

ANA LIDIA BRAGA AMORAS

***CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA DE
PACIENTES COM IMUNODEFICIÊNCIA
COMUM VARIÁVEL***

Este exemplar corresponde a versão final do exemplar da Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Pediatria.

Campinas, 31 de agosto de 2001.



Prof.ª Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela
Orientadora

CAMPINAS

2001

*A obtenção do título de MESTRE EM SAÚDE
DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE, ÁREA
DE CONCENTRAÇÃO: PEDIATRIA*

ANA LIDIA BRAGA AMORAS

***CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E IMUNOLÓGICA DE
PACIENTES COM IMUNODEFICIÊNCIA
COMUM VARIÁVEL***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Pediatria.*

*A obtenção do título de MESTRE EM SAÚDE
DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE, ÁREA
DE CONCENTRAÇÃO: PEDIATRIA*

ORIENTADORA: PROF. DR. MARIA MARLUCE DOS SANTOS VILELA

CAMPINAS

2001

UNIVERSIDADE	FEQ
CHAMADA	T/UNICAMP
	Am68c
NUMERO	48166
PROC.	16-837/02
C	X
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	
CPD	

CM00166073-8

ID 235859

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Am68c Amoras, Ana Lúcia Braga
Caracterização clínica e imunológica de pacientes com
imunodeficiência comum variável / Ana Lúcia Braga Amoras.
Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : Maria Marluce Santos Vilela
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Monócitos. 2. Quimiotaxia. 3. Fagocitose. 4. Imunoglobulina.
I. Maria Marluce Santos Vilela. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Tese de MESTRADO

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela

Membros:

1. Prof^a. Dr^a. Maria Marluce dos Santos Vilela

3. Prof^a. Dr^a. Elizete Aparecida Lomazi da Costa Pinto

2. Prof. Dr. Jorge Andrade Pinto

Curso de Pós-Graduação em Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

*CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE, ÁREA
DE CONCENTRAÇÃO: PEDIATRIA*

Data: 2001

2002/14278

À Prof. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela, minha orientadora, pelo apoio e por ter me ensinado a descobrir a mestra que havia dentro de mim.

Ao Prof. Dr. Antônio Condino Neto, Dra. Adyleia Aparecida Toro e Prof. Dr. José Dirceu Ribeiro do Setor de Imunologia-Alergia e Pneumologia Pediátrica da FCM-Unicamp, pelo auxílio no atendimento aos pacientes do ambulatório.

Às biólogas e amigas Elizabeth Cristina Cambiucci, Marize Mello Carnelossi Brunelli e Fernanda Gonçalves Pereira pela competência, dedicação e colaboração na execução de exames laboratoriais.

À equipe de enfermagem do Ambulatório de Pediatria da Unicamp, pela colaboração na coleta do material.

A Cleyde Moreira Silva e Helymar da Costa Machado, responsáveis pela análise estatística dos dados.

Às colegas Cristina Frias Sartorelli, Livia Esteves Marçal, Elianete B. Silva e Monica Leitão pela amizade e colaboração.

À Inácia Maria de V.G. Moreno, pela revisão do português.

À amiga Marta Wey pelo incentivo nos momentos difíceis e pelas caronas.

À querida Neide, minha professora de yoga, que me conduziu ao caminho do equilíbrio, necessário para a conclusão dessa jornada.

A Simone Cristina Ferreira, secretária da subcomissão de Pós-Graduação em Pediatria do CIPED, pela sua colaboração nesse trabalho.

Aos voluntários, pacientes e seus familiares pela confiança e colaboração.

À todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram na realização desse trabalho.

À Fundação de Auxílio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.

	PÁG.
RESUMO	xxvii
1. INTRODUÇÃO	31
2. OBJETIVOS	41
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	45
3.1. Planejamento Experimental.....	47
3.1.1. Modelo do Estudo.....	47
3.1.2. Seleção de Participantes.....	47
3.1.2.1. Grupo de Pacientes.....	47
3.1.2.2. Grupo Controle.....	50
3.2. Procedimento Experimental.....	50
3.2.1. Coleta de Amostras de Sangue.....	50
3.3. Metodologia Laboratorial do Protocolo de Pesquisa.....	51
3.3.1. Hemograma.....	51
3.3.2. Subpopulações de Linfócitos T (CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺), Linfócitos B (CD19 ⁺) e Células NK (CD16/56 ⁺).....	51
3.3.3. Imunoglobulinas Séricas (IgM, IgG, IgA).....	52
3.3.4. Subclasses de IgG (SG IgG).....	53
3.3.5. Função Fagocitária de Monócitos.....	53
3.3.5.1. Obtenção de Leucócitos Mononucleares.....	53

3.3.5.2. Fagocitose de Eritrócitos de Carneiro (E) Incubados com Anticorpo de Coelho Anti-eritrócitos de Carneiro.....	54
3.3.5.3. Fagocitose de Partículas de Zimosan Incubadas Previamente com Soro Humano.....	54
3.3.5.4. Ensaio Fagocitário para EA e Zimosan.....	54
3.3.5.5. Coloração e Leitura.....	55
3.3.6. Estudo da Migração Celular (Quimiotaxia).....	56
3.3.6.1. Obtenção do Fator Quimiotático.....	56
3.3.6.2. Ensaio Quimiotático.....	56
3.3.6.3. Leitura.....	57
3.3.7. Atividade do Sistema NADPH-Oxidase.....	58
3.3.8. Protoparasitológico.....	58
3.3.8.1. Flutuação Simples: Técnica de Willis.....	58
3.3.8.2. Sedimentação Simples.....	59
3.3.8.3. Centrífugo-sedimentação: Técnica de Ritchie.....	59
3.3.8.4. Extração de larvas: método de Rugai.....	59
3.3.8.5. Contagem de ovos: técnica de Kato-Katz.....	60
3.3.8.6. Coloração Permanente para Protozoários: Amebas.....	60
3.3.8.7. Pesquisa de Coccídios: Cryptosporidium sp, Isospora e Cyclospora.....	60
3.3.9. Balanço da Gordura Fecal.....	61
3.3.10. Teste de Absorção da D-xilose.....	63
3.3.10.1. Coleta para Xilosemia de 1 hora.....	63

3.3.10.2. Coleta para Xilosúria de 5 horas.....	64
3.3.11. Dosagem de Alfa 1 Antitripsina Fecal.....	65
3.3.12. Teste de Tolerância à Lactose.....	65
3.3.13. Metodologia Estatística.....	67
4. RESULTADOS.....	69
4.1. Dados de Anamnese e Exame Físico.....	71
4.2. Exames Laboratoriais e Testes Diagnósticos.....	76
4.2.1. Imunoglobulinas Séricas (IgM, IgG, IgA).....	76
4.2.2. Subclasses de IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).....	76
4.2.3. Subpopulações de Linfócitos T (CD3 ⁺ , CD4 ⁺ , CD8 ⁺), Linfócitos B (CD19 ⁺) e Células NK (CD16/56 ⁺).....	77
4.2.4. Função Fagocitária de Monócitos do Sangue Periférico.....	78
5. DISCUSSÃO.....	87
6. CONCLUSÕES.....	101
7. SUMMARY.....	105
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
9. ANEXOS.....	127

DEDICO ESTE TRABALHO...

Especialmente a Deus, por ter me acompanhado em todos os momentos dessa jornada.

A meu marido, Edmond, e a meus filhos, Paula e Arthur, razões de meu viver, que pelo simples fato de corresponderem ao meu amor, têm possibilitado a realização desse e de muitos outros sonhos.

A meus pais Paulo e Lydia e meus irmãos pelo incentivo e amor.

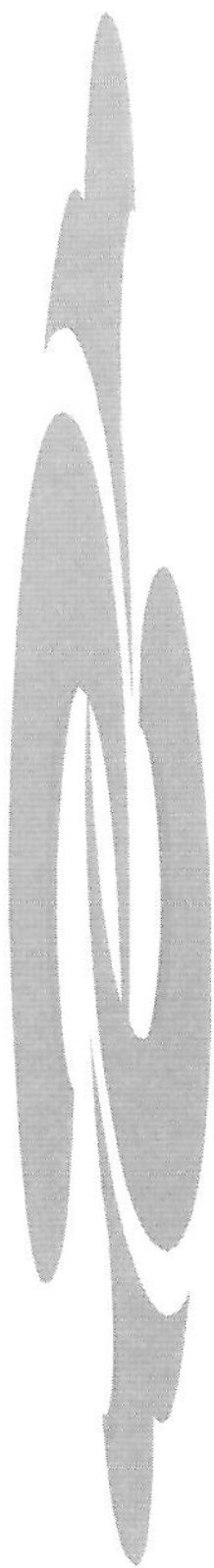
C1q	Proteína do Sistema Complemento
C1r	Proteína do Sistema Complemento
C1s	Proteína do Sistema Complemento
C3	Proteína do Sistema Complemento
C4	Proteína do Sistema Complemento
C3b	Produto da Ativação de C3
C3bi	Produto de Ativação de C3 Inativado pelo Fator I
CD3	Receptor de Células T
CD4	Receptor de Células T para o Sistema MHC-II
CD4CD45RA	Receptor de Células T “naive”
CD4CD45RO	Receptor de Células T de Memória
CD8	Receptor de Células T para o Sistema MHC-I
CD19	Receptor de Células B
CD 16/56	Receptor de Células Natural Killer
CD40	Receptor de Células B
CD40L	Receptor de Células T, Ligante do Receptor CD40
CD95	Receptor de Células TCD45RO, para Transdução de Sinais Apoptóticos via FasL
CD38	Receptor de Células T e B Ativadas, Timócitos, Células Progenitoras, Monócitos e Plasmócitos.
CR1	Receptor de Complemento do Tipo 1
CR3	Receptor de Complemento do Tipo 3
EDTA	Edetato Dissódico

Fc	Receptor para o Fragmento Fc da Imunoglobulina
Fcγ RII	Receptor para o Fragmento Fc da Imunoglobulina G, do Tipo II
Fcγ RIII	Receptor para o Fragmento Fc da Imunoglobulina G, do Tipo III
FITC	Isotiocianato de Fluoresceína
IL	Interleucina
M	Meio
MGI	Manifestações gastrointestinais
MHC	Complexo de Histocompatibilidade Maior
PE	Ficoeritrina
PTI	Púrpura Trombocitopênica Idiopática
N	Normal
SOD	Superóxido Dismutase
P	Paciente
ZYM	Zimosan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)

	PÁG.
Tabela 1: Características dos Pacientes com ICV.....	48
Tabela 2: Tipos de Manifestações Clínicas nos Pacientes Estudados.....	49
Tabela 3: Distribuição dos Pacientes Portadores de ICV Segundo os Resultados do Balanço de Gordura Fecal, Teste de Absorção de D-Xilose, Alfa 1 Antitripsina Fecal, Teste de Tolerância à Lactose e Protoparasitológico.....	73
Tabela 4: Distribuição dos Pacientes Portadores de ICV Segundo os Resultados do Trânsito e Biópsia Intestinais.....	74
Tabela 5: Distribuição do Percentil de Peso e Estatura Inicial e Atual nos Pacientes com ICV que Apresentam MGI.....	75
Tabela 6: Distribuição do Percentil de Peso e Estatura Inicial e Atual nos Pacientes com ICV que Não Apresentam MGI.....	75
Tabela 7: Níveis Séricos de Subclasses de IgG em Pacientes com ICV e Controles.....	76
Tabela 8: Porcentagem (%) de Linfócitos T, B e Células NK em Pacientes com ICV e Controles.....	77
Tabela 9: Quimiotaxia de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	78
Tabela 10: Índice Fagocitário de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	78

Tabela 11:	Capacidade Fagocitária de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	79
Tabela 12:	Produção de Ânion Superóxido por Células Mononucleares de Pacientes com ICV e Controles.....	79
Tabela 13:	Produção de Ânion Superóxido por Células Polimorfonucleares de Pacientes com ICV e Controles.....	79

	PÁG.
Figura 1: Comparação de Subclasses de IgG em Pacientes com ICV e Controles.....	80
Figura 2: Comparação da Porcentagem (%) de Linfócitos T, B e Células NK em Pacientes com ICV e Controles.....	81
Figura 3: Comparação da Quimiotaxia de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	82
Figura 4: Comparação do Índice Fagocitário de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	83
Figura 5: Comparação da Capacidade Fagocitária de Monócitos de Pacientes com ICV e Controles.....	84
Figura 6: Comparação da Produção de Ânion Superóxido por Células Mononucleares e Células Polimorfonucleares de Pacientes com ICV e Controles.....	85



RESUMO

A Imunodeficiência Comum Variável (ICV) é uma síndrome incompletamente definida, caracterizada por defeito na formação de anticorpos. Devido ao fato da ICV apresentar ainda inúmeros pontos não esclarecidos, propusemo-nos analisar evolutivamente a apresentação clínico-laboratorial de 17 pacientes com diagnóstico de ICV, em seguimento no Ambulatório de Imunologia-Alergia e Pneumologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Os pacientes foram avaliados quanto à idade de início dos sintomas e à forma de apresentação clínica e imunológica. A função fagocitária de monócitos foi avaliada *in vitro* através da quimiotaxia, fagocitose mediada via Fc, CR1 e CR3 e atividade do sistema NADPH oxidase. A concentração dos níveis séricos de IgM, IgG, IgA e subclasses de IgG foi determinada por nefelometria e as subpopulações linfocitárias e células NK por citometria de fluxo.

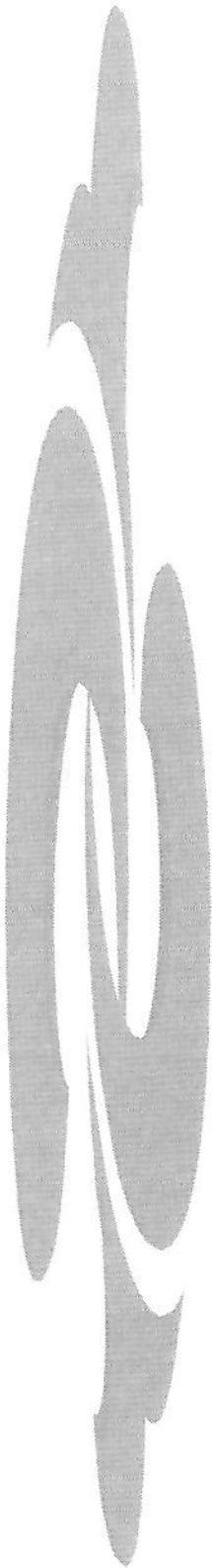
Todos os pacientes apresentaram as primeiras manifestações clínicas antes dos quatro anos de idade, evoluíram com infecções de repetição e, em 8 pacientes havia associação de manifestações gastrointestinais e em 7 fenômenos autoimunes.

Ao diagnóstico, a média da concentração de IgM, IgG e IgA foi 17 mg/dl, 365 mg/dl e 7,85 mg/dl, respectivamente. Observou-se nos pacientes com ICV, redução significativa de todas as subclasses de IgG (IgG1, $p=0,0001$; IgG2, $p=0,002$; IgG3, $p=0,006$ e IgG4, $p=0,0001$), em relação ao grupo controle.

A porcentagem de células NK foi significativamente reduzida ($p=0,006$) quando comparada aos indivíduos normais. A porcentagem de células-T $CD3^+$ ($p=0,013$) e $CD8^+$ ($p=0,004$) foi significativamente aumentada e a relação $CD4/CD8$ ($p=0,013$) foi significativamente reduzida nos pacientes com ICV em relação ao grupo controle. Entretanto, a porcentagem de células-T $CD4^+$ não demonstrou diferença entre os dois grupos. Redução do número de células-B circulantes com valores inferiores a 2% foi observado em 47% dos pacientes com ICV.

A fagocitose mediada via Fc, CR1, CR3 ($p=0,0001$) de monócitos e quimiotaxia ($p=0,0027$) foram significativamente reduzidas nos pacientes com ICV em relação ao controle normal. Entretanto, não houve diferença na produção de ânion superóxido entre os dois grupos.

Devido a heterogeneidade de apresentação clínica entre nossos pacientes e dos relatados na literatura, sugere-se que a ICV possa ser a expressão fenotípica de várias doenças, e que defeitos na quimiotaxia e fagocitose de monócitos podem ser caracterizados em um grupo de pacientes, determinando uma nova direção na fisiopatologia da ICV.



1. INTRODUÇÃO

O termo Imunodeficiência Comum Variável é usado para descrever uma síndrome incompletamente definida, caracterizada por defeito na formação de anticorpos (WHO, 1997), levando a um aumento do risco de infecções bacterianas, doenças autoimunes e granulomatosas (SPICKETT et al., 1997; MECHANIC, DIKMAN, CUNNINGHAM, 1997). Devido ao amplo espectro de doenças associadas, esses indivíduos são vistos por médicos de diferentes especialidades (CUNNINGHAM, 1989; STROBER et al., 1993; SNELLER, 2001).

Essa síndrome é uma das imunodeficiências primárias mais freqüentes, com uma incidência em torno de 1:10.000 a 1:50.000; afeta homens e mulheres em várias idades, sendo mais freqüente na segunda ou terceira décadas da vida (WHO, 1997).

O diagnóstico da ICV é baseado na exclusão de outras causas conhecidas de defeito imune humoral (WHO, 1997) e, por apresentar um fenótipo variável, há dificuldades no entendimento de sua etiologia (SPICKETT et al., 1997). A alteração molecular que a determina não foi ainda bem definida (OCHS & WINKELSTEIN, 1996; Di RENZO et al., 1997). Entretanto, tem sido relatada a presença de genes susceptíveis para ICV no loci do MHC classe II e III (SCHAFFER et al., 1989; ASHMAN et al., 1992; OLERUP et al., 1992).

Estudos de linfócitos B e T desses pacientes, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, têm revelado ampla variedade de anormalidades. Devido à diferenciação de linfócitos B para plasmócitos ser influenciada por linfócitos T, tanto por interação direta como por secreção de citocinas (AUKRUST, MÜLLER, FROLAND, 1994; ZHOU et al., 1998), a imunodeficiência em questão pode ser devida a um defeito intrínseco de células-B e defeitos na interação de células T com B ou com células acessórias (EIBL et al., 1982; FARRANT et al., 1989; BRYANT et al., 1990; OCHS & WINKELSTEIN, 1996; THON et al., 1997).

A maioria dos indivíduos com ICV tem células B maduras em número normal; entretanto, tem-se relatado a presença de diminuição ou ausência de células B no sangue periférico e tecidos linfóides em um pequeno grupo desses pacientes (STOHL, CUNNINGHAM, MAYER, 1988; CONLEY, NOTARANGELO, ETZIONI, 1999).

Há grupo de pacientes com ICV que apresentam diminuição na produção de anticorpos devido a anormalidades na proliferação, diferenciação e síntese de imunoglobulinas (SAIKI et al., 1982; MAYER et al., 1984; SAXON et al., 1993; OCHS & WINKELSTEIN, 1996; ULUHAN, SAGER, JASIN, 1998; NOROSKI & SHEARER, 1998), provavelmente devido a defeitos intrínsecos na fosforilação da tirosina quinase, com conseqüente disfunção na transdução de sinais da membrana plasmática para o núcleo (SCHWARTZ et al., 1999), além de redução na expressão de receptores de superfície, determinando uma incapacidade das células B em cooperarem com as células T (DENZ et al., 2000).

Cerca de 70 a 75 % dos pacientes com ICV apresentam números normais de células-T, 25 a 30% número aumentado de linfócitos T CD8+ (WRIGHT et al., 1990; BAUMERT et al., 1992; OCHS & WINKELSTEIN, 1996; BORISOVA et al., 1998), e normal ou diminuído de linfócitos T CD4+ (LEBRANCHU et al., 1991; RICHARDS et al., 1992; AUKRUST, MÜLLER, FROLAND., 1994), determinando redução (<1,0) da relação CD4/CD8 (DUARTE et al., 1990; WRIGHT et al., 1990; BAUMERT et al., 1992). A presença de linfócitos T supressores circulantes inibe a maturação das células-B e a síntese de imunoglobulinas (WALDERMANN et al., 1974).

Os mecanismos moleculares da disfunção de células-T, geralmente presente na ICV, não estão bem estabelecidos. Ativação do sistema proteinaquinase dependente – AMP cíclico tipo I, inibidor da proliferação de células-T após a estimulação antigênica, pode ser uma importante base molecular para este defeito (AUKRUST et al., 1999).

Alteração funcional foi observada também em células acessórias e em células-T, resultando em linfopenia, anergia, defeito na proliferação de linfócitos e diminuição da produção de interferon gama (IFN- γ), interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5) (SNELLER & STROBER, 1990; NORTH, WEBSTER, FARRANT, 1991; CUNNINGHAM et al., 1994; Di RENZO et al., 1997; THON et al., 1997; ULUHAN, SAGER, JASIN, 1998; Di RENZO et al., 2000). Dados sugerem que a síntese reduzida dessas citocinas podem contribuir para uma produção defeituosa de imunoglobulinas nesses pacientes, desde que a IL-2, IL-4 e IFN- γ possam agir como fatores de proliferação e diferenciação de células-B (PASTORELLI et al., 1989; RUMP et al., 1997).

Em pacientes com ICV, aumento de interleucina 6 (IL-6) foi associado ao número reduzido de linfócitos T CD4⁺ e B CD19⁺, aos níveis elevados de neopterin, ao antígeno CD8 solúvel e à ocorrência de esplenomegalia e bronquiectasia. AUKRUST, MÜLLER, FROLAND (1994), sugerem que o aumento de citocinas pode ser um marcador de ativação celular crônica, principalmente de monócitos, delineando um grupo distinto de pacientes com ICV.

