



Antígeno carboidrato 15-3 como marcador de gravidade da doença em pacientes com pneumonite de hipersensibilidade crônica

Paula Silva Gomes¹, Maria Raquel Soares¹,
Maria Fernanda Munhoz Lages Marchenta²,
Gustavo de Souza Portes Meirelles², Rimarcs Gomes Ferreira³,
André Bezerra Botelho¹, Rafaela Boaventura Martins¹,
Carlos Alberto de Castro Pereira¹

1. Disciplina de Pneumologia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP) Brasil.
2. Departamento de Radiologia, Grupo Fleury, São Paulo (SP) Brasil.
3. Disciplina de Patologia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP) Brasil.

Recebido: 26 novembro 2020.
Aprovado: 4 fevereiro 2021.

Trabalho realizado no Hospital São Paulo, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

RESUMO

Objetivo: Biomarcadores associados à mucina-1, tais como Krebs von den Lungen-6 e *carbohydrate antigen* (CA, antígeno carboidrato) 15-3, encontram-se aumentados em diversas doenças pulmonares intersticiais. Nosso objetivo foi determinar se CA 15-3 poderia ser considerado um biomarcador de gravidade de doença em pacientes com pneumonite de hipersensibilidade crônica (PHc). **Métodos:** Estudo prospectivo observacional envolvendo pacientes adultos com PHc. Os níveis séricos de CA 15-3 foram medidos e correlacionados com variáveis relacionadas à gravidade e extensão da doença. As imagens de TCAR foram analisadas quantitativamente utilizando uma plataforma computacional e uma ferramenta de análise de imagem (*Computer-Aided Lung Informatics for Pathology Evaluation and Rating*). Os níveis de CA 15-3 foram normalizados por transformação logarítmica. **Resultados:** A amostra foi composta por 41 pacientes. A média de idade dos pacientes foi de 60,1 ± 11,6 anos. A média da CVF em % do previsto foi de 70,3% ± 17,3%, e a mediana do nível sérico de CA 15-3 foi de 48,1 U/mL. Os níveis de CA 15-3 se correlacionaram inversamente com CVF em % do previsto ($r = -0,30$; $p = 0,05$), DLCO em % do previsto ($r = -0,54$; $p < 0,01$) e SpO₂ ao final de um teste de degrau de 4 minutos ($r = -0,59$; $p < 0,01$), mas se correlacionaram diretamente com a pontuação quantitativa total da TCAR ($r = 0,47$; $p = 0,004$), especialmente quanto a opacidades em vidro fosco ($r = 0,58$; $p < 0,001$). **Conclusões:** É provável que o CA 15-3 seja um biomarcador de gravidade de doença em pacientes com PHc, particularmente quanto a anormalidades nas trocas gasosas.

Descritores: Antígenos glicosídicos associados a tumores; Alveolite alérgica extrínseca; Biomarcadores; Doenças pulmonares intersticiais.

INTRODUÇÃO

A pneumonite por hipersensibilidade (PH) é uma doença pulmonar intersticial (DPI) causada pela inalação de antígenos, principalmente os orgânicos. A classificação atual diferencia a PH em fibrótica e não fibrótica.^(1,2) O diagnóstico de PH crônica (PHc) tem implicações prognósticas e terapêuticas.^(2,3)

Um biomarcador capaz de detectar atividade e gravidade da doença pode ser útil na PHc. Krebs von den Lungen-6 (KL-6) é um epítipo da mucina-1 (MUC1). O KL-6 é uma glicoproteína de membrana codificada pelo gene *MUC1* e expressa na superfície das células epiteliais do pulmão.⁽⁴⁾ O KL-6 é um biomarcador importante de diversas DPIs; no entanto, ensaios de quantificação de KL-6 não estão disponíveis na maioria dos países.⁽⁵⁾ O antígeno de carboidrato (CA, do inglês *carbohydrate antigen*) 15-3 também é um epítipo de mucina, mas, diferentemente do KL-6, ensaios de quantificação de CA 15-3 estão amplamente disponíveis. Os níveis de CA 15-3 se correlacionam com o KL-6 nas DPIs, incluindo

um subgrupo de pacientes com PH.⁽⁶⁻⁸⁾ Além disso, os níveis de CA 15-3 se correlacionam com a extensão da doença na TCAR em pacientes com DPI associada à esclerose sistêmica.⁽⁹⁾

O objetivo do presente estudo foi determinar o papel do CA 15-3 como biomarcador de gravidade da doença em pacientes com PHc. Avaliamos se os níveis de CA 15-3 se correlacionariam com a extensão da doença com base na percepção de dispneia, função pulmonar, SpO₂ após o exercício e TCAR.

