associada a doença do tecido conjuntivo¹².

Instalado o quadro ocular, a evolução torna-se variável, desde a sensação de desconforto nos casos mais brandos, até a formação de erosões e ulcerações corneais com posterior infecção secundária e perfuração ocular¹¹.

Devido ao importante acometimento ocular causado pela Síndrome de Sjögren, vários tratamentos foram propostos, como o uso de medicações tópicas e sistêmicas, adaptação de lentes de contato hidrofílicas por tempo prolongado e procedimentos cirúrgicos, porém nenhuma medida mostrou-se ideal^{11,13}.

A Bromohexine, um derivado sintético da vasicina (derivado alcalóide da planta *Adhatoda vasica*⁵, tem demonstrado efeito estimulante sobre a secreção lacrimal nos pacientes com Síndrome de Sjögren¹⁻⁴.

O objetivo deste trabalho é avaliar a influência da bromohexine sobre a secreção lacrimal, através da dosagem de lisozima presente nesta secreção, o teste de rosa bengala e os sintomas oculares na Síndrome de Sjögren.

MATERIAL E MÉTODOS

A) Pacientes

Foram estudados 21 pacientes, encaminhadas pela Disciplina de Imunologia e Reumatologia do Instituto Arnaldo Vieira de

Trabalho realizado nas seguintes instituições: Disciplina de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, Disciplina de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina, Disciplina de Imunologia e Reumatologia do Instituto Arnaldo Vieira de Carvalho e Disciplina de Reumatologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Carvalho, Disciplina de Reumatologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, Disciplina de Oftalmologia da Escola Paulista de Medicina e Disciplina de Oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, com idades entre 13 a 86 anos (média = 50,7), do sexo feminino, portadoras de Síndrome de Sjögren primária (7 pacientes) ou secundária (14 pacientes), segundo critério de classificação baseado em Smolin e Lhoft²².

Foram estudados também 24 indivíduos normais, como grupo controle, não portadores de doença ocular ou sistêmica, com idades entre 22 e 83 anos (média = 43,0), 21 do sexo feminino e 3 do sexo masculino.

Das 14 pacientes portadoras de Síndrome de Sjögren secundária, dez apresentavam artrite reumatóide, uma lupus eritematoso sistêmico, uma esclerodermia, uma doença mista do tecido conectivo e uma conectivopatia indiferenciada.

Os critérios de seleção dos pacientes foram:

A) presença de sintomas oculares características da Síndrome de Sjögren.

B) ausência de uso de medicação tópica ocular.

C) ausência de outra doença ocular.

D) ausência de uso de medicação sistêmica, com exceção daquelas já utilizadas pelos pacientes portadores de Síndrome de Sjögren secundária, as quais foram mantidas em doses habituais constantes.

E) comprovação clínica e laboratorial de doença do tecido conjuntivo nos pacientes com Síndrome de Sjögren secundária.

F) teste de rosa bengala positivo, segundo critério estabelecido por Van Bijsterveld⁹.

G) consentimento dos pacientes para emprego da droga, após explicação do objetivo deste trabalho.

B) Materiais

— placebo (talco): um comprimido por dia

— bromohexine: um comprimido de 48 mg por dia

— colírio de rosa bengala a 1%

— lâmpada de fenda Haag-Streit

— discos de Petri contendo solução de PBS com $\text{ph} = 6,3$, acrescido de agarose a 1,5% (56°C) e suspensão de *Micrococcus lysodeikticus* (50 mg/100 ml).

C) Método

As pacientes selecionadas foram tratadas durante dois períodos consecutivos de 3 semanas (21 dias), durante os quais se administraram placebo (um comprimido por dia) e bromohexine (um comprimido de 48 mg

por dia), pela manhã, em ordem consecutiva, de acordo com estudo cego. Os comprimidos apresentavam aspecto semelhante entre si.

Foram submetidas a exames, incluindo a análise dos sintomas oculares, teste de rosa bengala e dosagem de lisozima na secreção lacrimal, no dia antecedente ao início do tratamento e no dia consecutivo ao término do uso do placebo (22.º dia) e da bromohexine (44.º dia), realizados no período diurno.

Teste de rosa bengala

O teste foi realizado instilando-se uma gota do colírio de rosa bengala a 1% no fórnice inferior de cada olho, sem anestesia prévia, observando-se a seguir, através da lâmpada de fenda Haag-Streit sobre iluminação focal direta, a coloração das células em sofrimento na conjuntiva nasal e temporal e na córnea.