FERRER et al. (1995) observaram que células-T CD4⁺CD45RO de pacientes com ICV, proliferam quando estimuladas pelo mitógeno “pokeweed” (PWM) na presença de monócitos autólogos, sugerindo que os monócitos desses pacientes não exercem nenhum efeito inibitório nesse sistema.

Estudos realizados por EIBL et al. (1982) demonstraram nos portadores desta imunodeficiência defeitos na função de macrófagos e na sua interação com células-T, e conseqüente redução e/ou ausência na produção e/ou secreção de imunoglobulinas. Outros autores demonstraram resposta proliferativa de monócitos comprometida, redução na produção de IL-2 e IL-4 e aumento de interleucina 10 (IL-10) (Di RENZO et al., 1997; ZHOU et al., 1998).

Recentemente, THON et al. (1997) demonstraram normalidade na capacidade apresentadora de antígenos de monócitos e células-B em pacientes com ICV.

Espécies reativas do oxigênio estão envolvidas na ativação de células-T e na defesa contra microorganismos. O desbalanço na produção dessas espécies reativas do oxigênio podem contribuir para um aumento na susceptibilidade ao câncer e às infecções nas imunodeficiências humorais graves (REICHENBACH et al., 2000). Os pacientes com ICV estão expostos a um alto grau de “stress” oxidativo devido às infecções recorrentes e por apresentarem os linfócitos em constante estado de ativação (NORTH et al., 1991; AUKRUST, MULLER, FROLAND, 1994).

A ligação do CD40 ligante (CD40L, gp39), presente em linfócitos TCD4⁺ ativados, ao CD40 na superfície de células-B, é fundamental na indução da proliferação e diferenciação de células-B e “switching” de isotipos. Recentemente foi demonstrada a

importância da sinalização via CD40, através de estudos com anticorpos monoclonais anti-CD40 em sinergismo com a IL-4 induzindo a proliferação de células-B e secreção de IgE e em sinergismo com a IL-10 induzindo a produção de IgA, IgG e IgM pelas células-B (FARRINGTON et al., 1994; OLIVA et al., 1997).

Cerca de 40% dos pacientes com ICV têm a expressão funcional do CD40L significativamente menor, quando comparada ao indivíduo normal (OLIVA et al., 1997). Isto sugere que a sinalização ineficiente, via CD40, pode ser responsável, em parte, pela falta de diferenciação de células-B (FARRINGTON et al., 1994; BRUGNONI et al., 1996).

A apoptose, mediada por CD95 nas células B ativadas, contribui para a regulação da resposta humoral. A expressão de CD95, membro da super família do receptor do fator de necrose tumoral, que induz apoptose, está aumentada na linhagem de células-B de pacientes com ICV, e esse aumento da apoptose de células B periféricas parece estar envolvido na depleção dessas células na ICV. Contudo, a molécula CD38, cuja expressão pode prevenir apoptose, mostra-se reduzida nesses pacientes (GUO & SAXON, 1995). Estudos realizados por IGLESIAS et al. (1999), demonstraram um aumento da apoptose espontânea e expressão do CD95 nas subpopulações de células CD4⁺ e CD4⁺CD45RA⁺ em pacientes linfopênicos com ICV.

A predisposição genética nesta imunodeficiência foi evidenciada em parentes de primeiro grau que apresentavam maior incidência de deficiência de IgA, desordens autoimunes, auto anticorpos (inclusive anticorpos anti-linfócitos) e malignidades, sugerindo ampla desregulação imune (WHO,1997). A ICV, por ser um grupo heterogêneo de doenças, apresenta padrões de herança dos tipos autossômica recessiva, autossômica dominante e ligada ao X (WHO,1997). SCHAFFER et al. (1989), observaram uma influência genética na patogênese da ICV e sugeriram que gene ou genes susceptíveis para ICV e deficiência de IgA estariam localizados no complexo de histocompatibilidade principal classe III, entre os genes C4B e C2 (ASHMAN et al., 1992).

Pacientes com ICV têm infecções bacterianas recorrentes nos tratos respiratório e gastrointestinal. O espectro de patógenos bacterianos mais comuns nas infecções como sinusite, otite média, bronquite e pneumonia são o *Streptococcus pneumoniae* e o

Hemophilus influenzae (STROBER et al., 1993). No pulmão, o espectro é amplo e inclui, o *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa*. Na falta de diagnóstico e tratamento precoces, a infecção pode evoluir para bronquiectasia (SWEINBERG et al., 1991; OCHS & WINKELSTEIN, 1996). As infecções entéricas são causadas principalmente por *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter sp* (OCHS & WINKELSTEIN, 1996).

As infecções por micobactérias, *Pneumocystis carinii* e fungos são raras, e as infecções por *Herpes zoster* ocorrem em um quinto dos pacientes e *Herpes simplex* em um pequeno número deles (STROBER et al., 1993). Septicemia e infecções recorrentes da pele, trato urinário, articulações e sistema nervoso central são menos frequentes.

O trato gastrointestinal é o maior tecido linfóide do organismo e, nos indivíduos com ICV, se observa a expressão deste fato na elevada prevalência de doenças inflamatórias, infecciosas e malignas, devido a ausência de imunoregulação local (LAI PING SO & MAYER, 1997). Defeitos da imunidade celular parecem predispor à doença celíaca "like", anemia perniciosa, giardíase, hiperplasia nodular linfóide e doença inflamatória intestinal (LAI PING SO & MAYER, 1997).

Neoplasias, especialmente adenocarcinoma do estômago e linfoma intestinal, ocorrem com maior frequência nestes pacientes. A carcinogênese gástrica parece resultar da interação entre fatores ambientais (ex: *Helicobacter pylori*) e predisposição genética (AMENT et al., 1973; HERMASZEWSKI & WEBSTER, 1993; STROBER et al., 1993; WHO, 1997; ALONSO et al., 1999; ZULLO et al., 1999).

Os fenômenos autoimunes são mais frequentes em pacientes com ICV, do que na população geral (GOOD, 1976; OCHS & WINKELSTEIN, 1996). Aproximadamente 20% dos pacientes irão desenvolver uma ou mais doenças autoimunes, sendo a anemia hemolítica e a púrpura trombocitopênica as mais frequentes (STROBER et al., 1993). A disfunção de linfócitos T parece predispor à auto-imunidade (FRIEDMAN et al., 1977).

Outras desordens autoimunes podem se manifestar, incluindo: anemia perniciosa, neutropenia, endocrinopatias, artrite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico e dermatomiosite (CONLEY, PARK, DOUGLAS, 1986; WHO, 1997). Há uma maior frequência de desordens autoimunes similares entre os parentes de primeiro grau (GOOD, 1976).

Aproximadamente 30% dos indivíduos que têm um defeito no desenvolvimento das células-B, podem desenvolver linfadenopatia difusa e esplenomegalia, algumas vezes sugestiva de malignidade (STROBER et al., 1993; CUNNINGHAM et al., 1987; WHO,1997).

O tratamento da ICV consiste na terapia de reposição de anticorpos de classe IgG, terapia de suporte profilático nutricional, ambiental, das doenças infecciosas e das complicações. Por meio destas medidas se tem melhorado muito a qualidade de vida e o prognóstico desses pacientes (BORISOVA et al., 1998), através da redução na incidência e gravidade das infecções, assim como, um benefício social e econômico, pela redução das faltas à escola e ao trabalho e do número de hospitalizações, sem entretanto, modificar o índice de mortalidade (SMITH & SKELTON, 2001). Para avaliarmos a eficiência da reposição de imunoglobulina na evolução desta imunodeficiência é necessário um tempo maior de observação, para podermos relatar o real efeito protetor dessa terapêutica (OCHS & WINKELSTEIN, 1996).

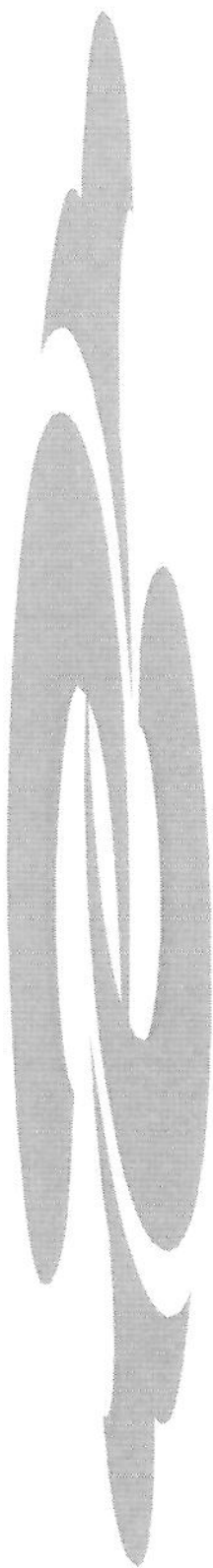
Estratégias terapêuticas com o uso a longo prazo do ácido 13-cis retinóico parecem determinar uma melhora da imunidade humoral, promovendo maturação e diferenciação *in vivo* de células B (SAXON et al., 1993). Porém, estudos mais recentes não têm demonstrado melhora no curso clínico dos pacientes com ICV (OCHS & WINKELSTEIN, 1996).

O uso de IL-2 conjugada com polietileno glicol determina um aumento significativo da produção e secreção *in vitro* de imunoglobulinas, de IL-2 e na produção de anticorpos séricos (CUNNINGHAM et al., 1994; OCHS & WINKELSTEIN, 1996). Este tratamento por tempo prolongado determinou melhora da função imune celular em resposta a mitógenos e antígenos, com aumento da proliferação de células-T, da secreção de IL-2, IL-6, do fator de diferenciação de células-B, do nível sérico de imunoglobulinas e da produção de anticorpos para polissacarídes de pneumococos, toxóide tetânico e diftérico (OCHS & WINKELSTEIN, 1996). Em estudos recentes, o uso da IL-2 humana associada à gamaglobulina intravenosa contribuiu para redução significativa das infecções graves, mostrando-se ineficaz no aumento da síntese espontânea de IgG *in vivo* (RUMP et al., 1997).

AUKRUST et al. (2000) ao analisarem um grupo de pacientes com ICV, observaram que a maioria desses indivíduos apresentavam redução dos níveis séricos de vitamina A, fato este, associado ao aumento de infecções bacterianas crônicas, esplenomegalia e altos níveis de neopterina. E sugerem que a suplementação de vitamina A nesses pacientes possa determinar um aumento da síntese de imunoglobulinas e modulação da resposta inflamatória.

As causas de morte prematura de pacientes com ICV incluem doença pulmonar crônica com ou sem cor pulmonale, falência hepática devida à hepatite viral, seqüelas de gastroenterite crônica e malignidade, incluindo carcinoma e linfoma.

Quatro décadas já se passaram desde a primeira descrição da ICV e, apesar do grande esforço da comunidade científica, continua o pouco entendimento sobre as diferentes formas de apresentação nos pacientes da mesma família e em tempos variados, no mesmo paciente, com extraordinária constelação de doença autoimune, malignidade e infecções. É bastante atual a reflexão de que: “ parece sem questão, que outras análises poderão separar várias ou mesmo muitas formas diferentes de imunodeficiência deste grupo. Quando as várias formas se tornarem suficientemente bem definidas, elas poderão ser removidas da “cesta de basquete” e receber a sua própria definição, em termos enzimáticos e genéticos” (Fudenberg et al., 1971).



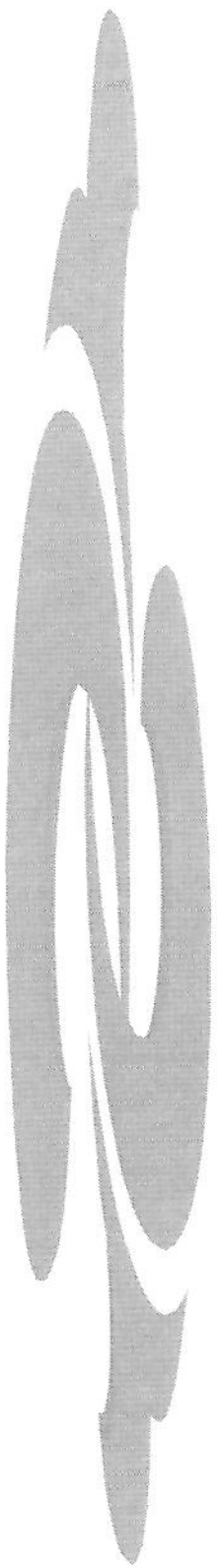
2. OBJETIVOS

Devido ao fato da Imunodeficiência Comum Variável ser uma síndrome com manifestações clínicas e laboratoriais heterogêneas e com fisiopatologia ainda não totalmente esclarecida, propusemo-nos a:

A - Descrever os casos de pacientes em seguimento no Ambulatório de Imunodeficiências Primárias do Serviço de Imunologia, Alergia e Pneumologia do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

B – Avaliar:

- ✓ no sangue periférico a fenotipagem de células-T ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$), células-B ($CD19^+$) e células NK ($CD16^+$ e $CD56^+$); a função dos fagócitos, *in vitro*, quanto à quimiotaxia, fagocitose vias Fc, CR1 e CR3 e atividade da NADPH-oxidase; as classes e sub classes de imunoglobulinas;
- ✓ o trato gastrointestinal através da realização de: teste de absorção da D-xilose, dosagem de alfa 1 antitripsina fecal, teste de tolerância à lactose, balanço de gordura fecal, protoparasitológico e pesquisa de coccídios e micobactérias nas fezes.



3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

3.1.1. Modelo do Estudo

- Estudo do tipo descritivo.

3.1.2. Seleção de Participantes

3.1.2.1. Grupo de Pacientes

Foram estudados 17 pacientes, portadores de imunodeficiência comum variável, em acompanhamento no Ambulatório de Imunologia, Alergia e Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, no período de março de 1998 à março de 2001.

O grupo foi constituído por 3 pacientes do sexo feminino e 14 do masculino, com idades variando de 5 a 38 anos. No período do estudo, 14 pacientes faziam reposição de imunoglobulina intravenosa (IV). Esses indivíduos foram acompanhados de acordo com um protocolo clínico e laboratorial. As coletas de dados para o preenchimento do protocolo, foram obtidas através de informações fornecidas pelos pacientes ou seus responsáveis durante as consultas ambulatoriais e complementadas pelos dados existentes nos prontuários dos pacientes. O exame antropométrico foi realizado no início do estudo e repetido nas consultas ambulatoriais de rotina, através das medidas da altura e peso. O gráfico de controle da evolução pôndero-estatural utilizado foi do National Center for Health Statistics (NCHS).

Critérios de Inclusão

Foram incluídos os indivíduos que preencheram os seguintes critérios (WHO, 1997):

- ✓ Redução de IgG, IgA e/ou IgM séricas em dois ou mais desvios padrões da média normal para a idade;
- ✓ exclusão de outras causas conhecidas de defeito imune humoral.

Tabela 1: Características dos pacientes com ICV

Pacientes	gênero	Idade de início das manifestações	Idade ao diagnóstico	Manifestação inicial
1.	M	2 anos	7 anos	infecções de repetição
2.	M	4 anos	11 anos	PTI
3.	M	3 anos	13 anos	infecções de repetição
4.	M	1 ano	6 anos	infecções de repetição
5.	M	3 anos	14 anos	infecções de repetição
6.	M	3 anos	27 anos	diarréia crônica
7.	M	4 anos	7 anos	infecções de repetição
8.	M	2 anos	9 anos	infecções de repetição
9.	F	3 anos	8 anos	infecções de repetição
10.	F	1 ano	3 anos	infecções de repetição
11.	M	1 ano	6 anos	infecções de repetição
12.	M	1 ano	2 anos	infecções de repetição
13.	M	1 ano	10 anos	infecções de repetição
14.	M	2 ano	2 anos	diarréia crônica
15.	M	2 ano	12 anos	infecções de repetição
16.	F	2 anos	4 anos	infecções de repetição
17.	M	3 anos	19 anos	infecções de repetição

Tabela 2: Tipos de Manifestações Clínicas dos Pacientes Estudados

Pacientes	Infecções	Gastrointestinais	Autoimunes	Linfoproliferativas
1.	+	+	+	+
2.	+	+	+	+
3.	+	+	-	+
4.	+	+	+	+
5.	+	-	-	-
6.	+	+	-	+
7.	+	-	-	-
8.	+	+	+	-
9.	+	-	-	-
10.	+	-	-	-
11.	+	+	+	+
12.	+	-	-	-
13.	+	-	-	-
14.	+	+	+	+
15.	+	-	+	-
16.	+	-	-	-
17.	+	-	-	-

3.1.2.2. Grupo Controle

Para avaliação dos resultados de quimiotaxia e fagocitose, utilizou-se o padrão de normalidade do Laboratório de Imunologia Pediátrica, construído a partir dos resultados de desempenho de migração e fagocitose avaliados em 28 indivíduos saudáveis (VILELA et al., 1985).

Na dosagem de imunoglobulinas séricas (IgM, IgG e IgA) utilizou-se o soro padrão Vigil-PRxTM (Beckman Instruments, Inc., Fullerton, CA, USA) obtido de plasma humano fresco congelado, desfibrinado e estabilizado em etilenoglicol.

Como controles para a quantificação das subclasses de IgG, subpopulações linfocitárias e células "Natural Killer" (NK) foram utilizados sangue de voluntários sadios pareados por sexo e idade com os pacientes.

Como controles para o estudo da atividade da NADPH oxidase foram utilizados sangue periférico de voluntários sadios não pareados por sexo e idade com os pacientes.

3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1. Coleta de Amostras de Sangue

As coletas de sangue foram realizadas no período da manhã, no dia ou uma semana antes da infusão de imunoglobulina intravenosa (IV), estando o paciente em jejum e clinicamente estável.

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa periférica, em tubos contendo como anti-coagulante EDTA para a avaliação fenotípica dos linfócitos e células NK por citometria de fluxo e heparina para a avaliação da quimiotaxia, fagocitose e produção de ânion superóxido e tubo seco para a dosagem sérica das imunoglobulinas e subclasses de IgG.

O presente protocolo obedece a resolução número 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, tendo sido redigido um termo de consentimento livre e esclarecido de acordo com as normas da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, solicitando aos pais ou responsáveis, a assinatura do termo. O projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, e aprovado.

3.3. METODOLOGIA LABORATORIAL DO PROTOCOLO DE PESQUISA

3.3.1. Hemograma

Os valores hematológicos básicos foram determinados pela realização de hemograma completo, por sistema automatizado de leitura óptica e de variação de impedância. A análise do esfregaço foi realizada por microscopia óptica. Os hemogramas foram realizados no Setor de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Unicamp.

3.3.2. Subpopulações de Linfócitos T (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺), Linfócitos B (CD 19⁺) e Células NK (CD16/56⁺)

A avaliação das moléculas de superfície dos linfócitos T, B e células NK foi realizada no sangue total de 17 pacientes com ICV pareados por sexo e idade com controles normais, testados simultaneamente, por citometria de fluxo no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia da Unicamp. Foi utilizado um citômetro FACSCalibur[®] (Becton Dickinson), com o emprego de anticorpos monoclonais. As amostras foram analisadas com o auxílio do programa CellQuest[™] (Becton Dickinson Immunocytometry System, San Jose, California, USA, 1994)(TESTI, et al., 1994; MAINO, SUNI, RUITENBERG, 1995).

Descrição do Ensaio

Colocou-se 100µl de sangue periférico total em um tubo de poliestireno, para a preparação de uma suspensão de 7×10^6 leucócitos/ml. Incubou-se a preparação celular com 10 µl do anticorpo monoclonal marcado com FITC ou PE por 30 minutos, protegido da luz e em temperatura ambiente. As hemácias foram lisadas através da adição de 2 ml da solução lisante FACS (Becton Dickinson). Posteriormente, centrifugou-se e lavou-se 2 vezes com solução tampão PBS, que contem 2% de albumina bovina e 0,1% de azida sódica, com pH 7,4. Em seguida, ressuspendeu-se novamente em 1ml de PBS. Para avaliação dos marcadores de superfície das células T, B e NK, utilizou-se os anticorpos monoclonais CD3-FITC, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD19/PE e CD16+56 PE (Becton-Dickinson Immunocytometry System, San Jose, California, USA). Realizou-se a leitura no citômetro de fluxo, onde o laser capta a fluorescência da reação do anticorpo monoclonal com as moléculas de superfície da célula, identificando o tamanho e a granularidade das células marcadas.

3.3.3. Imunoglobulinas Séricas (IgM, IgG e IgA)

A determinação dos níveis séricos de IgM, IgG e IgA, foi efetuada por dois métodos diferentes, respectivamente:

Turbidimetria: método utilizado entre 16/11/95 e 24/01/96. O método de turbidimetria mede a redução na transmissão da luz causada por formação de partículas, e quantifica a luz residual transmitida (PESCE, FRINGS, GAULDIE., 1996). A leitura foi realizada em um aparelho Turbitimer® (Behring Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil).

Nefelometria: método utilizado a partir de 22/05/96. O método de nefelometria mede a quantidade de luz dispersa por partículas em suspensão, em uma variedade de ângulos (PESCE, FRINGS, GAULDIE., 1996). A leitura foi realizada em um sistema Array® 360 (Beckman Instruments, Brea, CA, EUA).

3.3.4. Subclasses de IgG (SC IgG)

A determinação das SCIgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) foi realizada no soro de 17 pacientes com ICV pareados por sexo e idade com controles normais, testados simultaneamente, através de nefelometria. A leitura foi realizada em um sistema Array[®] 360 (Beckman Instruments, Brea, CA, EUA), e os kits utilizados foram da marca The Binding Site (Birmingham, Inglaterra).