MÉTODOS

Este foi um estudo prospectivo observacional envolvendo pacientes consecutivos com PHc que procuraram atendimento médico em um hospital universitário localizado na cidade de São Paulo (SP) entre dezembro de 2015 e outubro de 2017.

Todos os pacientes foram submetidos a espirometria e medida da DLCO, e os resultados foram comparados

Endereço para correspondência:

Paula Gomes. Universidade Federal de São Paulo, Rua Napoleão de Barros, 715, CEP 04024-002, São Paulo, SP, Brasil.
Tel.: 55 11 5539-1093. E-mail: paulasgomes1979@gmail.com
Apoio financeiro: Nenhum.

a valores de referência.^(10,11) A SpO₂ foi medida em repouso e ao final de um teste de degrau de 4 minutos (SpO₂-Ex).⁽¹²⁾ Foram registrados os resultados da ecocardiografia transtorácica e da TCAR, bem como os níveis séricos de CA 15-3 (Elecsys CA 15-3; Roche Diagnostics, Rotkreuz, Suíça) e a percepção de dispneia medida pela escala modificada do *Medical Research Council* (mMRC) e pela escala de Mahler.^(13,14) O valor de referência para o CA 15-3 sérico utilizando o ensaio Elecsys CA 15-3 é de < 26,4 U/mL.⁽¹⁵⁾

Os critérios de inclusão foram os seguintes: idade ≥ 18 anos e diagnóstico de PHc segundo os critérios propostos por Salisbury et al.⁽²⁾ para PH provável. Distribuição axial da doença na TCAR foi adicionada como achado tomográfico sugestivo.⁽¹⁶⁾ A PH foi classificada como crônica na presença de sintomas ou de evidências radiológicas da doença por pelo menos 3 meses. A PH foi classificada como fibrótica ou não fibrótica de acordo com a presença de achados indicativos de fibrose na TCAR.⁽¹⁾ Foram realizadas broncoscopia, lavagem broncoalveolar, biópsia pulmonar transbrônquica (BTB) e/ou biópsia pulmonar cirúrgica (BPC), levando-se em conta as contraindicações, caso não se chegasse ao diagnóstico definitivo pelos métodos supracitados.⁽¹⁷⁾

Os critérios de exclusão foram os seguintes: tabagismo atual; outras causas potenciais de DPI; SpO₂ em repouso < 89%; incapacidade de realizar espirometria e medida da DLCO; câncer de mama, câncer de cólon, doença pancreática, hepatite, cirrose hepática ou sintomas de doença do refluxo gastroesofágico; e mudança de diagnóstico durante o acompanhamento.

Classificamos a PH como ativa ou inativa. A PH foi considerada ativa se houvesse piora da dispneia ou diminuição significativa da CVF (≥ 10% em relação aos valores basais) ou da DLCO (≥ 15% em relação aos valores basais) nos últimos 6-12 meses antes da inclusão no estudo. Melhora ou estabilidade na percepção de dispneia e nos parâmetros de função pulmonar indicava PH inativa.

Todas as imagens de TCAR foram adquiridas utilizando colimação de 1 mm, sendo os achados definidos segundo as recomendações da Sociedade Fleischner.⁽¹⁸⁾ A análise quantitativa das imagens de TCAR foi realizada utilizando uma plataforma computacional (Lung Texture Analysis [LTA]; Imbio, Minneapolis, MN, EUA) e uma ferramenta de análise de imagem (*Computer-Aided Lung Informatics for Pathology Evaluation and Rating* [CALIPER]; Imbio). A plataforma LTA fornece uma quantificação detalhada de texturas por região pulmonar e é capaz de identificar com precisão DPIs e outras condições fibróticas (tais como faveolamento, opacidades reticulares e opacidades em vidro fosco), bem como áreas hipertransparentes e parênquima pulmonar normal. Uma pontuação total pode ser calculada.⁽¹⁹⁾

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (Protocolo n. 2,391,623). Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Análise estatística

As variáveis contínuas foram expressas como médias e desvios-padrão ou como medianas e intervalos interquartis. As variáveis categóricas foram descritas como frequências absolutas e relativas.