Para cada uma destas 3 áreas foram dados pontos que variaram de 1 a 3 (segundo critério subjetivo do observador), de acordo com a intensidade de células coradas. Um total acima de 4 pontos foi considerado indicativo de ceratoconjuntivite seca⁹.

Lisozima

A colheita da secreção lacrimal, para posterior dosagem de lisozima, foi realizada através de um microcapilar de hematócrito introduzido no fórnice inferior do globo ocular, sem estímulo físico ou químico prévio.

A dosagem foi obtida segundo o método descrito por Osserman e Lawlor¹⁴ com modificações: utilizamos uma solução contendo PBS (phosphate buffered saline) com $\text{ph} = 6,3$, acrescido de agarose a 1,5% (56°C) e suspensão de *Micrococcus lysodeikticus* (50 mg em 100 ml), a qual foi colocada em discos de petri alcançando 4 mm de profundidade.

A secreção lacrimal dispersa sobre o meio de cultura foi mantida durante 6 horas à temperatura ambiente (24-26°C), obtendo assim a atividade de lisozima expressa em $\mu\text{g/ml}$.

Diluições padrões de EWL (egg-white lysozyme) foram feitas, determinando uma curva padrão, onde o logaritmo do diâmetro das zonas de lise eram proporcionais ao logaritmo da concentração de lisozima.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do teste não paramétrico de Friedman ($P < 5\%$ para avaliação da lisozima e $20 < P < 30\%$ para avaliação do teste de rosa bengala).

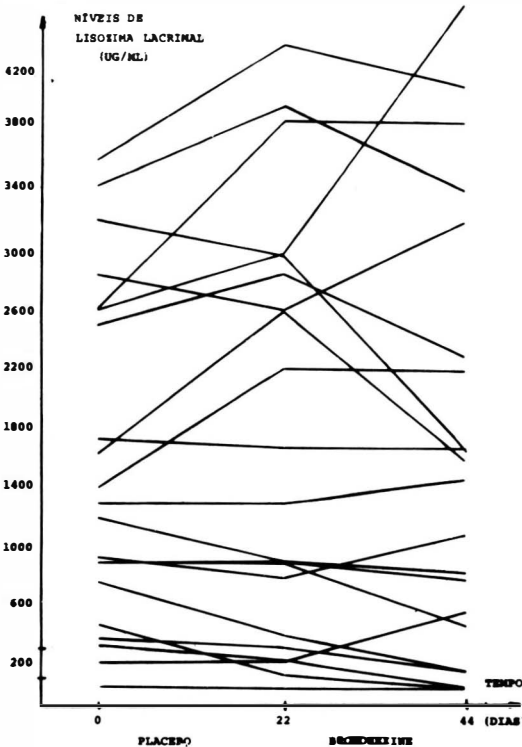
RESULTADOS

Os resultados obtidos encontram-se expressos a seguir:

O nível de lisozima lacrimal (ug/ml) encontrado nos indivíduos normais (grupo controle), apresentou média = 3.789 ± 1.439 (ug/ml).

O gráfico I, demonstra os valores de lisozima lacrimal nas pacientes com Síndrome de Sjögren antes do tratamento e após o uso do placebo e da bromohexine. A análise estatística foi realizada através do teste de Friedman, em que T crítico (5%) = 35. Obtivemos T = 97 (diferença não significativa). Nos 3 momentos estudados (0, 22., 44.º dia) encontramos média igual a 1.623 ± 1.127 (0 dia), 1.785 ± 1.420 (22.º dia) e 1.685 ± 1.462 (44.º dia).

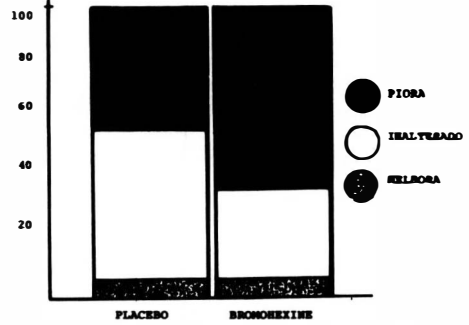
Gráfico I — Valores dos níveis de lisozima na secreção lacrimal (UG/ML) em pacientes portadoras de síndrome de Sjögren primária e secundária, antes e após administração de placebo e após administração de bromohexine.