3.3.5. Função Fagocitária de Monócitos

O estudo da função fagocitária de monócitos foi realizado no soro de 17 pacientes com ICV não pareados por sexo e idade com controles normais. A metodologia do ensaio segue protocolos estabelecidos por TERRITO & CLINE, 1976; MASUDA, 1977; VanFURTH, VanZWET, LEIJH, 1978, modificados por VILELA, 1985.

Descrição do Ensaio

3.3.5.1. Obtenção de Leucócitos Mononucleares

O sangue total, imediatamente após coleta em tubo heparinizado (aproximadamente 100 U de heparina por ml de sangue), foi deixado sedimentar em temperatura ambiente por 1 hora. O plasma rico em leucócitos, juntamente com a porção superior da coluna de hemácias, foram centrifugados por 15 minutos a 1500 rpm, em seguida, suspensos em 2 ml de solução salina balanceada de Hanks (HBSS). Essa suspensão foi colocada sobre um gradiente de Ficoll-Hypaque, densidade 1.076 (BÖYUM, 1968), e centrifugada por 30 minutos a 1500 rpm (para separação de leucócitos mononucleares). Os anéis celulares contendo os leucócitos mononucleares foram cuidadosamente removidos do gradiente e lavados três vezes com solução de Hanks aquecida a 37°C. Em seguida, foram suspensos em solução de Hanks e ajustada a concentração para 1×10^6 células/ml.

3.3.5.2. Fagocitose de Eritrócitos de Carneiro (E) Incubados com Anticorpo de Coelho Anti-Eritrócitos de Carneiro (EA)

Eritrócitos de carneiro (E) conservados por, no máximo, uma semana a 4°C em solução de Alsever estéril, foram lavados três vezes em solução de Hanks e em seguida tiveram sua concentração ajustada a 5% na mesma solução. A suspensão celular foi então incubada por 30 minutos a 37°C com igual volume de anticorpos de coelho anti-eritrócitos de carneiro (EA) numa diluição de 1:400. Após este período de incubação, os eritrócitos foram lavados três vezes em solução de Hanks e ajustada a concentração para 0,5%.

3.3.5.3. Fagocitose de Partículas de Zimosan Incubadas Previamente com Soro Humano

As partículas de zimosan, após serem lavadas três vezes em solução de Hanks, foram ressuspensas na mesma solução contendo 10% de soro humano fresco ("pool" de voluntários adultos normais, conservado a - 70°C, e soro do paciente), numa concentração de 1×10^7 partículas/ml.

3.3.5.4. Ensaio Fagocitário para EA e Zimosan

Um mililitro da suspensão contendo 1×10^6 leucócitos mononucleares de pacientes ou de controles foram incubados no interior de tubos de LEIGHTON, contendo uma lamínula de vidro, previamente desengordurada e seca, por 30 minutos, a 37°C, em atmosfera úmida, com 5% de CO₂, para que os monócitos pudessem aderir à lamínula.

Após este período de incubação, os tubos foram lavados três vezes com agitação vigorosa, em solução de Hanks a temperatura ambiente, para a remoção dos linfócitos que não aderiram à lamínula.

Em seguida, os monócitos aderentes à lamínula foram incubados por mais 30 minutos nas mesmas condições anteriores, na presença de uma suspensão de eritrócitos de carneiro previamente opsonizados com anticorpo de coelho anti-eritrócitos de carneiro a serem fagocitados, para investigação dos receptores para Fc de IgG ou com uma suspensão de partículas de zimosan incubadas previamente com soro controle e do paciente para verificação da fagocitose mediada via receptores para a fração C3 do complemento. O zimosan foi opsonizado pelos componentes C3b e C3bi, que atuam como ligantes nos receptores de complemento tipo I (CR1) e tipo 3 (CR3) expressos na membrana dos monócitos.

A fagocitose espontânea foi verificada utilizando-se uma suspensão de partículas de zimosan não-opsonizadas, incubadas por 30 minutos a 37°C apenas com solução de Hanks.

Foi utilizado para o ensaio fagocitário o seguinte esquema:

* Fagocitose de Eritrócitos de Carneiro:

✓ Monócitos de paciente incubados com EA.

* Fagocitose de Zimosan:

✓ Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro normal;

✓ Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro de paciente;

✓ Monócitos de paciente + Zimosan incubado com meio de Hanks.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.3.5.5. Coloração e leitura

Após os 30 minutos de incubação, as lamínulas foram lavadas três vezes com solução de Hanks, a temperatura ambiente, para a remoção das partículas que não foram fagocitadas. Em seguida, as lamínulas foram retiradas do interior de tubos de LEIGHTON e colocadas em um suporte para lamínulas. Para os experimentos com EA, procedeu-se à fixação com o álcool metílico e coloração pela hematoxilina-eosina. Para as lamínulas previamente incubadas com zimosan, utilizou-se o corante de MAY-GRUNWALD.

Após a coloração, as lamínulas foram deixadas secar, e a seguir, montadas entre lâmina e lamínula, com auxílio de resina Entellan®.

A leitura foi realizada em microscópio óptico com objetiva de imersão em aumento de 1.000 vezes, contando-se 200 a 400 monócitos em cada lâmina, identificando-se as células que haviam fagocitado as partícula. Os resultados foram expressos em Índice Fagocitário que corresponde a porcentagem de células que fagocitaram em relação ao número total de monócitos identificados e Capacidade Fagocitária que corresponde ao número total de partículas fagocitadas por 100 monócitos.

3.3.6. Estudo da Migração Celular (Quimiotaxia)

3.3.6.1. Obtenção do Fator Quimiotático

Como fator quimiotático foi utilizado “pool” de soro de adultos normais e do paciente, incubados isoladamente por 30 minutos, a 37°C, com um lipopolissacáride (LPS) da bactéria *Echerichia coli* cepa 026:B6, dissolvido em solução de Hanks aquecida a 37°C, numa concentração de 50 µg/ml. Foram utilizados 10% de soro, na diluição final, para a geração de fator quimiotático de células mononucleares.

3.3.6.2. Ensaio Quimiotático

O método utilizado constitui uma adaptação da técnica descrita por BOYDEN JR, 1962. No compartimento superior da câmara de Boyden colocou-se 500 µl da suspensão de células mononucleares (2×10^6 células/ml) e no compartimento inferior 200 µl do fator quimiotático, sendo os dois compartimentos separados entre si por uma membrana de filtro de éster de celulose (miliopore), de porosidade pré-determinada (poros de 8 micra para estudo de quimiotaxia de monócitos), através da qual as células vão migrar. Como controle para avaliação da migração espontânea, colocou-se na parte inferior da câmara, meio de Hanks no lugar do soro ativado.

As câmaras ficaram incubadas por 2 horas a 37° C, em atmosfera úmida, com 5% de CO₂. Após este período, os filtros foram removidos, fixados em etanol absoluto, corados com hematoxilina de Harris, desidratados pela passagem em concentração gradativamente crescente de álcool etílico, diafanizados em xilol e finalmente montados entre lâmina e lamínula com auxílio de bálsamo do Canadá .

Foram realizadas, em duplicata, as seguintes combinações:

- ✓ Fagócitos do paciente + soro de normal com LPS;
- ✓ Fagócitos do paciente + soro de paciente com LPS;
- ✓ Fagócitos do controle + soro de normal com LPS;
- ✓ Fagócitos do controle + soro de paciente com LPS;
- ✓ Fagócitos do paciente + solução de Hanks;
- ✓ Fagócitos do controle + solução de Hanks.

3.3.6.3. Leitura

Para a realização da leitura, utilizou-se a objetiva do microscópio 40X (aumento de 400 vezes) e o ajuste fino do micrômetro.

Através da variação observada no micrômetro, mediu-se a distância percorrida pelas células, indo da camada de células que ficou mais próxima do compartimento superior da câmara de BOYDEN, predominantemente linfocitária, até o campo inferior onde pelo menos três células foram visualizadas. O resultado, expresso em micra, foi dado pela média de 20 leituras realizadas para cada membrana de filtro usada para as células mononucleares.

3.3.7. Atividade do Sistema NADPH oxidase

A quantificação do ânion superóxido liberado pelas células mononucleares e polimorfonucleares foi realizada de acordo com a técnica de COHEN & CHOVANIC, 1978, adaptada do método originalmente descrito por MCCORD & FRIDOVICH, 1969.

As suspensões de células mononucleares e polimorfonucleares foram incubadas com forbol miristato acetato (PMA - 30 nM), na presença de citocromo c (50 nM), durante 1 hora. A liberação espontânea de ânion superóxido foi avaliada usando-se meio de Hanks, ao invés de PMA. Metade dos tubos continham superóxido dismutase (SOD - 60 U/ml) no início da reação, e foram controle para a redução inespecífica do citocromo c. Em seguida, adicionou-se SOD (60 U/ml) aos que não o continham. Após centrifugar os tubos foi medida a absorbância de seus sobrenadantes a 550 nm. A quantidade de ânion superóxido liberado foi calculada, aplicando-se o coeficiente de extinção de $21.100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os resultados (nM de superóxido / 10^6 células/tempo de incubação) foram expressos pela diferença de absorbância dos tubos contendo SOD ou não.

3.3.8. Protoparasitológico

Foram utilizadas as técnicas:

3.3.8.1. Flutuação Simples: Técnica de Willis

Colocou-se aproximadamente 1 a 2 g de fezes em um copo descartável com 13 ml de solução salina saturada, densidade 1,20 g/ml. Encheu-se um vidro de penicilina limpo com o líquido contendo as fezes dissolvidas, sem deixar cair grumos grandes, até a borda do vidro. Cobriu-se com uma lamínula. Deixou-se em contato com o menisco durante 10 minutos, não deixando formar bolhas de ar. Passados 10 minutos, removeu-se a lamínula e assentou-se-a em um lâmina sem deixar escorrer ou pingar o sedimento que se aderiu à lamínula.

3.3.8.2. Sedimentação Simples

Colocou-se 3 a 4 g de fezes em um copo descartável, com 20 ml de água, emulsionou-se muito bem, coou-se a suspensão de fezes em gaze com tela plástica em um copo de sedimento com capacidade para 250 ml. O volume foi completado para 200 ml, ficando em repouso por no mínimo 60 minutos. O sedimento foi colhido com pipeta, colocando-o entre lâmina e lamínula, colorindo com lugol e examinando-se em microscópio.

3.3.8.3. Centrífugo-sedimentação: Técnica de Ritchie

Colocou-se 5 g de fezes em um tubo e misturou-se com 10 ml de formol a 10% até a dissolução completa. A suspensão foi coada em funil próprio, em tubo de centrifugação para 15 ml; colocou-se 3 ml de éter ou acetato de etila e 1 gota de detergente. Tampou-se o tubo e agitou-se bem. Foi centrifugado por 2 minutos a 1500 rpm, desprezado o sobrenadante, ressuspensão o sedimento, colocado 10 ml de água destilada. O sedimento foi colhido com pipeta, colocadas 2 gotas do material entre lâmina e lamínula, colorido com lugol e examinado em microscópio.

3.3.8.4. Extração de larvas: método de Rugai

Colocou-se em um copo de sedimentação aproximadamente 70 a 100 ml de água aquecida a 40-45°C. As fezes foram colocadas na tampa de um pote coletor, cobertas com gaze e emborcadas no copo de sedimentação, de modo que o líquido alcançasse toda a extensão da abertura do recipiente. Deixou-se em repouso por 60 minutos. Colocou-se o sedimento no fundo do copo cônico, com pipeta capilar longa e examinou-se o sedimento no microscópio.

3.3.8.5. Contagem de ovos: técnica de Kato-Katz

Colocou-se um pouco de fezes sobre o papel absorvente, comprimindo-se a tela de metal sobre as fezes e raspando-a com o palito. Encheu-se o orifício do cartão sobre uma lâmina, retirou-se o cartão com cuidado, deixando o botão de fezes. Cobriu-se com celofane, invertendo a lâmina sobre o papel absorvente e apertando o botão de fezes para espalhar. Deixou-se em repouso por 30 minutos e examinou-se a amostra no microscópio.

Cálculo: para obtermos o número de ovos por grama de fezes, é necessário contar os ovos e multiplicar por 24.

3.3.8.6. Coloração Permanente para Protozoários: Amebas

Emulsionou-se 2 g de fezes em solução de Schaudinn em volume 2 vezes maior que as fezes. Diluiu-se bem. Encaixou-se a lamínula no entalhe feito em um suporte de borracha com a finalidade de facilitar a manipulação. Fez-se o esfregaço em uma lamínula e fixou-se com soro. Esperou secar e colocou na solução de Schaudinn, com o esfregaço para baixo por 15 minutos.

3.3.8.7. Pesquisa de Coccídios: *Cryptosporidium* sp, *Isospora* e *Cyclospora*

Técnica de Ziehl-Neelsen modificada

Diluiu-se um pouco de fezes com água, filtrou-se em tubo de centrifuga e lavou-se o sedimento 3 vezes. Confeccionou-se o esfregaço em lâmina e esperou secar. Fixou-se com metanol a 96% por 2 a 3 minutos, lavou-se em água, deixando escorrer e colocou-se fucsina fenicada por 20 minutos. Lavou-se em água, deixando escorrer, gotejou-se ácido sulfúrico a 2% para diferenciar. Lavou-se em água, corou-se com verde malaquita a 5% por 5 minutos. Lavou-se com água, secou-se e realizou-se a leitura ao microscópio.

Exame Direto a Fresco

Colocou-se 1 ou 2 gotas de solução salina 0,85% na extremidade de uma lâmina de microscopia e 1 gota de solução de iodo na outra extremidade. Removeu-se uma pequena porção de fezes do recipiente e emulsificou-se na salina, cobrindo a preparação com uma lamínula.

3.3.9. Balanço de Gordura Fecal

Para essa dosagem os pacientes submeteram-se a um regime contendo no máximo 100 g diárias de gordura, durante 3 dias antes de se fazer o balanço, seguido de um período de 4 dias de coleta de fezes, ainda sob regime, armazenando em geladeira o material coletado. Após o 4º dia, todo o material foi homogeneizado, retirando-se do mesmo a quantidade necessária para a dosagem.

Foi realizado a dosagem das gorduras totais, dos ácidos graxos e das gorduras neutras.

Dosagem das Gorduras Totais

Cerca de 5g de fezes foram pesadas em um Erlenmeyer. Após adição de 10ml do KOH a 33% e 40ml do etanol contendo 0,4% de álcool amílico, a mistura foi colocada em ebulição por 20 minutos sob ação de um condensador de fluxo, deixando a seguir esfriar completamente. Adicionou-se 17 ml de HCl a 25%, usando-se cilindro graduado, e em seguida a mistura esfriou totalmente. Adicionou-se 50 ml de éter de petróleo e o frasco foi fechado com uma rolha de borracha e vigorosamente agitado por 1 minuto. Após completada a separação, foram transferidos 25 ml do éter de petróleo para um pequeno Erlenmeyer, usando-se pipeta de pressão. Após adição de um pedacinho de papel de filtro, o éter de petróleo foi evaporado e 10 ml de etanol 96% neutro foram adicionados. Os ácidos graxos foram titulados com NaOH 0,1 com uma microbureta, com azul de timol como indicador, até que a cor amarela muda-se para verde claro.

$$\text{Cálculo : } \frac{A \times 284 \times 1,04 \times 2 \times 100}{10.000 \text{ Q}} = 5,907 \frac{A}{Q} = \text{ácidos graxos em mg\% de fezes.}$$

A : ml de álcali 0,1 N usados na titulação.

Q: grama de fezes usadas para análise.

284 : peso molecular para os ácidos graxos .

1,04: fator de correção

Dosagem dos Ácidos Graxos e das Gorduras Neutras

Cerca de 5 g de fezes foram pesadas em um cilindro graduado. Após adição de 22 ml de solução de HCl contendo NaCl e alguns grãos de pedra pome, a mistura foi fervida por 1 minuto sob condensador de refluxo. O tubo foi então inteiramente esfriado. Foram adicionados 40 ml de etanol 96% contendo 0,4% de álcool amílico, por meio de um cilindro graduado, e 50 ml de éter de petróleo por meio de uma pipeta. Em seguida, o tubo foi fechado com uma tampa de vidro e vigorosamente agitado por 1 minuto.

Quando a separação foi completada, 25 ml do éter de petróleo colocado foram transferidos para um Erlenmeyer de 100 ml com o auxílio de uma pipeta de pressão. Após adição de um pedaço de papel de filtro, o éter de petróleo foi evaporado; 2 ml de etanol neutro foram adicionados e os ácidos graxos livres foram titulados com KOH isobutyl alcoólico 0,1 N de uma microbureta, com azul de timol como indicador, até que o amarelo começasse a mudar. Após a adição de 10 ml de KOH isobutyl alcoólico 0,1 N a solução foi fervida brandamente por 15 minutos. O Erlenmeyer tinha uma rolha de vidro como um condensador de refluxo.

À solução quente foram adicionados 10 ml de etanol neutro, após o qual, o excesso de álcali foi titulado imediatamente com ácido clorídrico 0,1 N até que a cor azul do indicador se tornasse amarela.

Cálculo: $\frac{A \times 284 \times 1,04 \times 2 \times 100}{10.000 \text{ Q}} = 5.907 \frac{A}{Q} = \text{ác. graxos em g por 100g de fezes}$

$\frac{(B-C) \times 297 \times 1,01 \times 2 \times 100}{10.000 \text{ Q}} = 5.999 \frac{(B-C)}{Q} = \text{gordura neutra em g por 100g de fezes}$

A : ml de álcali 0,1 usados na titulação dos ácidos graxos

B: ml de HCl 0,1 usados no “blank” de titulação de 10ml de KOH isobutyl alcoólico

C : ml de HCl 0,1 usados na titulação de gordura

Q : gramas de fezes usadas para análise

297: peso molecular para as gorduras

1,01 : fator de correção.

3.3.10. Teste de Absorção da D- xilose

3.3.10.1. Coleta para Xilosemia de 1 hora

O exame foi realizado pela manhã, com o paciente em jejum completo de 6 horas, inclusive de água. Dissolveu-se 5 g de xilose completando para 100 ml de água destilada. O paciente tomou o volume em menos de 5 minutos. Anotou-se o horário e exatamente 1 hora após, coletou-se 2 ml de sangue em frasco com 6 mg de fluoreto de sódio. A dosagem da xilosemia foi realizado em crianças com menos de 30 Kg.

Técnica

Colocou-se em 0,5ml do padrão, 0,5ml de água destilada e 0,4 ml de sulfato de zinco e hidróxido de sódio e nos 0,5 ml da amostra colocou-se 0,5ml de água destilada e 0,4 ml de sulfato de zinco e hidróxido de sódio. Em 1 ml do blank acrescentou-se 1ml de água destilada e 0,4 ml de sulfato de zinco e hidróxido de sódio. Agitou-se e centrifugou-se por 10 minutos, 3.000 rpm.

Em seguida, colocou-se 0,5 ml do sobrenadante e 2,5 ml de p-bromo anilina no blank, no padrão e na amostra. Agitou-se e colocou-se em banho-maria a 70°C por 10 minutos. Após deixou-se no escuro por 70 minutos. Lê-se em 510µm.

$$\text{Cálculo : } \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 25}{\text{Absorbância do padrão}} = \text{mg\%}$$

A concentração do padrão é 25mg%. E considera-se valor de normalidade os superiores à 20mg%.

3.3.10.2. Coleta para Xilosúria de 5 horas

A coleta foi realizada em jejum completo de 6 horas, inclusive de água. Iniciou-se o exame com a bexiga vazia. Dissolveu-se 5g de xilose completando para 100ml de água destilada, e foi dado para o paciente tomar o volume em menos de 5 minutos. Anotou-se o horário e colheu-se todas as micção durante 5 horas. Rotularam-se todos os frascos colhidos por ordem. Durante o exame ofereceu-se ao paciente mais água filtrada para se obter pelo menos 1000 ml de urina. O paciente permaneceu em jejum até o término do exame.

Técnica

Mediu-se cuidadosamente o volume urinário das 5 horas e anotou-se o volume, fazendo diluições 1/100 e 1/50 em balão volumétrico. Quando a leitura foi muito baixa, fez-se diluições de 1/10 ou 1/25. Procedendo da mesma maneira que para o sangue.

$$\text{Cálculo : } \frac{\text{Absorbância da amostra} \times 25}{\text{Absorbância do padrão}} = C \text{ amostra}$$

$$\frac{C \text{ amostra} \times \text{volume amostra}}{100} = \dots \times \text{diluição (excreção urinária - mg/dl)}$$

$$\frac{\text{mg excretada} \times 100}{5000\text{mg}} = \%$$

A concentração do padrão é de 25mg%. E o valor de normalidade são os superiores a 20mg/%.