Como os níveis de CA 15-3 apresentaram distribuição não paramétrica, os valores foram transformados em logaritmos naturais que se ajustaram para distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk). Em seguida, o teste de correlação de Pearson foi utilizado para correlacionar os níveis séricos de CA 15-3 com as variáveis de função pulmonar, e os coeficientes de correlação de Spearman foram utilizados para correlacionar os níveis séricos de CA 15-3 com as pontuações na escala de Mahler e com as pontuações da TCAR derivadas do programa CALIPER. Utilizamos ANOVA seguida pelo teste de Tukey para comparar os níveis séricos de CA 15-3 com as pontuações na escala mMRC. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa IBM SPSS Statistics, versão 21.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA).

RESULTADOS

A amostra inicial foi composta por 52 pacientes diagnosticados com PHc: 9 e 2 foram excluídos antes do início do estudo e durante o período de estudo, respectivamente. Desses 2 pacientes, 1 apresentou rápida progressão da doença, e os achados anatomopatológicos obtidos por meio de BPC revelaram pneumonia intersticial usual, sendo o diagnóstico final fibrose pulmonar idiopática (FPI); e 1 foi diagnosticado com doença do tecido conjuntivo durante o acompanhamento (Figura 1). Portanto, 41 pacientes foram incluídos na análise final. As características basais da amostra final são apresentadas na Tabela 1. No momento da avaliação inicial, 29 pacientes (70,7%) não haviam recebido nenhum tratamento.

Todos os pacientes foram expostos a antígenos inaláveis, sendo mofo e pássaros os tipos mais frequentes de antígeno, e apresentavam sintomas respiratórios. Treze pacientes (31,7%) foram expostos tanto a mofo quanto a pássaros. Dos 41 pacientes, em relação à admissão no estudo, 22 (53,7%) e 19 (46,3%) haviam tido exposição a antígeno recente e anterior, respectivamente.

Na amostra total, 13 (31,7%) e 28 (68,3%) dos pacientes, respectivamente, apresentavam um e dois ou mais achados tomográficos sugestivos de PHc. Características indicativas de fibrose na TCAR estavam presentes em 28 (68,3%) dos pacientes.

Dos 41 pacientes, 4 (9,8%) tinham diagnóstico definitivo de PHc e não precisaram ser submetidos a nenhum outro método diagnóstico; 23 (56,1%) e 14 (34,1%) foram submetidos a BTB e BPC, respectivamente. Entre os que foram submetidos a BTB, encontrou-se aumento de linfócitos no lavado broncoalveolar (> 20%) em 15 pacientes.

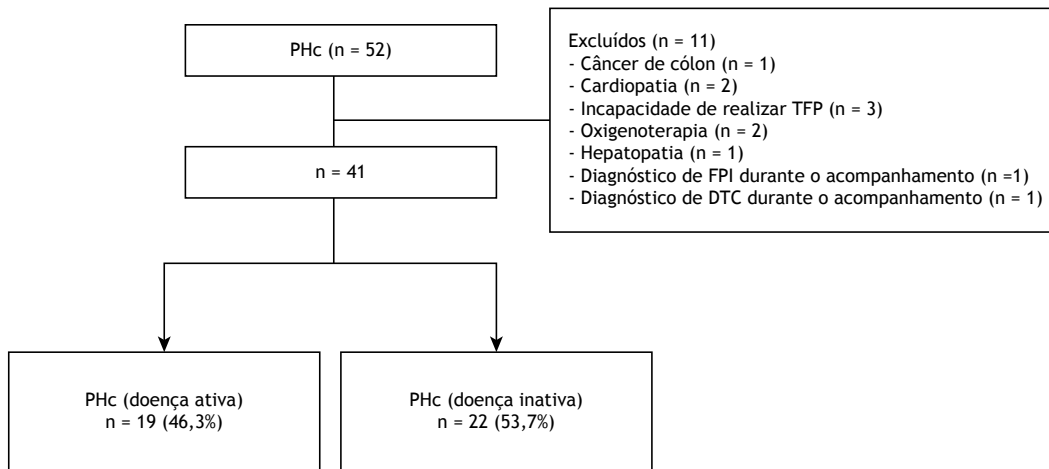


Figura 1. Fluxograma do processo de seleção do estudo. PHc: pneumonite de hipersensibilidade crônica; TFP: teste de função pulmonar; FPI: fibrose pulmonar idiopática; e DTC: doença do tecido conjuntivo.