No gráfico II, observamos a evolução dos sintomas oculares nas pacientes com Síndrome de Sjögren, após o uso do placebo e da bromohexine. Das 21 pacientes estudadas, uma apresentou piora dos sintomas, nove apresentaram melhora e sete não mostraram alteração após o uso de am-

bas as medicações. Apenas 4 pacientes apresentaram melhora dos sintomas após o uso da bromohexine, das quais 3 eram portadoras de Síndrome de Sjögren secundária e uma de Síndrome de Sjögren primária.

Gráfico II — Evolução dos sintomas oculares após uso de placebo e bromohexine em pacientes portadoras de Síndrome de Sjögren.



A tabela I mostra os valores obtidos no teste de rosa bengala nas pacientes portadoras de Síndrome de Sjögren, antes do tratamento e após o uso do placebo (22.º dia) e da bromohexine (44.º dia). A análise estatística foi realizada através do teste de Friedman, em que T crítico = $20 < P < 30\%$. Encontramos T = 2,6 (diferença não significativa).

TABELA I

Valores do teste de rosa bengala em pacientes portadoras de síndrome de Sjögren, antes e após administração de placebo e após administração de bromohexine

Pacientes	Pré-placebo (0 dia)	Pós-placebo (22.º dia)	Pós-bromohexine (44.º dia)
1	5	5	2
2	4	4	5
3	4	6	4
4	4	4	4
5	8	7	8
6	5	3	4
7	4	3	3
8	5	4	5
9	9	8	7
10	8	9	8
11	6	8	8
12	5	5	3
13	4	4	4
14	5	4	5
15	6	6	6
16	5	4	5
17	4	4	4
18	8	9	8
19	6	5	4
20	4	3	3
21	5	4	4
X	5.42	5.19	4.95
md	5	4	4

T crítico = $20 < P < 30\%$
T = 2.6

X = média
md = mediana

COMENTARIOS

As pacientes com Síndrome de Sjögren incluídas neste trabalho apresentaram mé-

dia de idade e quadro clínico e laboratorial coincidentes com observado na literatura nacional e internacional ¹¹.

Embora casualmente, a totalidade das pacientes estudadas foi do sexo feminino, confirmando a elevada incidência desta Síndrome nas mulheres ¹¹.

Constatamos alta associação de artrite reumatóide com Síndrome de Sjögren secundária, confirmando os dados fornecidos pela literatura ¹².

Excluímos pacientes usuários de medicação tópica ocular, pois várias drogas como atropina, anestésicos e beta bloqueadores (timolol) levam à diminuição da secreção lacrimal ⁶.

Foram excluídos também pacientes usuários de drogas sistêmicas, pois sabe-se que diversas destas podem reduzir a secreção lacrimal, tais como colinérgicos, antihistamínicos, anestésicos, fenotiazídicos, agentes alfa bloqueadores, psicotrópicos, diuréticos, sulfonamidas etc. ⁶. As pacientes com Síndrome de Sjögren secundária, entretanto, não tiveram suspensão a medicação geral por serem portadoras de conectivopatias para a qual era necessária a manutenção das drogas em doses habituais constantes.

Não incluímos pacientes portadores de doença ocular externa, pois alterações no segmento externo ocular acarretam alteração do filme lacrimal e/ou do epitélio corneal ¹¹. Pacientes glaucomatosos também foram excluídos, por terem sido submetidos a cirurgias oculares prévias ou serem usuários de colírios, podendo, desta forma apresentar alterações no filme lacrimal ou epitélio corneal ⁶.

Utilizamos, em ordem consecutiva, placebo e bromohexine, por não ser conhecido o tempo necessário para a metabolização da bromohexine no organismo humano.

Bromohexine é um agente mucolítico usado no tratamento de bronquite crônica, por proporcionar aumento da quantidade de secreção bronquial e redução de sua viscosidade, provavelmente pela despolimerização de mucopolissacarídes das fibras protéicas de alto peso molecular ⁵.

Estudos recentes demonstram o efeito benéfico desta droga na Síndrome de Sjögren ¹⁻⁴, porém o mecanismo pelo qual a bromohexine altera a secreção lacrimal é desconhecido.

Administramos 48 mg de bromohexine por dia, dosagem considerada suficiente para sua ação máxima ¹, durante 3 semanas, período coincidente com a maioria dos trabalhos antecedentes ^{1,2}.

Langlands ¹⁵, estudando o efeito da bromohexine em pacientes com bronquite crônica, constatou que até 72 horas após a suspensão da droga, observa-se efeito tera-

péutico semelhante ao encontrado durante a sua administração.