3.3.11. Dosagem de Alfa 1 Antitripsina Fecal

Método de Imunodifusão radial

As amostras de fezes coletadas foram estocadas a -20°C . Colocou-se 1 g de fezes, na placa de Petri em estufa a 37°C por 24 horas. Pesou-se 250 mg de fezes secas e diluiu-se em 5 ml de solução salina 0,9%, partindo-se de uma diluição de 1:20, podendo ser necessário fazer diluições de até 1:30, 1:40 ou 1:50, caso não se conseguisse fazer a leitura devido a precipitação ser alta ($\text{halo} \geq 100 \text{ mm}^2$). Levou-se o material ao agitador horizontal de forma intermitente por 60 minutos. Centrifugou-se por 30 minutos, a 3.000 rpm. Amostras de 20 μl do sobrenadante foram colocados em orifícios da placa de imunodifusão radial de alfa 1 antitripsina (LC-Partigen OTUA 03, Behring, Marburg, Germany). A leitura foi realizada após 72hs, através de régua do fabricante (BEHRING) na qual se determina o diâmetro do halo. Depois, plotou-se os resultados em gráfico de diâmetro/concentração (mg%), obtido através de 3 diluições do soro padrão (Protein Standard serum LC-V OTFO 03, Behring, Marburg, Germany). Obtendo-se este resultado, dividiu-se pela diluição realizada. O resultado foi calculado em miligramas de alfa 1 antitripsina fecal por grama de fezes secas (mg/gfs). O valor limite de confiança é superior a 3,16 mg/g fezes secas-percentil 95%.

3.3.12. Teste de Tolerância à Lactose

Foram administrados por via oral 2g/Kg de peso de lactose para crianças pesando até 9 Kg e 18g para as que pesavam mais de 9 Kg, diluídas em 180 ml de água destilada numa solução a 10 %. Coletou-se 2 ml de sangue periférico, em jejum de 8 horas, 30 e 60 minutos após a administração em menos de 5 minutos, da solução de lactose a 10%.

O sangue foi coletado em frasco vacuette[®], acrescido de fluoreto de sódio como anticoagulante inibidor da glicólise. Centrifugou-se, imediatamente, por 3 minutos e trabalhou-se com plasma.

Foi utilizado o Kit Labtest (Labtest diagnóstica S.A, Vista Alegre, Lagoa Santa, MG, Brasil), tendo sido preparado os reagentes de cor da seguinte maneira:

Tampão de Uso : adicionou-se o conteúdo de um frasco nº 2, 100 ml a 400ml de água destilada e misturou-se, permanecendo estável por 12 meses a uma temperatura de 2° a 8° C.

Reagente de Cor : dissolveu-se o conteúdo de um frasco de Enzimas (nº1) em 250 ml de Tampão de Uso, permanecendo estável por 2 meses em frasco de vidro âmbar entre 2° a 8°C.

O reagente de cor contém: Tampão 100 mmol/l; pH 7,4; Glicose Oxidase $\geq$ 20.000 U/l; Peroxidase $\geq$ 668 U/l; 4-aminoantipirina 133 μ mol/l; Fenol 10 mmol/l, preservativos, estabilizadores e ativadores.

Procedimentos de Ensaio Diretos

Colocou-se na placa 20 μ l da amostra no teste e 20 μ l do padrão (nº 3). Em seguida, acrescentou-se 2ml do reagente de cor, no branco, no teste e no padrão. Misturou-se vigorosamente e colocou-se em banho-maria a 37°C por 15 minutos. Posteriormente, determinou-se as absorbâncias do teste e padrão em 505nm, acertando o zero com o branco.

$$\text{Cálculo: } \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 100 = \text{mg\%}$$

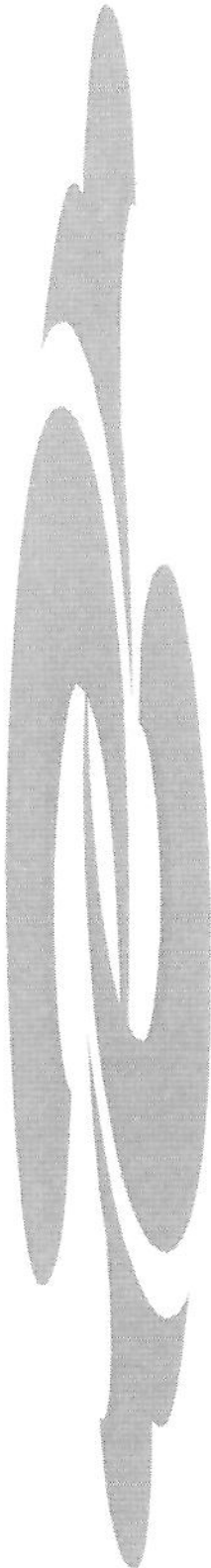
Na interpretação dos resultados, calculou-se o aumento da glicemia com 30 e 60 minutos em relação aos níveis obtidos em jejum, e a interpretação foi feita segundo os critérios preconizados por Kerpel Fronius (HERCOWITZ, 1996) que divide os pacientes em:

- ✓ Não absorvedor: quando o aumento da glicemia não ultrapassa 19 mg/dl;
- ✓ Pobre absorvedor: quando o aumento varia entre 20 e 34mg/dl;
- ✓ Bom absorvedor: quando o aumento ultrapassa 34mg/dl.

3.3.13. Metodologia Estatística

Utilizamos o teste de Wilcoxon (CONOVER, 1971) para amostras relacionadas, na comparação entre os grupos, quando houve o pareamento por sexo e idade. O teste de Mann-Whitney (CONOVER, 1971) foi aplicado para comparação de variáveis não pareadas por sexo e idade entre os dois grupos.

Nas decisões sobre significância foi considerado o intervalo de confiança de 95%, nível de 5% de significância, ou seja, $p < 0,05$, em todos os testes.



4. RESULTADOS

4.1. DADOS DE ANAMNESE E EXAME FÍSICO

Estudamos 17 pacientes, sendo 14 do sexo masculino e 3 do sexo feminino, cuja idade, quando ingressaram nesta pesquisa, variou de 5 a 38 anos. A média de idade de início dos sintomas foi 2,2 anos para os homens e 2 anos para as mulheres, e a média de idade ao diagnóstico foi 10,3 anos para os homens e 5 anos para as mulheres. Treze pacientes eram procedentes do Estado de São Paulo, dois de Minas Gerais e dois do Paraná.

Quanto à história clínica, todos os pacientes iniciaram quadro de infecções recorrentes antes dos 4 anos de vida, e 5 já apresentavam manifestações no primeiro ano de vida.

Dentre as manifestações infecciosas, todos apresentaram história de infecções de vias aéreas superiores e/ou inferiores de repetição, sendo 16 na forma de pneumonias, 15 como otites médias, 15 como sinusites e 6 como amigdalites. Quatro pacientes evoluíram com bronquiectasia e dois com perda da acuidade auditiva.

Quanto à presença de infecções recidivantes nos outros órgãos e sistemas, houve: 3 casos de conjuntivite crônica, 3 de meningite bacteriana, 7 de piodermite, impetigo, celulite e/ou abscessos cutâneos nas mais variadas localizações, 1 de pioartrite, 1 de infecção do trato urinário, 1 de septicemia, 1 de herpes simples, 1 de herpes zoster, 2 de hepatite viral, 1 de encefalite viral, 1 de verruga vulgar, 1 de varicela necessitando de internação em unidade de terapia intensiva e 1 de tuberculose ganglionar.

Ao avaliarmos o trato gastrointestinal, observamos a presença de doença celíaca “like” em 4 pacientes, hiperplasia nodular linfóide em 5, giardíase de repetição em 6, acloridria em 1 e retocolite ulcerativa inespecífica em 2. Observamos perda de gordura fecal (>2g ácidos graxos/dia) em 7 pacientes, teste de tolerância à lactose com resultado positivo (não absorvedor) em 11, absorção da D-xilose reduzida em 5, aumento da excreção fecal de alfa 1 antitripsina em 3 e pesquisa de coccídios nas fezes negativa em todas as amostras testadas.

Todos os pacientes com doença celíaca “like” apresentavam diarreia crônica associada à má absorção intestinal, com redução da absorção da D-xilose, perda de gordura fecal e com teste de tolerância à lactose positivo (não absorvedor), e em um caso observou-

se aumento da excreção fecal de alfa 1 antitripsina. Nos casos em que foi feito a retirada do glúten da dieta, houve melhora significativa das manifestações clínicas e reversão do padrão histopatológico de atrofia das vilosidades intestinais.

Os 5 pacientes com hiperplasia nodular linfóide se caracterizavam por apresentar diarreia crônica, associada à má absorção intestinal, com redução da absorção da D-xilose em 4 pacientes, perda de gordura fecal em 5, aumento da excreção fecal de alfa 1 antitripsina em 2 e teste de tolerância à lactose positiva em 3.

Dos 8 pacientes com manifestação gastrointestinal, 6 (75%) apresentavam giardíase de repetição. Os achados patológicos observados nos pacientes com giardíase incluiu atrofia das vilosidades intestinais em 2, hiperplasia nodular linfóide em 4, perda de gordura fecal em 4, redução da absorção da xilose em 3 e teste de tolerância à lactose positiva em 4.

Em relação às manifestações autoimunes, 7 pacientes apresentaram: 1 anemia hemolítica autoimune (Coombs positivo) associada à púrpura trombocitopênica idiopática; 1 púrpura trombocitopênica idiopática associada à artrite reumatóide; 1 retocolite ulcerativa crônica inespecífica associada à anemia hemolítica autoimune (Coombs positivo); 1 febre prolongada associada a processo inflamatório intestinal inespecífico que melhorou com altas doses de gamaglobulina e corticoterapia; 1 retocolite ulcerativa inespecífica; 1 anemia hemolítica autoimune (Coombs positivo) e síndrome de Evans e 1 neutropenia intermitente.

Em relação às manifestações linfoproliferativas, 5 pacientes apresentaram hepatomegalia e 1 desenvolveu disfunção hepática significativa, com presença de ascite. Esplenomegalia e polimicroadenopatia estavam presentes em 5 pacientes. As biópsias de gânglios revelaram linfadenite crônica inespecífica.

Na tabela 5 são apresentadas a distribuição dos percentis de peso e estatura dos pacientes com ICV que apresentam MGI. Ao compararmos o percentil de peso e estatura inicial e atual desses pacientes, podemos observar que, ao diagnóstico, somente 1 (12,5%) paciente estava abaixo do percentil 2,5. Entretanto, ao avaliarmos o peso e a estatura atual desses pacientes observamos que 4 (50%) estão abaixo do percentil 2,5 e que somente 1 (12,5%) se manteve acima do percentil 25.

Na tabela 6 são apresentadas a distribuição dos percentis de peso e estatura dos pacientes com ICV que não apresentam MGI. Ao compararmos o percentil de peso e estatura inicial e atual desses pacientes, podemos observar que, ao diagnóstico, nenhum paciente estava abaixo do percentil 2,5 e que atualmente todos estão acima do percentil 25, com exceção de 1 paciente que apresenta mal formações esqueléticas como seqüela de encefalite.

Em relação aos antecedentes familiares, houve três casos de consangüinidade e quatro casos com história semelhante na família.

Tabela 3: Distribuição dos pacientes portadores de ICV segundo os resultados do balanço de gordura fecal (BGF), teste de absorção da D-xilose (TAX), teste de tolerância à lactose e alfa 1 antitripsina fecal (α_1 ATF).

Pacientes	Idade	BGF g/dia	TAX mg%	TTL	α_1 ATF mg/gfs
1.	14 anos	2,4	2,47	NA	5,25
2.	13 anos	20,7	17,5	NR	Negativo
3.	20 anos	10,8	23,7	NR	4,2
4.	13 anos	3,6	13,9	NA	5,25
5.	25 anos	3,9	NR	PA	NR
6.	40 anos	40	16,4	NA	1,94
7.	10 anos	2	46,95	NA	0,66
8.		NR	NR	NR	NR
9.	16 anos	NR	42,7	NA	1,26
10.	7anos	NR	21,3	BA	Negativo
11.	18 anos	2	10,5	NA	0,12
12.	17 anos	NR	NR	NA	Negativo
13.	20 anos	3,5	60,4	NA	2,9
14.	10 anos	1,7	90,8	NA	Negativo
15.	15 anos	NR	80,6	NA	0,94
16.	11 anos	NR	50	NA	0,12
17.		NR	NR	NR	NR

NA: não absorvedor, PA: pobre absorvedor, BA: bom absorvedor, NR: não realizado.

Tabela 4: Distribuição dos pacientes portadores de ICV segundo os resultados do trânsito e biópsia intestinais.

Pacientes	Idade	Giardíase	Trânsito intestinal	Biópsia intestinal
1.	7anos	sim		DCL (duodeno)*
2.	9anos	não		DCL/HNL (duodeno) *
3.	15 anos	sim	HNL	
4.	9anos	sim	HNL	HNL (jejuno) *
5.		não	NR	
6.	27 anos	sim	HNL	DCL (jejuno) *
7.		não	NR	
8.	21 anos	não		RCUI (Íleo cecal e reto) *
9.		não	NR	
10.		não	NR	
11.	18 anos	sim	HNL	DCL/RCUI(jejuno,íleo cecal e reto*
12.		não	NR	
13.		não	NR	
14.		sim	NR	
15.		não	NR	
16.		não	NR	
17.		não	NR	

* DCL, HNL, RCUI: diagnóstico histológico descritivo de doença celiaca “like”, hiperplasia nodular linfóide e retocolite ulcerativa inespecífica, NR: não realizado.

Tabela 5: Distribuição do percentil de peso e estatura inicial (ao diagnóstico) e atual nos pacientes com ICV que apresentam MGI.

Pacientes	Peso		Altura	
	Inicial	Atual	Inicial	Atual
1.	2,5 – 10	< 2,5	< 2,5	< 2,5
2.	2,5 – 10	< 2,5	2,5 – 10	< 2,5
3.	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
4.	50	10	25 – 50	10 – 25
6.	2,5 – 10	10 – 25	2,5 – 10	2,5 – 10
8.	10 – 25	50 – 75	25	50
11.	2,5 – 10	< 2,5	10	< 2,5
14.	2,5 – 10	10	10 – 25	10 – 25

Tabela 6: Distribuição do percentil de peso e estatura inicial (ao diagnóstico) e atual nos pacientes com ICV que apresentam MGI.

Pacientes	Peso		Altura	
	Inicial	Atual	Inicial	Atual
5.	25 – 50	75 – 90	25 – 50	50 – 75
7.	97,5	> 97,5	90	75
9.	10 – 25	25 – 50	50	50 – 75
10.	10	25	2,5 – 10	25
12.	25	< 2,5*	10 – 25	< 2,5*
13.	10 – 25	25 – 50	25 – 50	50 – 75
15.	25	10 – 25	25 – 50	25 – 50
16.	> 97,5	> 97,5	50 – 75	90 – 97,5
17.	50 – 75	50 – 75	25 – 50	25 – 50

* mal formações esqueléticas.

4.2. EXAMES LABORATORIAIS E TESTES DIAGNÓSTICOS

4.2.1. Imunoglobulinas Séricas (IgM, IgG e IgA)

A média do nível sérico de IgM, IgG e IgA nos pacientes com ICV foi 17 mg/dl, 365mg/dl e 7,85 mg/dl respectivamente. O nível sérico de IgG estava reduzido em todos os pacientes, o de IgA indetectável em 10, enquanto que o de IgM foi reduzido em 11 e elevado em 1 paciente do sexo feminino.

4.2.2. Subclasses de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4)

Na tabela 7 e figura 1 são apresentadas as comparações dos níveis séricos de subclasses de IgG de pacientes com ICV e dos controles. As diferenças entre as subclasses de IgG são altamente significativas, revelando uma redução muito acentuada nas quatro subclasses de IgG nesses pacientes, principalmente de IgG1 e IgG4 ($p < 0,0001$).

Tabela 7: Níveis séricos de subclasses de IgG em pacientes com ICV e controles

mg/dl	Pacientes (n=17)	Controles (n=17)	p (Wilcoxon)
IgG1	347,7	643,2	0,0001
IgG2	179,1	344,2	0,002
IgG3	38,3	64,3	0,006
IgG4	14,2	53,5	0,0001

Valores expressos em média, com nível de significância $p < 0,05$.

4.2.3. Subpopulações de Linfócitos T (CD3+,CD4+,CD8+), Linfócitos B (CD19+) e Células NK (CD16/56+)

Na tabela 8 e figura 2 são comparadas às porcentagens dos linfócitos T, B e células NK de pacientes com ICV com os controles normais. Verifica-se um aumento significativo da porcentagem de linfócitos TCD3⁺ (p=0,013) e TCD8⁺ (p = 0,004), com a relação CD4+/CD8+ significativamente inferior no grupo de pacientes (p=0,013). Verifica-se também uma redução muito significativa (p=0,006) da porcentagem de células NK nos pacientes. Entretanto, não houve diferença na porcentagem de linfócitos TCD4⁺ e B CD19⁺ entre os dois grupos.

Tabela 8: Porcentagem (%) de linfócitos T, B e células NK em pacientes com ICV e controles.

	Pacientes	Controles	p (Wilcoxon)
	%	%	%
CD3+	79	67	0,013
CD4+	36	39	0,309
CD8+	38	24	0,004
CD19+	9,7	15,3	0,079
CD16/56+	6	38	0,006
CD4/CD8	1,13	1,69	0,013

Valores expressos em média, com nível de significância p < 0,05.

4.2.4. Função Fagocitária de Monócitos do Sangue Periférico.

Na tabela 9 e figura 3 comparam-se os resultados da migração espontânea e estimulada de monócitos de pacientes com ICV com os controles normais. Observa-se uma redução muito acentuada da migração estimulada quando utilizado o soro do paciente ($p=0,0027$) e soro normal ($p=0,0014$). Entretanto, não houve diferença na migração espontânea entre os dois grupos ($p=0,54$).

Tabela 9: Quimiotaxia de monócitos de pacientes com ICV e controles

Quimiotaxia de monócitos (micrômetros- μm)			
	Pacientes (n=17)	Controles (n=17)	p (mann-Whitney)
meio	25,03	28,15	0,54
soro normal	79,82	106,2	0,0014
soro paciente	90,27	108,5	0,0027

Resultados em média, com nível de significância $p < 0,05$.

Na tabela 10 e figura 4 são apresentadas as comparações dos índices fagocitários dos monócitos de pacientes com ICV com os controles normais. Verifica-se que os monócitos apresentam um desempenho fagocitário reduzido, quando a incubação do zimosan é realizada com soro do paciente ($p=0,0183$), havendo normalização após adição do soro normal ($p=0,0746$). Observa-se também uma redução altamente significativa do índice fagocitário para EA ($p=0,0001$).

Tabela 10: Índice fagocitário de monócitos de pacientes com ICV e controles.

Fagocitose de monócitos (índice fagocitário*)			
	Pacientes (n=17)	Controles (n=17)	p (mann-Whitney)
Z- M	29,75	31,68	0,9549
Z- N	85,67	89,63	0,0746
Z- P	73,84	88,60	0,0183
EA	38,67	77,68	0,001

* Índice fagocitário: porcentagem de células que fagocitaram em relação ao número total de monócitos identificados. Resultados em média, com nível de significância $p < 0,05$.

Na tabela 11 e figura 5 são apresentadas as comparações das capacidades fagocitárias dos monócitos de pacientes com ICV com os controles normais. As diferenças entre todas as funções estudadas são altamente significativas, revelando uma redução muito acentuada da fagocitose para zimosan incubado com meio (Z-M), soro normal (Z-N), soro do paciente (Z-P) e EA nos pacientes.

Tabela 11: Capacidade fagocitária de monócitos de pacientes com ICV e controles.

	Fagocitose de monócitos (capacidade fagocitária*)		
	Pacientes (n=17)	Controles (n=17)	p (mann-Whitney)
Z- M	169,00	193,4	0,0102
Z- N	428,3	528,3	0,0175
Z- P	351,4	525,6	0,0001
EA	187,5	300,8	0,0001

* Capacidade fagocitária: número total de partículas fagocitadas por 100 monócitos. Resultados em média, com nível de significância $p < 0,05$.

Nas tabelas 12 e 13 e figura 6, comparam-se os valores obtidos da produção de ânion superóxido de células mononucleares e polimorfonucleares de pacientes com ICV com os controles normais. Verifica-se que não houve diferenças entre os dois grupos.

Tabela 12: Produção de ânion superóxido por células mononucleares de pacientes com ICV e controles.

	Produção de ânion superóxido por células mononucleares ($\eta\text{M O}_2/10^6\text{cel./60''}$)		
	Pacientes (n=17)	Controles (n=17)	p (mann-Whitney)
Espontânea	0,78	1,24	0,1842
Estimulada – PMA	4,99	5,01	0,771

Resultados em média, com nível de significância $p < 0,05$.

Tabela 13: Produção de ânion superóxido por polimorfonucleares de pacientes com ICV e controles.

	Produção de ânion superóxido por polimorfonucleares ($\eta\text{M O}_2/10^6\text{cel./60''}$)		
	Pacientes (n=15)	Controles (n=15)	p (mann-Whitney)
Espontânea	1,34	0,97	0,3447
Estimulada – PMA	8,37	9,86	0,2042

Resultados em média, com nível de significância $p < 0,05$.