Tabela 1. Características basais dos pacientes estudados.^a

Características	(N = 41)
Idade, anos	60,1 ± 11,6
Sexo feminino	30 (73,2)
Status tabágico	
Não fumante	26 (63,4)
Ex-fumante	15 (36,6)
Linfócitos no LBA, %	24 [4-76]
Linfócitos no LBA > 20% ^b	13 (59)
CVF, % do previsto	70,3 ± 17,3
DLCO, % do previsto	54,5 ± 19,0
Pontuação na escala mMRC	2 [1-3]
Pontuação na escala de Mahler	7 [5-8]
SpO ₂ em repouso	96 [93,5-97,0]
SpO ₂ -Ex	88 [83,5-92,5]
CA 15-3 sérico, U/mL	48,1 [26,9-83,6]
Achados de TCAR	
Indicativos de fibrose	28 (68,3)
Opacidades em vidro fosco	36 (87,8)
Nódulos centrolobulares	10 (24,4)
Faveolamento	11 (26,8)
Enfisema	13 (31,7)
Bronquiectasias de tração	25 (60,9)
Bronquiolectasias	21 (51,2)
Aprisionamento aéreo	27 (65,8)
Distribuição axial	24 (58,5)
Doença predominante nos lobos superiores	2 (4,9)
Tratamento farmacológico no momento da inclusão	
Nenhum	29 (71)
Prednisona	9 (22)
Imunossupressor ^c	3 (7)

mMRC: modificada do *Medical Research Council*; SpO₂-Ex: SpO₂ medida ao final de um teste de degrau de 4 minutos; e CA: *carbohydrate antigen* (antígeno de carboidrato). ^aValores expressos em forma de n (%), média ± dp ou mediana [IIQ]. ^bn = 22. ^cAssociado a prednisona em 2 pacientes.

As biópsias revelaram achados diagnósticos de PH ou compatíveis com PH em 19 dos 37 pacientes (51%): PH clássica, em 6 (2 por BTB e 4 por BPC); achados indicativos de lesão bronquiolar (bronquiolite obliterante, metaplasia peribronquiolar ou aprisionamento aéreo), em 10 (3 por BTB e 7 por BPC); e fibrose intersticial centrada nas vias aéreas, em 3 (por BPC). Apenas um paciente apresentava padrão de pneumonia intersticial usual, mas esse padrão estava associado a outros achados típicos de PH.

A mediana dos níveis séricos de CA 15-3 foi de 48,1 U/mL, variando de 13,2 U/mL a 228,7 U/mL. Na amostra total, 22 e 19 pacientes apresentavam PHc inativa e ativa, respectivamente, sendo que as médias dos logaritmos naturais dos níveis séricos de CA 15-3 foram de 3,65 ± 0,64 e 4,20 ± 0,77 (t = 2,48; p = 0,02). Utilizando a curva ROC e transformação logarítmica antinormal, o melhor ponto de corte foi 51,3 U/mL.

A exposição ambiental precedeu os sintomas em todos os casos. Não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de CA 15-3 entre os grupos que tiveram exposição ambiental recente e anterior (dados não apresentados). Vinte e sete pacientes conseguiram evitar a exposição ambiental, o que resultou em melhora clínica em 21 pacientes (mas não em 6), 12 permaneceram expostos, e essa informação foi considerada incerta em 2. Quando comparamos os pacientes que permaneceram expostos a antígenos mais os que evitaram a exposição mas não mostraram melhora clínica (n = 18) com os que evitaram a exposição ambiental e apresentaram melhora clínica (n = 21), os níveis de CA 15-3 foram menores no último grupo (4,241 ± 0,780 U/mL vs. 3,602 ± 0,634 U/mL; t = 2,82; p < 0,01). A curva ROC mostrou que o melhor ponto de corte entre os dois grupos foi 55,3 U/mL.

Não foram encontradas diferenças nos níveis de CA 15-3 entre os não fumantes e os ex-fumantes (dados não apresentados). Além disso, os níveis de CA 15-3 eram semelhantes entre os pacientes que não haviam

recebido nenhum tratamento até o momento da avaliação inicial ($n = 29$) e os que haviam sido tratados ($n = 12$): $3,97 \pm 0,78$ U/mL vs. $3,76 \pm 0,68$ U/mL ($p = 0,40$).

Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os níveis de CA 15-3 e as pontuações na escala mMRC ($Z = 5,45$; $p < 0,01$). O teste de Tukey mostrou que também houve uma diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com pontuação = 3 na escala mMRC e os com pontuação = 1-2 nessa escala ($p < 0,05$; dados não apresentados). Houve uma correlação inversa significativa, mas fraca, entre a percepção de dispnéia medida pela escala de Mahler e os níveis de CA 15-3 ($r_s = -0,31$; $p = 0,04$). Não foram encontradas diferenças quanto a CVF em % do previsto (CVF%), DLCO em % do previsto (DLCO%) e SpO_2 -Ex entre os não fumantes e os ex-fumantes (dados não apresentados).

Houve uma correlação negativa significativa entre os níveis séricos de CA 15-3 e a CVF% ($r = -0,30$; $p = 0,05$), a DLCO% ($r = -0,54$; $p < 0,01$) e a SpO_2 -Ex ($r = -0,59$; $p < 0,01$; Figura 2).

Não houve diferenças significativas nos níveis de CA 15-3 entre pacientes com ($n = 28$) e sem ($n = 13$) achados indicativos de fibrose na TCAR ($4,015 \pm 0,711$ U/mL vs. $3,681 \pm 0,808$ U/mL; $p = 0,19$).

Segundo análise com o programa CALIPER, houve uma correlação estatisticamente significativa entre os níveis de CA 15-3 e as seguintes pontuações de TCAR: total de opacidades em vidro fosco, total de faveolamento, pontuação total de fibrose (isto é, total de opacidades reticulares mais faveolamento) e pontuação total (Tabela 2 e Figura 3). A correlação entre os níveis séricos de CA 15-3 e a quantificação do total de opacidades em vidro fosco com o programa CALIPER é apresentada na Figura 3.

DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que, em pacientes com PHc, há uma correlação inversa dos níveis séricos de CA 15-3 com CVF%, DLCO% e SpO_2 -Ex, bem como

há uma correlação direta desses níveis de CA 15-3 com a extensão da doença na TCAR, especialmente a relacionada à quantificação de opacidades em vidro fosco. Há diversos achados histopatológicos relacionados à PH.⁽²⁰⁻²²⁾ No presente estudo, utilizamos os critérios propostos por Salisbury et al.⁽²⁾ para o diagnóstico de PH.

Um biomarcador é definido como "uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, de processos patogênicos ou de respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica".⁽²³⁾ Vários biomarcadores têm sido estudados nas DPIs, especialmente na FPI, e podem fornecer informações sobre o curso da doença.^(24,25) O KL-6 é agora classificado como uma proteína MUC1 humana. Pneumócitos do tipo II em regeneração são a principal fonte celular de KL-6/MUC1 nos pulmões acometidos dos pacientes com DPI.⁽⁵⁾ Investigações extensas realizadas principalmente no Japão revelaram que os níveis séricos de KL-6/MUC1 encontram-se elevados em 70-100% dos pacientes com diversas DPIs, inclusive a PH.⁽⁵⁾ Alterações sequenciais nos níveis séricos de KL-6 podem prever a progressão da DPI.⁽²⁶⁾

O CA 15-3 é um marcador tumoral para muitos tipos de câncer, principalmente o câncer de mama. Assim como o KL-6, o CA 15-3 também é derivado da MUC1, mas sua medição está amplamente disponível, é totalmente automatizada e tem baixo custo. Estudos anteriores mostraram que os níveis de CA 15-3 apresentam uma alta correlação com os níveis de KL-6 em pacientes com DPIs, especialmente nos com DPIs fibróticas.⁽⁶⁻⁸⁾ Em um estudo, os níveis de CA 15-3 se mostraram elevados em 26 pacientes com PH, e a correlação entre os níveis de KL-6 e de CA 15-3 foi muito forte.⁽⁶⁾ Em outro estudo envolvendo pacientes com PHc, os níveis de KL-6 foram medidos durante diferentes estações do ano e se mostraram aumentados durante o verão como resultado da maior umidade nas residências nessa época do ano.⁽²⁷⁾

Em nosso estudo, houve uma correlação direta estatisticamente significativa entre as pontuações de