Efeitos colaterais ao uso da droga têm sido reportados, como diarréia, gastralgia, borborigmas e aumento da secreção bronquial ². Nenhuma paciente em nosso trabalho apresentou tais efeitos.

A fim de realizar nosso estudo, elegemos como parâmetros para diagnóstico dos pacientes portadores de ceratoconjuntivite seca e avaliação da eficácia do tratamento a observação do nível de lisozima da secreção lacrimal, teste de rosa bengala e sintomas oculares. Não utilizamos o teste de Schirmer devido à grande variabilidade dos seus resultados e à possibilidade de erro diagnóstico através de sua interpretação ^{9,10}.

Lisozima é uma enzima que cataliza a despolimerização de mucopolissacarídes da parede celular do *Micrococcus lysodeikticus*. Diversos trabalhos demonstram ser a lisozima o padrão mais fiel para avaliação de pacientes com ceratoconjuntivite seca, através de sua análise quantitativa na secreção lacrimal ^{9,10}, podendo desse modo ser utilizado para avaliar a eficácia do tratamento com medicações que alterem a secreção lacrimal.

Esta enzima encontra-se diminuída na Síndrome de Sjögren, porém a causa deste decréscimo ainda é discutida ⁸.

Os valores quantitativos de lisozima encontrados variam segundo o método utilizado para a sua dosagem. Utilizamos o método descrito por Osserman e Lawlor ¹⁴, com modificações, realizado tanto no grupo controle quanto nos pacientes com Síndrome de Sjögren, a fim de evitar erros na análise dos dados.

Variáveis que possivelmente pudessem alterar o nível de lisozima lacrimal, com sexo, raça, tabagismo, condições ambientais, horário de colheita e variações em relação a olhos direitos e esquerdos foram consideradas estatisticamente insignificantes, de acordo com alguns autores ⁸.

Em relação à idade, as opiniões são controversas. Alguns autores demonstraram que a idade não altera o nível de lisozima lacrimal, porém outros observaram variações abaixo dos 20 e acima dos 60 anos ⁷. Van Bijsterveld reportou que a ação da idade sobre o teste de lisozima era significativa, porém a diferença expressa em mm de lise era muito pequena ⁹.

Em geral, a secreção lacrimal diminui paralelamente ao aumento da idade, afetando o nível de lisozima presente ^{7,10}. Eliminamos a possibilidade de erro diagnóstico visto compararmos 2 grupos (controle e pacientes com Síndrome de Sjögren) que apresentavam distribuição etária semelhante.

Quanto ao teste de rosa bengala, considera-se que valores acima de 3.5 reduzem a chance de erro diagnóstico para 4%⁹ ou 5%¹⁰, razão pela qual estabelecemos como critério diagnóstico a presença de 4 pontos, de acordo com Van Bijsterveld¹⁰.

Nossos resultados foram analisados segundo testes não paramétricos porque as variáveis não apresentaram distribuição normal.

Observamos melhora nos sintomas oculares das pacientes estudadas, porém em pequena proporção (19%). A maioria das pacientes apresentou melhora dos sintomas com ambas as medicações, motivo pelo qual não podemos considerar que a bromohexine tenha exercido influência significativa nesse fato.

O teste de rosa bengala não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os dois tratamentos, o que coincide com a observação de outros autores^{1,2}.

Devemos mencionar que a análise da secreção lacrimal nos demais trabalhos¹⁻⁴ foi baseada no teste de Schirmer, o qual é considerado um método de extrema variabilidade^{9,10}. Em nosso trabalho, utilizamos a dosagem de lisozima, padrão mais fiel^{9,10}, para avaliação quantitativa da secreção lacrimal¹³.

Nahir, Scharf, Ben Aryeh & cols⁴ observaram aumento da secreção lacrimal em 25% dos pacientes, porém estes eram usuários de medicação tópica ocular, o que possibilita alteração nos testes aplicados e nos resultados obtidos.

Frost-Larsen, Isager, Manthorpe, Prause & cols.^{1,2}, em seus trabalhos, dosaram a lisozima lacrimal, considerando-a como padrão de eficácia do tratamento, concluindo que não ocorre alteração na composição protéica do filme lacrimal.

Nahir, Scharf, Obedeau & cols.³ concluíram, em outro trabalho, que a bromohexine apresenta pequena influência sobre a secreção lacrimal, utilizando o teste de Schirmer para tal avaliação.