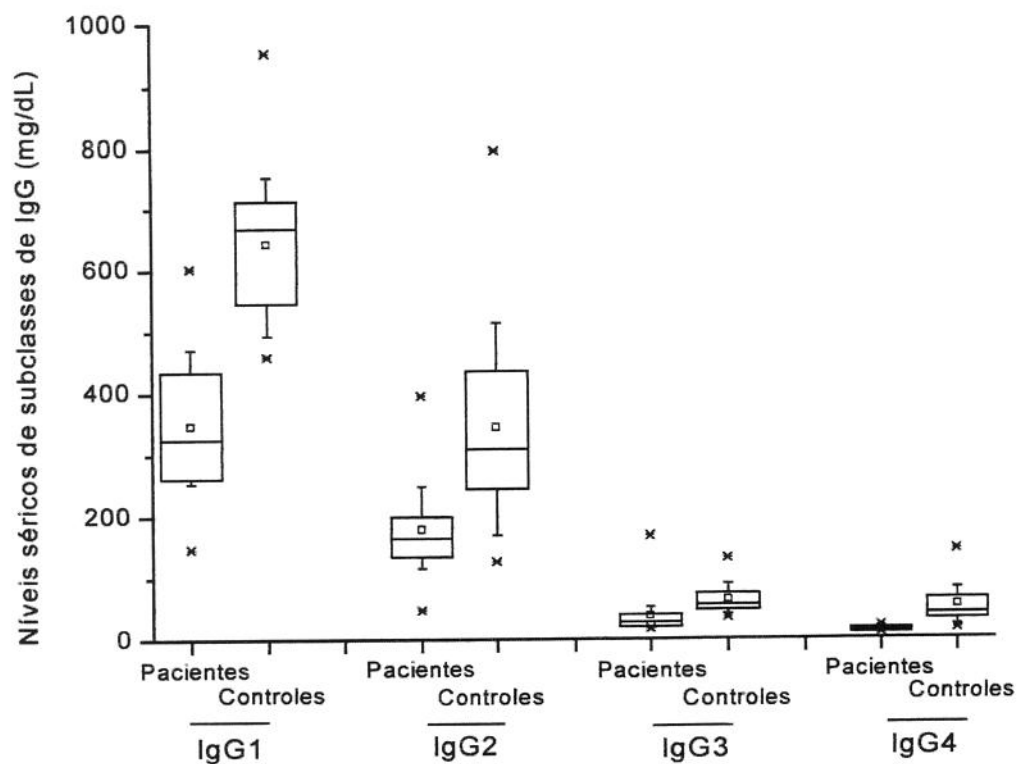


Figura 1: Comparação de subclasses de IgG em pacientes com ICV e controles.

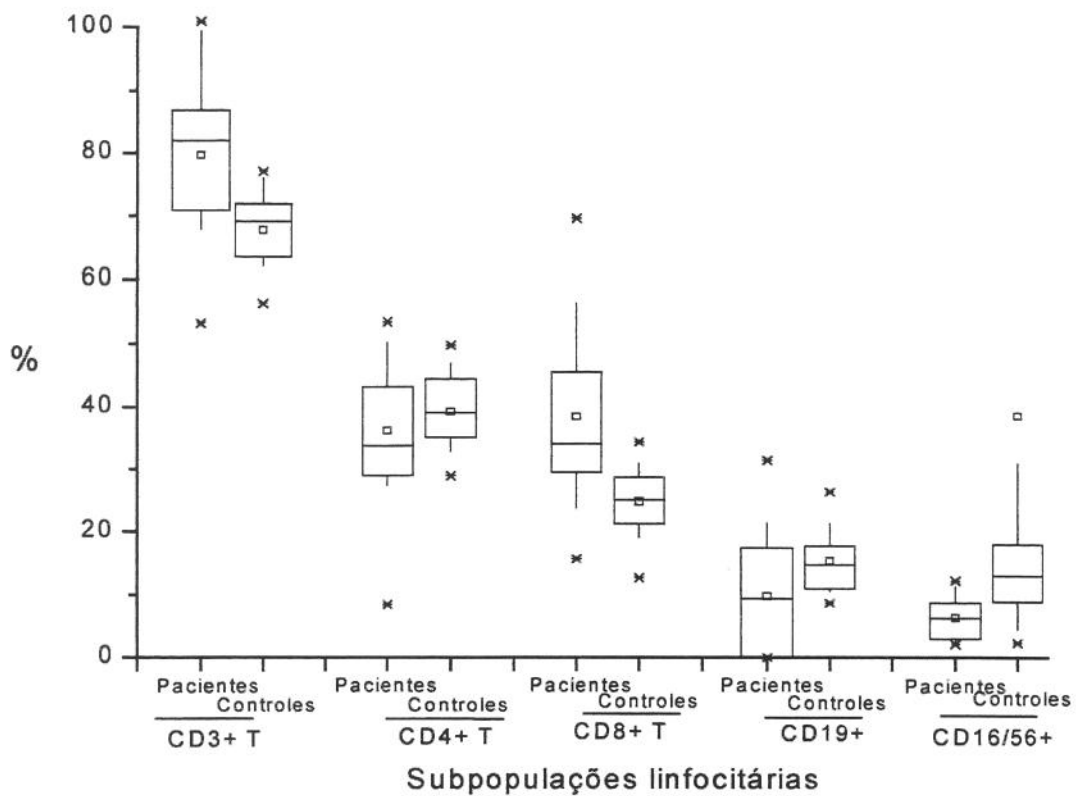


Figura 2: Comparação da porcentagem (%) de linfócitos T, B e células NK em pacientes com ICV e controles.

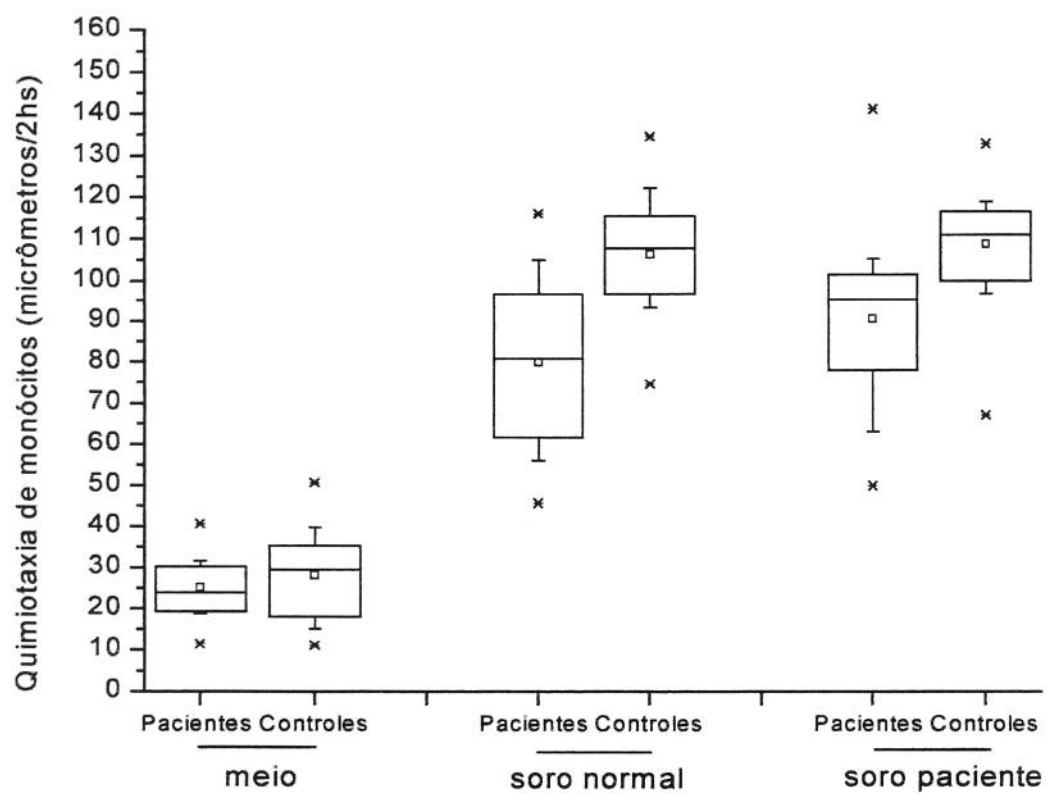


Figura 3: Comparação da quimiotaxia de monócitos de pacientes com ICV e controles.

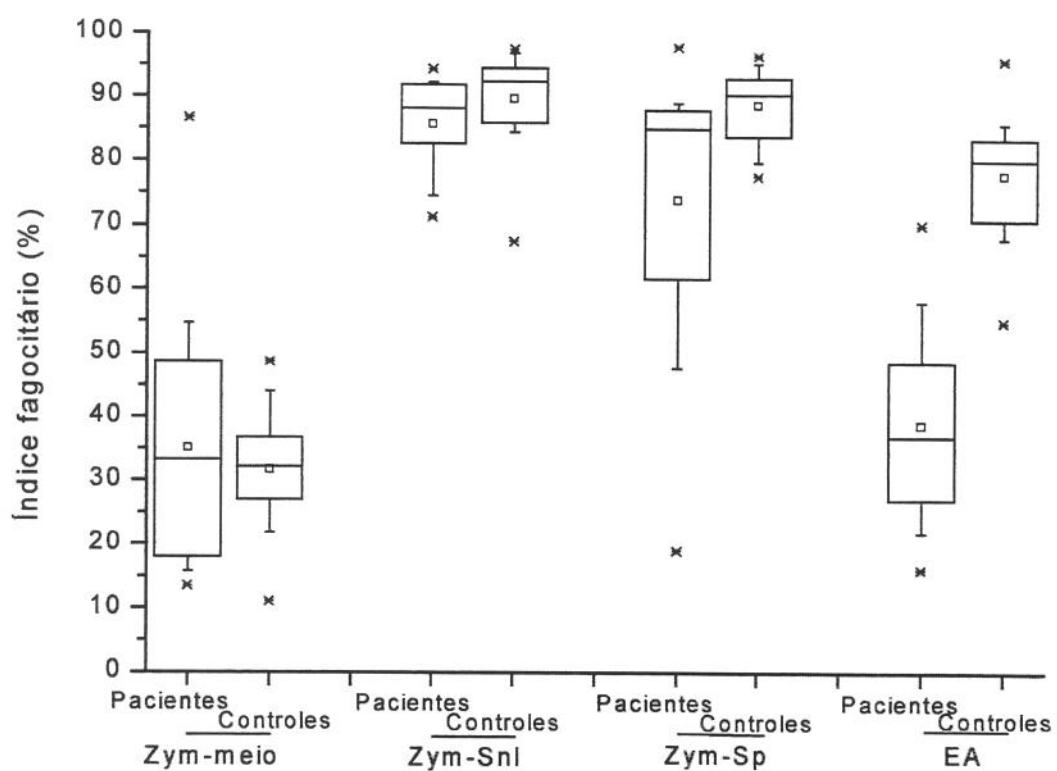


Figura 4: Comparação do índice fagocitário de monócitos de pacientes com ICV e controles.

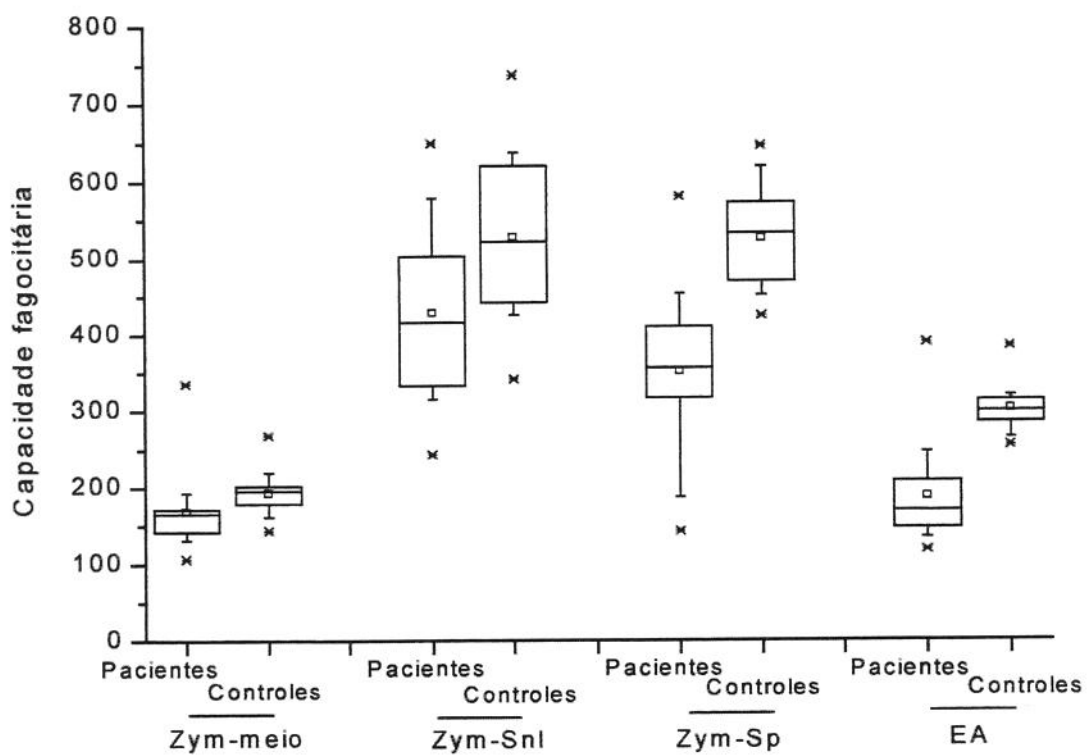


Figura 5: Comparação da capacidade fagocitária de monócitos de pacientes com ICV e controles.

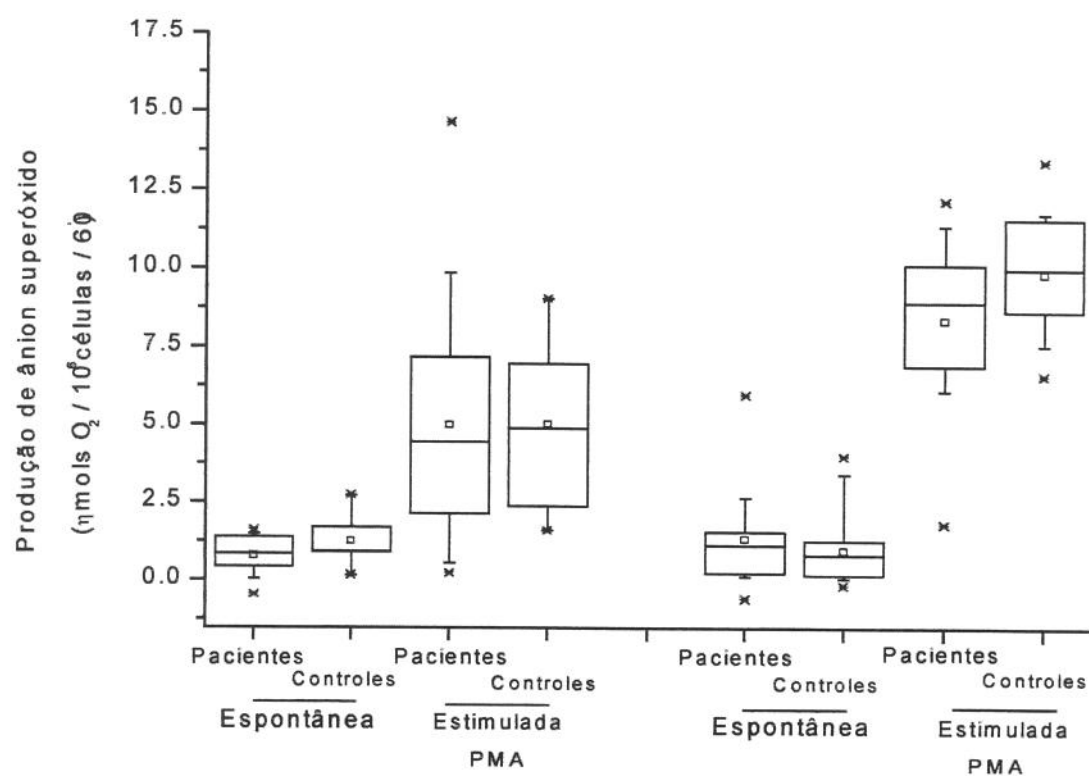
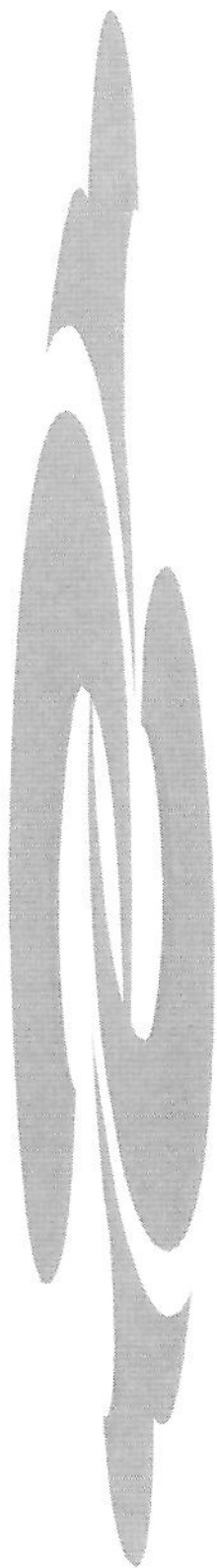


Figura 6: Comparação da produção de ânion superóxido por células mononucleares e polimorfonucleares de pacientes com ICV e controles.



5. DISCUSSÃO

Ao avaliarmos os 17 pacientes com ICV, observamos que todos (100%) apresentaram as primeiras manifestações clínicas antes dos 4 anos de idade, e que 5 (29,4%) desses pacientes apresentaram o início dos sintomas no primeiro ano de vida. Apesar de vários estudos demonstrarem o acometimento tardio da ICV, principalmente na segunda ou terceira décadas da vida (WHO,1997; CONLEY, NOTARANGELO, ETZIONI, 1999), a sua ocorrência no primeiro ano não é um fato raro (CONLEY, PARK, DOUGLAS, 1986; SOLÉ et al., 1992; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999).

É interessante observarmos que apesar do início precoce das manifestações clínicas em nossos pacientes, a grande maioria procurou o serviço tardiamente, já havendo casos de seqüelas como bronquiectasia (23,5%) e perda da acuidade auditiva (11,7%).

Em nosso estudo, houve predomínio do sexo masculino (82,3%) sobre o feminino (17,6%), contrastando com estudos anteriores que não demonstram diferença na distribuição entre os dois sexos (WHO, 1997; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999). Entretanto, há relato de que as mulheres tendem a apresentar o início dos sintomas mais tardiamente que os indivíduos do sexo masculino (CUNNINGHAM & BODIAN, 1999).

Embora os pacientes estudados tenham apresentado uma grande variabilidade clínica, observamos um predomínio das manifestações infecciosas (100%), principalmente do trato respiratório superior e inferior na forma de pneumonia (94,1%), sinusite (88,2%), otite (88,2%) e amigdalite (35,3%) com frequência e gravidade variáveis, o que está de acordo com a literatura consultada (STROBER et al., 1993; CUNNINGHAM & BODIAN,1999). A maior predisposição a infecções bacterianas na ICV é decorrente de defeito na produção de anticorpos, principalmente da imunoglobulina G que age como importante opsonina no líquido extracelular contra bactérias encapsuladas.

É importante salientar que a despeito da terapia de reposição de imunoglobulina, os quadros infecciosos se fizeram presentes, embora em menor número e gravidade, demonstrando dessa forma a possibilidade da existência de diversas variáveis e/ou defeitos. As infecções agudas, recorrentes ou crônicas, induziram praticamente todos os diagnósticos de ICV dos pacientes que procuraram ou foram encaminhados ao nosso serviço.

O comprometimento do trato gastrointestinal foi a segunda manifestação clínica mais freqüente, acometendo 47% dos pacientes na forma de diarreia crônica associada à síndrome de má absorção, giardíase de repetição (35,2%), hiperplasia nodular linfóide (29,4%), doença celíaca "like" (23,5%), retocolite ulcerativa inespecífica (11,7%) e acloridria (5,8%).

É interessante ressaltarmos que os pacientes com manifestação gastrointestinal apresentaram pobre resposta à terapia de reposição de imunoglobulina IV quando comparados com os pacientes sem essa manifestação, representada através da manutenção de infecções e da falta de recuperação do ganho pômdero-estatural. A falta de recuperação nutricional dos pacientes com ICV que apresentavam comprometimento do trato gastrointestinal, pode ser justificada pela repercussão das infecções e da própria diarreia crônica associada à má absorção e perda de proteína a nível intestinal, que não foram bem controladas com o uso de imunoglobulinas IV, e que, quando presentes ao longo do tempo, podem afetar o crescimento.

Nossos resultados foram concordantes aos da literatura, em que há relatos de que cerca de 60% dos pacientes com ICV apresentam diarreia crônica ou recorrente (AMENT, 1975; LAMERS et al., 1980; KINLEN et al., 1985; BASTLEIN et al., 1988) e 20 a 30% evoluem com síndrome de má absorção crônica e perda de peso (JOHNSON et al., 1971), caracterizada por esteatorréia, deficiência de caroteno, folatos e vitamina B12, intolerância à lactose, deficiência de dissacaridases, enteropatia perdedora de proteínas, hiperplasia nodular linfóide e anormalidades na arquitetura das vilosidades intestinais, à semelhança do que ocorre na doença celíaca (AMENT, OCHS, DAVIS, 1973; HERMANS, DIAZ-BUXO, STOBO, 1976; DAWSON et al., 1979; CUNNINGHAM, 1989; OCHS & WINKELSTEIN, 1996; HENEGHAM et al., 1997; WHO, 1997).

BIELORY et al. (1997) relataram que mais de 10% dos pacientes com ICV apresentam enteropatia crônica perdedora de gordura, referida como enteropatia idiopática da ICV. A histopatologia do delgado revela atrofia das vilosidades, principalmente no duodeno, com inflamação intraepitelial, constituída predominantemente de infiltrado de linfócitos, neutrófilos e um número variado de eosinófilos (AMENT, OCHS, DAVIS, 1973; SPERBER & MAYER., 1988; TEAHON et al., 1994). Exceto pela falta de plasmócitos, a histopatologia é muito semelhante à doença celíaca (BIELORY et al., 1997).