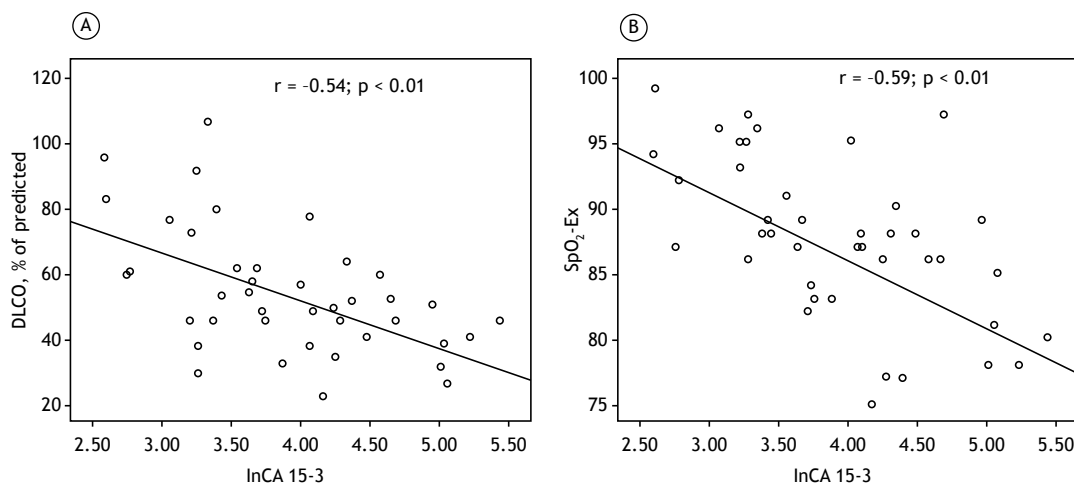
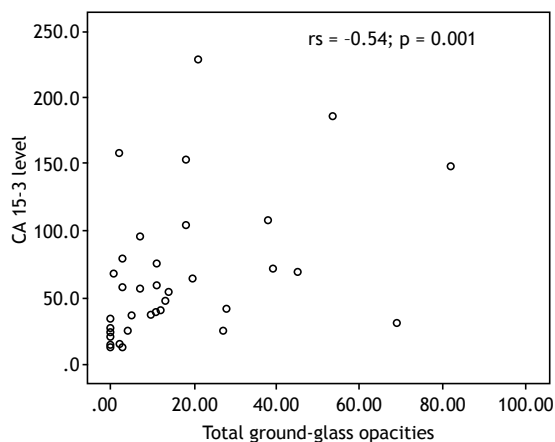


Figura 2. Correlação do logaritmo natural (ln) dos níveis séricos de *carbohydrate antigen* (CA) 15-3 com DLCO em % do previsto (em A) e SpO_2 ao final de um teste de degrau de 4 minutos (SpO_2 -Ex).

Tabela 2. Correlação entre os níveis de *carbohydrate antigen* (CA) 15-3 e os achados tomográficos.^a

Achados de TCAR	Coefficiente de correlação de Spearman	p
Total de opacidades em vidro fosco	0,54	0,001
Total de áreas hipertransparentes	0,35	0,03
Total de faveolamento	0,36	0,03
Pontuação total de fibrose	0,34	0,04
Total de achados	0,47	0,004

^aAnálise quantitativa com o programa CALIPER.

**Figura 3.** Correlação entre os níveis séricos de *carbohydrate antigen* (CA) 15-3 e a análise quantitativa computadorizada do total de opacidades em vidro fosco.

dispneia e os níveis séricos de CA 15-3. Além disso, houve uma correlação inversa entre os níveis séricos de CA 15-3 e os indicadores funcionais pulmonares de gravidade da doença: CVF%, DLCO% e SpO₂-Ex.

Um estudo prospectivo avaliou 85 pacientes com diferentes tipos de DPI e encontrou níveis séricos de CA 15-3 mais altos nos pacientes com CVF% < 50%.⁽²⁶⁾ No presente estudo, houve uma forte correlação dos níveis séricos de CA 15-3 com as variáveis de trocas gasosas, a DLCO% e a SpO₂-Ex, sugerindo que o CA 15-3 foi um indicador da extensão do dano alveolar.