Em relação ao nível de lisozima lacrimal, não obtivemos diferença estatisticamente significativa após o uso do placebo ou da bromohexine.

AGRADECIMENTOS

— Ao Prof. Dr. Carlos Ramos de Souza-Dias, chefe da disciplina de oftalmologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

— A Dra. Marilda da Silva Guedes, pela orientação estatística.

— A Farmácia Drogamérica, pela formulação e cessão das medicações.

RESUMO

Foram estudadas, em 21 pacientes portadoras de Síndrome de Sjögren primária ou secundária, a influên-

cia da bromohexine sobre os níveis de lisozima da secreção lacrimal, teste de rosa bengala e sintomas oculares.

Realizamos estudo cego com administração de placebo (um comprimido por dia) e bromohexine (um comprimido de 48 mg por dia), durante 2 períodos consecutivos de 3 semanas (21 dias), com avaliações do nível de lisozima lacrimal, sintomas oculares e teste de rosa bengala no dia antecedente ao início do tratamento e após o uso de placebo (22.º dia) e de bromohexine (44.º dia).

Não houve influência estatisticamente significativa da bromohexine sobre os parâmetros analisados.

SUMMARY

It have been studied on 21 patients with primary or secondary Sjögren's Syndrome, the influence of bromohexine about the tear lysozyme levels, rose-bengal test and ocular symptoms.

It have been done blind crossover with ministratíon of placebo (one drug daily) and bromohexine (one drug of 48 mg daily) during 2 consecutive periods of 3 weeks (21 days) with avaliations of the tear lyszyme level, ocular symptoms and rose-bengal test, of the day before treatment starting and after using placebo (22.º day) and bromohexine (44.º day).

There was no significant difference (influence) of bromohexine on the analyzed parameters.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FROST-LARSEN, K.; ISAGER, H. & MANTHORPE, R. — Sjögren's syndrome treated with bromohexine: a randomised clinical study. *Br Med J.* 1: 1579-81, 1978.
2. FROST-LARSEN, K.; ISAGER, H.; PRAUSE, J. U. & cols. — Lacrimal and salivary secretion in Sjögren's syndrome: the effect of systemic treatment with bromohexine. *Acta. Ophthal.* 62: 487-97, 1984.
3. NAHIR, M.; SCHARF, J. M.; OBEDEANU, N. & cols. — Influence of bromohexine on tear lysozyme level in Keratoconjunctivitis sicca. *Am. J. Ophthal.* 92: 21-3, 1981.
4. NAHIR, A. M.; SCHARF, Y.; BEN-ARYEH, H. & cols. — Effect of prolonged bromohexine therapy on Sjögren's syndrome. *Isr J. Med. Sci.* 17: 403-6, 1981.
5. Today's drugs: mucolytic agents. *Br Med. J.* 2: 581-2, 1971.
6. THORIG, L.; HALPERIN, M. & HAERINGEN, N. J. — Cotton-treat tear test: an experimental study for testing suspected of side effects on lacrimation. *Docum. Ophthal.* 58: 307-15, 1984.
7. HENDERSON, J. W. & PROUGH, W. A. — Influence of age and sex on flow of tears. *Arch. Ophthalmol.* 43: 224-31, 1950.
8. PIETSCH, R. L. & PEARLMAN, M. E. — Human tear lysozyme variables. *Arch. Ophthalmol.* 90: 94-6, 1973.
9. VAN BIJSTERVELD, O. P. — Diagnostic test in the sicca syndrome. *Arch. Ophthalmol.* 82: 10-4, 1969.
10. VAN BIJSTERVELD, O. P. — Queratoconjunctivitis sicca. *Conceptos actuales. Investigación Médica Internacional.* 6: 125-31, 1979.
11. GRAYSON, M. — Enfermedades de la córnea. Pág. 310-6 e 362-4, 1985.
12. ABREU, M.; ABREU, R. B. & ABREU, G. B. — Síndrome de Sjögren. *Arq. IPB.* 28: 47-53, 1986.
13. LEOPOLD, I. H. — O olho seco — Testes diagnósticos e tratamento. *Monografia II. Office Seminars in Ophthalmology.* 1984.
14. OSSERMAN, E. F. & LAWLOR, B. P. — Serum and urinary lysozyme (muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. *J. Exp. Med.* 124: 921-51, 1966.
15. LANGLANDS, J. H. M. — Double-blind of bromohexine as a mucolytic drug in chronic bronchitis. *Lancet.* 1: 448-50, 1970.