O papel da enteropatia sensível ao glúten na patogênese da diarreia e o dano estrutural da mucosa intestinal observado na ICV não estão totalmente esclarecidos (BÄSTLEIN et al, 1988). Clinicamente o paciente se apresenta de forma muito semelhante à doença celíaca, com intenso comprometimento do estado nutricional, distensão abdominal importante, diarreia crônica e vômitos. A pesquisa de gordura fecal se mostra geralmente positiva e o teste de absorção da D-xilose invariavelmente baixo. A biópsia jejunal pode revelar achatamento total e de forma difusa das vilosidades intestinais. Entretanto, há vários relatos na literatura, mostrando a reversão do quadro após restrição do glúten na dieta (BILI et al., 1997; HENEGHAN et al., 1997).

MIKE et al. (1991) relatam que a hiperplasia nodular linfóide ocorre em 20 a 60 % dos pacientes com ICV, podendo ser assintomática ou associada a outras manifestações gastrointestinais, principalmente esteatorréia e enteropatia perdedora de proteínas (WEBSTER et al, 1981; KINLEN et al, 1985). A hiperplasia nodular linfóide pode predispor ao desenvolvimento de linfoma gastrointestinal nesses pacientes (LAMERS et al., 1980; CUNNINGHAM et al., 1987; BÄSTLEIN et al, 1988; ESPINET et al., 1988; CUNNINGHAM, 1989).

A *Giardia lamblia* acomete cerca de 50% dos pacientes com ICV que apresentam diarreia crônica e 10% dos assintomáticos (KINLEN et al., 1985). HENOCHOWICZ (1986) relata que a *Giardia lamblia* pode representar uma importante causa de desordem gastrointestinal na ICV, associada à hiperplasia nodular linfóide, atrofia reversível das vilosidades intestinais, enteropatia perdedora de proteínas e deficiência de dissacaridases.

Muitos pacientes com ICV apresentam acloridria, e alguns desses evoluem com anemia perniciosa (HENOCHOWICZ., 1986; ALONSO et al., 1999) sem entretanto, apresentarem anticorpos anti-células parietais e anti-fator intrínseco, nem aumento da gastrina sérica como na anemia perniciosa verdadeira (DAWSON et al., 1984; DAWSON et al., 1986).

As síndromes de deficiência imunológica têm sido descritas com concomitante deficiência de lactase. DAWSON et al. (1986) demonstraram em experimentos com gradiente de densidade, uma perda completa da lactase em pacientes com ICV, e indicam que a enteropatia nessa síndrome é associada a anormalidades na bordadura em escova jejunal, análoga a encontrada na síndrome de má absorção tropical.

O tecido linfóide associado às mucosas constitui 25% da massa linfóide total, e geralmente os linfócitos da lâmina própria são semelhantes fenotipicamente às células circulantes no sangue periférico, motivo pelo qual acredita-se que a migração de linfócitos anormais que partem de órgãos linfóides primários irão também apresentar expressão anormal no trato gastrointestinal dos pacientes com ICV.

A resposta imune humoral a nível de mucosa intestinal ocorre principalmente às custas da IgA secretora, que é capaz de atravessar as membranas mucosas e evitar a penetração de microorganismos infecciosos. Na ICV, a ausência de IgA secretora observada no trato intestinal, principalmente a nível de intestino delgado, contribui para o crescimento bacteriano excessivo, com conseqüente defeito na absorção de nutrientes (SOLÉ et al., 1992).

WASHINGTON et al. (1996) demonstraram uma maior ocorrência de manifestações gastrointestinais crônicas nos pacientes com ICV que apresentavam fenômenos autoimunes, e sugerem que o processo inflamatório intestinal observado nessa síndrome tenha um componente autoimune.

Ainda não está esclarecido se todas estas manifestações são modos diferentes de apresentação da imunodeficiência ou se constituem etapas na evolução de um mesmo processo imunopatológico

Em relação às manifestações linfoproliferativas, observamos o seu acometimento em 41,1% dos pacientes estudados, na forma de hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatia e hiperplasia nodular linfóide. Ao compararmos nossos dados com os de outros autores (STROBER, et al., 1993; WHO, 1997, CUNNINGHAM & BODIAN, 1999), constatamos que todas as manifestações observadas em nossos pacientes

encontram similares na literatura, com relatos de que desordens linfoproliferativas são freqüentemente observadas nos pacientes com ICV, podendo se manifestar de diversas formas.

Linfomas malignos ocorrem com maior freqüência nesses pacientes do que na população em geral; entretanto, a presença de desordens linfoproliferativas benignas são mais freqüentes, acometendo cerca de 30% dos pacientes com ICV na forma de esplenomegalia e/ou linfadenopatia difusa. A presença de granuloma não caseoso nos pulmões, baço e fígado à semelhança da sarcoidose (KANATHUR et al., 2000) e presença de infiltrado linfóide no intestino, pulmões, nasofaringe e medula óssea podem ser observados nesses pacientes (STROBER, 1993; WHO, 1997). MECHANIC, DIKMAN, CUNNINGHAM (1997) relatam que a desregulação na função de células T ou na ativação de macrófagos podem estar envolvidas na formação de granulomas na ICV.

Observamos que 41,1% dos pacientes estudados apresentaram fenômenos autoimunes, na forma de anemia hemolítica autoimune, trombocitopenia idiopática, artrite, retocolite ulcerativa inespecífica e neutropenia intermitente.

Ao compararmos nossos resultados com os de outros autores, constatamos que todas as manifestações autoimunes observadas em nossos pacientes encontram similares na literatura (HERMANS, DIAZ-BUXO, STOBO, 1976; CUNNINGHAM, 1989; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999), com relatos de que cerca de 20% dos pacientes com ICV, desenvolvem uma ou mais manifestações autoimunes, sendo a anemia hemolítica autoimune e púrpura trombocitopênica idiopática as manifestações mais freqüentes. A neutropenia pode também ser observada com freqüência nesses pacientes, e em alguns casos tem-se demonstrado a presença de anticorpos anti-granulócitos (ASHERSON, 1980; WEBSTER, et al., 1981). CONLEY, PARK, DOUGLAS (1986) relatam que apesar dos pacientes com ICV serem incapazes de montar uma resposta de anticorpos para microorganismos infecciosos, os mesmos são capazes de produzir auto-anticorpos. Esta observação sugere que a produção de anticorpos contra antígenos endógenos e exógenos pode ser controlada por mecanismos diferentes.

Outras manifestações autoimunes podem ocorrer em associação com a ICV, incluindo doenças autoimunes da tireóide (doença de Graves e hipotireoidismo), artrite reumatóide, anemia perniciosa, lupus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren (HERMANS, DIAZ-BUXO, STOBO, 1976; ASHERSON, 1980; CUNNINGHAM, 1989), hepatite crônica ativa, parotidite e síndrome de Guillain-Barré (CONLEY, PARK, DOUGLAS, 1986; LEE, LEVINSON, SCHUMACHER, 1993; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999).

A patogênese das doenças autoimunes na ICV permanece desconhecida, apesar de vários relatos demonstrarem possíveis explicações para tal fato (KREBS-WURTZ, MENNECIER, IMLER, 1998).

Até o momento, não houve casos de neoplasia em nossos pacientes, diferenciando-se dos relatos observados na literatura demonstrando que os pacientes com ICV têm maior predisposição ao câncer (CUNNINGHAM et al., 1987; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999; ASPALTER et al., 2000; SNELLER, 2001). Durante o estudo, dois pacientes evoluíram para óbito devido a hemorragia ventricular, causada por trombocitopenia grave e septicemia.

A ampla variabilidade das manifestações clínicas, aqui relatadas, está de acordo com a experiência mundial sobre a expressão clínica da ICV (GEHA, 1974; HERMANS, DIAS-BUXO, STOBO, 1976; ROSEN, COOPER, WEDGWOOD, 1984; SNELLER, 2001).

Um amplo espectro de anormalidades imunológicas tem sido relacionado com a redução dos níveis de imunoglobulinas séricas observada nos pacientes com ICV, tais como defeito intrínseco de células-B, defeito na função de células-T helper, atividade excessiva de células-T supressoras, defeitos nas funções de células dendríticas, ou apresentação e processamento anormal de antígenos pelos fagócitos (EIBL et al., 1982; EIBL et al., 1982; FARRANT et al., 1985; LEBRANCHU et al., 1991; RUMP et al., 1997).

No presente estudo, todos os pacientes apresentavam níveis séricos inferiores a dois desvios padrões da média para a idade, de pelo menos dois dos três isotipos das imunoglobulinas (IgG, IgA e/ou IgM). Tais observações encontram correspondência na literatura (WHO, 1997; CUNNINGHAM & BODIAN, 1999).

Em nosso estudo, observamos redução significativa dos níveis séricos de todas as quatro subclasses de IgG nos indivíduos com ICV, principalmente de IgG1 e IgG4, quando comparados com controles normais.

Nossa observação encontra apoio na de YOUNT et al. (1970) e WEDGWOOD, OCHS, OXELIUS, (1986), os quais relatam que a deficiência de uma ou mais subclasses de IgG tem sido observada nos pacientes com ICV. A síntese de cada subclasse de IgG tem regulação independente necessitando da cooperação entre os linfócitos T e B (LEE, HEINER, WARA, 1986). As células Th1 secretam IL-2, IL-3, IFN- γ , e estão relacionadas com a produção de IgM, IgG2 e IgG3. As células Th2, secretam IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 e estão envolvidas com a produção de IgG1, IgG3, IgA e IgE. As células Th0, liberam interleucinas que são produzidas tanto pelas células Th1 e Th2 e outras linfocinas (DEKRUYFF et al., 1989; DEL PRETE, 1992; ROMAGNANI, 1992).

RUMP et al. (1997) demonstraram que defeitos funcionais dos linfócitos T e células acessórias resultam em diminuição na produção de citocinas, como IFN- γ , IL-2, IL-10 e IL-4, podendo determinar uma redução dos níveis de subclasses de IgG, uma ocorrência previamente observada nessa síndrome. Assim, alteração na diferenciação de células B pode ser causada por diminuição na produção de citocinas.

Em nosso estudo, chama-nos atenção a presença da redução (<2%) de linfócitos B CD19⁺ no sangue periférico em 8 pacientes masculinos (47%) dos 17 indivíduos estudados.

Fato semelhante foi observado por SPICKETT, et al. (1997) e KANEGANE et al. (2000) que, após avaliarem indivíduos do sexo masculino com diagnóstico de ICV, dando ênfase àqueles que apresentavam redução das células-B circulantes, relataram a possibilidade de que casos esporádicos de indivíduos com agamaglobulinemia ligada ao X (ALX), pudessem estar erroneamente diagnosticados como ICV.

Devido a ICV apresentar ampla variabilidade clínica e imunológica, a maioria dos trabalhos tem incluído pacientes com características muito heterogêneas, obtendo resultados confusos e impossibilidade de comparação entre os estudos, dificultando dessa

forma a sua investigação. Por esse motivo, CONLEY, NOTARANGELO & ETZIONI (1999) propuseram a utilização de critérios, na tentativa de facilitar e uniformizar o diagnóstico da ICV e de outras imunodeficiências primárias.

Se houvésssemos adotado os critérios diagnósticos de CONLEY, NOTARANGELO & ETZIONI, 1999, teríamos em nosso grupo de estudo pacientes com “provável ICV” e “provável ALX”, desde que 47% dos indivíduos masculinos apresentaram redução (<2%) de células-B no sangue periférico. A opção de termos utilizado os critérios da WHO (1997), sem a exclusão inicial destes pacientes, deve-se ao fato de que realizaremos, em uma etapa posterior do trabalho, a avaliação genética para determinarmos a presença de mutações no gene que expressa a tirosina quinase de células B (Btk), e definirmos os casos de ICV que cursam com ausência de células-B e os casos de agamaglobulinemia ligada ao X que também possam estar erroneamente diagnosticados como ICV em nosso serviço.

A contagem de linfócitos CD3+, CD8+ e a relação CD4/CD8, de nossos pacientes, mostraram-se alteradas. Ao compararmos estes parâmetros com os de controles sadios, encontramos aumento significativo das porcentagens de células T CD3+ e CD8+, resultando em significativa redução da relação CD4/CD8. Nossa observação encontra apoio na literatura, na qual podemos encontrar estudos da fenotipagem de linfócitos T no sangue periférico, identificando um subgrupo de pacientes com ICV com redução da relação CD4/CD8 (<1) (WRIGHT, et al., 1990; JAFFE, STROBER, SNELLER, 1993). Na maioria dos casos, essa redução é devida a um aumento do número absoluto de linfócitos CD8+, que ocorre como resultado de um aumento na sua emigração do timo, ou expansão periférica devido a estimulação crônica.

Vários estudos têm avaliado a função dos linfócitos CD8+ nos pacientes com ICV, mas os resultados têm sido bastante conflitantes. Atividades supressoras para a produção de imunoglobulinas têm sido relatadas (WALDMANN et al., 1974; BROOM et al., 1976), porém outros estudos foram incapazes de demonstrar essa excessiva supressão (De La CONCHA et al., 1977). Recentemente, supressão na função de células-T CD4+ pelas células-T CD8+ nos pacientes com ICV tem sido relatada, mas a depleção das células-T CD8+ não restaura a resposta específica a derivados de proteínas purificadas (PPD) (FUNAUCHI et al., 1995).

Em nosso estudo, observamos que a porcentagem de células TCD4+ não demonstrou diferença entre os dois grupos. JAFFE, STROBER, SNELLER (1993) relatam que em contraste às células-TCD8+, as células-T CD4+ dos pacientes com ICV com diminuição da relação CD4/CD8, se apresentam funcionalmente normais.

É interessante a verificação da redução significativa da porcentagem de células NK nos pacientes com ICV, quando comparados ao controle normal, desde que 6 dos 8 pacientes com redução de células NK apresentaram infecções pelo herpes vírus ou outras infecções virais, em oposição ao grupo de pacientes com número normal de células NK que não apresentaram nenhum caso de infecção viral. Entretanto, não há casos de câncer entre os pacientes estudados.

Nossos resultados contrastam aos observados na literatura em que há relato da possibilidade de mecanismos compensatórios para os pacientes com ICV com número reduzido de células NK, desde que estes pacientes não são predispostos a desenvolver infecções pelo vírus herpes e/ou outras viroses (ECKERT et al., 1994; De VRIES et al., 1996), assim como na de ASPALTER et al. (2000) que relaciona a diminuição de células NK ao aumento da predisposição ao câncer, observada nesses pacientes.

As células NK são importantes componentes do sistema imune inato e se distinguem das células-B e T pelo seu fenótipo (CD3-, CD16+ e/ou CD56+), morfologia e funções (TRINCHIERI, 1989; WHITESIDE & HERBERMAN, 1994). Essas células expressam receptores de superfície para IgG (CD16, FcγRIII) os quais se ligam à porção Fc de IgG (RITZ et al., 1988; TRINCHIERI, 1989). A principal atividade funcional atribuída às células NK é a defesa contra células tumorais e lise de células infectadas por vírus (CORADO, 1997). Pode haver um aumento dessas atividades através da estimulação com interferon alfa (IFN-α), interferon beta (IFN-β), IFN-γ e IL-2.

Apesar de haver descrição das funções citotóxicas e imunoreguladoras das células NK (TRINCHIERI, 1989; WHITESIDE & HERBERMAN, 1994), a função dessas células na doença humana é pouco entendida, e há poucos relatos da diminuição delas na ICV.

Quanto ao ensaio de quimiotaxia, nossos resultados mostraram que o grupo de pacientes com ICV apresentaram migração estimulada por LPS significativamente inferior em relação aos controles normais, situação esta, não revertida após administração do soro controle, sugerindo defeito intrínseco celular ou nos receptores de membrana para complemento. Entretanto, nossos resultados mostraram que a migração espontânea de monócitos dos pacientes com ICV foi normal. A verificação de atividade quimiotática defeituosa em pacientes com ICV não encontra resultados similares na literatura.

Neste experimento, o estudo *in vitro* da atividade fagocitária aqui empregada, avaliado como índice e capacidade fagocitárias, utiliza partículas de zimosan incubadas com soro humano normal ou com soro do paciente para serem opsonizadas pelo C3b e C3bi, os quais atuam como ligantes para os receptores CR3 e CR1 da superfície de membrana dos monócitos. Por outro lado, o ensaio de fagocitose de zimosan não-opsonizado é promovido pelos receptores MBL e CR3, expressos de forma variável por monócitos e macrófagos (SHEPHERD, LANE, ABDOLRASULNIA, 1997). O receptor CR3 está envolvido na fagocitose de zimosan não-opsonizado, através do sítio de ligação para polissacárides, assim como pela ligação de C3bi secretado localmente pelo macrófago e depositado sobre o zimosan (EZEKOWITZ et al., 1985).

Nessa investigação, a análise dos resultados evidencia uma redução altamente significativa da capacidade fagocitária de monócitos para zimosan-não opsonizado e zimosan opsonizado com soro humano no grupo de pacientes com ICV quando comparados com os do grupo controle. Supomos que uma possível explicação para a redução do desempenho fagocitário para o zimosan, deva-se a redução na expressão ou defeito funcional dos receptores de manose-fucose e CR3 necessários para a opsonização do zimosan não-opsonizado, assim como dos receptores CR1, CR3 e colectinas, os quais são necessários para a fagocitose do zimosan opsonizado. É interessante ressaltar que não observamos recuperação na capacidade fagocitária de zimosan opsonizado com soro do paciente, mesmo após opsonização das partículas de zimosan com soro humano normal, o que promove adequada condição para opsonização do zimosan, reforçando a hipótese de disfunção celular, não responsiva à adição de fatores opsonizantes solúveis.

Ao avaliarmos a função do receptor Fc, através da fagocitose de EA, observamos uma redução altamente significativa do índice e capacidade fagocitária para hemácias de carneiro (E) opsonizadas com anticorpo de coelho anti-eritrócitos de carneiro (EA) nos pacientes com ICV quando comparados ao grupo controle. As hemácias de carneiro opsonizadas por anticorpos específicos IgG, são fagocitadas pelos monócitos através dos seus receptores Fc gama RII e Fc gama RIII. A disfunção fagocitária acima citada pode ser devido a uma redução na expressão ou disfunção de receptores Fc nesse grupo de pacientes. HACKAM et al., (1997) descrevem que apesar de permanecer incompletamente esclarecido o mecanismo de interação entre as células que expressam em suas membranas o receptor Fc e das partículas opsonizadas com IgG para haver o posterior englobamento, já se tem reconhecido que a ativação da tirosina quinase está envolvida em uma etapa inicial do processo.

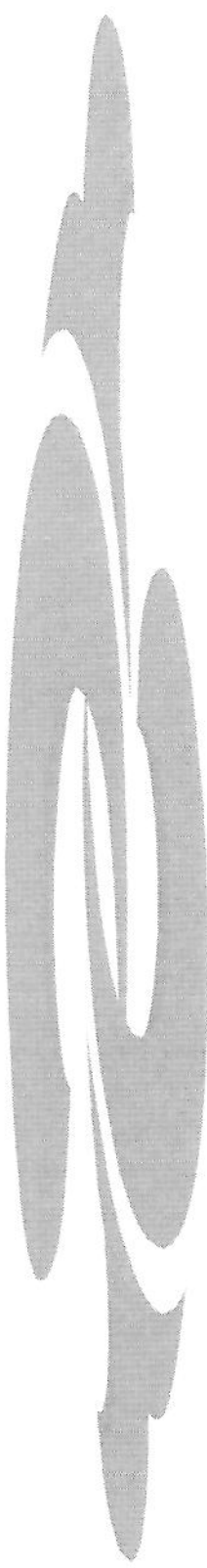
A verificação de atividade fagocitária defeituosa observada em nossos pacientes também não encontra resultados similares na literatura. As publicações sobre o assunto não são muito conclusivas, e pouco se sabe sobre a importância clínica da disfunção fagocitária de macrófagos na ICV.

A maioria dos pesquisadores têm dado muita atenção à investigação sobre as funções dos sistemas T e B nos portadores de ICV, e por esta razão faltam informações sobre o sistema imune inato. EIBL et al. (1982) demonstram que a disfunção dos fagócitos mononucleares pode estar associada a alterações de resposta imune celular e humoral causadas por falhas dos macrófagos teciduais no processamento e apresentação do antígeno, demonstrando dessa forma que o sistema fagocitário mononuclear funciona como elo entre as respostas imunes inata e adaptativa.

Nosso estudo demonstrou importantes alterações nas funções de quimiotaxia e fagocitose dos monócitos de pacientes com ICV, e sugere que uma diminuição da fagocitose possa ser atribuída a alterações, em diferentes níveis, na expressão do receptor Fc gama, receptor do complemento e receptor MBL envolvidos na atividade fagocitária, apontando, portanto, para a necessidade de se estudar a expressão destes receptores na membrana dos monócitos e de se realizar uma avaliação mais abrangente do sistema imune inato desses pacientes para determinar o eventual significado clínico das alterações encontradas.

No presente estudo, a análise da atividade oxidativa espontânea e estimulada com PMA do sistema NADPH-oxidase nas células mononucleares e polimorfonucleares, não demonstrou diferenças significativas nos pacientes com ICV comparados com os controles normais. Estes dados são concordantes com os observados por Di RENZO et al. (1997) que também demonstraram que o metabolismo oxidativo de monócitos e polimorfonucleares é normal nos pacientes com ICV. Entretanto, o estudo realizado por REICHENBACH et al. (2000) demonstrou um aumento na produção das espécies reativas do oxigênio e diminuição da capacidade de “varredura” desses reativos do oxigênio, os quais estariam envolvidos no processo da doença na ICV.