Um estudo mediu os níveis de CA 15-3 em 84 pacientes com esclerose sistêmica e DPI e constatou que esses níveis se correlacionaram fortemente com as pontuações semiquantitativas da TCAR.⁽⁹⁾ Jacob et al.⁽¹⁹⁾ estudaram pacientes com PH e constataram que a análise quantitativa com o programa CALIPER foi mais precisa do que as pontuações visuais da TCAR e que houve melhor correlação com as variáveis funcionais e morfológicas. No presente estudo, a análise quantitativa dos achados de TCAR foi realizada utilizando a plataforma LTA e o programa CALIPER. Houve uma correlação direta entre os níveis séricos de CA 15-3 e os seguintes achados de TCAR: total de opacidades em vidro fosco, total de faveolamento e pontuação

total de fibrose (isto é, total de opacidades reticulares mais faveolamento). Um estudo avaliou pacientes com FPI que foram submetidos a transplante pulmonar e mostrou que os níveis de CA 15-3 diminuíram após o procedimento.⁽²⁸⁾ Esse resultado corrobora a relação entre os níveis de CA 15-3 e a extensão das DPIs.

Existem limitações no presente estudo. Em 8 casos, a TCAR não foi realizada em nosso hospital, e isso resultou no uso de diferentes técnicas tomográficas. No entanto, essas imagens foram consideradas adequadas para análise com o programa CALIPER. Os ex-fumantes não foram excluídos, e isso pode ter afetado alguns achados funcionais e tomográficos. No entanto, os níveis séricos de CA 15-3 eram semelhantes entre os não fumantes e os ex-fumantes. Além disso, ensaios de quantificação KL-6 não estavam disponíveis, e, portanto, não foram realizadas comparações entre os níveis de KL-6 e de CA 15-3.

Quando um candidato a biomarcador é identificado, ele deve ser facilmente mensurável e mecanisticamente plausível. Ele deve ser validado em outro estudo e submetido a testes biológicos para estabelecer seu papel na patogênese de uma doença.⁽²²⁾

Em conclusão, é provável que o CA 15-3 seja um biomarcador de gravidade da doença em pacientes com PHc, particularmente quanto a anormalidades nas trocas gasosas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos pacientes, aos colegas, e ao Departamento de Pneumologia do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

RGF: análise histológica do estudo e aprovação da versão final. MRS, ABB e RBM: desenho do estudo, redação do manuscrito e aprovação da versão final. MFMLM e GSPM: análise das imagens de TCAR e aprovação da versão final. CACP: coordenação, análise estatística, redação do manuscrito e aprovação da versão final. PSG: desenho do estudo, coleta de dados, redação do manuscrito e aprovação da versão final.

REFERÊNCIAS

- Pereira CA, Gimenez A, Kuranishi L, Storrer K. Chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Asthma Allergy*. 2016;9:171-181. <https://doi.org/10.2147/JAA.S81540>
- Salisbury ML, Myers JL, Belloli EA, Kazerooni EA, Martinez FJ,

- Flaherty KR. Diagnosis and Treatment of Fibrotic Hypersensitivity Pneumonia. Where We Stand and Where We Need to Go. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(6):690-699. <https://doi.org/10.1164/rccm.201608-1675PP>

3. Vasakova M, Morell F, Walsh S, Leslie K, Raghu G. Hypersensitivity Pneumonitis: Perspectives in Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(6):680-689. <https://doi.org/10.1164/rccm.201611-2201PP>
4. Kato K, Zemskova MA, Hanss AD, Kim MM, Summer R, Kim KC. Muc1 deficiency exacerbates pulmonary fibrosis in a mouse model of silicosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;493(3):1230-1235. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.09.047>
5. Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Kohno N. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. *Respir Invest*. 2012;50(1):3-13. <https://doi.org/10.1016/j.resinv.2012.02.001>
6. Okada M, Suzuki K, Nakanishi T, Nakashima M. Serum levels of KL-6 are positively correlated with those of CA15-3 in patients with interstitial pneumonia associated with collagen diseases. *Respirology*. 2006;11(4):509-510. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2006.00881.x>
7. Ricci A, Mariotta S, Bronzetti E, Bruno P, Vismara L, De Dominicis C, et al. Serum CA 15-3 is increased in pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2009;26(1):54-63.
8. Kruit A, Gerritsen WB, Pot N, Grutters JC, van den Bosch JM, Ruven HJ. CA 15-3 as an alternative marker for KL-6 in fibrotic lung diseases. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2010 Jul;27(2):138-46.
9. Celeste S, Santaniello A, Caronni M, Franchi J, Severino A, Scorza R, et al. Carbohydrate antigen 15.3 as a serum biomarker of interstitial lung disease in systemic sclerosis patients. *Eur J Intern Med*. 2013;24(7):671-676. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.04.004>
10. 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. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132007000400008>
11. Crapo RO, Morris AH. Standardized single breath normal values for carbon monoxide diffusing capacity. *Am Rev Respir Dis*. 1981;123(2):185-189.
12. Dal Corso S, Duarte SR, Neder JA, Malaguti C, de Fuccio MB, de Castro Pereira CA, et al. A step test to assess exercise-related oxygen desaturation in interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 2007;29(2):330-336. <https://doi.org/10.1183/09031936.00094006>
13. Ferris BG. Epidemiology Standardization Project (American Thoracic Society). *Am Rev Respir Dis*. 1978;118(6 Pt 2):1-120.
14. Mahler DA, Weinberg DH, Wells CK, Feinstein AR. The measurement of dyspnea. Contents, interobserver agreement, and physiologic correlates of two new clinical indexes. *Chest*. 1984;85(6):751-758. <https://doi.org/10.1378/chest.85.6.751>
15. Sint-Marie Halle. LABOGIDS [homepage on the Internet]. Halle: Sint-Marie Halle: Klinisch Laboratorium Algemeen Ziekenhuis Sint-Maria [cited 2020 Nov 1]. Eleccsys CA 15-3 II Cobas. [Adobe Acrobat document, 5p.]. Available from: http://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/ca_15-3_ii_2018-10_v20.pdf
16. Salisbury ML, Gross BH, Chughtai A, Sayyoub M, Kazerooni EA, Bartholmai BJ, et al. Development and validation of a radiological diagnosis model for hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J*. 2018;52(2):1800443. <https://doi.org/10.1183/13993003.00443-2018>
17. Baldi BG, Pereira CA, Rubin AS, Santana AN, Costa AN, Carvalho CR, et al. Highlights of the Brazilian Thoracic Association guidelines for interstitial lung diseases. *J Bras Pneumol*. 2012;38(3):282-291. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132012000300002>
18. Wormanns D, Hamer OW. Glossary of Terms for Thoracic Imaging—German Version of the Fleischner Society Recommendations [Article in German]. *Rofo*. 2015;187(8):638-661.
19. Jacob J, Bartholmai BJ, Rajagopalan S, Karwoski R, Mak SM, Mok W, et al. Automated computer-based CT stratification as a predictor of outcome in hypersensitivity pneumonitis. *Eur Radiol*. 2017;27(9):3635-3646. <https://doi.org/10.1007/s00330-016-4697-4>
20. Katzenstein AA, Askin FB. Surgical pathology of non-neoplastic lung disease. *Major Probl Pathol*. 1982;13:1-430.
21. Churg A, Bilawich A, Wright JL. Pathology of Chronic Hypersensitivity Pneumonitis What Is It? What Are the Diagnostic Criteria? Why Do We Care?. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(1):109-119. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0173-RA>
22. Kuranishi LT, Leslie KO, Ferreira RG, Coletta EA, Storrer KM, Soares MR, et al. Airway-centered interstitial fibrosis: etiology, clinical findings and prognosis. *Respir Res*. 2015;16(1):55. <https://doi.org/10.1186/s12931-015-0213-7>
23. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
24. Chiba H, Otsuka M, Takahashi H. Significance of molecular biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis: A mini review. *Respir Invest*. 2018;56(5):384-391. <https://doi.org/10.1016/j.resinv.2018.06.001>
25. Neighbors M, Cabanski CR, Ramalingam TR, Sheng XR, Tew GW, Gu C, et al. Prognostic and predictive biomarkers for patients with idiopathic pulmonary fibrosis treated with pirfenidone: post-hoc assessment of the CAPACITY and ASCEND trials. *Lancet Respir Med*. 2018;6(8):615-626. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30185-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30185-1)
26. Jiang Y, Luo Q, Han Q, Huang J, Ou Y, Chen M, et al. Sequential changes of serum KL-6 predict the progression of interstitial lung disease. *J Thorac Dis*. 2018;10(8):4705-4714. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.07.76>
27. Ohnishi H, Miyamoto S, Kawase S, Kubota T, Yokoyama A. Seasonal variation of serum KL-6 concentrations is greater in patients with hypersensitivity pneumonitis. *BMC Pulm Med*. 2014;14:129. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-14-129>
28. Rusanov V, Kramer MR, Raviv Y, Medalion B, Guber A, Shritit D. The significance of elevated tumor markers among patients with idiopathic pulmonary fibrosis before and after lung transplantation. *Chest*. 2012;141(4):1047-1054. <https://doi.org/10.1378/chest.11-0284>