Tomados em conjunto, estes resultados revelam alterações nas funções da imunidade inata e adaptativa sugerindo que a ICV é um modelo natural da perturbação na interação destes dois sistemas. Especificamente em relação ao monócito, nossos resultados ilustram que a função normal desta célula é vital para a saúde.

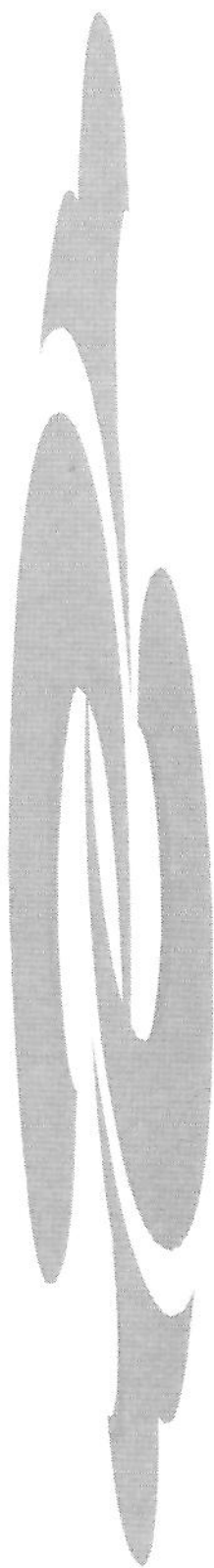


6. CONCLUSÕES

1. Dentre os pacientes com provável diagnóstico de ICV, foi observado:
- ✓ predomínio do sexo masculino (82,3%) sobre o sexo feminino (17,7%);
 - ✓ início das manifestações clínicas antes dos quatro anos de vida, em todos (100%) os pacientes estudados;
 - ✓ ampla variação fenotípica, com predomínio das manifestações infecciosas (100%), sendo as manifestações gastrointestinais a segunda mais frequente (47%), seguida das manifestações autoimunes (41,1%) e linfoproliferativas (41,1%);
 - ✓ síndrome de má absorção intestinal em (41,1%), giardíase de repetição em (35,2%) e teste de tolerância à lactose positivo em (64,7 %);
 - ✓ correlação entre falta de recuperação nutricional e presença de manifestações gastrointestinais;
 - ✓ em relação ao sistema imune inato:
 - deficiência da função de monócitos, caracterizada por diminuição da quimiotaxia e fagocitose de monócitos mediada por receptores CR1, CR3, Fc e MBL;
 - redução da porcentagem de células NK.
 - ✓ em relação ao sistema imune adaptativo:
 - redução (<2%) da porcentagem de células-B circulantes;
 - redução das quatro subclasses de IgG;
 - redução da relação CD4/CD8, às custas do aumento das células-TCD8⁺;
 - aumento da porcentagem das células T-CD3⁺.

1. Não observou-se no grupo de pacientes com provável diagnóstico de ICV em relação aos controles, diferença na:

- ✓ produção de ânion superóxido em células mononucleares e polimorfomucleares;
- ✓ porcentagem de células CD4⁺.



7. SUMMARY

Common variable immunodeficiency is an incompletely defined syndrome, characterized by a defect in antibody formation. Since CVI presents numerous, as yet unclarified, defects we proposed to analyze the evolution of the clinical-laboratorial presentations of 17 patients diagnosed with CVI from the Immunology-Allergy and Pneumology Clinic of the Hospital de Clinicas at the State University of Campinas, Brazil.

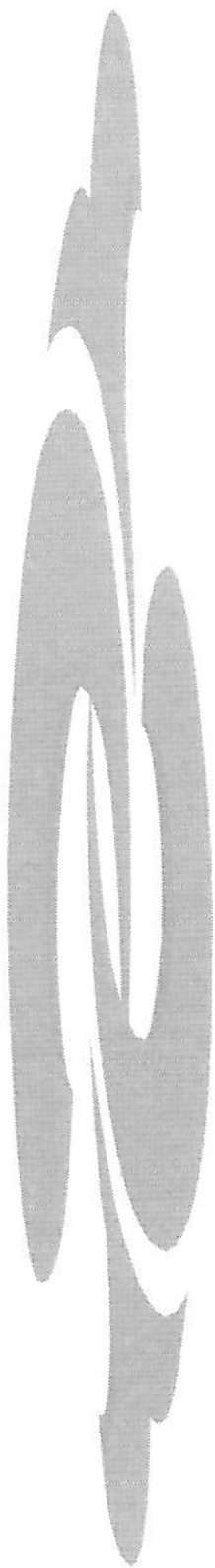
The patients were evaluated according to their age at the initiation of symptoms and their clinical and immunological evolutionary presentation. Blood monocyte phagocytic functions were evaluated *in vitro* by chemotaxis, phagocytosis mediated by Fc, CR1 and CR3 and NADPH-oxidase activity. Concentrations of the serum levels of IgM, IgG, IgA and subclasses of IgG were determined by nephelometry and the lymphocyte subset and NK cells were evaluated by flow cytometry.

All the patients presented initial clinical manifestations before four years of age, developing repeated infections and, in 8 patients, there was an association of gastrointestinal manifestations and 7 patients presented autoimmune phenomena. At the time of diagnosis, the mean concentrations of IgM, IgG and IgA were 17.0 mg/dL, 365.0 mg/dL and 7.85 mg/dL, respectively. In CVI patients, significant reductions in all the subclasses of IgG (IgG1, $p=0.0001$; IgG2, $p=0.002$; IgG3, $p=0.006$ and IgG4, $p=0.0001$) were observed in relation to the control group.

The relative number of NK cells was significantly reduced ($p=0.006$) when compared with normal individuals. The percentage of $CD3^+$ ($p=0.013$) and $CD8^+$ T cells ($p=0.004$) were significantly reduced in patients with CVI in relation to the control group. However a percentage of $CD4^+$ T cells did not demonstrate any differences between the two groups. A reduction in the number of circulating B cells was also observed, with values lower than 2 % in 47 % of the patients with CVI.

Phagocytosis measured via Fc, CR1, CR3 ($p=0.0001$) of monocytes and chemotaxis ($p=0.0027$) were significantly reduced in the patients with CVI in relation to the normal controls. However, there was no difference in the superoxide production between the two groups.

Due to the heterogeneity of the clinical presentations of our patients and those related by the literature, it may be suggested that CVI may be a phenotypic expression of various diseases and that the defects in the chemotaxis and phagocytosis of monocytes may be characterized in a group of patients, determining a new direction in the physiopathology of CVI.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, F.F.; CODOCEO, A.R.; POLANCO, A.I.; AGUADO, G.A.; FONTAN, C.G. - Study of gastrointestinal polypeptides controlling gastric acid secretion in patients with primary antibody deficiency. **Rev. Esp. Enferm. Diag.**, **91**(1): 54-60, 1999.
- AMENT, M.E.; OCHS, H.D.; DAVIS, S.D. - Structure and function of the gastrointestinal tract in primary immunodeficiency syndromes. A study of 39 patients. **Medicine**, **52** (3): 227-247, 1973.
- AMENT, M.E. - Immunodeficiency syndromes and gastrointestinal disease. **Pediatr. Clin. North Am.**, **22**: 807-825, 1975.
- ASHERSON, G.L. - Late onset hypogammaglobulinaemia. In: ASHERSON, G.L.; WEBSTER, A.D.B. - **Diagnosis and treatment of immunodeficiency**. Oxford, UK., Blackwell Scientific, 1980. p. 37-60
- ASHMAN, R.F.; SCHAFFER, F.M.; KEMP, J.D.; YOKOYAMA, W.M.; ZHOU, Z.B.; COOPER, M.D.; VOLANAKIS, J.E. - Genetic and Immunologic Analysis of a Family Containing Five Patients with Common-Variable Immune Deficiency or Selective IgA Deficiency. **J. Clin. Immunol.**, **12**: 406-414, 1992.
- ASPALTER, R.M.; SEWELL, W.A.C.; DOLMAN, K.; FARRANT, J.; WEBSTER, A.D.B. - Deficiency in circulating natural killer (NK) cells subsets in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia. **Clin. Exp. Immunol.**, **121**: 506-514, 2000.
- AUKRUST, P.; MÜLLER, F.; FROLAND, S.S. - Elevated Serum Levels of Interleukin-4 and Interleukin-6 in Patients with Common Variable Immunodeficiency (CVI) Are Associated with Chronic Immune Activation and Low Numbers of CD4+ Lymphocytes. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **70**: 217-224, 1994.
- AUKRUST, P.; MÜLLER, F.; FROLAND, S.S. - Enhanced generation of reactive oxygen species in monocytes from patients with common variable immunodeficiency. **Clin. Exp. Immunol.**, **97**(2): 232-238, 1994.

- AUKRUST, P.; AANDAHL, E.M.; SKALHEGG, B.S.; NORDOY, I.; HANSSON, V.; TASKEN, K.; FROLAND, S.S.; MULLER, F. - Increase activation of protein kinase A type I contributes to the T cell deficiency in common variable immunodeficiency. **J. Immunol.**, **162(2)**: 1178-1185, 1999.
- AUKRUST, P.; MULLER, F.; UELAND, T.; SVARDAL, A.M.; BERGE, R.K.; FROLAND, S.S. - Decreased vitamin A levels in common variable immunodeficiency : vitamin A supplementation *in vivo* enhances immunoglobulin production and downregulates inflammatory responses. **Eur. J. Clin. Invest.**, **30(3)**: 252-259, 2000.
- BÄSTLEIN, C.; BURLEFINGER, R.; HOLZBERG, E.; VOETH, Ch.; GARBRECHT, M.; OTTENJANN, R. - Common variable immunodeficiency syndrome and nodular lymphoid hyperplasia in the small intestine. **Endoscopy**, **20**: 272-275, 1988.
- BAUMERT, E.; WOLFF-VORBECK, G.; SCHLESIER, M.; PETER, H.H. - Immunophenotypical alterations in a subset of patients with common variable immunodeficiency (CVID). **Clin. Exp. Immunol.**, **90**: 25-30, 1992.
- BIELORY, L.; BASILE, F.; PALMISANO, M.; OPPENHEIMER, J.; ORENSTEIN, M. - Chronic diarrhea and pneumonia. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, **78(4)**: 339-344, 1997.
- BILI, H.; NIZOU, C.; NIZOU, J.Y.; COUTANT, G.; SCHMOOR, P.; ALGAYRES, J.P.; DALY, J.P. - Common variable immunodeficiency and total villous atrophy regressive after gluten-free diet. **Rev. Med. Intern.**, **18 (9)**: 724-726, 1997.
- BOYDEN JR., S.V. - The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen in polymorphonuclear leukocytes. **J. Exp. Med.**, **115**: 453-466, 1962.
- BÖYUM, A. - Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, **21(97)**: 77-87, 1968.
- BORISOVA, A.M.; SETDIKOVA, N.K.; KALIAZINA, V.A.; MALASHENKOVA, E.V.; VARFOLOMEEVA, M.I. - Common variable immunodeficiency in adult and problems of its immunotherapy. **Ter. Arkh.**, **70(5)**: 14-20, 1998.

- BRYANT, A.; CALVER, N.C.; TOUBI, E.; WEBSTER, A.D.B.; FARRANT, J. - Classification of patients with common variable immunodeficiency by B cell secretion of IgM and IgG in response to anti-IgM and interleukin-2. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **56**: 239-248, 1990.
- BROOM, B.C.; De La CONCHA, E.G.; WEBSTER, A.D.; JANOSSY, G.J.; ASHERSON, G.L. - Intracellular immunoglobulin production *in vitro* by lymphocytes from patients with hypogammaglobulinaemia and their effect on normal lymphocytes. **Clin. Exp. Immunol.**, **23**: 73-77, 1976.
- BRUGNONI, D.; AIR'ò, P.; LEOVITZ, M.; MALACARNE, F.; UGAZIO, A.G.; NOTARANGELO, L.D.; PLEBANI, A.; CATTANEO, R. - CD4+ cells from patients with common variable immunodeficiency have a reduced ability of CD40 ligand membrane expression after *in vitro* stimulation. **Pediatr. Allergy Immunol.**, **7**(4): 176-179, 1996.
- COHEN, H.J. & CHOVANIC, M.E. - Superoxide release measured continuously at 37°C by following SOD-inhibitable reduction of ferricytochrome C at 550nm. **J. Clin. Invest.**, **61**: 1081-1085, 1978.
- CONLEY, M.E.; PARK, C.L.; DOUGLAS, S.D. - Childhood common variable immunodeficiency with autoimmune disease. **J. Pediatr.**, **108**: 915 – 922, 1986.
- CONLEY, M.E.; NOTARANGELO, L.D.; ETZIONI, A. – Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. **Clin. Immunol.**, **93** (3): 190-197, 1999.
- CONOVER, W.J. – **Practical Nonparametric Statistics**. New York, John Wiley & Sons Inc., 1971a. p.206-216.
- CORADO, J.; TORO, F.; RIVERA, H.; BIANCO, N.E.; DEIBIS, L.; SANCTIS, J.B. – Impairment of natural killer (NK) cytotoxic activity in hepatitis C virus (HCV) infection. **Clin. Exp. Immunol.**, **109**: 451-457, 1997.

- CUNNINGHAM, R.C.; SIEGAL, F.P.; CUNNINGHAM-RUNDLES, S.; LERBERMAN, P. - Incidence of Cancer in 98 Patients with Common Varied Immunodeficiency. **J. Clin. Immunol.**, 7: 294-299, 1987.
- CUNNINGHAM, R.C. - Clinical and Immunologic Analyses of 103 Patients with Common Variable Immunodeficiency. **J. Clin. Immunol.**, 9(1) : 22-33, 1989.
- CUNNINGHAM, R.C.; KAZBAY, K.; HASSETT, J.; ZHU, Z.; MAYER, L. - Brief Report: Enhanced Humoral Immunity in Common Variable Immunodeficiency After Long-Term Treatment with Polyethylene Glycol-Conjugated interleukin-2. **N. Engl. J. Med.**, 331: 918-921, 1994.
- CUNNINGHAM, R.C. & BODIAN, C. - Common variable immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients. **Clin. Immunol.**, 92(1): 34-48, 1999.
- DAWSON, J.; HODGSON, H.J.F.; PEPYS, M.B.; PETERS, T.J.; CHADWICK, V.S. - Immunodeficiency, Malabsorption and Secretory Diarrhea. **Am. J. Med.**, 67: 540-546, 1979.
- DAWSON, J.; BRYANT, M.G.; BLOOM, S.R.; PETERS, T.J. - Gastrointestinal regulatory peptide storage granule abnormalities in jejunal mucosal diseases. **Gut**, 25: 636-643, 1984.
- DAWSON, J.; BRYANT, M.G.; BLOOM, S.R.; PETERS, T.J. - Jejunal mucosal enzyme activities, regulatory peptides and organelle pathology of the enteropathy of common variable immunodeficiency. **Gut**, 27: 273-277, 1986.
- DEKRUYFF, R.H.; TURNER, T.; ABRANS, J.S.; PALLADINO, M.A.; UMETSU, D.T. - Induction of IgE synthesis by CD4+T cell clones. **J. Exp. Med.**, 170: 1477-1493, 1989.
- De la CONCHA, E.G.; OLDHAM, G.; WEBSTER, A.D.B.; ASHERSON, G.L.; Platts-Mills, T.A.E. - Quantitative measurements of T- and B-cells function in "variable" primary hypogammaglobulinaemia: evidence for a consistent B-cell defect. **Clin. Exp. Immunol.**, 27: 208-215, 1977.

- DEL PRETE, G. – Human Th1 and Th2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy. **Allergy**, **47**: 450-455, 1992.
- DENZ, A.; EIBEL, H.; Illges, H.; KIENZLE, G.; SCHLESIER, M.; PETER, H.H. - Impaired up-regulation of CD86 in B cells of "type A" common variable immunodeficiency patients. **Eur. J. Immunol.**, **30**(4) : 1069-1077, 2000.
- De VRIES, E.; KOENE, H.R.; VOSSEN, J.M.; GRATAMA, J.W.; Von dem BORNE, A .E.G.K.; WAAIJER, J.L.M.; HARALDSSON, A.; HASS, M.; Van TOL, M.J.D. - Identification of an unusual Fc gamma receptor IIIa (CD16) on natural killer cells in a patient with recurrent infections. **Blood**, **88**: 3022-3027, 1996.
- Di RENZO, M.; PASQUI, A.L.; BRUNI, F.; BECKER, K. - Evaluation of some immune functions in a patient affected by common variable immunodeficiency using luminescent techniques. **J. Biolumin. Chemilumin.**, **12** : 193-197, 1997.
- Di RENZO, M.; ZHOU, Z.; GEORGE, I.; BECKER, K.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. - Enhanced apoptosis of T cells in common variable immunodeficiency (CVID): role of defective CD28 co-stimulation. **Clin. Exp. Immunol.**, **120**(3): 503-511, 2000.
- DUARTE, A.J.S.; VASCONCELOS, D.M.; SATO, M.N.; SALES, J.M.F.; YAMAGUCHI, N.H.; BRÍGIDO, L.F.M.; KO-HUEY, J.; KANASHIRO, E.H.Y.; KANENO, R.; TANJI, M.M.; TANGI, M.C.; YASSUDA, M.A.S.; PRIGENZI, L.S.; SAMPAIO, M.M.S.C.; CROCE, J. - Imunodeficiência comum variável (Hipogamaglobulinemia de Início Tardio ou Hipogamaglobulinemia Adquirida): Seguimento inicial de 11 casos. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo.**, **45**(3): 95-104, 1990.
- ECKERT, K.; SCHIMITT, M.; GARBIN, F.; WAHA, U.; MONIER, J.C. - Thymosin alpha 1 effects *in vitro*, on lymphokines-activated killer cells from patients with primary immunodeficiencies: preliminary results. **Int. J. Immunopharmacol.**, **16**: 1019-1025, 1994.
- EIBL, M.M.; MANNHALTER, J.W.; ZIELINSKI, C.C.; AHMAD, R. - Defective Macrophage T-Cell Interaction in Common Varied Immunodeficiency. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **22**: 316-322, 1982.

- EIBL, M.M.; MANNHALTER, J.W.; ZLABINGER, G.; MAYR, W.R.; TILZ, G.P.; AHMAD, R.; ZIELINSKI, C.C. - Defective macrophage function in a patient with common variable immunodeficiency. **N. Engl. J. Med.**, **307**: 803-806, 1982.
- ESPINET, J.M.R.; ALONSO, M.J.F.; FERRAN, A.F.; CABALLERO, M.R. - Hipogammaglobulinemia variable comun con hiperplasia nodular linfóide intestinal. **Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.**, **73**: 500-504, 1988.
- EZEKOWITZ, R.A.B.; KUHLMAN, M.; GROOPMAN, J.E.; BYRN, R.A. - Interaction of human monocytes, macrophages, and polymorphonuclear leukocytes with zymosan in vitro. **J. Clin. Invest.**, **76**: 2368-2375, 1985.
- FARRANT, J.; BRYANT, A.E.; LEVER, A.M.L.; EDWARDS, A.J.; KNIGHT, S.C.; WEBSTER, A.D.B. - Defective low-density cells of dendritic morphology from the blood of patients with common variable hypogammaglobulinaemia: low immunoglobulin production on stimulation of normal B cells. **Clin. Exp. Immunol.**, **61**: 189-194, 1985.
- FARRANT, J.; BRYANT, A.; ALMANDOZ, F.; SPICKETT, G.; EVANS, S.W.; WEBSTER, A.D.B. - B Cell Function in Acquired "Common-Variable" Hypogammaglobulinemia: Proliferative responses to Lymphokines. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **51**: 196-204, 1989.
- FARRINGTON, M.; GROSMARE, L.S.; NONOYAMA, S.; FISCHER, S.H.; HOLLENBAUGH, D.; LEDBETTER, J.A.; NOELLE, R.J.; ARUFFO, A.; OCHS, H.D. - CD40 ligand expression is defective in a subset of patients with common variable immunodeficiency. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **91**: 1099-1103, 1994.
- FERRER, J.M.; IGLESIAS, J.; HERNÁNDEZ, M.; MATAMOROS, N. - Alterations in interleukin secretion (IL-2 and IL-4) by CD4 and CD4CD45RO cells from common variable immunodeficiency (CVI) pacientes. **Clin. Exp. Immunol.**, **102**: 286-289, 1995.
- FRIEDMAN, J.M.; FIALKOW, P.J.; DAVIS, S.D.; OCHS, H.D.; WEDGWOOD, R.J. - Autoimmunity in the relatives of patients with immunodeficiency diseases. **Clin. Exp. Immunol.**, **28**: 375-388, 1977.

- FUDENBERG, H.; GOOD, R.A.; GOODMAN, H.C.; HITZIG, W.; KUNKEL, H.G.; ROITT, I.M.; ROSEN, F.S.; ROSE, D.S.; SELIGMANN, M.; SOOTHILL, J.R. Primary Immunodeficiencies: Report of a World Health Organization Committee. *Pediatrics.*, **47**: 927-946, 1971.
- FUNAUCHI, M.; FARRANT, J.; MORENO, C.; WEBSTER, A.D. - Defects in antigen-driven lymphocyte responses in common variable immunodeficiency (CVID) are due to a reduction in the number of antigen-specific CD4+ T cells. *Clin. Exp. Immunol.*, **101**: 82-88, 1995.
- GEHA, R.S.; SCHNEEBERGER, E.; MERLER, E.; ROSEN, F.S. - Heterogeneity of "Acquired" or common variable agammaglobulinaemia. *N. Engl. J. Med.*, **291**: 1-6, 1974.
- GOOD, R.A. - Immunologic disfunction: Immunodeficiency in developmental perspective . In: MIESCHER, P.A.; STRATON, G.; MÜLLER, J.H.; HARD, E. - **Textbook of immunopathology**, 1976. p. 555-606.
- GUO, B. & SAXON, A. - B cell lines from a subset of patients with common variable immunodeficiency undergo enhanced apoptosis associated with a increased display of CD95 (APO-1/fas) diminished CD38 expression and decreased IgG and IgA production. *Cell. Immunol.*, **166**: 83-92, 1995.
- HACKAM, D.J.; ROTSTEIN, O.D.; SCHREIBER, A.; ZHANG, Wj.; GRINSTEIN, S. - Rho is required for the initiation of calcium signaling and phagocytosis by Fc-gamma receptors in macrophages. *J. Exp. Med.*, **186** (6): 955-966, 1997.
- HENEGHAM, M.A.; STEVENS, F.M.; CRYAN, E.M.; WARNER, R.H.; Mc CARTHY, C.F. - Celiac sprue and immunodeficiency states : a 25 year review. *J. Clin. Gastroenterol.*, **25**(2): 421-425, 1997.
- HENOCHOWICZ, S. - Chronic diarrhea and weight loss in a patient with common variable immunodeficiency. *Ann. Allergy.*, **56**(5): 382-383, 410-413, 1986.

- HERCOWITZ, L.H. - Provas de Absorção de Hidratos de Carbono. In: BARBIERI, D. & KODA, Y.K.L. - **Doenças Gastroenterológicas em Pediatria**, São Paulo, Ed. Atheneu, 1996. p. 513-518.
- HERMANS, P.E.; DIAZ-BUXO, J.A.; STOBO, J.D. - Idiopathic Late-Onset Immunoglobulin Deficiency. **Amer. J. Med.**, **61**: 221-237, 1976.
- HERMASZEWSKI, R.A. & WEBSTER, A.D.B. - Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications. **Q. J. Med.**, **86**: 31-42, 1993.
- IGLESIAS, J.; MATAMOROS, N.; RAGA, S.; FERRER, J.M.; MILA, J. - CD95 expression and function on lymphocyte subpopulations in common variable immunodeficiency ;related to increased apoptosis. **Clin. Exp. Immunol.**, **117**(1): 138-146, 1999.
- JAFFE, J.S.; STROBER, W.; SNELLER, M.C. - Functional abnormalities of CD8+T-cells define a unique subset of patients with common variable immunodeficiency. **Blood**, **82**(1): 192-201, 1993.
- JOHNSON, B.L.; GOLDBERG, L.S.; POPS, M.A.; WEINER, M. - Clinical and immunological studies in a case of nodular lymphoid hyperplasia of the small bowel. **Gastroenterology**, **61**: 369-374, 1971.
- KANATHUR, N.; BYRD, R.P. Jr.; FIELDS, C.L.; ROY, T.M. - Noncaseating granulomatous disease in common variable immunodeficiency. **South Med. J.**, **93** (6): 631-633, 2000.
- KANEGANE, H.; TSUKADA, S.; IWATA, T.; FUTATANI, T.; NOMURA, K.; YAMAMOTO, J.; YOSHIDA, T.; AGEMATSU, K.; KOMIYAMA, A.; MIYAWAKI, T. - Defection of Bruton's tyrosine kinase mutations in hypogammaglobulinaemic males registered as common variable immunodeficiency (CVID) in japanese immunodeficiency registry. **Clin. Exp. Immunol.**, **120**(3): 512-517, 2000.
- KINLEN, L.; WEBSTER, A.; BIRD, A.; HAILE, R.; PETO, J.; SOOTHILL, J.; THOMPSON, R. - Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinaemia. **Lancet**, **2**: 263-265, 1985.

- KREBS-WURTZ, E.; MENNECIER, B.; IMLER, M. – Late manifestation of common variable immunodeficiency by Biermer's disease. **Press. Med.**, **27(8)**: 351-353, 1998.
- LAI PING SO, A. & MAYER, L. - Gastrointestinal manifestations of primary immunodeficiency disorders. **Semin. Gastrointest. Dis.**, **8(1)**: 22-32, 1997.
- LAMERS, C.B.H.W.; WAGENER, D.J.T.; ASSMAN, K.J.M.; TONGEREN, J.H.M. - Jejunal lymphoma in a patient with primary adult onset hypogammaglobulinemia and nodular lymphoid hyperplasia of the small intestine. **Dig. Dis. Sci.**, **25**: 553-557, 1980.
- LEBRANCHU, Y.; THIBAUT, G.; DEGENNE, D.; BARDOS, P. - Abnormalities in CD4 + T Lymphocyte Subsets in Patients With Common Variable Immunodeficiency. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **61**: 83-92, 1991.
- LEE, S.I.; HEINER, D.C.; WARA, D. – Development of serum IgG subclass levels in children. **Monogr. Allergy.**, **19**: 108-121, 1986
- LEE, A.H.; LEVINSON, A.I.; SCHUMACHER, H.R.Jr. – Hypogammaglobulinemia and rheumatic disease. **Semin. Arthritis Rheum.**, **22**: 252-264, 1993.
- MAINO, V.C.; SUNI, M.A.; RUITENBERG, J.J. – Rapid flow cytometric method for measuring lymphocyte subset activation. **Cytometry**, **20**: 127-133, 1995.
- MAYER, L.; Fu, S.M.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C.; KUNKEL, H.G. - Polyclonal immunoglobulin secretion in patients with common variable immunodeficiency using monoclonal B-cell differentiation factors. **J. Clin. Invest.**, **74**: 2115-2120, 1984.
- MASUDA, A. – **Avaliação do sistema fagocitário mononuclear na hanseníase**. São Paulo, 1977. (Tese de Doutorado – Escola Paulista de Medicina).
- MCCORD, J. & FRIDOVICH, I. – Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **J. Biol. Chem.**, **244**: 6044-6055, 1969.
- MECHANIC, L.J.; DIKMAN, S.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. - Granulomatous disease in common variable immunodeficiency. **Ann. Intern. Med.**, **127(8)**: 613-617, 1997.

- MIKE, N.; HANSEL, T.T.; NEWMAN, J.; ASQUITH, P. - Granulomatous enteropathy in common variable immunodeficiency :a cause of chronic diarrhoea. **Postgrad. Med. J.**, **67**: 446-449, 1991.
- NOROSKI, L.M. & SHEARER, W.T. - Screening for Primary Immunodeficiencies in the Clinical Immunology Laboratory. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **86**: 237 -245, 1998.
- NORTH, M.E.; SPICKETT, G.P.; WEBSTER, A.D.B.; FARRANT, J. - Raised serum levels of CD8, CD25 and β_2 -microglobulin in common variable immunodeficiency. **Clin. Exp. Immunol.**, **86**(2): 252-255, 1991.
- NORTH, M.E.; WEBSTER, A.D.B.; FARRANT, J. - Defects in proliferative responses of T cells from patients with common variable immunodeficiency on-direct activation of protein kinase C. **Clin. Exp. Immunol.**, **85**: 198-201, 1991.
- OCHS, H.D. & WINKELSTEIN, J. - Disorders of the B-cell System. In: STIEHM, E.R. & FULGINITI, R. - **Immunologic Disorders in Infants & Children**. Philadelphia, W.B.Saunders, 1996. p. 296-338.
- OLERUP, O.; SMITH, C.L.; BJORKANDER, J.; HAMMARSTROM, L. - Shared HLA class II- associated genetic susceptibility and resistance, related to the HLA-DQBI gene, in IgA deficiency and common variable immunodeficiency. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **89**: 10653-10657, 1992.
- OLIVA, A.; SCALA, E.; QUINTI, I.; PAGANELLI, R.; ANSOTEGUI, I.J.; GIOVANNETTI, A.; PIERDOMINICI, M.; AIUTI, F.; PANDOLFI, F. - IL-10 production and CD40L expression in patients with common variable immunodeficiency. **Scand. J. Immunol.**, **46**(1): 86-90 , 1997.
- PASTORELLI, G.; RONCAROLO, M.G.; TOURAINE, J.L.; PERONNE, G.; TOVO, P.A.; VRIES, J.E. - Peripheral blood lymphocytes of patients with common variable immunodeficiency (CVI) produce reduced levels of interleukin-4, interleukin-2 e interferon-gamma, but proliferate normally upon activation by mitogens. **Clin. Exp. Immunol.**, **78**: 334-340, 1989.

- PESCE, A.J.; FRINGS, C.S.; GAULDIE, J. - Spectral Techniques. In: Kaplan, L.A. & Pesce, A.J. **9Clin. Chem.: theory, analysis, correlation**. St. Louis, Mosby, 1996, p.83-105.
- REICHENBACH, J.; SCHUBERT, R.; SCHWAN, C.; MÜLLER, K.; BÖHLES, H.J.; ZIELEN, S. - Antioxidative capacity in patients with common variable immunodeficiency. **J. clin. Immunol.**, **20(3)**: 221-226, 2000.
- RICHARDS, S.J.; SCOTT, C.S.; COLE, J.C.; GOOR, H.C. - Abnormal CD45R expression in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinaemia. **Br. J. Haematol.**, **81**: 160-166, 1992.
- RITZ, J.; SCHMIDT, R.E.; MICHON, J.; HERCEND, T.; SCHLOSSMAN, S.F. - Characterization of functional surface structures on human natural killer cells. **Adv. Immunol.**, **42**: 181-211, 1988.
- ROMANGNANI, S. - Human Th1 and TH2 subsets: Regulation of differentiation and role in protection and immunopathology. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, **98**: 279-285, 1992.
- ROSEN, F.S.; COOPER, M.D.; WEDGWOOD, R.J.P. - The primary immunodeficiencies (Part I). **N. Engl. J. Med.**, **311**: 235-242, 1984.
- RUMP, J.A.; JAHREIS, A.; SCHLESIER, M.; STECHER, S.; PETER, H.H. - A double-blind, placebo-controlled, crossover therapy study with natural human IL-2 (nhu IL-2) in combination with regular intravenous gammaglobulin infusions in 10 patients with common variable immunodeficiency (CVID). **Clin. Exp. Immunol.**, **110**: 167-173, 1997.
- SAIKI, O.; RALPH, P.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C.; GOOD, R.A. - Three distinct stages of B-cell defects in common varied immunodeficiency. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **79**: 6008-6012, 1982.

- SAXON, A.; KELD, B.; BRAUN, J.; DOTSON, A.; SIDELL, N. - Long-term administration of 13-cis retinoic acid in common variable immunodeficiency: circulating interleukin-6 levels, B-cell surface molecule display, and *in vitro* and *in vivo* B-cell antibody production. **Immunology**, **80**: 477-487, 1993.
- SCHAFFER, F.M.; PALERMOS, J.; ZHU, Z.B.; BARGER, B.O.; COOPER, M.D. - Individuals with IgA deficiency and common variable immunodeficiency share polymorphisms of major histocompatibility complex class III genes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **86**: 8015-8019, 1989.
- SCHWARTZ, R.; PORAT, Y.B.; HANDZEL, Z.; STHOEGER, Z.; GARTY, B.Z.; CONFINO-COHEN, R.; LEVY, J.; ZAN-BAR, I. - Identification of a subset of common variable immunodeficiency patients with impaired B-cell protein tyrosine phosphorylation. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, **6(6)**: 856-860, 1999.
- SHEPHERD, V.L.; LANE, K.B.; ABDOLRASULNIA, R. - Ingestion of *Candida albicans* down-regulates mannose receptor expression on rat macrophages. **Arch. Biochem. Biophys.**, **344**: 350-356, 1997.
- SMITH, K.J. & SKELTON, H. - Common variable immunodeficiency treated with a recombinant human IgG, tumor necrosis factor- α receptor fusion protein. **Br. J. Dermatol.**, **144(3)**: 597-600, 2001.
- SNELLER, M.C. & STROBER, W. - Abnormalities of Lymphokine Gene Expression in Patients with Common Variable Immunodeficiency. **J. Immunol.**, **144**: 3762-3769, 1990.
- SNELLER, M.C. - Common variable immunodeficiency. **Am. J. Med. Sci.**, **321(1)**: 42-48, 2001.
- SOLÉ, D.; LESER, P.G.; HILÁRIO, M.O.E.; SOARES, F.J.P.; NASPITZ, C.K. - Common variable immunodeficiency: a clinical and laboratory evaluation of 15 cases. **Rev. Paul. Med.**, **110 (1)**: 42-48, 1992.
- SPERBER, K.E. & MAYER, L. - Gastrointestinal manifestations of common variable immunodeficiency. **Immunol. Allergy Clin. North Am.**, **8**: 423-434, 1988.

- SPICKETT, G.P.; FARRANT, J.; NORTH, M.E.; ZHANG, J.; MORGAN, L.; WEBSTER, A.D.B. – Common variable immunodeficiency: how many diseases?. **Immunol. Today**, **18** (7): 325-328, 1997.
- STOHL, W.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C.; MAYER, L. - In vitro induction of T-cell dependent B-cell differentiation in patients with common varied immunodeficiency. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **49**: 273-282, 1988.
- STROBER, W.; EISENSTEIN, E.; JAFFE, J.S.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. - New Insights into Common Variable Immunodeficiency. **Ann. Intern. Med.**, **118**: 720-730, 1993.
- STROBER, W. - Immunologic and genetic studies in common variable immunodeficiency. **Ann. Intern. Med.**, **118**(9): 722-724, 1993.
- SWEINBERG, S.K.; WODELL, R.A.; GRODOFSKY, M.P.; GREENE, J.M.; CONLEY, M.E. - Retrospective analysis of the incidence of pulmonary disease in hypogammaglobulinemia. **J. Allergy Clin. Immunol.**, **88** (1): 96-104, 1991.
- TEAHON, K.; WEBSTER, A.D.; PRICE, A.B.; WESTON, J.; BJARNASON, I. - Studies on the enteropathy associated with primary hypogammaglobulinemia. **Gut**, **35**: 1244-1249, 1994.
- TERRITO, M.C. & CLINE, M.J. – Monocyte function in man. **J. Immunol.**, **118**: 1303-1309, 1976.
- TESTI, R.; D'AMBROSIO, D.; De MARIA, R.; SANTONI, A. – The CD69 receptor: A multipurpose cell-surface trigger for hematopoietic cells. **Immunol. Today.**, **15**: 479-483, 1994.
- THON, V.; EGGENBAUER, H.; WOLF, H.M.; FISCHER, M.B.; LITZMAN, J.; LOKAJ, J.; EIBL, M.M. – Antigen presentation by common variable immunodeficiency (CVID) B cells and monocytes is unimpaired. **Clin. Exp. Immunol.**, **108** (1): 1-8, 1997.

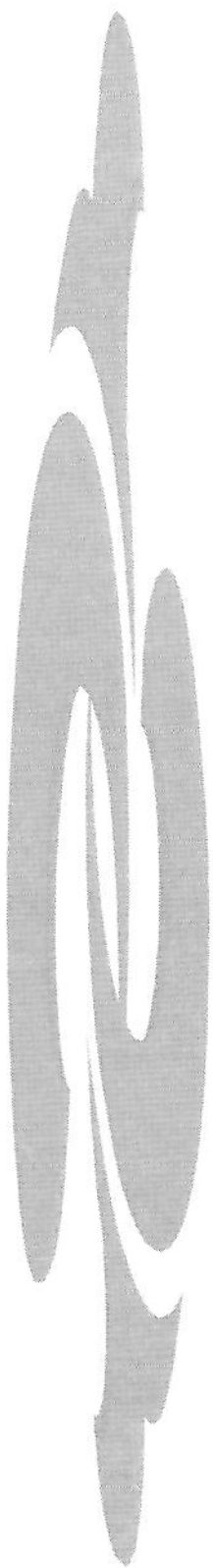
- THON, V.; WOLF, H.M.; SASGARY, M.; LITZMAN, J.; SAMSTAG, A.; HAUBER, I.; LOKAJ, J.; EIBL, M.M. - Defective integration of activating signals derived from the T cell receptor (TCR) and costimulatory molecules in both CD4+ and CD8+ T lymphocytes of common variable immunodeficiency (CVID) patients. *Clin. Exp. Immunol.*, **110**(2): 174-181, 1997.
- TRINCHIERI, G. - Biology of natural killer. *Adv. Immunol.*, **47**: 187-376, 1989.
- ULUHAN, A.; SAGER, D.; JASIN, H.E. - Juvenile rheumatoid arthritis and common variable immunodeficiency. *J. Rheumatol.*, **25**(6): 1205-1210, 1998.
- Van FURTH, R.; Van ZWET, T.L.; LEIJ, P.C.J. - In vitro determinations of phagocytosis and intracellular killing by polymorphonuclear and mononuclear phagocytes. In: WEIR, D.M., *Handbook of Experimental Immunology*. 3rd ed. Oxford Blackwell Scientific Publications, 1978. p. 32..
- VILELA, M.M.S. - **Fagocitose em crianças com doença falciforme**. Campinas, 1985. (Tese de Doutorado- Universidade Estadual de Campinas).
- WALDERMANN, T.A.; BRODER, S.; DURM, M.; BLAESE, R.M.; BLACKMAN, M.; STROBER, W. - Role of suppressor T Cells in Pathogenesis of common variable Hypogammaglobulinaemia. *Lancet*, 609-613, 1974.
- WASHINGTON, K.; STENZEL, T.T.; BUCKLEY, R.H.; GOTTFRIED, M.R. - Gastrointestinal pathology in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. *Am. J. Surg. Pathol.*, **20**(10): 1240-1252, 1996.
- WEBSTER, A.D.; SLAVIN, G.; SHINER, M.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; ASHERSON, G. - Coeliac disease with severe hypogammaglobulinaemia. *Gut*, **22**: 153-157, 1981.
- WEDGWOOD, R.J.; OCHS, H.D.; OXELIUS, V.A. - IgG subclass levels in the serum of patients with primary immunodeficiency immunodeficiency. In: HANSON, L.A.; SODERSTROM, T.; OXELIUS, V.A. - **Immunoglobulin subclass deficiencies**. Monogr. *Allergy*, **20**: 80-89, 1986.

- WHITESIDE, T.L. & HERBERMAN, R.B. - Role of human natural killer cells in health and disease. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, 1: 125-133, 1994.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION SCIENTIFIC GROUP REPORT. Primary Immunodeficiency Diseases. **Clin. Exp. Immunol.**, 109(1): 1-28, 1997.
- WRIGHT, J.J.; WAGNER, D.K.; BLAESE, R.M.; HAGENGRUBER, C.; WALDMANN, T.A.; FLEISHER, T.A. - Characterization of Common Variable Immunodeficiency: Identification of a Subset of Patients with Distinctive Immunophenotypic and Clinical Features. **Blood**, 76: 2046-2051, 1990.
- YOUNT, W.J.; HONG, R.; SELIGMANN, M.; GOOD, R.; KUNKEL, H.G. - Imbalances of gamma globulin subgroups and gene defects in patients with primary hypogammaglobulinemia. **J. Clin. Invest.**, 49: 1957-1966, 1970.
- ZHOU, Z.; HUANG, R.; DANON, M.; MAYER, L.; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. - IL-10 production in common variable immunodeficiency. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 86: 298 - 304, 1998.
- ZULLO, A.; ROMITI, A.; RINALD, V.; VECCHIONE, A.; TOMAO, S.; AIUTI, F.; FRATI, L.; LUZI, G. - Gastric pathology in patients with common variable immunodeficiency. **Gut**, 45 (1): 77-81, 1999.

Referências Bibliográficas de acordo com:

HERANI, M.L.G. – **Normas para apresentação de dissertação e teses.**

BIREME, São Paulo, 1990. 45 p.



9. *ANEXOS*

Declaração de Consentimento Pós - Informação

Projeto de Pesquisa: Imunodeficiência Comum Variável: uma ou várias síndromes?

Responsáveis pelo estudo:

Profª. Dr. Maria Marluce dos Santos Vilela / Ana Lídia Braga Amoras

Declaro estar ciente que este serviço está fazendo acompanhamento de crianças com imunodeficiências primárias, com coleta de exames laboratoriais para avaliação do sistema imunológico desses pacientes.

Estou ciente de que serão coletadas amostras de 5 a 10 ml de sangue periférico e de que levarei meu filho ao hospital para exames médicos e laboratoriais a cada 2 meses.

Fui alertada que o estudo não implicará em nenhum gasto monetário, que todas as informações são sigilosas e também que poderei ser informada sobre os resultados no momento em que desejar.

Estou ciente que posso sair do estudo a qualquer momento , sem prejuízo do acompanhamento e/ou tratamento da doença de meu filho (a).

Paciente / HC-----

Endereço -----

Em caso de dúvidas ligar :

Comissão de Ética Médica : 3788-791

Dra. Maria Marluce Vilela :3788- 7353



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

☒ Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas-S.P.

☎ (019) 37888936

fax (019) 37888925

✉ cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 09/08/01

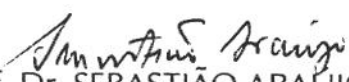
PARECER: N° 019/99

P. DE PESQUISA: IMUNODEFICIÊNCIA COMUM VARIÁVEL: UMA OU VÁRIAS SÍNDROMES?

PESQUISADOR: Ana Lúcia Braga Amoras

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros - relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado os termos do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

Homologado na III Reunião Ordinária do CEP/FCM, de 13 de abril de 1999.


Prof. Dr. SEBASTIÃO ARAÚJO
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP