

RENATO MITSUNORI NISHIHARA

**CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DA LECTINA LIGANTE DA MANOSE NA
SÍNDROME DE DOWN: ASSOCIAÇÃO COM
INFECÇÕES RECORRENTES E DOENÇAS AUTO-IMUNES**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Medicina Interna.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iara de Messias- Reason

CURITIBA

2009

Liana,

André e Eloísa

Razões para prosseguir

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma auxiliaram neste trabalho:

- Pacientes com SD e seus familiares
- Prof.^a Iara Messias-Reason
- Prof.^a Shirley Utiyama
- Funcionários do Ambulatório de SD – HC/UFPR
- Nanci Palmieri de Oliveira
- Noêmia Cavalheiro
- Equipe do Laboratório de Imunopatologia – HC/UFPR, funcionários, amigos e estudantes

... *“Podemos contradizer todo determinismo genético,
porque nada no ser humano está definitivamente escrito...”*
Reuven Feuerstein

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Síndrome de Down (SD)	4
2.1.1 Histórico da SD	5
2.1.2 O cromossomo 21	6
2.1.3 Características gerais	9
2.1.4 Prevalência	11
2.1.5 Formas genéticas	13
2.1.6 Expectativa de vida	14
2.1.7 Mortalidade associada à SD:	15
2.1.8 Alterações imunológicas na SD	17
2.1.9 Infecções em SD	22
2.1.10 Doenças auto-imunes e SD	25
2.1.11 Ambulatório de SD	27
2.2 SISTEMA COMPLEMENTO	28
2.2.1 Aspectos gerais	28
2.2.3 Vias de Ativação	30
2.2.4 A via das lectinas	32
2.2.5 A lectina ligante da manose (MBL)	33
2.2.5.1 Estrutura da MBL	33
2.2.5.2 Genética e concentração sérica	35
2.2.5.3 Funções	37
2.2.5.4 Deficiência de MBL associada a doenças	38
2.2.5.5 Reposição terapêutica de MBL	40
2.2.5.6 MBL e doenças	43
3 OBJETIVO	45
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	45
3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	45
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	46
4.1 CASUÍSTICA	46
4.1.1 Grupo com SD	46
4.1.2 Grupo de comparação	47
4.1.3 Amostras de sangue	47
4.2 MÉTODOS	48
4.2.1 Análise das variáveis clínicas	48
4.2.2 Determinação das concentrações séricas de IgA, IgG, C3 e C4	48
4.2.3 Quantificação da MBL sérica	49
4.2.4 Análise Estatística	51
5 RESULTADOS	51
5.1 Análise dos achados clínicos das crianças com SD	51
5.2 Concentrações de MBL em crianças com SD e controles	52

6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	RISCOS PARA SD E PARA QUALQUER ANOMALIA CROMOSSÔMICA DE ACORDO COM A IDADE MATERNA.....	12
TABELA 2	DISFUNÇÕES IMUNOLÓGICAS NA SD.....	21
TABELA 3	CAUSAS DE MORTE EM PESSOAS COM SD EM RELAÇÃO À IDADE	23
TABELA 4	ACHADOS CLÍNICOS DAS CRIANÇAS COM SD	52
TABELA 5	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM CRIANÇAS COM SD E EM CONTROLES SADIOS.....	54
TABELA 6	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM CRIANÇAS COM SD COM E SEM INFECÇÕES RECORRENTES	56
TABELA 7	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE IMUNOGLOBULINAS EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN COM E SEM INFECÇÕES RECORRENTES.....	58
TABELA 8	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM CRIANÇAS SD COM E SEM DOENÇAS AUTOIMUNES.....	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO DO CARIÓTIPO DE UMA PACIENTE COM SD, APRESENTANDO TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 21.....	4
FIGURA 2: NÚMERO DE PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN E OCORRÊNCIA DE PNEUMONIAS.....	24
FIGURA 3: VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO.....	32
FIGURA 4: ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DA MBL	34
FIGURA 5: ESTRUTURA DO GENE MBL2.....	36
FIGURA 6: FUNÇÕES DA MBL.....	37

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 : CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PACIENTES COM SD E CONTROLES SADIOS.....	53
GRÁFICO 2 : CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PACIENTES COM SD COM E SEM INFECÇÕES DE REPETIÇÃO.....	55
GRÁFICO 3: DEFICIÊNCIA DE MBL EM PACIENTES COM SD COM E SEM IR.....	57
GRÁFICO 4: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM CRIANÇAS SD COM E SEM DOENÇAS AUTO-IMUNES.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	- Artrite reumatóide
CD4	- Conjunto de diferenciação 4
CD8	- Conjunto de diferenciação 8
CI	- Intervalo de confiança
C3	- Componente 3 do sistema complemento
C4	- Componente 4 do sistema complemento
DAI	- Doença auto-imune
DNA	- Ácido desoxido ribonucléico
DC	- Doença celíaca
DCC	- Defeito cardíaco congênito
DRC	- Domínio de reconhecimento de carboidratos
DO	- Densidade óptica
ELISA	- Ensaio imunoenzimático de adsorção
IgA	- Imunoglobulina classe A
IgG	- Imunoglobulina classe G
IgM	- Imunoglobulina classe M
IL	- Interleucina
IR	- Infecções recorrentes
IVAS	- Infecções de vias aéreas superiores
LES	- Lúpus eritematoso sistêmico
MASPs	- serina proteases associadas a lectina ligante de manose
MBL	- Lectina ligante de manose
MHC classe II	- Complexo principal de histocompatibilidade classe II
NK	- Células matadoras naturais
NS	- Não significativo
OR	- Razão de possibilidades
p	- Significância
PAMP'S	- Padrões moleculares associados ao patógeno
SD	- Síndrome de Down
SNPs	- Polimorfismos de nucleotídeos simples
Tregs	- Linfócitos T reguladores
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
vs	- Versus
γ -IFN	- Interferon gama
α -TNF	- Fator de necrose tumoral alfa

RESUMO

A síndrome de Down (SD) é a mais frequente causa de comprometimento intelectual no mundo todo. Indivíduos com SD apresentam anormalidades do sistema imune que incluem maior suscetibilidade a infecções recorrentes (IR), leucemias e doenças auto-imunes (DAI). As infecções do trato respiratório continuam sendo uma das maiores causas de morte na SD. A lectina ligadora de manose (MBL) é o principal componente da via das lectinas do sistema complemento. Já foi demonstrado que a deficiência de MBL aumenta a suscetibilidade para diferentes doenças infecciosas, principalmente a patógenos extra-celulares. No presente estudo, foram determinadas as concentrações séricas de 150 crianças e adolescentes brasileiras com SD, com a finalidade de se verificar o quanto a deficiência ou aumento das concentrações de MBL estão associadas com a presença de IR e/ou DAI nesses pacientes. Os resultados demonstraram que a deficiência de MBL foi significativamente associada com maior risco de IR e pneumonia recorrentes em crianças e adolescentes com SD (OR=3.43, 95% IC=1.5-7.85; p=0.005 e OR=3.68, 95% IC=1.5-6.95; p=0.005, respectivamente) e pode-se sugerir que esses pacientes, em futuro próximo, poderiam ser beneficiados pela reposição terapêutica de MBL. Por outro lado, não foi observada associação significativa entre a presença de DAI e concentrações séricas de MBL.

PALAVRAS CHAVE: Síndrome de Down; crianças imunocomprometidas; deficiência de MBL; infecções recorrentes; complemento; doenças auto-imunes.

ABSTRACT

Down syndrome (DS) is the most frequent cause of mental disability worldwide. DS individuals present abnormalities in the immune system which include high susceptibility to recurrent infections (RI), as well as to hematological malignancies and autoimmune diseases (AID). Respiratory tract infections remain one of the major causes of death in DS. Mannan-binding lectin (MBL) is a major component of the lectin complement pathway. MBL deficiency was shown to increase the susceptibility to different infectious diseases, notably by extracellular pathogens. In the present study, MBL circulating levels were evaluated in 150 children with DS from Brazil, in order to verify whether MBL deficiency or increase are associated with the presence of RI or DAI in these patients. The results demonstrated that MBL deficiency significantly increased the risk of RI and recurrent pneumonia in DS children (OR=3.43, 95% CI=1.5-7.85; p=0.005 and OR=3.68, 95% CI=1.5-6.95; p=0.005, respectively) and may suggest that, in the near future, these patients could potentially benefit from MBL reposition therapy. On the other hand, a significant association between DAI and levels of MBL was not observed.

KEY WORDS: Down syndrome; immunocompromised children; MBL deficiency; recurrent infections, complement; autoimmune diseases.

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Down (SD) ou trissomia 21 se origina de um erro genético que ocorre de modo bastante regular no mundo todo, afetando 1 em cada 600/800 nascidos vivos. Crianças com SD com frequência apresentam características como hipotonia, comprometimento intelectual, alterações anatômicas e fisiológicas peculiares à síndrome que podem afetar em variados graus o seu desenvolvimento físico e cognitivo. Alterações diversas do sistema imunológico conferem a esses pacientes maior suscetibilidade à infecções e doenças auto-imunes (KUSTERS et al, 2009).

O aprimoramento do conhecimento a respeito da SD e o melhor tratamento das co-morbidades têm contribuído para o aumento da expectativa de vida do paciente, que era de 12 a 15 anos em 1947. Atualmente, é cada vez mais comum que pessoas com SD cheguem aos 60, 70 anos de idade (BITTLES et al, 2006). No entanto, a mortalidade na SD ainda é cerca de 5,4 vezes maior que da população em geral (YANG et al, 2002).

Os distúrbios imunológicos intrinsecamente presentes na SD (HINGH et al, 2007; KUSTERS et al, 2009) fazem com que infecções, principalmente as de trato respiratório, sejam implicadas na morbidade e mortalidade dos pacientes. GARRISON e cols (2005) mostraram que crianças com SD têm risco de morte 30% maior quando acometidos de infecção sistêmica (sepse) do que aquelas que não têm trissomia. BITTLES e cols (2006) analisaram as causas de morte dos indivíduos com SD e agrupando-os por idade, demonstraram que infecções, principalmente pneumonias, são as causas mais frequentes de morte em todas as faixas etárias.

A maioria dos trabalhos com enfoque imunológico na SD estudou defeitos da resposta imunológica adaptativa, principalmente relacionada às alterações da função tímica e populações linfocitárias (KUSTERS et al, 2009, CUADRADO;BARRENA, 1996). Estudos do sistema complemento na SD são escassos e conflitantes. LOCKTICH e cols (1987) observaram aumento nas concentrações dos componentes C3 e C4, não relacionados com a idade em pacientes com SD. No entanto, outros autores relataram níveis normais dos componentes C3, C4 e atividade funcional (CH50) em pacientes com a síndrome (RIBEIRO et al, 2003; TRINCADO et al, 1984). Não há estudos publicados sobre a via das lectinas na SD.

A MBL é um dos principais componentes da via das lectinas, pertence à família das colectinas e está presente na primeira linha de defesa do hospedeiro contra diferentes patógenos (SUPER,1992). Essa proteína se liga a uma variedade de açúcares como N-acetil-D-glucosamina, manose, N-acetil-manosamina, fucose e glucose, expressos nos PAMP'S (padrões moleculares associados ao patógeno) de diferentes microorganismos e estruturas. Atua favorecendo a fagocitose e na ativação do sistema complemento (TURNER, 2003). As concentrações séricas de MBL são praticamente definidas por polimorfismos do gene *MBL2* que está localizado no cromossomo 10. Assim, de acordo com seu genótipo, alguns indivíduos não produzem ou produzem baixas concentrações de MBL (níveis inferiores a 100 ng/ml) sendo conhecido que a deficiência de MBL está associada à maior susceptibilidade e/ou gravidade das doenças infecciosas por diferentes patógenos como bactérias, fungos e vírus (TURNER, 2003; GARRED et al, 1997; KOCH et al, 2001). Por outro lado, altas concentrações de MBL também podem, sob certas condições,

acentuar o dano tecidual resultante da ativação indesejada do complemento (GARRED et al, 1994). Valores diminuídos de MBL ou freqüência aumentada dos alelos mutantes em pacientes com DAI foram observados em pacientes com doenças como lúpus eritematoso sistêmico (MONTICIELO et al, 2008), artrite reumatóide (IP; LAU, 2000; JACOBSEN; GARRED; MADSEN, 2009) entre outras; onde se observou que a MBL atua na regulação da resposta imunológica implicada nessas doenças. Essa dualidade da MBL chama a atenção, uma vez que sua concentração, independentemente de ser alta ou baixa pode estar associada aos aspectos clínicos das DAI ou então com maior suscetibilidade às infecções, uma vez que essa proteína pode atuar de formas diferentes na patogênese das doenças.

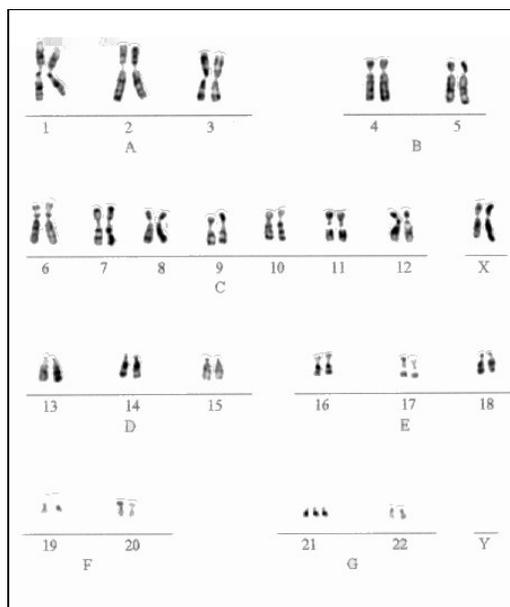
A maior prevalência de infecções recorrentes e de DAI em crianças e adolescentes com SD e o fato de que tais achados estão associados ao funcionamento desordenado do sistema imunológico, incluindo-se o sistema complemento, justifica o estudo sobre as concentrações séricas de MBL nesses grupo de indivíduos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Síndrome de Down (SD)

A SD ou trissomia 21 é a síndrome genética melhor conhecida, sendo responsável por 18% dos portadores de atraso mental que freqüentam instituições próprias para crianças especiais. O diagnóstico preciso é feito pelo cariótipo que é a representação do conjunto de cromossomos de uma célula. Na figura 1 está representado o cariótipo de uma paciente portadora da SD que mostra trissomia do cromossomo 21. O cariótipo é o principal exame para confirmar a SD e geralmente é realizado a partir dos leucócitos obtidos de amostra de sangue periférico. É também possível realizá-lo, antes do nascimento, depois da décima primeira semana de vida intra-uterina, utilizando-se anexo embrionário.

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO DO CARIÓTIPO DE UMA PACIENTE COM SD, APRESENTANDO TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 21.



FONTE: SCWARTZMAN et al, 1999.

2.1.1 Histórico da SD

A SD é uma condição genética, reconhecida há mais de um século por John Langdon Down, que apresentou uma cuidadosa descrição clínica da síndrome, entretanto erroneamente estabeleceu associações com caracteres étnicos, seguindo a tendência da época. Chamou a doença inadequadamente de idiotia mongolóide. No seu trabalho, ele relata: *“A grande família Mongólica apresenta numerosos representantes e pretendo neste artigo chamar atenção para o grande número de idiotas congênitos que são mongóis típicos. O seu aspecto é tão marcante que é difícil acreditar que são filhos dos mesmos pais... O cabelo não é preto, como em um Mongol típico, mas de cor castanha, liso e escasso. A face é achatada e larga. Os olhos posicionados em linha oblíqua, com cantos internos afastados. A fenda da pálpebra é muito curta. Os lábios são grossos, com fissuras transversais. A língua é grande e larga. O nariz, pequeno. A pele, ligeiramente amarelada e com elasticidade deficiente. É difícil acreditar que se trate de um europeu, mas pela freqüência com que estas características são observadas, não há dúvida de que estes aspectos étnicos resultam de degeneração. O tipo de idiotia Mongólica ocorre em mais de 10% dos casos que tenho observado. São sempre idiotas congênitos e nunca resultam de acidentes após a vida uterina. Eles são, na maioria, exemplos de degeneração originada de tuberculose nos pais” (Apud, MOREIRA et al, 2000)*

Não se sabe quando o primeiro caso de SD foi descrito como entidade clínica distinta; porém quando Langdon Down escreveu seu trabalho, assumiu que o quadro já era bastante conhecido. O trabalho de Langdon Down ajudou a

difundir o conceito da SD como uma entidade clínica peculiar e a diferenciá-la do hipotireoidismo congênito ou cretinismo, condição bastante freqüente naquela época.

Em 1876, FRASER e MICHELL publicaram as primeiras ilustrações médicas sobre a SD, quando descreveram os resultados da autópsia de um caso e observações clínicas de outros 62 casos. Antes que o termo SD fosse proposto e amplamente aceito, as denominações mais utilizadas para esta condição foram “imbecilidade mongolóide” e “idiotia mongolóide”. O termo mongolóide é considerado arcaico e pejorativo, devendo ser amplamente suprimido (HOWARD; JONES, 1979). TIJO e LEVAN em 1956 estabeleceram que o número normal de cromossomos na espécie humana era de 46 e padronizaram o estudo em citogenética humana, o que possibilitou, cerca de três anos mais tarde, a LEJEUNE e cols (1959), descreverem que os portadores da SD, ao invés de possuírem 46 cromossomos agrupados em 23 pares, tinham 47 cromossomos, identificando a presença de um cromossomo extra, o de número 21. A SD representa um marco na patologia humana, pois foi a primeira síndrome descrita associada a uma aberração cromossômica.

2.1.2 O cromossomo 21

O cromossomo 21 é o menor dos cromossomos humanos e representa 1,5% do genoma humano, medindo aproximadamente 50 Mb (KORENBERG, 1991). Em 2000, HATTORI e cols publicaram o seqüenciamento de 33.546.361 pares de bases presentes no cromossomo 21. Nesse trabalho, as análises do cromossomo revelaram 127 genes conhecidos, 98 genes preditivos e 59

pseudogenes. De acordo com dados do Projeto Genoma Humano, o cromossomo 21 possui 231 genes definidos e 33,5 milhões de pares de base. A trissomia da banda cromossômica 21q22, referente a 1/3 desse cromossomo, tem sido relacionada às características fenotípicas da síndrome. O referido segmento cromossômico apresenta nos indivíduos afetados, as bandas características da eucromatina correspondente a genes estruturais e seus produtos em dose tripla (SHAPIRO,1983). A elaboração do mapa fenotípico, associando características específicas com subregiões do cromossomo 21, mostra que, entre os produtos gênicos conhecidos, só a proteína precursora amilóide foi decisivamente relacionada à SD. O gene correspondente foi mapeado na banda cromossômica 21q21.5 e vários fragmentos da sua molécula foram associados com a adesão celular, neurotoxicidade e crescimento celular. A sua função se manifesta no desenvolvimento do sistema nervoso central, onde é sintetizada tanto em neurônios quanto em células gliares (astrócitos). Padrões alterados em diferentes processos morfogênicos e funcionais podem ser consequência primária ou secundária da presença extra de genes. SHAPIRO (1983) considera a SD um modelo de ruptura da homeostasia gênica e afirma que esse distúrbio afeta não apenas os produtos do cromossomo trissômico, mas também os de outros cromossomos. EPSTEIN (1995) observou que as contribuições ao fenótipo provêm de todo o conjunto do genoma não balanceado e que há considerável diferença entre os indivíduos afetados pela síndrome. O autor afirma que fatores estocásticos (por exemplo, o tempo e local em que as células se dividem e a direção de sua migração) introduzem elementos de casualidade no desenvolvimento, em interação com fatores

ambientais. Esse ponto de vista é também apoiado por KURNIT e cols (1987) que defendem o papel de fatores estocásticos na ocorrência de cardiopatia em embriões com trissomia 21 e sugerem que tais fatores possam atuar em diferentes processos morfogenéticos. Essas observações indicam que, não obstante a SD ser claramente uma condição genética, nem todos os seus aspectos estão relacionados somente aos genes. Contribuições ao fenótipo dependem tanto de interações celulares como de causas ambientais e fatores estocásticos.

Estudos experimentais em modelos animais têm sido efetuados, a partir da possibilidade de se induzir a trissomia em camundongos. O modelo mais utilizado atualmente é o camundongo com trissomia do cromossomo 16, que apresenta várias alterações fenotípicas similares às observadas nos seres humanos, principalmente nas características faciais e problemas cardíacos. No entanto, o desenvolvimento do modelo animal não tem sido fácil (muitos deles morrem antes ou logo após o nascimento) e nem sempre os achados observados nesses modelos podem ser extrapolados para o ser humano devido às numerosas diferenças que complicam a análise (BUCKEY, 2008).

O completo conhecimento genômico e proteômico do cromossomo 21 poderá ampliar sobremaneira o entendimento da patogênese da SD e indicar novos rumos no tratamento da mesma. Utilizando-se a tecnologia ora disponível, busca-se estabelecer quais os genes candidatos que estão implicados nas principais alterações da SD e se possível, utilizar este conhecimento para prevenir ou minimizar suas conseqüências. Tais estudos possivelmente possam associar os componentes fenotípicos da SD com

alterações gênicas localizadas em regiões específicas do cromossomo 21 (MEGARBANÉ et al, 2009).

2.1.3 Características gerais

Embora pessoas com SD tenham características físicas específicas, elas geralmente apresentam mais semelhanças do que diferenças com a população em geral. No entanto, algumas dessas são peculiares à SD. As três principais características da criança com SD são a hipotonia que acomete mais de 85% dos indivíduos, o comprometimento intelectual e a aparência física. As características físicas são importantes para se fazer o diagnóstico clínico; no entanto, nem sempre a criança com SD apresenta todas as características.

O rosto da criança com SD apresenta um contorno achatado e geralmente o osso nasal é afundado. As pálpebras são estreitas e levemente oblíquas. A periferia da íris apresenta pequenas marcas brancas (manchas de Brushfield). As orelhas são pequenas e possuem implantação mais baixa. A boca é pequena e a língua mais grossa e protrusa. O pescoço pode ter uma aparência larga e grossa. Em cerca de 50% das crianças com SD, é observada uma única dobra atravessando a palma em uma ou em ambas as mãos. É importante enfatizar que nem sempre a criança com SD exibe todas as características anteriormente citadas; além disso, algumas características são mais acentuadas em algumas crianças do que em outras (PUESCHEL, 1988). Além disso, existe grande variação na capacidade mental e no grau de desenvolvimento das crianças com SD. O desenvolvimento motor e da linguagem também é mais lento.

As crianças com SD necessitam do mesmo tipo de cuidado clínico que qualquer outra criança. Contudo, há situações que exigem alguma atenção especial. Cerca de 80% dos indivíduos com SD têm deficiências de audição, sendo necessárias avaliações precoces e exames de seguimento. Além disso, 30 a 40% dos portadores de SD apresentam defeito cardíaco congênito (DCC) que geralmente necessita correção cirúrgica. O defeito no canal átrio-ventricular é o achado mais freqüente, seguido de comunicação inter-ventricular, persistência do canal arterial e tetralogia de Fallot (GRANZOTTI et al, 1995). Apesar dos avanços nas técnicas cirúrgicas e cuidados com os pacientes, esta ainda é uma das principais causas de morte entre crianças com SD (YANG et al, 2002).

Anormalidades intestinais como estenose ou atresia do duodeno, perfuração anal e doença de Hirschsprung também acontecem com freqüência maior nesses pacientes, podendo necessitar de correção cirúrgica imediata. Problemas oculares como estrabismo, miopia e outros erros de refração também são freqüentemente observados. Além disso, 3% dessas crianças têm catarata e precisam de tratamento cirúrgico (PUESCHEL, 1988).

Outra preocupação relaciona-se aos aspectos nutricionais. Algumas crianças, especialmente as com DCC, têm dificuldade em ganhar peso. Por outro lado, a obesidade, freqüentemente vista durante a adolescência e nos adultos, é multifatorial e conta com fatores agravantes como menor metabolismo basal, pouca atividade física, ingestão calórica excessiva e hipotonia. Estas condições podem ser prevenidas pelo aconselhamento nutricional apropriado e orientação dietética preventiva (CHAD et al, 1990; PUESCHELL, 1990).

Problemas ortopédicos também vistos com freqüência em crianças com SD incluem subluxação da rótula, luxação de quadril e instabilidade atlanto-axial. Essa ocorre quando os dois primeiros ossos do pescoço não são bem alinhados devido à presença de frouxidão dos ligamentos. Aproximadamente 15% das pessoas com SD têm instabilidade atlanto-axial. Deficiências de hormônios tireoidianos são mais comuns em crianças com SD, sendo que 15 a 30% delas apresentam hipotireoidismo que pode comprometer o funcionamento do sistema nervoso central e causar retardo no desenvolvimento neurológico. Outros aspectos clínicos incluem disfunções imunológicas, infecções de repetição, leucemia, doença de *Alzheimer*, convulsões, apnéia do sono e dermatoses. Todos estes podem requerer a atenção de especialistas (SCWARTZMAN, 1999).

2.1.4 Prevalência

A SD decorre de erro genético presente já na concepção ou imediatamente após, que ocorre de modo regular afetando 1 em cada 600-800 nascidos vivos (STEELE; STRATFORD 1995). Estes números são mais ou menos constantes em todas as partes do mundo e não são afetados pela classe social, raça, hábitos de vida ou clima. A SD é a mais freqüente das cromossomopatias que sobrevivem ao período gestacional. Provavelmente 50% dos fetos portadores de cromossomopatias são abortados espontaneamente, e 25% desses, certamente portadores de trissomias (MULLER; YOUNG, 1995). O principal fator de risco associado à SD está

vinculado à idade materna (MIKKELSEN et al. 1980). De forma geral, quanto maior a idade materna, maior será a incidência de SD (tabela 1).

TABELA 1 – RISCOS PARA SD E PARA QUALQUER ANOMALIA CROMOSSÔMICA DE ACORDO COM A IDADE MATERNA

IDADE ANOS	RISCO ABSOLUTO
< 14	1/910
17	1/1367
23	1/1381
30	1/685
33	1/507
34	1/392
35	1/282
38	1/148
40	1/80
43	1/49
44	1/31
> 46	1/20

NOTA: Dados do ECLAMC (Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas), 1992. (Adaptado pelo autor)

FONTE: SCHWARTZMANN et al. 1999

Entretanto, observa-se que 80% das mães de crianças com SD estão abaixo dos 35 anos de idade, visto que gravidez acima dessa idade ser menos freqüente. Gestantes acima de 35 anos fazem com maior freqüência exames para detecção intra-uterina de trissomia e nos países onde é permitido, podem interromper a gravidez. Portanto, aborto eletivo de fetos com SD pode influenciar a taxa de incidência de SD no países onde tal ato é permitido (SHERMAN et al, 2007).

No Brasil, de acordo com as estimativas do IBGE realizadas no censo 2000, vivem cerca de 300 mil pessoas com SD. No Paraná, estima-se que residam aproximadamente 5000 indivíduos com SD. Dados locais apurados pela Associação Reviver Down – Curitiba –PR indicam que a cada ano, somente na capital, nascem cerca de 35 crianças com SD. Em relação à sobrevivência das crianças afetadas pela síndrome em nosso país, BRUNONI e cols (1998) estudaram 107 crianças com SD nascidas no Hospital dos Servidores Públicos do Estado de São Paulo no período de julho de 1973 a dezembro de 1996, diagnosticadas entre 53.364 nascimentos (1:499). Todas as crianças foram acompanhadas até pelo menos 1 ano de idade, constatando-se, nesta idade, sobrevivência de 79,3%. Entre as 22 crianças que foram a óbito, esse ocorreu antes da alta do berçário em 45,4% delas. O maior número de óbitos (77,3%, 17/22) ocorreu após 28 dias de vida, principalmente por complicações cardíacas. WEIJERMAN e cols (2008) determinaram as características dos neonatos e a mortalidade neonatal das crianças com SD nascidas na Holanda, no ano de 2003. A idade gestacional e o peso ao nascer das crianças com SD eram menores do que as do grupo sem a síndrome. Além disso, a mortalidade nos primeiros 30 dias de vida foi maior nos bebês com SD (1,65% vs 0,36%).

2.1.5 Formas genéticas

A trissomia por não-disjunção é responsável por cerca de 95% dos casos de SD que se originam de erro na divisão celular. A maioria dos erros ocorre na primeira divisão meiótica, ou seja, na meiose I, propiciando a

formação de gametas com dois cromossomos 21. Esta é forma genética de SD mais influenciada pela idade materna (MIKKELSEN et al, 1980)

O mosaicismo ocorre em 2 a 4% dos casos com trissomia do 21 livre e nestes pacientes uma população de células apresenta trissomia, enquanto que outra é normal. A relação entre a proporção de células normais e trissômicas determina as características fenotípicas dos pacientes (KORENBERG, 1991).

As translocações cromossômicas por rearranjos entre os cromossomos que seguem as quebras que ocorrem durante a divisão celular, são responsáveis por 1,5 a 3% dos casos de SD. As mais comuns ocorrem entre cromossomos acrocêntricos, por fusão cêntrica, denominadas translocações robertsonianas, entre os cromossomos 14 e 21 (KORENBERG, 1991).

2.1.6 Expectativa de vida

Os avanços nos cuidados médicos têm contribuído para uma nova perspectiva no desenvolvimento da pessoa com SD. MICHAELIS (1990) relata que em 1975, 49% dos pediatras concordavam com pais que recusavam o consentimento para cirurgias necessárias à sobrevivência de crianças com SD, enquanto que em 1990, apenas 15% dos pediatras e 27% dos cirurgiões tinham o mesmo ponto de vista. WOLRAICH e cols (1991) analisaram a importância do posicionamento médico no prognóstico, lembrando o caso do bebê Doe, relatado por CAPLAN e COHEN em 1987, em que a criança com SD necessitava de cirurgia para correção de atresia esofágica e os médicos deixaram-na morrer, concordando com o desejo dos pais. Sem dúvida, o melhor tratamento das doenças associadas à SD, está fazendo com que a

expectativa de vida dessas esteja aumentando nas duas últimas décadas. PENROSE (1949) observou que a expectativa média de vida em 1929 era de 9 anos e aumentou para 12 a 15 anos em 1947. CARR (1994) observou que não apenas a duração, mas também a qualidade de vida é melhor para a pessoa com SD em relação às décadas anteriores. Atualmente, é cada vez mais comum pessoas com SD chegarem aos 60, 70 anos, ou seja, com expectativa de vida semelhante a da população em geral. COPPUS e cols (2008) acompanharam no Reino Unido por um período de 4,5 anos 506 indivíduos com SD e idade superior a 45 anos (45-77 anos). Verificaram que idade, presença de demência e restrição de mobilidade foram os preditores de mortalidade mais importantes no grupo estudado. Em contraste com a população geral, o risco cardiovascular não foi o maior implicado na sobrevivência dos indivíduos.

Pode-se considerar que o envelhecimento da população com SD como um acontecimento recente na história e faz com que novos desafios sejam constantemente formulados aos profissionais de saúde que atendem esses pacientes.

2.1.7 Mortalidade associada à SD:

É bem conhecido que a mortalidade na SD é maior que na população em geral, sendo estimado que a mortalidade na SD é 5,4 vezes maior que na população em geral (SINGER; STRAUSS, 1997). Se for levado em consideração apenas a faixa etária de 1 a 4 anos de idade, o risco de morte aumenta para 13 vezes (BALARAJAN; DONNAN; ADELSTEIN, 1982). Com o

aumento da idade, o risco de morte se reduz para 3,5 a 4,7 vezes e aumenta para 10,1 vezes após os 55 anos de idade (BALARAJAN; DONNAN; ADELSTEIN, 1982; SINGER; STRAUSS, 1997).

YANG e cols em 2002 descreveram as principais causas de mortalidade em 17.958 indivíduos com SD num período de 14 anos (1983 a 1997), levando-se em consideração a idade, sexo e etnia dos mesmos. A mediana de idade de óbito que era de 25 anos em 1983, aumentou para 49 anos em 1997, significativamente menores nos indivíduos afro-descendentes em relação às outras etnias. As principais causas de morte foram DCC (OR: 29,1; IC 27,8 - 30,4), infecções respiratórias (OR:14,3; IC 13,4-15,3), demência (OR:21,2 IC 19,6 – 22,7), hipotireoidismo (OR 20,3 IC 18,5-22,3) e leucemia (OR:1,6 IC 1,4-1,8).

Crianças com SD têm três vezes mais chances de desenvolver leucemia do que as não afetadas pela síndrome (PUESCHEL, 1990). A associação com leucemia diminui com a idade e não está presente após os 40 anos. Por outro lado, outras neoplasias parecem ter menor prevalência entre os indivíduos com SD. A hipótese formulada é que as células desses indivíduos se repliquem mais lentamente que aquelas sem a trissomia, ocorrendo menor oportunidade de erros envolvidos na gênese tumoral, fato corroborado pelo estudo que demonstra que fibroblastos trissômicos em cultura se dividem mais lentamente que aqueles sem a alteração (SCHNEIDER, 1972; SEGAL, 1974). Além disso, com exceção de leucemia e câncer de testículo, outras neoplasias foram menos freqüentes na população com SD quando comparados com a população sem SD (YANG et al, 2002). Os autores justificam tais achados com menor exposição dos indivíduos SD a fatores ambientais potencialmente

carcinogênicos (álcool, tabaco), possíveis genes supressores de tumor localizados no cromossomo 21 e outros fatores ainda desconhecidos. Não houve diferença em relação ao gênero dos pacientes. Os fatores que mais contribuíram para o aumento na expectativa de vida, segundo estes autores, foram: menor institucionalização das crianças com SD, estimulação precoce, acompanhamento das famílias e melhor tratamento das causas mais freqüentes de morte com o aprimoramento nas técnicas cirúrgicas para correção do DCC e novas drogas para combater infecções.

2.1.8 Alterações imunológicas na SD

Os indivíduos com SD apresentam uma variedade de alterações do sistema imunológico, tornando-os mais susceptíveis a infecções recorrentes, leucemias e doenças auto-imunes.

Dentre as hipóteses prováveis para essa desorganização imunológica, vários estudos indicam deficiência na função do timo dos pacientes com SD (MURPHY; EPSTEIN, 1990 e 1992; LEVIN et al, 1979; ROAT et al, 2008). A involução tímica que ocorre na puberdade em indivíduos sem SD, ocorre por volta de 6 anos nas crianças com SD (PUESCHEL, 1990). O timo é o órgão linfóide primário envolvido na educação e maturação dos linfócitos T. É o local onde esses se diferenciam e tornam-se imunocompetentes. Também no timo é feita a seleção clonal, ou seja, a deleção dos linfócitos T auto-reativos (STITES et al., 2004). A alteração da função tímica dos pacientes com SD pode explicar em parte, a resposta imunológica diferenciada observada nesses pacientes, propiciando o aparecimento de doenças. Estão descritas alterações nas

subpopulações de linfócitos T nesses pacientes, com significativa diminuição de linfócitos CD3+, indicando maturação inadequada dos linfócitos no timo (LAROCCA,1990; MURPHY; EPSTEIN,1992). Além disso, anormalidades morfológicas, tanto da porção medular quanto cortical da glândula também foram descritas (LAROCCA,1990; MURPHY; EPSTEIN, 1992).

As anomalias anatômicas do timo podem estar relacionadas à super-expressão de interferon-gama (γ -IFN) e fator de necrose tumoral alfa (α -TNF) observada nesses pacientes (FRANCIOTA et al, 2006). PRADA e cols (2008) demonstraram que indivíduos com SD apresentam concentrações aumentadas de IL-7 e IL-15 que influenciam na sobrevivência e proliferação das células. Observaram também que crianças com SD apresentam menor porcentagem de células T CD4+ e profundas alterações na diferenciação das células T, com aumento de linfócitos T reguladores e de células que expressam marcadores de apoptose. Diminuição do número total de leucócitos, linfócitos e das subpopulações de células CD4+ na SD foi relatada por diferentes autores (MURPHY; EPSTEIN,1992; PHILIP et al, 1986; BURGIO et al, 1983). Por outro lado, o número de linfócitos T citotóxicos (CD8+) e das células “*natural killer*” (NK) está aumentado na SD (MACCARIO et al, 1984). Outro estudo demonstrou aumento do número das células NK na SD, com predomínio das células HNK1+CD3+, que constituem população de células NK funcionalmente imaturas (NURMI, 1982). HINGH e cols (2005) avaliaram a imunofenotipagem para linfócitos T e B em pessoas com SD. Os autores demonstraram que o número de linfócitos T está diminuído em pessoas com SD e com o passar dos anos tende a ficar semelhante ao observado em pessoas sem a síndrome. No entanto, o número de linfócitos B permaneceu sempre baixo, independente da

idade do indivíduo com SD. Os autores sugeriram que a diminuição da expansão dos linfócitos T e B esteja relacionada a um distúrbio da resposta adaptativa intrinsecamente presente nesses indivíduos.

Embora o número de fagócitos polimorfonucleares seja normal em pacientes com SD, foram descritas disfunções fagocíticas como quimiotaxia reduzida, opsonização e fagocitose deficiente, atividade bactericida diminuída e baixa atividade quimioluminescente (CUADRADO; BARRENA, 1996).

Em pacientes com SD menores de 5 anos, as concentrações de imunoglobulinas séricas não diferem dos controles normais para sua idade. No entanto, após os 5 anos ocorre considerável hipergamaglobulinemia das classes IgA e IgG (BURGIO et al. 1975). As subclasses de IgG também apresentam distribuição anormal. AVANZINI e cols (1988) demonstraram altos níveis de IgG1 e IgG3 e baixas concentrações de IgG2 e IgG4 em adultos com SD, fato também verificado em outro estudo (RIBEIRO et al, 2003). A resposta vacinal deficiente à vacinação contra hepatite B em indivíduos com SD foi descrita por AVANZINI e cols (1990) com 16,7% de soroconversão nos pacientes e 75% dos controles sadios. Por outro lado, estudos posteriores avaliando soroconversão para hepatite B em pacientes com Down descreveram resposta vacinal eficiente (acima de 90%), semelhante à observada em indivíduos sem a síndrome (VJARO 1992). PHILIP e cols (1986) demonstraram anormalidades na resposta *in-vitro* celular e humoral aos antígenos tetânico e influenza, com alterações numéricas nas subclasses de linfócitos. NURMI e cols (1982) demonstraram que pacientes com SD, particularmente os indivíduos do gênero masculino, não respondiam adequadamente à vacinação composta por 6 antígenos pneumocócicos,

apresentando após vacinação, níveis mais baixos de anticorpos que os controles.

Estudos do sistema complemento na SD são escassos e conflitantes. LOCKTICH e cols (1987) observaram aumento nas concentrações dos componentes C3 e C4, não relacionados com a idade em pacientes com SD. No entanto, outros autores relataram níveis normais dos componentes C3, C4 e atividade funcional (CH50) em pacientes com a síndrome (RIBEIRO et al, 2003; TRINCADO et al, 1984).

O zinco é um co-fator para várias enzimas que atuam na resposta imunológica; baixos níveis séricos de zinco foram relacionados à quimiotaxia deficiente observada na SD (FRANCESCHI et al, 1988). No entanto, os ensaios clínicos randomizados sobre a eficácia da suplementação com vitaminas e sais minerais em indivíduos com SD não mostraram resultados consistentes (ELLIS et al, 2008).

A tabela 2 resume as principais disfunções imunológicas encontradas nos pacientes com SD.

TABELA 2- DISFUNÇÕES IMUNOLÓGICAS NA SD

Subpopulações de linfócitos	Características/Achados
CD3-CD16 e ou 56+ células NK	Diminuídas
CD19+ linfócitos B	Diminuídas (abs; %)
CD3+ linfócitos T	Diminuídas /normal (abs)
CD3+CD4+ linfócitos T helper	Diminuídas (abs; %)
CD3+CD8+ linfócitos citotóxico T	Diminuídas /normal (abs)
CD4+CD45RA+ células	Diminuídas (%)
Th1/Th2 proporção	Aumentada
CD4/CD8 proporção	Razão invertida
<i>Immunoglobulinas</i>	
IgG	Aumentada > 6 anos
IgM	Diminuídas > 6 anos
IgA	Aumentada > 6 anos/normal
<i>Resposta à vacinação</i>	
Pneumocócica	Diminuída /normal
Tetano	Diminuída
Coqueluche	Diminuída
Hepatite B	Diminuída /normal
Hepatite A	Normal
Influenza	Diminuída
Pólio (oral)	Diminuída

(abs)= absoluta, CD= conjunto de diferenciação, % contagem relativa.

FONTE: Adaptado de Kusters et al., Clin Exp Immunol 2009

Muitas dúvidas ainda persistem em relação ao sistema imunológico na SD, ainda devido ao limitado número de investigações realizadas, principalmente relacionadas à resposta imunológica inata. Portanto, estudos sobre os diferentes aspectos imunológicas da SD se constituem em campo fértil a ser explorado.

2.1.9 Infecções em SD

Embora se tenha observado aumento na sobrevida dos pacientes com SD, a taxa de mortalidade desses ainda continua maior que da população geral. Os distúrbios imunológicos citados fazem com que as infecções, principalmente de trato respiratório, sejam as principais causas de morbidade e mortalidade. GARRISON e cols (2005) avaliaram a diferença no número de casos fatais de sepse entre crianças com e sem SD. Os resultados demonstraram que crianças com SD têm risco de morte 30% maior quando acometidos de infecção sistêmica do que aquelas que não têm trissomia, também hospitalizadas por sepse. Os autores sugerem que a característica imunológica dos pacientes com SD pode afetar a progressão da doença ou a resposta ao tratamento. Além disso, alertam aos clínicos e familiares que eventualmente, o tratamento e os cuidados para a criança com SD devem ser diferenciados, principalmente diante de infecções complicadas.

Com o objetivo de avaliar as causas de morbidade e mortalidade, BITTLES e cols (2006) analisaram a prevalência de doenças em 1332 indivíduos com SD na Austrália, de acordo com a idade (crianças e adolescentes < 18 anos, adultos entre 18 e 40 anos e indivíduos maiores de 40 anos). A tabela 3 apresenta um resumo dos resultados encontrados:

TABELA 3 - CAUSAS DE MORTE EM PESSOAS COM SD EM RELAÇÃO À IDADE

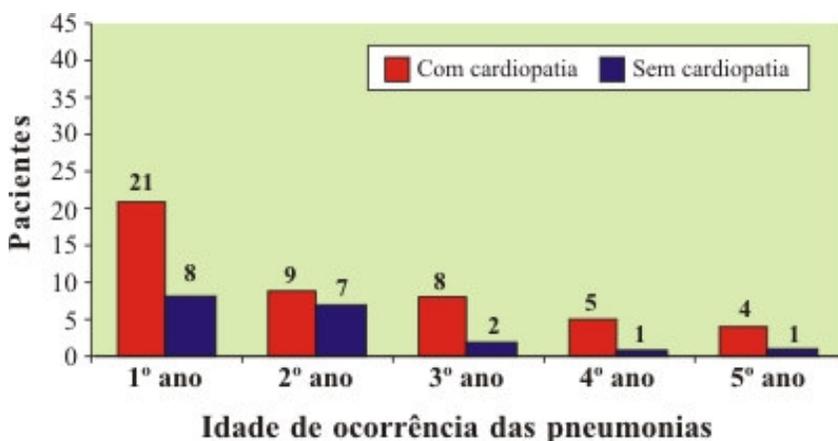
Causa de morte	Crianças e adolescentes (0-18 anos) n=148	Adultos (19-40 anos) n=39	Senescência (>40 anos) N=111
Defeito cardíaco congênito	12,8% (19/148)	23,1 % (9/39)	0
Pneumonia e outras doenças respiratórias	33,1 % (49/148)	23,1% (9/39)	39,6% (44/111)
Doença coronária arterial	1,4 % (2/148)	2,6% (1/39)	9,9% (11/111)
Acidente vascular cerebral	1,4 % (2/148)	5,1 % (2/39)	6,3% (7/111)
Falência múltipla de órgãos	11,5 % (17/148)	10,2% (4/39)	9% (10/111)
Neoplasias	3,4% (5/148)	7,7% (3/39)	5,4% (6/111)
Outras causas	36,5% (54/148)	28,2% (11/39)	29,7% (33/111)

Fonte: BITTLES e cols, Eur J Public Health, 2006.

Estudo epidemiológico realizado no Brasil por BOY e cols (1995) avaliaram 165 pessoas com SD e verificaram que 37,5% apresentaram histórico de DCC e 30% pneumonias de repetição, particularmente nos

primeiros anos de vida. Entre as crianças que tinham DCC, 50% apresentaram pneumonias e tal achado estava associado a maior morbi/mortalidade dos pacientes com SD. No mesmo estudo, 2,4% (4/165) dos pacientes evoluíram para óbito, sendo três por sepse e um por insuficiência cardíaca, todos ocorridos nos primeiros 2 anos de vida. RIBEIRO e cols (2003) observaram associação significativa entre complicações pulmonares e presença de DCC, de acordo com a idade dos pacientes (Figura 2).

FIGURA 2 - NÚMERO DE PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN E OCORRÊNCIA DE PNEUMONIAS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA NOS GRUPOS COM E SEM CARDIOPATIA (N=45)



Fonte: Ribeiro e cols, J Pediatria, 2003

Na maioria dos casos, após a cirurgia para correção do DCC observa-se significativa melhora clínica do paciente com menor número de IR (PUESCHEL, 1990).

A maior mortalidade e morbidade devido à pneumonia em qualquer idade na SD, provavelmente estejam relacionadas à desorganização do sistema imunológico inato e adaptativo apresentada pelos pacientes com a

síndrome. No entanto, a relação entre essas anormalidades e complicações clínicas nos pacientes, ainda precisa ser mais bem estudada.

2.1.10 Doenças auto-imunes e SD

O primeiro relato sobre associação entre doença auto-imune (DAI) e SD foi feito por BURGIO et al. em 1965, que demonstraram a presença do anticorpo antitireóide em um paciente trissômico com hipotireoidismo de caráter auto-imune. Em 1968, DANIELS & SIMON foram os primeiros autores a relacionar *diabetes mellitus* auto-imune com SD. BENTLEY em 1975 observou pela primeira vez a ocorrência de doença celíaca (DC) em um paciente com SD, cujo diagnóstico foi estabelecido através de biópsia duodenal. Também em 1975, DU VIVIER e MUNRO descreveram maior incidência de alopecia areata em indivíduos trissômicos na Inglaterra.

Casos de hepatite auto-imune em paciente com SD foram relatados por McCULLOCH e cols em 1982 e KAUSHIK e cols em 2000, no entanto, são raros os casos de distúrbios hepatobiliares auto-imunes em pacientes com SD. FRANKLIN e TORRETI em 1985, FEINGOLD e cols 1995 e PAKKALOGLU e cols em 1994 descrevem casos de LES em pacientes com SD. ROBSON e cols (1995) e SCHAWAB e cols (1996) observaram a presença do anticorpo anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) em pacientes com SD que desenvolveram glomerulonefrites e vasculites auto-imunes.

Cabe ressaltar que o aparecimento de uma doença auto-imune parece predispor o aparecimento de outras afecções auto-imunes de forma concomitante (LERNER et al, 1996; VILPPULA et al, 1984).

Pessoas com SD apresentam freqüência aumentada de problemas dermatológicos, principalmente xerose que acomete até 70% delas. A deficiência de vitamina A e o hipotireoidismo também podem contribuir para que a pele se torne mais ressecada. Dados da literatura mostram que 6 a 12 % das pessoas com SD podem apresentar alopecia areata (DANESHPAZHOOH et al, 2007). A alopecia requer tratamento e tende a ser mais grave e persistente nos pacientes com SD do que na população geral.

Outra complicação é o vitiligo, que causa despigmentação de áreas da pele, sobretudo no dorso de mãos e pés, região genital e face. O vitiligo pode ocorrer em torno de 1% da população geral, preferencialmente entre 10 e 30 anos de idade. Em indivíduos com SD observa-se maior prevalência, acometendo cerca de 2 a 12% dessa população (DANESHPAZHOOH et al, 2007). Fatores precipitantes para essa doença são: estresse físico e emocional, traumas mecânicos e substâncias químicas como derivados do fenol. Sugere-se ter origem auto-imune, dada sua relação com outras DAI como diabetes tipo 1, distúrbios tireoidianos e evidências de que seja desencadeado ou agravado por causas emocionais. A evolução do vitiligo é imprevisível, podendo tanto permanecer estável por anos como avançar rapidamente, bem como ter regressão espontânea (STEINER et al, 2004).

Tireoidite auto-imune e DC são as DAI mais freqüentemente observadas nos indivíduos com SD e conseqüentemente as mais estudadas em vários países. NISIHARA e cols (2005) relataram prevalência de 5,8% de DC em crianças e adolescentes Down na região sul, onde a prevalência na população geral é estimada em 0,5% (PEREIRA et al, 2006). Em relação às DAI da tireóide, NISIHARA e cols (2006) relataram alta prevalência de alterações nas

dosagens de hormônio estimulante da tireóide (TSH) (42,9%) e de doença de Hashimoto (15,4%) em pessoas com SD, principalmente naqueles com idade superior a 9 anos. Esses resultados são similares aos observados em outras populações, onde os distúrbios de tireóide chegam a afetar até 66% dos pacientes (ZORI et al, 1990), tornando obrigatória a triagem de anticorpos anti-tireoideanos e de TSH nesses indivíduos.

2.1.11 Ambulatório de SD

Desde 1997 o Hospital de Clínicas da UFPR possui um Ambulatório especializado no atendimento de pacientes com SD. Mais de 1800 pessoas já foram atendidas e cadastradas, sendo provenientes de todo o estado do Paraná. Mensalmente são atendidos cerca de 80 pacientes e boa parte é acompanhada desde o nascimento até a puberdade pela equipe multidisciplinar (pediatria, assistência social, nutrição, psicologia, odontologia, fonoaudiologia, fisioterapia) que presta assistência à saúde dos pacientes e familiares. Sempre que necessário, os demais setores do Hospital de Clínicas – UFPR, - que é um centro hospitalar de alta complexidade - são acionados para dar suporte aos profissionais que atendem os pacientes (consultas com especialistas, cirurgias, exames laboratoriais, etc..)

2.2 SISTEMA COMPLEMENTO

2.2.1 Aspectos gerais

Complemento é um termo coletivo usado para designar um grupo de proteínas que desempenha papel chave no processo de defesa do hospedeiro. Esse compreende um conjunto de mais de 30 proteínas séricas e de superfície celular que interagem com outras moléculas do sistema imune de maneira altamente regulada, como um importante mecanismo efetor da imunidade humoral e inata (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008; JANEWAY JR; TRAVERS, 2005). O sistema complemento possui várias atividades no organismo, sendo mediador de muitas interações celulares e humorais que ocorrem no hospedeiro, incluindo quimiotaxia, fagocitose, adesão celular e diferenciação de células B, auxiliando a coordenar e dirigir a resposta imunológica (CARROLL, 2004).

A ação mais importante do complemento é facilitar a captação e destruição dos patógenos por células fagocíticas que se dá pelo reconhecimento específico de fragmentos do complemento, por receptores de membrana expressos nessas células (JANEWAY JR; TRAVERS, 2005; ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008). A ativação do complemento se dá por três vias denominadas clássica, alternativa e das lectinas.

As proteínas da via clássica compreendem os componentes C1, C2, C3 e C4. Os componentes C5, C6, C7, C8 e C9 constituem o complexo terminal de ataque à membrana. As proteínas da via alternativa são denominadas de fatores, seguidos de uma letra e compreendem o fator D, o fator B (BF), o fator P (properdina) e C3. Os componentes da via das lectinas são designados pelas

abreviaturas MBL (lectina ligante de manose), MASP-1 e MASP-2 (serina proteases associadas à MBL), FCN-1 e FCN-2 (ficolinas 1 e 2).

As funções biológicas do sistema complemento incluem opsonização de microrganismos, fagocitose, ativação de células inflamatórias (C3a, C4a, C5a), citólise mediada pela formação do complexo de ataque à membrana (MAC) e solubilização, remoção de complexos imunes e de células apoptóticas. (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

O complemento é regulado por diversas proteínas solúveis e associadas a membranas celulares, que inibem sua ativação em múltiplos passos da cascata. Estes mecanismos regulatórios limitam ou cessam a ativação do complemento após a execução apropriada das suas funções (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

2.2.2 Ativação

Três vias estão envolvidas na ativação do complemento e todas convergem para a ativação do componente central ou C3 (Figura 3). Essas compreendem a via clássica, ativada por patógenos ou indiretamente pelo anticorpo ligado ao patógeno; a via das lectinas, ativada por estruturas de polissacarídeos presentes em microorganismos e a via alternativa, ativada na presença de vários patógenos microbianos, fornecendo uma opção de amplificação para as outras duas vias (JANEWAY JR; TRAVERS, 2005; PRODINGER, 1999). As três vias produzem C3 convertases que clivam C3 em dois fragmentos, C3a e C3b. Este é o ponto central do processo de ativação do complemento. O fragmento menor, C3a, ativa fagócitos e mastócitos enquanto

o fragmento maior, C3b, fixa-se covalentemente a superfícies celulares nas proximidades. Os componentes terminais do complemento, cuja ativação é dependente de C3b, geram um complexo proteico macromolecular lipossolúvel chamado complexo de ataque à membrana (MAC), que causa lise osmótica celular (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

2.2.3 Vias de Ativação

A via clássica promove a interação entre a imunidade inata e adaptativa. Sua ativação ocorre quando moléculas de C1q ligam-se a imunoglobulinas IgG ou IgM, a proteínas de fase aguda, a moléculas modificadas e a células apoptóticas ou necróticas. Quando a molécula de C1q se liga ao seu substrato ocorre uma mudança na sua conformação, que resulta na ativação das serinas proteases C1r e C1s associadas à estrutura colagenosa da molécula C1q. A proteína C1s ativa C4 e C2 formando o complexo C4b2a, denominado de C3 convertase.

O componente C3 do complemento pode ser ativado por hidrólise espontânea e contínua, através do reconhecimento direto de moléculas presentes na superfície dos patógenos, iniciando a via alternativa de modo independente de anticorpo. O C3 ativado liga-se ao fator B, que sofre ativação e clivagem pelo fator D, originando o complexo C3bBb, funcionalmente idêntico a C3 convertase da via clássica.

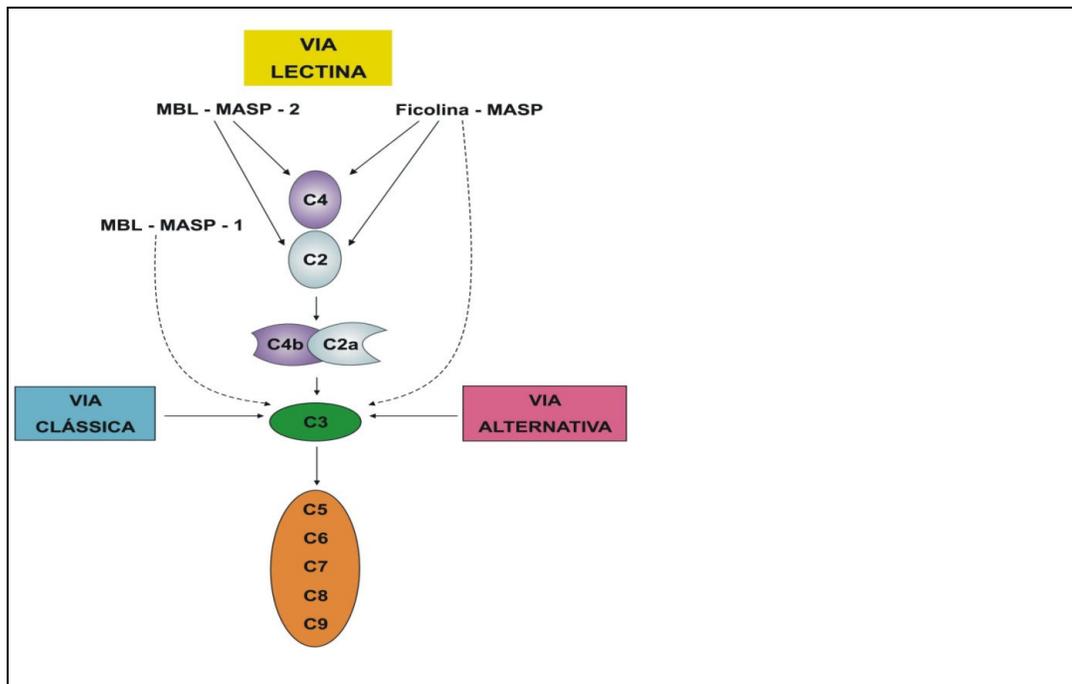
A via das lectinas foi mais recentemente descoberta e sua ativação pela ocorre em resposta ao reconhecimento de carboidratos comuns à

superfície dos patógenos, através da MBL ou ficolinas (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

As moléculas de C3b atuam como opsoninas, unindo-se covalentemente ao patógeno e sinalizando-o para a destruição pelos fagócitos portadores de receptores CR1 e CR3. Moléculas de C3b também se ligam a C3 convertase para formar a C5 convertase, que catalisa a clivagem proteolítica de C5, produzindo o pequeno peptídeo C5a, importante mediador da inflamação, bem como o fragmento maior, C5b. Nas vias clássica e da MBL, a C5 convertase é formada pela ligação de C3b a C4b-2a, produzindo C4b-2a-3b; e na via alternativa, pela ligação de C3b a C3b-Bb produzindo C3b-Bb-3b. O C5 liga-se ao sítio de C3b da C5 convertase e é clivado pela atividade da serina protease C2a ou Bb, gerando então, C5b e C5a. Esta reação é mais limitada que a clivagem de C3, já que C5 só pode ser clivado quando se liga a C3b no complexo C5 convertase (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

O fragmento C5b inicia os eventos tardios de ativação do complemento, onde os componentes terminais irão formar o MAC. Quando C5 é clivado, ocorre a liberação de C5b que se liga ao C6. O complexo C5b6 por sua vez liga-se a uma molécula de C7. Alterações de conformação promovem a exposição de um sítio hidrofóbico em C7, através do qual o MAC se insere na bicamada lipídica. O C8 se liga ao C5b do complexo C5b67 associado à membrana, inserindo-se também na bicamada lipídica. Na seqüência, cerca de 10 a 16 moléculas de C9 polimerizam-se e formam um poro de 10nm na bicamada lipídica, destruindo a integridade da membrana e interferindo no gradiente eletrolítico da célula, levando à sua lise (JANEWAY JR; TRAVERS, 2005).

FIGURA 3– VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO



FONTE: Adaptada de Dommet, Klein e Turner (2006)

NOTA: Três vias de ativação do complemento. Todas geram C3 convertase. A via das lectinas pode ser ativada pela interação da MBL com MASP –2 ou da ficolina com MASP que causarão clivagem de C2 e C4 levando a formação do complexo C4b2b e posteriormente C3. A interação da MBL com MASP-1 pode acarretar produção direta de C3 convertase.

2.2.4 A via das lectinas

O principal componente da via das lectinas é a MBL que pertence à família das colectinas, proteínas com hastes colagenosas e domínios de lectina. Além da MBL, a ficolina/p35 (Ficolina 2 ou L) e o antígeno Hakata (Ficolina 3 ou H) são capazes de ativar essa via. Essas moléculas pertencem à família das ficolinas, proteínas que possuem domínios colagenosos e de fibrinogênio (TURNER, 2003).

A via das lectinas é semelhante à via clássica e é ativada quando a MBL se liga especificamente a resíduos de manose e outros açúcares. Esses devem

estar na superfície de diferentes microorganismos que estão acessíveis e organizados em um padrão que permite a ligação a muitos patógenos e/ou superfícies celulares (JANEWAY JR; TRAVERS, 2005). No plasma, a MBL é encontrada associada às serinas proteases MASP1, MASP2 e MASP3. Os complexos MBL-MASP diferem no peso molecular, pois MASP2 e MASP3 associam-se a polímeros de MBL, enquanto que monômeros de MBL estão complexadas à MASP1 e à proteína inativa Map19/sMAP (TURNER, 2003).

2.2.5 A lectina ligante da manose (MBL)

A MBL está envolvida na primeira linha de defesa do hospedeiro contra diferentes patógenos (SUPER e cols, 1992). Esta proteína liga-se a uma variedade de açúcares como N-acetil-D-glucosamina, manose, N-acetil-manosamina, fucose e glucose, expressos nos PAMP'S (Padrões moleculares associados ao patógeno) de diferentes microorganismos e estruturas, mediando fagocitose e ativação do complemento.

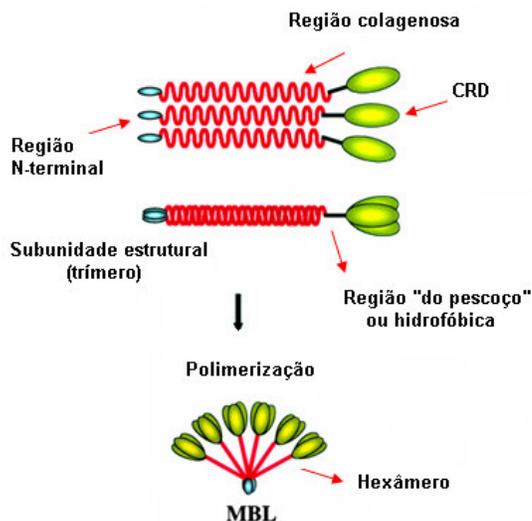
2.2.5.1 Estrutura da MBL

A MBL pertence à subfamília de proteínas conhecidas como colectinas, cujos membros apresentam domínios de reconhecimento de carboidratos associados às estruturas colagenosas (TURNER, 2003).

A forma circulante da MBL é constituída por oligômeros compostos de subunidades que se formam pela associação de três cadeias polipeptídicas idênticas de 32kDa. Cada cadeia polipeptídica é composta por um domínio de reconhecimento de carboidratos (DRC), uma região hidrofóbica chamada de

pescoço, região colagenosa e uma região N-terminal rica em cisteína (figura 4). As três cadeias interagem através de suas regiões colagenosas formando uma tripla hélice. A região hidrofóbica de cada cadeia adota uma forma espiralada e os domínios de reconhecimento de carboidratos apresentam características de proteínas globulares (TURNER, 2003). O trímero é estabilizado por interações hidrofóbicas e pontes dissulfeto entre as regiões N-terminais ricas em cisteína de cada cadeia (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003) e associa-se em oligômeros de duas a seis subunidades formando estrutura quaternária com aparência de “buquê de tulipas” (Figura 4). Sua estrutura tridimensional é similar à do componente C1q do sistema complemento (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003).

FIGURA 4 – ESTRUTURA E ORGANIZAÇÃO DA MBL

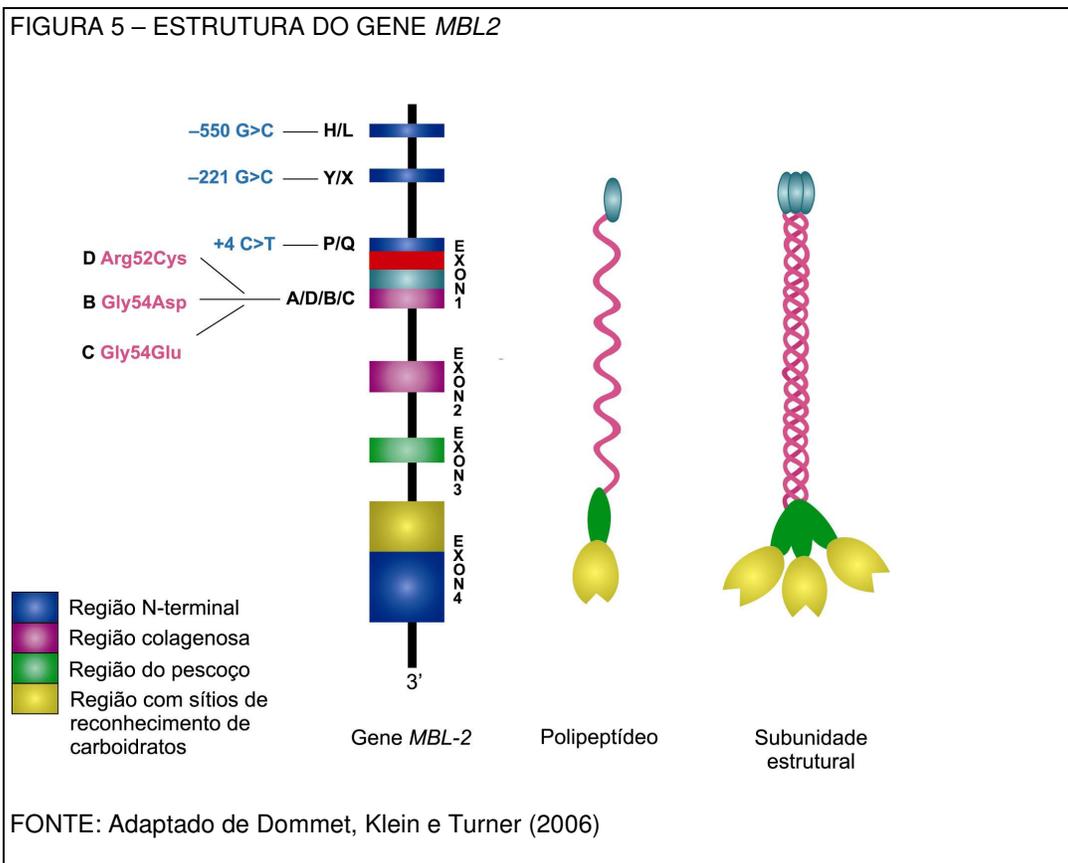


FONTE: Adaptado de FUJITA (2002)

2.2.5.2 Genética e concentração sérica

Os genes das colectinas humanas estão todos situados no cromossomo 10 (q21-24). O gene da *MBL2* humana que codifica a MBL compreende 4 exons e 3 íntrons (Figura 5). O exon 1 codifica o peptídeo sinal, a região N-terminal rica em cisteína e parte da região colagenosa, enquanto o exon 2 codifica o restante da região colagenosa. O exon 3 codifica a região hidrofóbica espiralada conhecida como pescoço e o exon 4 o DRC (TURNER, 2003). A concentração sérica de MBL é variável na população saudável sendo parcialmente determinada por polimorfismos genéticos. Três polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP's) nos códons 52 (Arg52Cys, alelo *D*), 54 (Gly54Asp, alelo *B*) e 57 (Gly57Glu, alelo *C*) do exon 1 resultam na substituição de um aminoácido diferente na região do colágeno. Esta irá conferir defeitos na polimerização e conseqüente decréscimo nos níveis funcionais da MBL circulante. Polimorfismos na região promotora do gene *MBL2* (*H/L*, *X/Y*, *P/Q*, nas posições -221, -550 e +4, a partir do início da transcrição, respectivamente) também afetam a concentração de MBL (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003; GARRED, 2008). A combinação entre SNP's no primeiro exon e na região promotora do gene *MBL2* resulta em grande variação nas concentrações de MBL em indivíduos saudáveis (0 a 8000 ng/ml). Os haplótipos *HYA*, *LYA*, *LXA* estão associados com altos, intermediários e baixos níveis séricos de MBL, respectivamente (MADSEN et al, 1995). É importante notar que indivíduos saudáveis, mesmo com genótipos idênticos, podem apresentar variações de até três vezes nos níveis de MBL (TURNER, 2003; DOMMETT; KLEIN; TURNER, 2006), e isso devido a outros fatores que podem influenciar nos níveis de produção de MBL, tais como hormônios do

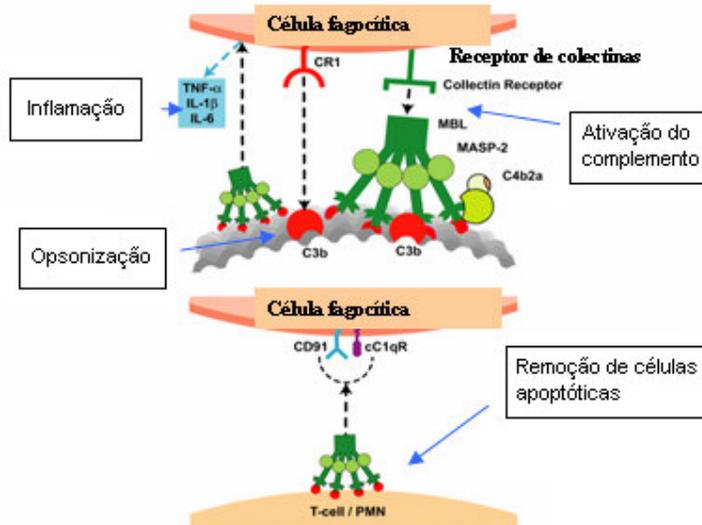
crescimento (HANSEN et al, 2001) e da tireóide (RIIS et al, 2005) e citocinas liberadas durante resposta de fase aguda (THIEL et al., 1992). DEAN e cols (2005) mostraram que os níveis de MBL podem aumentar entre 1,5 a 3 vezes na fase aguda de doença, porém é variável de acordo com o genótipo *MBL2*. Aproximadamente 10 a 20% dos euro-descendentes possuem genótipos que conferem baixos níveis de MBL e cerca de 5%, níveis muito baixos, menores que 20 ng/ml (THIEL et al,1992). Outros fatores que podem afetar a produção de MBL são hormônios do crescimento (HANSEN, 2001) e da tireóide (RIIS et al, 2005).



2.2.5.3 Funções

A MBL é um dos mais versáteis componentes do sistema imunológico inato, apresentando características funcionais análogas à IgM, IgG e C1q. Existem evidências de que MBL possui pelo menos quatro diferentes funções: (i) a ativação do complemento, (ii) a promoção da opsonofagocitose; (iii) a modulação da inflamação e (iv) a remoção de células apoptóticas (TURNER, 2003) (FIGURA 6).

FIGURA 6 - FUNÇÕES DA MBL



FONTE: adaptado de TURNER (2003)

A ativação do complexo MBL/MASP ocorre após ligação da molécula de MBL aos resíduos de carboidratos presentes na superfície de diversos microorganismos como leveduras (LIU; LIAO; LU, 2006; NETH et al, 2000), bactérias (KOCH et al, 2001), vírus (NETH et al 2000; GARRED et al, 1997) e protozoários (AMBROSIO; MESSIAS-REASON, 2006).

A atuação da MBL em processos inflamatórios ocorre pela liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6. Adicionalmente, a MBL possui receptores que favorecem a ligação das células apoptóticas aos neutrófilos polimorfonucleares. A interação simultânea destes receptores com MBL inicia a fagocitose da célula apoptótica através de macropinocitose (OGDEN et al, 2001).

2.2.5.4 Deficiência de MBL associada a doenças

Em 1989, SUPER e cols observaram que a deficiência de MBL no soro de humanos estava associada a defeito na opsonização de microorganismos. TURNER e cols (1996) demonstraram que baixas concentrações dessa proteína estavam associadas às IR na infância. Na atualidade, grande variedade de afecções clínicas tem sido associada à deficiência de MBL, principalmente susceptibilidade aumentada para infecções causadas por bactérias encapsuladas e vírus (EISEN; MINCHINTON, 2003), e outras condições clínicas como aterosclerose (SAEVARSDDOTTIR, 2005), leucemias (SCHMIEGELOW, 2002) e até abortos de repetição (CHRISTIANSEN, 1999).

Deficiência de MBL (concentrações séricas <100 ng/mL) tem sido associada à susceptibilidade e gravidade das doenças infecciosas. Doença pneumocócica invasiva foi associada com baixas concentrações de MBL (ROY et al, 2002; EISEN et al, 2006). HIBBERD e cols (1999) demonstraram forte associação entre baixas concentrações de MBL e susceptibilidade à doença meningocócica em pacientes pediátricos. Doença bacteriana grave e sepse

também foram mais freqüentes em adultos deficientes de MBL internados em Unidade de Terapia Intensiva (GARRED, 2003). FIDLER e cols (2004) estudaram 100 pacientes internados em UTI e mostraram que as crianças deficientes em MBL eram mais suscetíveis à Síndrome Inflamatória Sistêmica (SIRS), sepse e choque séptico, com expressivo aumento da mortalidade nesses indivíduos. EISEN e cols (2008) mostraram que o risco de morte é aumentado em indivíduos deficientes de MBL infectados por *Streptococcus pneumoniae* (OR= 5.62; 95% IC 1.27–24.92), após ajuste para bacteremia, comorbidade e idade.

A ligação da MBL na proteína gp120 do vírus HIV inibe a ligação desse às células T humanas em experimento *in-vitro*. Possivelmente, indivíduos deficientes de MBL são mais vulneráveis à infecção pelo HIV, no entanto, em relação à progressão da doença, os dados são conflitantes (EISEN; MINCHINTON, 2003). Por outro lado, pacientes HIV positivos que apresentam concentrações altas de MBL têm maior sobrevida (GARRED; MADSEN; BALSLEV, 1997) do que aqueles deficientes para essa proteína. Polimorfismos do gene *MBL2*, analisados em pacientes euro-brasileiros do Sul do Brasil, mostraram associação com a infecção crônica pelo vírus da hepatite C, sugerindo seu envolvimento na patogênese da doença, principalmente associado com fibrose hepática e resposta ao tratamento (ALVES PEDROSO et al, 2008).

A MBL se liga com grande afinidade à manana, que é um dos principais componentes da parede fúngica, tornando muito eficiente a ligação à *Candida spp*, *Aspergillus spp* e *Criptococcus neoformans*. De forma geral, indivíduos deficientes de MBL são mais suscetíveis às infecções fúngicas oportunistas,

principalmente quando associadas a outras co-morbidades (CROSDALE et al, 2001).

2.2.5.5 Reposição terapêutica de MBL

Aparentemente a deficiência de MBL é mais importante em situações onde o sistema imunológico está, de alguma outra forma, comprometido. Em pacientes que sofrem forte supressão da atividade fagocítica, devido à quimioterapia intensiva ou leucemia mielóide aguda, foi observado aumento de infecções associado à deficiência de MBL (SCHLAPBACH et al, 2007; NETH et al, 2000; PETERSLUND et al, 2001). Particularmente nesse grupo de pacientes, estudos relataram o uso terapêutico da reposição de MBL e que tal procedimento aparentemente restaura a capacidade opsonizante da MBL (FRAKKING et al, 2009; VEKEMANS et al, 2007; SCHLAPBACH et al, 2007). Clinicamente observou-se menor prevalência de IR nos pacientes que receberam essa terapia.

Historicamente, a primeira reposição de MBL foi feita em uma menina de dois anos que desde 4 meses de idade apresentava IR, defeitos de opsonização e era deficiente de MBL. A paciente recebeu infusões diárias de MBL por 3 dias consecutivos e esse tratamento foi repetido após 10 dias. A concentração de MBL no sangue se manteve acima de 1 µg/mL após cada infusão e observou-se normalização da atividade fagocítica. A paciente permaneceu sem IR não somente durante o tempo em que recebeu o tratamento, mas também quando retornou ao estado de deficiência (VALDIMARSSON, 1998), levando a questionamentos se isso teria sido

coincidência ou então, se era devido a outro mecanismo de ativação celular modulado pela MBL, ainda não conhecido.

Outro estudo tipo caso-controle relatado por GARRED e cols (2002) relatou a reposição terapêutica de MBL em paciente de 21 anos de idade com fibrose cística, deficiente em MBL (<20 ng/ml) e cronicamente infectada por *Pseudomonas aeruginosa* desde os 4 anos de idade. A paciente permaneceu bem até os 20 anos de idade, quando sua função pulmonar começou a declinar rapidamente, com pouca resposta ao tratamento agressivo com antibióticos e corticóides. Decidiu-se então tratar a paciente com MBL purificada duas vezes por semana, na forma intravenosa, por um período de 3 meses. Não foram observados efeitos adversos e durante os primeiros 18 dias de tratamento o tempo de meia-vida da MBL circulante foi cerca de 2 dias. Embora a função pulmonar não tenha melhorado significativamente, o estado clínico da paciente melhorava com as infusões de MBL. Após o término do tratamento de 3 meses, a condição clínica da paciente deteriorou rapidamente, indo a óbito em 2 meses. Os autores também sugeriram que a MBL tem significativo efeito antiinflamatório, uma vez que foi observada uma correlação inversa entre concentrações de MBL e proteína C reativa (proteína de fase aguda). Além disso, propõem reposição de MBL como ferramenta no tratamento de pacientes com fibrose cística ou outras enfermidades nas quais a deficiência de MBL possa estar envolvida na patogênese da doença.

Atualmente dois tipos de MBL para uso terapêutico estão sendo estudados. No primeiro, isolou-se e purificou-se a MBL a partir do plasma de doadores de sangue e após adequação foi utilizada por infusão intravenosa (VALDIMARSSON et al, 1998). Com essa MBL purificada a partir de plasma,

foi realizado estudo de fase 1, testando-se sua segurança terapêutica em 20 voluntários sadios, deficientes para MBL. Os resultados foram positivos, em relação à tolerabilidade, não sendo observada ativação inespecífica do sistema complemento e nem formação de anticorpos anti-MBL (VALDIMARSSON et al, 2003). Entretanto, o uso de soro humano para obtenção de MBL purificada em larga escala é considerado eticamente inaceitável (GUPTA, 2008).

Em 2003, JENSENIUS e cols foram pioneiros na produção da primeira MBL recombinante por células endoteliais de rim provisoriamente transfectadas e cultivadas em meio isento de proteínas, sendo possível então a produção em larga escala de MBL recombinante. A partir de então, ensaios avaliaram a segurança, tolerância e farmacocinética da MBL recombinante. A administração da MBL recombinante em 40 homens saudáveis restaurou a habilidade da MBL ativar o sistema complemento e realizar de forma mais eficiente a opsonização de microorganismos; além disso, a meia vida da MBL recombinante foi de aproximadamente 30 horas (PETERSEN et al, 2006). FRAKKING e cols (2009) investigaram a tolerabilidade e segurança do uso terapêutico da reposição de MBL em 20 crianças com câncer (0 – 12 anos de idade) deficientes em MBL, em uso de quimioterápico indutor de neutropenia. Os autores mostraram que o uso semanal de uma ou duas doses de MBL recombinante promove a manutenção de níveis séricos de 1 µg/ml de MBL também em pessoas, valor considerado protetor contra infecções e ao mesmo tempo, seguro e bem tolerado pelos pacientes. No entanto, ressaltam que outros estudos e testes clínicos devem ser realizados com número maior de casos, para se confirmar se os pacientes que fazem a reposição de MBL efetivamente ficam mais protegidos contra infecções.

2.2.5.6 MBL e doenças

Se por um lado a deficiência de MBL favorece o aparecimento de infecções por microorganismos extracelulares, por outro tal deficiência pode conferir proteção contra parasitas intracelulares. Parasitas como a *Leishmania spp* e o *Mycobacterium leprae* utilizam a MBL ou outros fatores do complemento ativados pela via das lectinas (opsonização através de C3 e o receptor de C3 presente em monócitos/macrófagos) para facilitar sua entrada nas células-alvo. Também se sugere papel protetor de genótipos associados à deficiência de MBL contra o desenvolvimento das formas graves e multibacilares na hanseníase (SANTOS et al, 2001; DORNELLES et al, 2006; MESSIAS-REASON et al, 2007). Indivíduos com baixos níveis de MBL teriam diminuição da fagocitose mediada pela MBL, o que dificultaria a internalização destes patógenos. Por outro lado, altas concentrações de MBL foram associadas à complicações cardíacas na doença de Chagas (LUZ et al, 2009)..

Altas concentrações de MBL também podem, sob certas condições, acentuar o dano tecidual resultante da ativação exacerbada do complemento (GARRED et al, 1994). Na doença reumática, verifica-se valores elevados de MBL em pacientes crônicos com comprometimento cardíaco (SCHAFRANSKI et al, 2004) e genótipos que determinam alta produção de MBL aumentam o risco de cardite aguda e crônica em pacientes com febre reumática (SCHAFRANSKI et al, 2008). Pacientes com alta concentração de MBL apresentam probabilidade menor de infarto do miocárdio, provavelmente pela função da MBL na remoção fagocítica de debris celulares e complexos auto-imunes (SAEVARSOTTIR et al, 2005).

Baixas concentrações de MBL ou frequência aumentada dos alelos mutantes já foram descritas em indivíduos com DAI. Em doenças inflamatórias como LES (MONTICIELO et al, 2008), colite ulcerativa (RECTOR et al, 2001), doença de Crohn (RECTOR et al, 2001), artrite reumatóide (IP; LAU, 2000; JACOBSEN et al, 2001), Síndrome de Sjogren (RAMOS; CASALS, 2009) entre outras, tem sido demonstrado que a MBL possui importante papel na regulação da resposta imunológica envolvida nessas doenças. Pacientes com LES deficientes em MBL apresentam mais frequentemente comprometimento renal, aumento no número de infecções (GARRED et al, 2001) e risco muito alto de trombose arterial (OHLENSCHLAEGER et al, 2004). Por outro lado, pacientes com artrite reumatóide que apresentam altas concentrações de MBL podem ter maiores danos articulares e distúrbios circulatórios (JACOBSEN et al, 2009).

Uma das características da MBL que mais chama a atenção é a sua dualidade, dado que as suas concentrações, independentemente de serem altas ou baixas podem estar relacionadas a aspectos clínicos das DAI, uma vez que a MBL pode atuar tanto na prevenção como na patogênese das doenças.

Em resumo, a presente pesquisa pode ser justificada pelos seguintes aspectos:

- Pacientes com SD apresentam um amplo espectro de alterações no sistema imunológico;
- São escassos os estudos sobre o sistema complemento na SD;
- MBL tem importância reconhecida na resposta imunológica frente às infecções e DAI;
- Ocorrência de alta prevalência de IR e de DAI em pacientes com SD;
- Existe a possibilidade de tratamento para pacientes deficientes de MBL.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar as concentrações séricas de MBL em pessoas com SD e avaliar as implicações clínicas, principalmente associadas com a presença de infecções de repetição e doenças auto-imunes nesses indivíduos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a prevalência de infecções recorrentes e de doenças auto-imunes na população com SD estudada.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Todos os responsáveis pelos pacientes e controles foram esclarecidos quanto aos objetivos, métodos e necessidade de exames laboratoriais, sendo que o paciente foi incluído no estudo somente após a concordância com os termos de consentimento livre e esclarecido, de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas-UFPR. Todos os procedimentos aqui relatados foram aprovados pelo citado Comitê de Ética.

4.1 CASUÍSTICA

4.1.1 Grupo com SD

Foram incluídos consecutivamente pacientes não aparentados, diagnosticados como pacientes com SD através dos exames clínicos e laboratoriais, pelas pediatras do serviço, de acordo com PUESCHELL, 1988. Foram excluídos do estudo pacientes menores de 2 anos, devido à possibilidade de resultados falso negativos para alguns exames realizados. Dessa forma, foram incluídos 150 pacientes com SD provenientes do ambulatório de SD do HC-UFPR, atendidos durante o período de março de 2001 a setembro de 2007.

4.1.2 Grupo de comparação

Como grupo de comparação foi coletado amostras de sangue de 120 crianças e adolescentes saudáveis, sem SD, que não apresentavam histórico de infecções recorrentes e/ou doenças auto-imunes. Essas eram provenientes da mesma área geográfica dos pacientes e foram atendidas em uma unidade de saúde da Prefeitura Municipal de Curitiba – Paraná. Os controles foram aproximados em sexo e idade com o grupo em estudo, sendo 67 (55,8%) do sexo masculino e 53 (44,2%) do sexo feminino, com mediana de idade 8 anos, variando entre 2 e 19 anos. Em relação à origem étnica, 108 (90%) eram euro-descendentes e 12 (10%) afro-descendentes.

4.1.3 Amostras de sangue

A coleta de sangue do paciente foi realizada no laboratório do HC-UFPR aproveitando a realização de exames de rotina (hemograma, VHS, glicemia). Neste momento, foi efetuada a coleta de um tubo a mais, com 3 mL de sangue sem anticoagulante. Após centrifugação e separação, as alíquotas de soro foram imediatamente armazenadas a – 80°C, até a sua utilização. Todos os exames feitas nesse estudo foram realizados no HC-UFPR.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Análise das variáveis clínicas

Os dados clínico-epidemiológicos, tais como: histórico geral, antecedentes familiares, caracterização dos processos infecciosos e doenças associadas (doenças auto-imunes e complicações cardíacas) foram compilados dos prontuários médicos e história pregressa dos pacientes. De acordo com ROZOV (1999), os critérios para classificar o paciente acometido de IR foram os seguintes:

- pneumonias: três ou mais episódios em um ano
- otites: três ou mais episódios em seis meses, ou quatro ou mais episódios em um ano
- tonsilites: cinco infecções no período de um ano
- rinofaringites comuns: 12 ou mais episódios ao ano
- sinusites: quatro ou mais episódios em seis meses, com resposta à terapêutica medicamentosa

4.2.2 Determinação das concentrações séricas de IgA, IgG, C3 e C4

Os níveis séricos de IgA, IgG, C3 e C4 foram determinados em todos os pacientes que apresentaram histórico de IR, com o intuito de se pesquisar deficiência dessas imunoglobulinas e componentes do sistema complemento. As determinações foram realizadas pelo método de turbidimetria, empregando-se o sistema de detecção comercial (Behringer, Marburg, Alemanha) específico para cada componente, sendo utilizado o aparelho (turbidímetro) cedido pela mesma empresa.

4.2.3 Quantificação da MBL sérica

As concentrações de MBL circulantes foram determinadas através de imunoensaio enzimático de adsorção (ELISA) “in-house”, conforme descrito por PETERSEN et al. (2001). O valor de corte do ensaio foi de 100 ng/mL. Os indivíduos com valores de MBL sérica entre 0 e 100 ng/mL foram considerados deficientes. Valores entre 101 e 1000 ng/mL, médios e acima de 1000 ng/mL, altos.

O ensaio de ELISA foi realizado com placas Nunc® Maxisorb (Dinamarca). A microplaca foi preparada com adsorção prévia com 100 µL de solução de manana 9 g/dL (Sigma, St. Louis, EUA) diluída à 1:4500 em tampão de ligação (bicarbonato de sódio 0,1 M, pH 9,6) a 4°C por 18 horas. Após esse período foi feito o bloqueio com 100µL de albumina humana a 1 mg/mL em tampão de diluição (tris/base 20 mM; NaCl 0,1M; 0,05% triton X; CaCl₂ 10 mM; 1 mg/ml albumina humana, pH 7,4) por 1 hora à 25°C. A seguir, foram realizadas 4 lavagens com tampão específico (tris/base 10mM; NaCl 0,14M; 0,05% tween 20; CaCl₂ 5 mM; 0,1% NaN₃ 0,015M, pH 7,4) e adicionou-se aos micropoços 100 µL dos padrões com diferentes concentrações de MBL (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark) e 100 µL das amostras de soro dos pacientes e controles, previamente diluídas a 1/100 com tampão de diluição. Incubou-se a placa a 4°C por 18 horas. Nesta etapa, a MBL presente nas amostras se liga especificamente à manana adsorvida.

A placa foi lavada novamente por 4 vezes, com tampão de lavagem, e adicionou-se anticorpo monoclonal anti-MBL humana (Mab1-131, Statens Serum Institute, Dinamarca), diluído a 1/1000 em tampão de diluição e nova

incubação de 1 hora a 25°C. Após lavagem, adicionou-se 100 µL do anticorpo de coelho anti-camundongo, conjugado com fosfatase alcalina (Sigma, St.Louis, EUA), diluído 1/2000 com tampão de diluição e incubou-se por 1 hora à 25°C. Novamente, foram feitas lavagens da placa e acrescentadas 100 µL da solução cromógena (96 µl/ml de dietanolamina e 10 mg/ml de p-nitro fenol fosfato - PNPP). Após incubação de 18 horas a 25°C, a intensidade de cor foi aferida em um leitor de ELISA a 450 nm (BIOTEK, BRASIL). A absorbância obtida é diretamente proporcional à concentração de MBL presente na amostra. As concentrações são calculadas com o auxílio da curva de calibração feita com os padrões conhecidos.

A reação de ELISA para quantificar as concentrações de MBL foi padronizada no Laboratório de Imunopatologia do Hospital de Clínicas da UFPR e foi validada pelo uso de controles e curvas de calibração feitas com padrões provenientes de laboratórios que produzem kits comerciais (Statens Serun Institute – Copenhagen, Dinamarca). Além disso, a metodologia foi aferida por padrões doados pelo Dr. Jens Jensenius (Department of Medical Microbiology and Immunology, University of Aarhus, Denmark) e por estudos comparativos entre as metodologias e kits utilizados para determinar as concentrações séricas de MBL (FRIEDERIKSEN et al, 2006). Em todos os ensaios foram utilizados controles inter e intra-placas para assegurar-se do controle de qualidade da metodologia.

4.2.4 Análise Estatística

Na análise estatística deste trabalho, foram utilizados os programas “Microsoft - Statistica versão 5.5” e “GraphPad Prism – versão 3.0”. A análise da normalidade da distribuição dos dados foi feita pelo teste de Kolmogorov-Smirnoff e mostrou que não obedeciam distribuição paramétrica. Assim, para comparação de dois grupos em relação à concentração de MBL, IgA, IgG, C3 e C4 adotou-se teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Quando a comparação envolveu mais de dois grupos utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, e para a comparação de dois grupos em relação a variáveis dicotômicas, adotou-se o teste do Qui-quadrado com correção de Yates. Calculou-se a razão de chances (*odds ratio*) sempre que comparada a diferença relativa de uma variável entre dois grupos. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Análise dos achados clínicos das crianças e adolescentes com SD

Dentre os 150 pacientes, 93 (62%) eram do sexo masculino e 57 (38%) do sexo feminino, a faixa etária variou de 2 a 18 anos, mediana de 4 anos. Em relação à origem étnica, 138 (92,0%) eram euro-descendentes, 2 (1,3%) asiáticos e 10 (6,7%) afro-descendentes.

Na tabela 4 estão apresentados os achados clínicos dos pacientes com SD em relação à prevalência de infecções recorrentes (IR), doenças auto-imunes (DAI) e defeito cardíaco congênito (DCC).

TABELA 4: ACHADOS CLÍNICOS DAS CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SD (N=150).

	<i>n</i>	%
<i>Pacientes com Infecções recorrentes</i>	46/150	30,7
Pneumonia	32	69,5
IVAS	14	30,5
Gastroenterites	4	8,7
<i>Pacientes com doenças autoimunes **</i>	21	14,1
Tireoidite de Hashimoto	9	42,9
Doença celíaca	5	23,8
Vitiligo	2	9,5
Psoríase	1	4,8
Alopécia areata	6	28,6
<i>Pacientes com defeito cardíaco congênito</i>	35	23,4
Infecções recorrentes	17	48,5*

n=número de casos; IVAS: Infecções de vias aéreas superiores

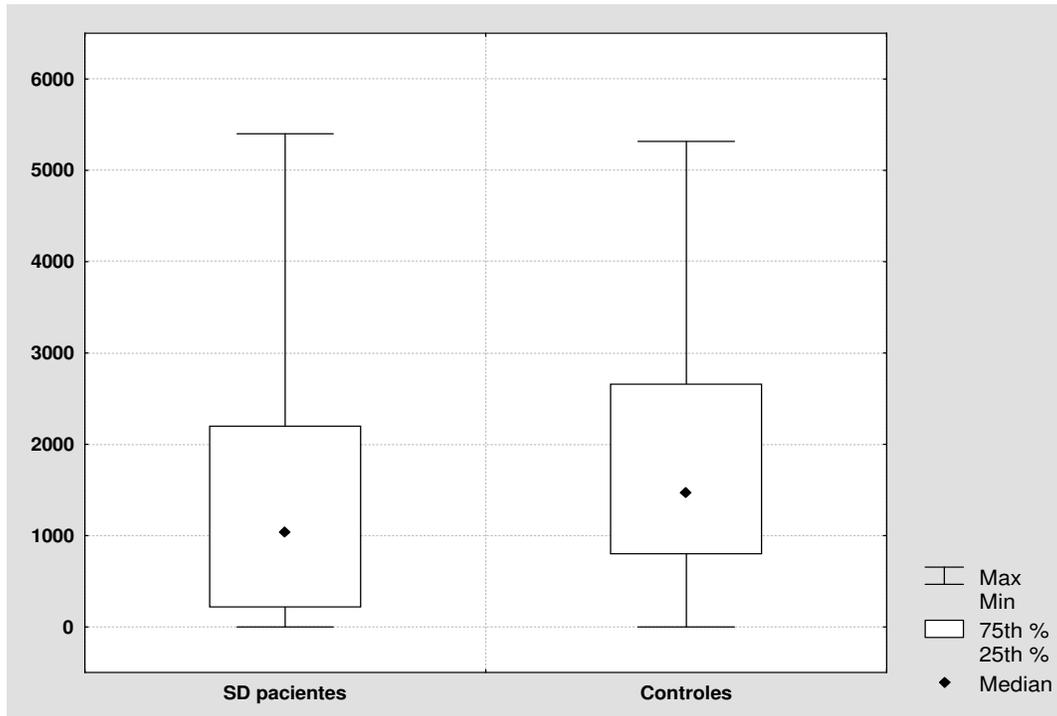
** 4 pacientes apresentaram mais de uma DAI concomitantes

* p=0.016; OR=2.80; 95% CI 1.28 - 6.14

5.2 Concentrações de MBL em crianças e adolescentes com SD e controles

Foram analisadas as concentrações séricas de MBL de 150 pacientes com SD e de 120 crianças e adolescentes sem SD. Os resultados são visualizados no gráfico 1. e na tabela 5.

GRÁFICO 1 : CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL DE PACIENTES COM SD (N=150) E CONTROLES (N=120).



* $p=0,0256$ – teste de Mann-Whitney

TABELA 5: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SD E CONTROLES

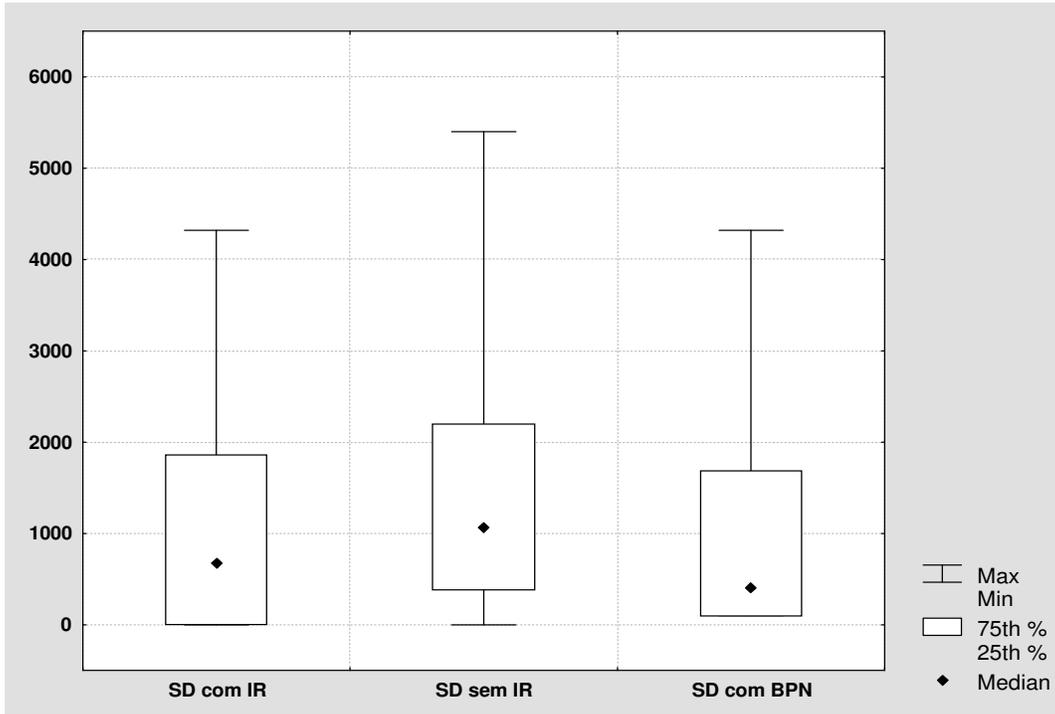
Valores de MBL	Síndrome de Down (n=150)	Controles (n=120)
Deficientes (<100 ng/mL)	20,0% (30/150)	13,3% (16/120)
Médios (101-1000 ng/mL)	29,3% (44/150)	22,5% (27/120)
Altos (>1001 ng/mL)	50,7% (76/150)	64,2% (77/120)
Mediana (ng/mL)	1021	1463*
Variação dos níveis de MBL (ng/mL)	100-5400	100 - 5314

* p=0,0256 – teste de Mann-Whitney

As crianças e adolescentes com SD apresentaram significativa redução nas concentrações séricas de MBL, quando comparadas aos controles (p=0,0256). No entanto, não foi observada diferença significativa entre o número de indivíduos deficientes em MBL entre o grupo de pessoas com SD e controles (p= 0,46).

Foi observada redução nas concentrações séricas de MBL nas pessoas com SD que apresentaram IR (p=0,067) e significativa associação com histórico de pneumonia de repetição (p=0,027) nas pessoas com SD, como pode ser visualizado no gráfico 2 e tabela 6.

GRÁFICO 2: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PACIENTES COM SD COM E SEM INFECÇÕES DE REPETIÇÃO.



SD: Síndrome de Down; IR: infecções de repetição; BPN: broncopneumonia.
 $p=0,067$ – Pessoas SD com IR vs pessoas SD sem IR (teste de Mann-Whitney)
 $p=0,027$ – Pessoas SD com BPN vs pessoas SD sem IR (teste de Mann-Whitney)

TABELA 6: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PESSOAS COM SD
COM E SEM INFECÇÕES RECORRENTES

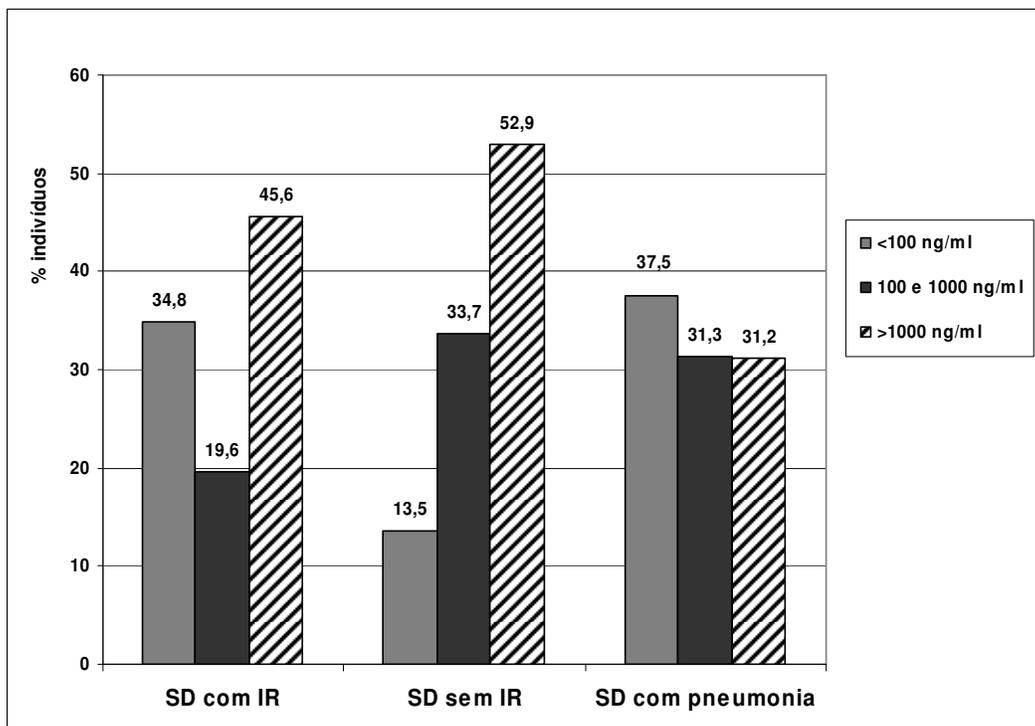
Pacientes com síndrome de Down (n=150)			
<i>Valores de MBL</i>	<i>Com Infecções recorrentes (n=46)</i>	<i>Sem Infecções recorrentes (n=104)</i>	<i>Com pneumonia de repetição (n=32)</i>
Deficientes (<100 ng/mL)	34,8% (16/46)	13,5% (14/104)*	37,5% (12/32)*
Médios (101-1000 ng/mL)	19,6% (9/46)	32,7% (34/104)	31,3% (10/32)
Altos (>1001 ng/mL)	45,6% (21/46)	51,9% (54/104)	31,2% (10/32)
Mediana (ng/mL)	750	1080	409
Variação dos níveis de MBL (ng/mL)	100 - 4320	100 - 5400	100 - 4900

* p= 0,0052 (OR=3,43; 95% IC=1.5-7.850) – pessoas com SD infecções recorrentes vs pessoas SD sem infecções recorrentes (Teste Qui-quadrado com correção de Yates)

* p=0,005 (OR=3,68; 95% IC=1.5-6.95) – pessoas com SD que apresentaram pneumonias x pessoas SD sem histórico de pneumonias (Teste Qui-quadrado com correção de Yates).

Os dados apresentados na tabela mostram que deficiência de MBL foi significativamente associada com presença de IR e pneumonias. O gráfico 3 mostra as diferenças entre as concentrações séricas de MBL nos grupos estudados.

GRÁFICO 3 – DEFICIÊNCIA DE MBL EM PACIENTES COM SD COM E SEM IR.



*Teste de Qui-quadrado: pacientes SD com IR x sem IR: $p=0,0052$; OR=3,43 (95% IC=1.5-7.85)

*Teste de Qui-quadrado: pacientes sem IR x com pneumonia: $p= 0,0052$; OR= 3,68 (IC 95%=1.5–6.95)

Em pacientes que apresentaram histórico de IR (n=46) foram determinadas as concentrações séricas de IgG, IgA, C3 e C4. A finalidade desse teste foi descartar a possibilidade de imunodeficiências congênitas dessas imunoglobulinas e dos componentes C3 e C4 do sistema complemento, comparando-os com pacientes com SD sem IR. Os resultados são demonstrados na tabela 7.

TABELA 7 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE IMUNOGLOBULINAS EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN COM E SEM INFECÇÕES RECORRENTES (IR)

	SD com IR n=46	SD sem IR n=38 (limites)	p
IgA	115,5	174	0,013 ^a
(mg/dL)	(20-334)	(43 – 1410)	
Pacientes com	26%	10.5%	0,16 ^b
IgA <70mg/dL	(12/46)	(4/38)	
IgG	1260	1540	0,046 ^a
(mg/dL)	(98.1 – 7440)	(440 – 5530)	
Pacientes com	10.4%	7.9%	0,76 ^b
IgG<700 mg/dL	(5/48)	(3/38)	

^a Mann-Whitney test ^b Fisher exact test

Valores de referência: **IgA**= 70 - 400 mg/dl; **IgG**= 700 – 1600 mg/dl.

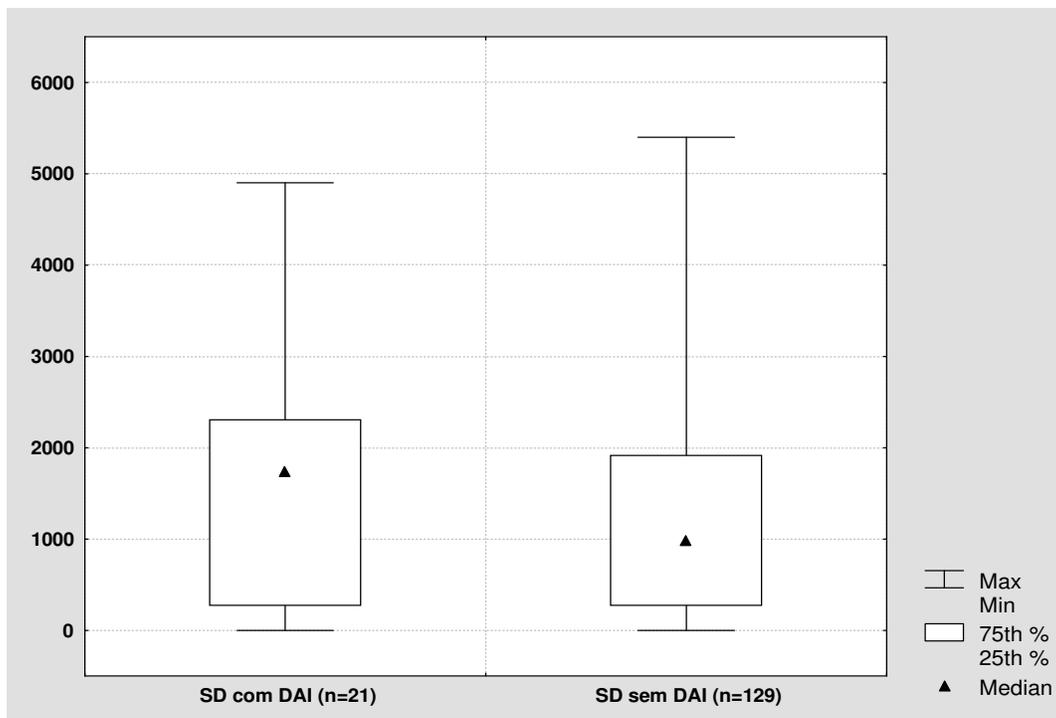
Correlação de Spearman: IgA x IgG e IR : p=0.009, R=0,78

Verificou-se que níveis significativamente diminuídos de IgA e IgG estão associados com presença de IR (p=0,009). No entanto, apesar das concentrações de imunoglobulinas estarem diminuídas em relação aos valores de referência para a idade para vários pacientes, não foi observado nenhum caso de deficiência de IgA ou IgG dentre os pacientes estudados. Em relação às concentrações de C3 e C4, todos os pacientes testados (n=46) apresentavam valores dentro dos limites de normalidade e nenhum indivíduo foi deficiente para esses componentes.

A associação entre concentrações de MBL e ocorrência de DAI nas pessoas com SD também foi investigada. Na presente casuística, 14,1% (21/150) das pessoas com SD apresentavam uma ou mais DAI, sendo que um paciente com 13 anos de idade, apresentava 5 DAI concomitantes (tireoidite de

Hashimoto, doença celíaca, psoríase, vitiligo e alopecia areata). Não se verificou diferença significativa entre concentrações séricas de MBL de pacientes com SD que apresentavam ou não DAI ($p=0,46$, gráfico 4 e tabela 8). Também não houve associação entre concentrações de IgA, IgG, C3 e C4 e a ocorrência de DAI.

GRÁFICO 4: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PESSOAS SD COM E SEM DOENÇAS AUTO-IMUNES (DAI)



* $p= 0,46$ – Teste de Mann-Whitney

TABELA 8: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL EM PESSOAS SD COM E SEM DOENÇAS AUTOIMUNES

	SD com DAI (n=21)	SD sem DAI (n=129)
Deficientes (<100 ng/ml)	19.0% (4/21)	18.6% (24/129)
Médios (101-1000 ng/ml)	23.8% (5/21)	30.2% (39/129)
Altos (>1001 ng/ml)	57.2% (12/21)	51.2% (66/129)
Mediana (ng/ml)	1740	980 ^a
Variação dos níveis de MBL (ng/ml)	100-4900	100 - 4540

^a p= 0,46 – Teste de Mann-Whitney

Não foi observada associação entre o número de indivíduos deficientes de MBL no grupo com SD que apresentaram DAI quando comparados aos que não tinham história de DAI (p=0,76).

Em relação ao achado de DCC em pacientes com SD, no presente estudo 23,4% (35/150) dos pacientes apresentaram tal comprometimento, dos quais 48,5% (17/35) tinham histórico concomitante de IR (p=0,016; OR=2,80; 95% CI 1,28 – 6,14). Não foi observada associação entre as concentrações de MBL ou número de indivíduos deficientes com a presença de DCC (p=0,89). O mesmo ocorreu em relação às concentrações de IgA, IgG, C3 e C4 nos pacientes com SD e IR estudados.

6 DISCUSSÃO

O nascimento de um bebê com SD sempre irá gerar nos pais, familiares e profissionais de saúde que os atendem preocupações sobre quais são as perspectivas futuras para essa criança. Dúvidas que vão desde a expectativa de vida, possíveis complicações de saúde, qualidade de vida e até o grau de independência que essa criança irá atingir.

Nas últimas décadas, a sobrevivência dos indivíduos com SD aumentou consideravelmente. Isso se deve aos constantes progressos médicos, com a introdução de novas técnicas cirúrgicas, prevenção com vacinas, medicamentos e tratamentos diferenciados como introdução da estimulação precoce (motora, neurológica e cognitiva) das pessoas com SD. Outro fator essencial para melhorar a saúde física e mental do paciente com SD foi a sua maior aceitação na sociedade em que está inserido. Atualmente, uma das metas para todos os que vivenciam a luta diária desses pacientes e suas famílias, é oferecer saúde plena e proporcionar a inclusão social dos mesmos.

A SD ocorre devido a um erro genético que se processa aleatoriamente e não pode ser prevenida. COLLINS e cols (2008) evidenciaram na população australiana que, ao contrário do que se esperava, o número de bebês com SD não diminuiu no período estudado (1986 a 2004); embora a taxa de fecundidade e o número total de nascidos-vivos naquela população e em outras, inclusive no Brasil, tenham diminuído. Profissionais de saúde devem continuar a procurar formas de contribuir para melhorar o atendimento aos pacientes com SD e seus familiares principalmente porque, embora se observe maior sobrevivência dos pacientes com SD, as infecções (em particular,

pneumonias) continuam ainda sendo as principais causas de morte entre os pacientes com SD de todas as idades (HILL et al, 2003).

Em relação ao sistema imunológico dos indivíduos com SD, a maioria dos trabalhos estudou defeitos na resposta imunológica adaptativa, principalmente relacionada às alterações da função tímica e de populações linfocitárias. Poucos autores investigaram a resposta imunológica inata. É bem caracterizada a importância da resposta inata como iniciadora da resposta adaptativa, direcionando a resposta imunológica já a partir da primeira linha de defesa, através das diferentes citocinas liberadas no processo da apresentação do antígeno (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2008).

No presente estudo, a mediana de idade das 150 crianças e adolescentes com SD foi de 4 anos e evidenciou-se que 30,7% (46/150) delas apresentaram antecedentes de IR, principalmente pneumonias. A maioria dos pacientes (91,7%) teve entre 3 e 4 pneumonias no período de 12 meses, com episódios de internação, em particular nos primeiros 4 anos de vida. No entanto, alguns pacientes (8,7%) desenvolveram mais de 10 pneumonias num período de 24 meses. Portanto, a idade foi fator importante para maior suscetibilidade a infecções nessas pessoas. É bem conhecido que na primeira infância, devido à imaturidade do sistema imunológico, as pessoas com ou sem SD em qualquer região do mundo, apresentem maior suscetibilidade a infecções (KOCH et al, 2001; SELWYN, 1990).

WEIJERMAN e cols (2008) mostraram que entre 30 e 55% das pessoas com SD que nascem com DCC podem apresentar IR e esse achado associado a fatores como baixo peso, dificuldade de amamentação, distúrbios cardiovasculares, entre outros, proporcionam maior vulnerabilidade a infecções

(PUESCHEL, 1988). No presente estudo, tal fator também se mostrou importante, uma vez que 48,5% das pessoas com SD e DCC tinham histórico de maior prevalência de IR ($p=0.016$; $OR=2.80$), quando comparados ao grupo SD sem DCC.

Disfunções do sistema imunológico do paciente com SD refletem defeitos geneticamente determinados que podem levar à deficiência temporária ou permanente da imunidade. A MBL, cuja concentração sérica é influenciada por polimorfismos genéticos, é considerada particularmente importante para proteção da criança contra microorganismos causadores de infecções respiratórias entre os 5 meses até os 18 meses de idade, período onde a criança perde a proteção conferida pelos anticorpos maternos e ainda não está apta a produzir quantidades suficientes das suas próprias imunoglobulinas. É provável que nessa faixa etária, a MBL tenha atuação mais decisiva, devido à sua capacidade de atuar antes da resposta imunológica adaptativa. Além disso, a grande afinidade pela parede celular dos microorganismos patogênicos ricos em resíduos de açúcar (principalmente manose) faz com que essa resposta seja mais rápida. Por esse motivo, a MBL passou a ser chamada por alguns autores de “ante-anticorpo” (TURNER, 1998; TURNER, 2003; KOCH et al, 2001). Pela perda dessa proteção, sugere-se que pessoas deficientes na produção de MBL sejam mais suscetíveis às IR.

As concentrações séricas de MBL no grupo de pessoas com SD foram significativamente menores que as dos controles normais ($p=0,0256$) e estavam associadas com pneumonia recorrente ($p=0,027$). Além disso, a deficiência de MBL aumentou em mais de 3 vezes o risco de IR e pneumonia em pessoas com SD ($OR=3,43$ e $OR=3,68$ respectivamente). Evidentemente,

outros fatores de risco também devem ser levados em consideração, tais como: hipotonia, alergias, alterações anatômicas, refluxo gastroesofágico, pacientes institucionalizados e fumo passivo. A esses fatores que explicam em parte a alta prevalência das IR nas pessoas SD, acrescentou-se com a presente investigação novo fator de risco - associado ao sistema imunológico inato – a deficiência de MBL. Nesse contexto, tem-se como exemplo um paciente masculino, sem DCC, que desenvolveu 14 episódios de pneumonia em período de 24 meses (entre os 8 e 36 meses), o qual foi avaliado clinicamente e laboratorialmente. Esse paciente tinha IgA diminuída (40 mg/dL), concentração normal de IgG, C3 e C4 e era deficiente para MBL.

FIDLER e cols (2004) observaram que a MBL estava ausente no lavado alveolar das 7 crianças sem infecção pulmonar, porém estava presente em 62% (8/13) das crianças com pneumonia aguda, as quais apresentaram concentrações significativamente aumentadas de MBL no lavado alveolar em relação às demais crianças. Os autores concluem que a MBL, uma proteína estrutural e funcionalmente semelhante às outras colectinas associadas ao pulmão como surfactantes A e D, também contribui para defesa local do tecido pulmonar.

O *Streptococcus pneumoniae* é a principal bactéria implicada em infecções comunitárias como pneumonia, sinusites e otites na população infantil, seja aquelas com SD ou não (PEREIRA et al, 2001). O pneumococo é um coco gram-positivo, encapsulado, que coloniza orofaringe e pode fazer doença invasiva para pulmões, seios paranasais e ouvidos, possuindo grande habilidade de escape do sistema imunológico (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2006). Já foi demonstrado que a MBL se liga ao pneumococo,

porém essa ligação é dificultada pela espessa cápsula polissacáride da bactéria (VAN EMERICK et al, 1994; KRARUP et al, 2005). EISEN e cols (2008) evidenciaram risco de morte aumentado em mais de 5 vezes para pacientes deficientes de MBL infectados por *S. pneumoniae* (OR=5,62; 95% IC 1,27-24,92) após ajuste para bacteremia, comorbidades e idade. A importância da MBL no combate à colonização e invasão por outras bactérias implicadas em pneumonias comunitárias como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytus*, *Haemophilus influenza*, entre outras, também foi avaliada por outros autores (KRARUP et al, 2005; NETH et al, 2000). Ainda não está definido especificamente onde a MBL se liga nessas bactérias, todavia, as evidências apontam que a ligação ocorra em diferentes PAMP's presentes na parede celular desses microorganismos (NETH et al, 2000, KOCH et al, 2001).

CEDZINSKI e cols (2004) reportaram que mutações no gene *MBL2*, associados aos baixos níveis de MBL, são duas vezes mais freqüentes em pacientes pediátricos com IR de trato respiratório. Os autores mostraram que pessoas com baixas concentrações de MBL e com outros defeitos da resposta humoral, são particularmente vulneráveis às IR. No presente estudo, além de baixas concentrações de MBL, as pessoas com SD também apresentaram significativa diminuição nos níveis de IgA e IgG ($p=0,009$), mostrando que nesses pacientes ocorreu alteração em dois fatores humorais envolvidos na defesa contra infecções. No entanto, não se observou correlação estatisticamente significativa entre deficiência de MBL e concentrações diminuídas de imunoglobulinas.

Concentrações séricas de MBL em torno de 100 ng/mL são consideradas suficientes para plena atividade da via das lectinas da ativação do complemento (GARRED, 2003). No entanto, alguns autores sugeriram valores de corte diferentes para definir insuficiência de MBL, por exemplo 500 ng/mL (PETERSLUND et al, 2001) ou qualquer valor abaixo de 1000 ng/mL (NETH et al, 2000). Aproximadamente 30% dos indivíduos de origem européia apresentam valores séricos menores que 500ng/ml (THIEL; JENSENIUS; FRIDERICKSEN, 2006). Na população em geral, a maioria dos indivíduos deficientes ou com baixas concentrações de MBL (no nosso estudo, 13,3% das pessoas sem SD e saudáveis) não sofre consequência em virtude disso, ou seja, não apresentam IR ou outras doenças. Sugere-se que, nesses casos, a ausência da MBL seja suprida pelas outras vias do sistema complemento. No entanto, quando associada a outros fatores, como presença de SD, a deficiência de MBL provavelmente implica em maior suscetibilidade desses pacientes às IR.

No futuro, existe a possibilidade que pacientes com SD deficientes na produção de MBL e que apresentam IR, em especial pneumonias recorrentes, possam ser tratados com reposição terapêutica de MBL. Evidentemente, estudos em outras populações com SD serão necessários para confirmação dos achados deste trabalho.

O papel da resposta imunológica adaptativa na patogênese das DAI está bem estabelecido, no entanto, a relevância da resposta inata ainda não está bem esclarecida. Evidências crescentes demonstram que a resposta inata pode iniciar ou promover respostas imunológicas agressivas (CARROL, 2001). A hipótese de que auto-imunidade está relacionada ao “déficit no clearance” de

células apoptóticas tem sido cada vez mais aceita. A MBL tem sido apontada como molécula facilitadora da remoção de células apoptóticas em experimentos *in-vitro* (OGDEN, 2001) e *in-vivo* (STUART, 2005), além de atuar como propagadora de inflamação e injúria tecidual quando presente em altas concentrações em determinadas DAI (GARRED, 1994).

A desorganização do sistema imunológico observada nos indivíduos com SD se reflete clinicamente em maior número de infecções e DAI, o que fez com que alguns autores formassem a hipótese de senescência precoce do sistema imunológico, provavelmente resultante da deficiência da função tímica (CUADRADO, 1996). Senescência imunológica não é sinônimo de deficiência, mas um estado de desorganização do sistema imunológico. MANAVALAN e cols (1998) associaram senescência do sistema imunológico com frequência aumentada de reações auto-imunes em humanos. UTIYAMA e cols (2008) pesquisaram a presença dos auto-anticorpos, anticítosplasma de neutrófilos (ANCA), antimúsculo liso, anti-nuclear, antimitocondrial, anticélulas gástricas parietais, anti-microsoma de fígado e rim (LKM) e fator reumatóide (FR) em pessoas com SD, evidenciando uma positividade total de 28,6% (43/150) dos pacientes, achado cerca de 4 vezes maior à positividade obtida para o grupo controle sadio ($p < 0,0001$). A positividade para o FR nos pacientes com SD (28%; 42/150) levou os autores a prosseguir na investigação de outro auto-anticorpo mais específico e sensível, o anticorpo anti-peptídeo citrulinado (CCP) (NISIHARA et al, 2007). Para esse marcador de artrite reumatóide (AR), a positividade foi alta tanto no grupo de pacientes positivos para FR (57,1%) como naqueles que eram FR negativos (47,7%). No entanto, o diagnóstico de AR não foi confirmado na reavaliação clínica dos pacientes em nenhum dos

indivíduos positivos para um ou ambos anticorpos. Tais achados suscitaram uma pergunta: seriam esses anticorpos indicadores da senescência precoce do sistema imunológico dos pacientes ou então marcadores prognósticos de futura doença auto-imune nessas pessoas? Acredita-se que somente o acompanhamento desses pacientes em estudo longitudinal poderá responder a essa pergunta (UTIYAMA et al, 2008).

Não foi observada associação significativa entre as concentrações séricas de MBL e a positividade total de auto-anticorpos ou em particular para qualquer auto-anticorpo investigado nos pacientes com SD incluídos neste estudo (dados não apresentados).

A prevalência de DAI clínica e laboratorialmente estabelecida na população com SD estudada foi de 14,5% (21/150), inclusive ocorrendo a concomitância de duas ou mais DAI em um paciente. Foi evidenciado aumento nas concentrações séricas de MBL nos pacientes com SD que tinham alguma DAI diagnosticada (mediana de 1740 ng/ml) comparados com pessoas SD sem DAI (mediana de 980 ng/ml), no entanto sem ter significância estatística ($p=0,46$). Alguns autores demonstraram aumento dos níveis de MBL em pacientes como diabetes tipo 1 relacionadas às complicações vasculares e mortalidade do diabetes tipo 2 (HANSEN et al, 2005; HANSEN et al, 2006) e ao desenvolvimento de microalbuminúria nesta doença (HOVIND et al, 2005). No entanto, tal associação não foi observada na presente casuística onde as DAI mais encontradas foram tireoidites, doença celíaca, alopecia areata e doenças de pele como vitiligo e psoríase. Em pacientes com pênfigo foliáceo, também não se observou aumento nas concentrações séricas dos pacientes (MESSIAS-REASON et al, 2008). DWIVEDI e cols (2009) também não

encontraram associação entre concentrações de MBL e vitiligo generalizado. O papel da MBL nas DAI ainda permanece obscuro e talvez o melhor exemplo seja a artrite reumatóide, onde se descrevem associação entre MBL e achados clínicos como atividade da doença e inaptidão física (JACOBSEN et al, 2009) e outros estudos onde os autores relataram a inexistência de tal associação, seja em relação à gravidade e/ou suscetibilidade à AR (VAN DE GEIJIN et al, 2008). Portanto, mais estudos serão necessários para se estabelecer a importância da MBL na patogênese das DAI.

O presente estudo é pioneiro na determinação das concentrações séricas de MBL em pacientes com SD. Os autores demonstraram associação entre IR e deficiência de MBL, sugerindo relevante papel dessa proteína na proteção contra infecções nesses indivíduos. Sugere-se ainda que, pacientes com SD deficientes em MBL possam ser avaliados para futuros testes do uso terapêutico da MBL recombinante como restauradora da capacidade opsonizante. Adicionalmente, acredita-se que a maior expectativa de vida e o grande número de perguntas ainda sem resposta em relação ao sistema imunológico do indivíduo com SD servem de estímulo para novas pesquisas nesse grupo populacional.

7 CONCLUSÕES

- ✓ Crianças e adolescentes com SD apresentaram concentrações de MBL menores do que as pessoas sem a síndrome.
- ✓ Deficiência de MBL foi associada com a presença de infecções recorrentes, principalmente pneumonias, em crianças e adolescentes com SD, conferindo um risco 3 vezes maior
- ✓ Não foi observada associação entre a presença de doenças auto-imunes e concentrações séricas de MBL nos pacientes com SD.
- ✓ Crianças e adolescentes com SD incluídas no estudo apresentaram alta prevalência de IR e de DAI em relação à observada na população sem a síndrome.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, AK, LICHTMAN AH, PILLAI S. Mecanismos efetores da imunidade humoral. In: Imunologia celular e molecular, 6 ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2008 pp 329-45.

ALVES PEDROSO, M. L.; BOLDT, A. B.; PEREIRA-FERRARI, L.; STEFFENSEN, R.; STRAUSS, E.; JENSENIUS, J. C.; IOSHII, S. O.; MESSIAS-REASON, I. Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. Clin Exp Immunol 2008; 152:258-64.

AMBROSIO AR, DE MESSIAS-REASON IJ. *Leishmania (Viannia) braziliensis*: interaction of mannose-binding lectin with surface glycoconjugates and complement activation. An antibody independent defence mechanism. Paras Immunol 2005; 27:333-40.

ANWAR, A.J.; WALKER, K.D.; FRIER, B.M. Type 1 diabetes mellitus and Down's syndrome: prevalence, management and diabetic complications. Diabetes and Medicine 1998; 2:160-3.

AVANZINI, M.A.; MONAFO, V.; DE AMICI, M.; MACCARIO, R.; BURGIO,G.R.; PLEBANI, A.; UGAZIO, A.G.; HANSON, L.A. Humoral immunodeficiency in Down syndrome: serum IgG subclass and antibody response to hepatitis B vaccine. Am J Med Gen 1990; 7:231-3.

BALARAJAN R, DONNAN SPB, ADELSTEIN AM. Mortality and cause of death in Down's syndrome. J Epidem Commun Health 1982; 36:127-9.

BENTLEY, D. A case of Down's syndrome complicated by retinoblastoma and celiac disease. Pediatrics 1975; 56:131-3.

BITTLES AH, BOWER C, HUSSAIN R, GLASSON EJ. The four ages of Down syndrome. Eur J Public Health 2007; 17:221-5.

BOY R, NETO JGB, VARGAS, FR, FONTANA C, ALMEIDA JCC, LLERENA JJ. Síndrome de Down - Análise clínica, citogenética e epidemiológica de 165 casos. J Pediatr (Rio J) 1995; 71:88-92.

BUCKEY F. Modelling Down syndrome. Downs Syndr Res Pract 2008; 12:98-102.

BURGIO, G.R.; SEVERI, F.; ROSSONI, R.; VACCARO, R. Mongolism and thyroid autoimmunity. Lancet 1965; 16:166-71.

BURGIO, G.R.; UGAZIO, A.G.; NESPOLI, L.; MARCIONI, A.F.; PASQUALI F. Derangements of immunoglobulins levels, phytohemagglutinin responsiveness, and T and B cell markers in Down's syndrome at different ages. *Eur J Immunol* 1975; 5:600-3.

BURGIO, G.R.; UGAZIO, A.G.; NESPOLI, L.; MARCIONI, A.F.; PASQUALI, F. Down syndrome: a model of immunodeficiency. In: *Primary Immunodeficiency diseases, Birth defects original article series*, vol. 19 (eds R.J. Wedgwood, F.S. Rosen & N.W. Paul) pp. 325-327. *March of Dimes Birth defects Foundation*, Ala R. Liss, Inc., New York, NY, 1983.

CARR, J. Annotation: Long Term outcome for people with Down's syndrome, *J. Child Psychol. Psychiat* 1994; 35:425-39.

CARROLL, MC. The complement system in B cell regulation. *Mol Immunol* 2004; 41:141-6.

CARROLL MC. Innate immunity in the etiopathology of autoimmunity. *Nat Immunol* 2001; 2:1089-91.

CAPLAN A, COHEN CB. A history of neonatal intensive care and decision making, *Hastings Center Report* 1987; 17:7-9.

CEDZYNSKI M, SZEMRAJ J, SWIERZKO AS, BAK-ROMANISZYN L, BANASIK M, ZEMAN K, KILPATRICK DC. Mannan-binding lectin insufficiency in children with recurrent infections of the respiratory system. *Clin Exp Immunol* 2004;136: 304-11.

CHAD K, JOBLING A, FRAIL H. Metabolic rate: a factor in developing obesity in children with Down syndrome? *Am J Ment Ret* 1990; 95:228-235.

COLLINS VR, MUGGLI EE, RILEY M. Is Down Syndrome a Disappearing Birth Defect? *J Pediatr* 2008; 152:20-4.

COPPUS AM, EVENHUIS HM, VERBERNE GJ, VISSER FE, OOSTRA BA, EIKELENBOOM P, VAN GOOL WA, JANSSENS AC, VAN DUIJN CM. Survival in elderly persons with Down syndrome. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56:2311-6.

CHRISTIANSEN OB, KILPATRICK DC, SOUTER V, VARMING K, THIEL S, JENSENIUS JC. Mannan-binding lectin deficiency is associated with unexplained recurrent miscarriage. *Scand J Immunol* 1999; 49:193-6.

CROSDALE DJ, POULTON KV, OLLIER WE, THOMSONW, DENNINGDW. Mannose- binding lectin gene polymorphisms as a susceptibility factor for chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. J Infect Dis 2001; 184:653–6.

CUADRADO E, BARRENA MJ. Immune dysfunction in Down's syndrome: Primary immune deficiency ou early senescence of the immune system? Clin Immunol Immunopathol 1996; 78:209-14.

DANESHPAZHOOH M, NAZEMI MJ, BIGDELOO L, YOSEFI M. Mucocutaneous findings in 100 children with Down Syndrome. Dermatol Ped 2009; 24:31-9.

DANIELS, D.M.; SIMON, J.L. Down's syndrome, hypothyroidism, and *diabetes mellitus*. J Ped 1968; 72:697-9.

DEAN MM, MINCHINTON RM, HEATLEY S, EISEN DP. Mannose binding lectin acute phase activity in patients with severe infection. J Clin Immunol 2005; 25: 346-52.

DEGN SE, THIEL S, JENSENIUS JC. New perspectives on mannan-binding lectin-mediated complement activation. Immunobiology 2007; 212:301-11.

DOMMETT RM, KLEIN N, TURNER MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. Tissue Antigens 2006; 68:193-09.

DORNELLES LN, PEREIRA-FERRARI L, MESSIAS-REASON IJ. Mannan-binding lectin plasma levels in leprosy: deficiency confers protection against the lepromatous but not the tuberculoid forms. Clin Exp Immunol 2006; 145:463-8.

DU VIVIER A, MUNRO DD. Alopecia areata, autoimmunity and Down's syndrome. Br Med J 1975; 25:191-2.

DWIVEDI M, GUPTA K, GULLA KC, LADDHA NC, HAJELA K, BEGUM R. Lack of genetic association of promoter and structural variants of mannan-binding lectin (MBL2) gene with susceptibility to generalized vitiligo. Br J Dermatol 2009; 16 [Epub ahead of print]

ECLAMC. ESTUDO COLABORATIVO LATINO AMERICANO DE MALFORMAÇÕES CONGÊNITAS. Documento final - XXV Reunião ECLAMC, 1992.

EISEN DP, DEAN MM, THOMAS P, ET AL. Low mannose-binding lectin function is associated with sepsis in adult patients. FEMS Immunol Med Microbiol 2006; 48:274–82.

EISEN DP, MINCHINTON RM. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2003; 37:1496-505.

EISEN DP, DEAN MM, BOERMEESTER MA, FIDLER KJ, GORDON AC, KRONBORG G, KUN JF, LAU YL, PAYERAS A, VALDIMARSSON H, BRETT SJ, IP WK, MILA J, PETERS MJ, SAEVARSDOTTIR S, VAN TILL JW, HINDS CJ, MCBRYDE ES. Low serum mannose-binding lectin level increases the risk of death due to pneumococcal infection. *Clin Infect Dis* 2008; 47:510-516.

ELLIS JM, TAN HK, GILBERT RE, MULLER DP, HENLEY W, MOY R, PUMPHREY R, ANI C, DAVIES S, EDWARDS V, GREEN H, SALT A, LOGAN S. Supplementation with antioxidants and folic acid for children with Down's syndrome: randomized controlled trial. *Br Med Journal* 2008; 336:594-7.

EPSTEIN CJ, KORENBERG JR, ANNERÉN G, ANTONARAKIS SE, AYMÉ S, COURCHESNE E, EPSTEIN LB, FOWLER A, GRONER Y, HURET JL, et al Protocols to establish genotype-phenotype correlations in Down syndrome. *Am J Hum Gen* 1995; 49:207-305.

EPSTEIN CJ. *The morphogenesis of Down Syndrome*. New York: Wiley Liss; 1994, pp 174-98.

FEINGOLD, M.; SCHNELLER, S. Down syndrome and systemic lupus erythematosus. *Clin Gen* 1988; 48:277.

FIDLER KJ, WILSON P, DAVIES JC, TURNER MW, PETERS MJ, KLEIN NJ. Increased incidence and severity of the systemic inflammatory response syndrome in patients deficient in mannose-binding lectin. *Int Care Med* 2004; 30:1438-45.

FRAKKING FN, BROUWER N, VAN DE WETERING MD, BUDDE IK, STRENGERS PF, HUITEMA AD, LAURSEN I, HOUEN G, CARON HN, DOLMAN KM, KUIJPERS TW. Safety and pharmacokinetics of plasma-derived mannose-binding lectin (MBL) substitution in children with chemotherapy-induced neutropaenia. *Eur J Cancer* 2009; 45: 505-12.

FRANCESCHI C, CHIRICOLO M, LIRIBEIRO F, ZANOTTI M. Oral supplementation in Down's syndrome: Restoration of thymic endocrine activity and some immune defects. *J Ment Def Res* 1988; 23:169-73.

FRANCIOTTA D, VERRI A, ZARDINI E, ANDREONI L, DE AMICI M, MORATTI R, NESPOLI L. Interferon-gamma- and interleukin-4-producing T cells in Down's syndrome. *Neurosci Lett* 2006; 27:67-8.

FRANKLIN CM, TORRETI D. Systemic lupus erythematosus and Down's syndrome. *Arthr Rheum* 1985; 28:598-9.

FRASER M, MICHELL E. Kalmuc idiocy: report of a case with autopsy with notes on sixty two cases. *J Ment Sci* 1876; 22:169-79.

FREDERIKSEN PD, THIEL S, JENSEN L, HANSEN AG, MATTHIESEN F, JENSENIUS JC. Quantification of mannan-binding lectin. *J Immunol Methods* 2006; 31:49-60.

FUJITA T. Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:346-53.

GARRED P, HARBOE M, OETTINGER T, KOCH C, SVEJGAARD A. Dual role of mannan-binding protein in infections: another case of heterosis? *Eur J Immunogenet* 1994; 21:125-31.

GARRED P, VOSS A, MADSEN HO, JUNKER P: Association of mannose-binding lectin gene variation with disease severity and infections in a population-based cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Gen Immunol* 2001; 2:442–502.

GARRED P, PRESSLER T, LANNG S, MADSEN HO, MOSER C, LAURSEN I, *et al.* Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 201-7.

GARRED P, STROM JJ, QUIST L, TAANING E, MADSEN HO. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Dis* 2003; 188:1394–403.

GARRED P, MADSEN HO, BALSLEV U, *et al.* Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose binding lectin. *Lancet* 1997; 349:236–40.

GARRED P. Mannose-binding lectin genetics: from A to Z. *Biochem Soc Trans.* 2008; 36:1461-6.

GARRISON MM, JEFFRIES H, CHRISTAKIS DA. Risk of death for children with Down syndrome and sepsis. *J Ped* 2005; 147:748-52.

GRAHAM NM. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults: a global perspective. *Epidemiol Ver* 1990; 12:149-78.

GRANZOTTI JA, PANETO IL, AMARAL FT, NUNES MA. Incidência de cardiopatias congênitas na Síndrome de Down. *J Pediatr (Rio J)* 1995, 71:28-30.

GUPTA, K.; GUPTA, R. K.; HAJELA, K. Disease associations of mannose-binding lectin & potential of replacement therapy. *Indian J Med Res* 2008; 127:431-40.

HANSEN TK, THIEL S, DALL R, ROSENFALCK AM, TRAINER P, FLYVBJERG A, JORGENSEN JO, CHRISTIANSEN JS. GH strongly affects serum concentrations of mannan-binding lectin: evidence for a new IGF-I independent immunomodulatory effect of GH. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:5383-8.

HANSEN TK, GALL MA, TARNOW L, THIEL S, STEHOUWER CD, SCHALKWIJK CG, PARVING HH, FLYVBJERG A. Mannose-binding lectin and mortality in type 2 diabetes. *Arch Intern Med* 2006; 9: 2007-13.

HANSEN TK. Mannose-binding lectin (MBL) and vascular complications in diabetes. *Horm Metab Res* 2005; 37:95-8.

HATTORI M et al. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 2000; 405:311-9.

HIBBERD ML, SUMIYA M, SUMMERFIELD JA, BOOY R, LEVIN M. Association of variants of the gene for mannose-binding lectin with susceptibility to meningococcal disease. Meningococcal Research Group. *Lancet* 1999; 353:1049–53.

HILL DA, GRIDLEY G, CNATTINGIUS S, MELLEMKJAER L, LINET M, ADAMI HO, OLSEN JH, NYREN O, FRAUMENI JF JR. Mortality and cancer incidence among individuals with Down syndrome. *Arch Intern Med* 2003; 163: 705-11.

HINGH YCM, VOSSSEN PW, FEMEN EFA, MULDER AB, HOP WCJ, VRES E. Intrinsic abnormalities of lymphocyte counts in children with Down syndrome. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 147:74-7.

HOLMSKOV U, THIEL S, JENSENIUS JC. Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Ann Rev Immunol* 2003; 21:547-78.

HOVIND P, HANSEN TK, TARNOW L, THIEL S, STEFFENSEN R, FLYVBJERG A, PARVING HH. Mannose-binding lectin as a predictor of microalbuminuria in type 1 diabetes: an inception cohort study. *Diabetes* 2005; 54:1523-7.

HOWARD-JONES, N. On the diagnostic term "Down's disease". *Med History* 1979; 23:102-4.

HUANG YF, WANG W, HAN JY, WU XW, ZHANG ST, LIU CJ, HU QG, XIONG P, HAMVAS RM, WOOD N, GONG FL, BITTLES AH. Increased frequency of the mannose-binding lectin LX haplotype in Chinese systemic lupus erythematosus patients. *Eur J Immunogenet* 2003; 30:121-4.

IP WK, LAU YL. Role of mannose-binding lectin in the innate defense against *Candida albicans*: enhancement of complement activation, but lack of opsonic function, in phagocytosis by human dendritic cells. *J Infect Dis* 2004; 19:632-40.

JACOBSEN S, GARRED P, MADSEN HO. Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with disease activity and physical disability in untreated, anti-cyclic citrullinated peptide-positive patients with early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009; 36:731-5.

JANEWAY JR, C.; TRAVERS, P. *Imunobiologia. O sistema imunológico na saúde e na doença.* 6 ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 2005

JENSENIUS JC, JENSEN PH, MCGUIRE K, LARSEN JL, THIEL S. Recombinant mannan-binding lectin (MBL) for therapy. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 763-7.

KAUSHIK SP, KAIE G, CLARKE AC. Autoimmune hepatobiliary disease in trisomy 21. *J Clin Gastr* 2000; 30:330-2.

KOCH A, MELBYE M, SORENSEN P, HOMOE P, MADSEN HO, MOLBAK K, HANSEN CH, ANDERSEN LH, HAHN GW, GARRED P. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA* 2001; 14:1316-8.

KORENBERG, J.R. Down syndrome phenotypic mapping. In: EPSTEIN, C.J. *The morphogenesis of Down syndrome.* New York: Wiley-Liss, 1991; p. 43-52.

KRARUP A, SORENSEN UB, MATSUSHITA M, JENSENIUS JC, THIEL S. Effect of capsulation of opportunistic pathogenic bacteria on binding of the pattern recognition molecules mannan-binding lectin, L-ficolin, and H-ficolin. *Infect Immun* 2005; 73:1052–60.

KURNIT DM, LAYTON WM, MATTYSSE S. Genetics, chance and morphogenesis. *Am J Hum Genet* 1987; 41:979-85.

KUSTERS MA, VERSTEGEN RH, GEMEN EF, DE VRIES E. Intrinsic defect of the immune system in children with Down syndrome: a review. *Clin Exp Immunol* 2009; 156:189-93.

LAROCCA LM, LAURIOLA L, RANELLETTI F, PIANTELLI M, MAGGIANO N, RICCI R, CAPELLI A. Morphological and immunohistochemical study of Down syndrome thymus. *Am J Med Gen* 1990; 7: 225-30.

LEJEUNE J, GAUTIER M, TURPIN R. Le mongolism. Premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Annales Génétique* 1959; 1:41-49.

LERNER A, BLANK M, SHOENFELD Y. Celiac disease and autoimmunity. *Isr J Med Sci* 1996; 32:33-6.

LEVIN S, SCHLESINGER M, HANDZEL Z, HANH T. Thymic deficiency in Down's syndrome. *Pediatrics* 1979; 63:80-7.

LIU F, LIAO Q, LIU Z. Mannose-binding lectin and Vulvovaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 9: 43-7.

LOCKITCH G, SINGH VK, PUTERMAN ML, GODOLPHIN WJ, SHEPS S, TINGLE AJ, WONG F, QUIGLEY G. Age-related changes in humoral and cell-mediated immunity in Down syndrome children living at home. *Ped Res* 1987; 23:536-40.

LUZ PR, MIYAZAKI M, NETO NC, NISHIHARA RM, MESSIAS-REASON IJ. High levels of mannose-binding lectin are associated with the risk of severe cardiomyopathy in chronic Chagas Disease. *Int J Cardiol* 2009 Epub ahead.

MACCARIO R, UGAZIO AG, NESPOLI L, ALBERINI C, MONTAGNA D, PORTA F, BONETTI F, BURGIO GR. Lymphocyte subpopulations in Down's syndrome: high percentage of circulating HNK1+ cells. *Clin Exp Immunol* 1984; 57:220-6.

McCULLOCH AJ, INCE PG, KENDALL-TAYLOR P. Autoimmune chronic active hepatitis in Down's syndrome. *J Med Gen* 1982; 19:232-4.

MADSEN HO, GARRED P, THIEL S, KURTZHALS JA, LAMM LU, RYDER LP, *et al.* Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995; 155:3013–20.

MANAVALAN JS, KIRMAN I, ZHAO K, WEKSLER, ME. Aging and autoimmunity. In: Rose NR, Mackay IR. *The autoimmune diseases*. 3 ed. San Diego: Academic Press, 1998; p. 783-94.

MÉGARBANÉ A, RAVEL A, MIRCHER C, STURTZ F, GRATTAU Y, RETHORÉ MO, DELABAR JM, MOBLEY WC. The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genet Med* 2009, 11:611-6.

MESSIAS-REASON IJ, BOLDT AB, MORAES BRAGA AC, VON ROSEN S, STAHLKE E, DORNELLES L, PEREIRA-FERRARI L, KREMSNER PG, KUN JF. The association between mannan-binding lectin gene polymorphism and clinical leprosy: new insight into an old paradigm. *J Infect Dis* 2007; 196:1379-8.

MESSIAS-REASON I, BOSCO DG, NISHIHARA RM, JAKOBSEN LH, PETZL-ERLER ML, JENSENIUS JC. Circulating levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease 2 in endemic pemphigus foliaceus. *Clin Exp Dermatol* 2008; 33:495-7.

MICHAELIS, E. Medical advances, positive attitudes brighten future of Down's children. *Can Med Assoc J* 1990; 143: 546-9.

MIKKELSEN M, POULSEN H, GRINSTED J, LANGE A. Non dysjunction in trisomy 21: study of chromosomal heteromorphisms in 110 families. *Ann Hum Gen* 1980; 44:17-28.

MONTICIELO OA, MUCENIC T, XAVIER RM, BRENOL JC, CHIES JA. The role of mannose-binding lectin in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2008; 27:413-9.

MOREIRA LMA, CHARBEL NL, GUSMÃO FAF. A síndrome de Down e sua patogênese: considerações sobre o determinismo genético. *Rev Bras Psiquiatr* 2000; 22:96-9.

MULLER RF, YOUNG ID. Emery's elements of medical genetics. New York: Churchill Livingstone, 9 ed, 1995. p. 193-205.

MURPHY M, EPSTEIN LB. Down syndrome (Trisomy 21) thymuses have a decreased proportion of cells expressing a high level of TCR alpha beta and CD3: a possible mechanism for diminished T cell function in Down syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 55:453-467.

MURPHY M, EPSTEIN LB. Down syndrome peripheral blood contains phenotypically mature CD3 TCR alpha and beta cells but abnormal proportions of TCR gamma delta, TCR alpha beta and CD 4+ 45 RA cells: Evidence for an inefficient release of mature T cells by DS thymus. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62:245-51.

MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA. *Microbiologia Médica*. Ed. Elsevier, 5 ed, Rio de Janeiro, 2006. p246-251

NESPOLI L, BURGIO GR, UGAZIO AG, MACCARIO R. Immunological features of Down's syndrome: a review. *J Int Dis Res* 1993; 37:543-51.

NETH O, JACK DL, DODDS AW, HOLZEL H, KLEIN NJ, TURNER MW. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000; 68:688-93.

NISIHARA RM, SKARE TL, SILVA MB, MESSIAS-REASON IT, OLIVEIRA NP, FIEDLER PT, UTIYAMA SR. High positivity of anti-CCP antibodies in patients with Down syndrome. Clin Rheumatol 2007; 26:2031-5.

NISIHARA RM, KOTZE LM, UTIYAMA SR, OLIVEIRA NP, FIEDLER PT, MESSIAS-REASON IT. Celiac disease in children and adolescents with Down syndrome. J Pediatr (Rio J) 2005; 81:373-6.

NISIHARA RM, UTIYAMA SRR, OLIVEIRA NP, FIEDLER PT, KOTZE LMS, MESSIAS-REASON IT. Alterações do TSH em pacientes com Síndrome de Down: uma interpretação nem sempre fácil. J Bras Patol Med Lab 2006; 42:333-7.

NURMI T, HUTTUNEN K, LASSILA O, HENTTONEN M, SÄKKINEN A, LINNA SL, TIILIKAINEN A. Natural killer cell function in trisomy 21. Clin Exp Immunol 1982; 47:735-41.

OGDEN CA, DECATHELINEAU A, HOFFMANN PR, BRATTON D, GHEBREHIWET B, FADOK VA, HENSON PM: C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. J Exp Med 2001; 194:781-8.

OHLENSCHLAEGER T, GARRED P, MADSEN HO, JACOBSEN S: Mannose-binding lectin variant alleles and the risk of arterial thrombosis in systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 2004; 351:260.

OLSON, J. C. Arthropathy of Down syndrome. J Ped 1996; 86: 931-6.

PAKKALOGLU A. Down syndrome associated with systemic lupus erythematosus: a mere coincidence or a significant association? Clin Gen 1994; 46:322-3.

PENROSE LS. The incidence of mongolism in the general population. J Ment Sci 1949; 95:685-8.

PEREIRA CAC, CARVALHO CRR, PEREIRA-SILVA JL, DALCOLMO MMP, MESSEDER OHC. Pneumonia adquirida na comunidade. Consenso Brasileiro de Pneumonias. J Pneumol 2001; 27:13-21.

PEREIRA MA, ORTIZ-AGOSTINHO CL, NISHITOKUKADO I, et al. Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly European ancestry. W J Gastroenterol 2006; 28:6546-50.

PETERSEN SV, THIEL S, JENSEN L, et al. An assay for the mannan-binding lectin pathway of complement activation. *J Immunol Methods* 2001; 257:1016-26.

PETERSEN KA, MATTHIESEN F, AGGER T, KONGERSLEV L, THIEL S, CORNELISSEN K, AXELSEN M. Phase I safety, tolerability, and pharmacokinetic study of recombinant human mannan-binding lectin. *J Clin Immunol* 2006; 26:465-75.

PETERSLUND NA, KOCH C, JENSENIUS JC, THIEL S. Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* 2001; 25:637-8.

PHILIP R, BERGER AC, MCMANUS NH, WARNER NH, PEACOCK MA, EPSTEIN LB. Abnormalities of the in vitro cellular and humoral responses to tetanus and influenza antigens with concomitant numerical alterations in lymphocyte subsets in Down syndrome. *J Immunol* 1986; 1:1661-7.

PRADA RN, LUGLI N, NASI N. Homeostatic cytokines and expansion of regulatory T cells accompany thymic impairment in children with Down syndrome *Rejuven Res* 2008; 11:573-83.

PUESCHEL S.M. Physical characteristics, chromosome analysis and treatment approaches in Down syndrome. In C. Tingey, *Down syndrome: A resource handbook*. Boston; College-Hill Press/Little, Brown & Co., 1988, pp.3-21.

PUESCHEL, S.M. Clinical aspects of Down syndrome grown infancy to adulthood. *Am J Med Gen* 1990; 7:52-6.

RAMOS-CASALS M, BRITO-ZERÓN P, SORIA N, NARDI N, VARGAS A, MUÑOZ S, BOVÉ A, SUÁREZ B, LOZANO F. Mannose-binding lectin-low genotypes are associated with milder systemic and immunological disease expression in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology* 2009; 48:65-9.

RECTOR A, LEMEY P, LAFFUT W, KEYAERTS E, STRUYF F, WOLLANTS E, VERMEIRE S, RUTGEERTS P, VAN RANST M. Mannan-binding lectin (MBL) gene polymorphisms in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gen Immunol* 2001; 2:323-8.

RIBEIRO LM, JACOB CM, PASTORINO AC, KIM CA, FOMIN AB, CASTRO AP. Avaliação dos fatores associados a infecções recorrentes e/ou graves em pacientes com síndrome de Down. *J Pediatr (Rio J)* 2003; 79:141-8.

RIIS AL, HANSEN TK, THIEL S, GRAVHOLT CH, GJEDDE S, GORMSEN LC, JORGENSEN JO, WEEKE J, MOLLER N. Thyroid hormone increases mannan-binding lectin levels. *Eur J Endocrinol* 2005; 153:643-9.

ROAT E, PRADA N, LUGLI E, NASI M, FERRARESI R, TROIANO L, GIOVENZANA C, PINTI M, BIAGIONI O, MARIOTTI M, DI IORIO A, CONSOLO U, BALLI F, COSSARIZZA A. Homeostatic cytokines and expansion of regulatory T cells accompany thymic impairment in children with Down syndrome. *Rejuven Res* 2008; 11:573-83.

ROBSON WL, LEUNG AK, WOODMAN RC, TREVENEN CL. Anti-neutrophil cytoplasmic antibody associated glomerulonephritis in a patient with Down's syndrome. *Ped Nephrol* 1995; 9:204-5.

ROZOV T. Afecção broncopulmonar crônica e de repetição. In: Marcondes E. *Pediatria Básica*. 8ª ed. São Paulo: Sarvier; 1999.p.1443-8.

ROY S, KNOX K, SEGAL S. MBL genotype and risk of invasive pneumococcal disease: a case-control study. *Lancet* 2002; 359:1569-73.

SAEVARSDOTTIR S, OSKARSSON OO, ASPELUND T, EIRIKSDOTTIR G, VIKINGSDDOTTIR T, GUDNASON V, VALDIMARSSON H. Mannan binding lectin as an adjunct to risk assessment for myocardial infarction in individuals with enhanced risk. *J Exp Med* 2005; 201:117-25.

SANTOS IK, COSTA CH, KRIEGER H, FEITOSA MF, ZURAKOWSKI D, FARDIN B. Mannan-binding lectin enhances susceptibility to visceral leishmaniasis. *Infect Immun* 2001; 69: 5212-5.

SCHAFRANSKI MD, PEREIRA-FERRARI L, SCHERNER D, TORRES R, JENSENIUS JC, MESSIAS-REASON IJ. High-producing MBL2 genotypes increase the risk of acute and chronic carditis in patients with history of rheumatic fever. *Mol Immunol* 2008; 45: 3827-31.

SCHAFRANSKI MD, STIER A, NISHIHARA RM, MESSIAS-REASON IJ. Significantly increased levels of mannose-binding lectin (MBL) in rheumatic heart disease: a beneficial role for MBL deficiency. *Clin Exp Immunol* 2004; 138: 521-5.

SCHMIEGELOW K, GARRED P, LAUSEN B, ANDREASSEN B, PETERSEN BL, MADSEN HO. Increased frequency of mannose-binding lectin insufficiency among children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 15:3757-60.

SCHLAPBACH LJ, AEBI C, OTTH M, LUETHY AR, LEIBUNDGUT K, HIRT A, AMMANN RA. Serum levels of mannose-binding lectin and the risk of fever in neutropenia pediatric cancer patients. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 49:11-16.

SCHWAB M, BOSWALD M, LUDWIG K, WITTEKIND C, WALDHERR R, RUDER HA. Patient with Down's syndrome and anti-neutrophilic cytoplasmic antibody-positive vasculitis. *Ped Nephrol* 1996; 10:249-50.

SCWARTZMAN JR. Síndrome de Down. 1 ed. São Paulo:Mackenzie, 1999. p.3-109.

SELWYN BJ. Coordinated Data Group of BOSTID Researchers. The epidemiology of acute respiratory tract infection in young children. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 870-88.

SHAPIRO BL. Down syndrome: a disruption of homeostasis. *Am J Méd Genet* 1983; 14:241-69.

SHERMAN SL, ALLEN EG, BEAN LH, FREEMAN SB. Epidemiology of Down syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res* 2007; 13:221-7.

SINGER RB, STRAUSS D. Comparative mortality in mentally retarded patients in California, with and without Down's syndrome, 1986–1991. *J Insurance Med* 1997; 29:172–84.

STEINER D, BEDIN V, MORAES MB, VILLAS RT, STEINER T. Vitiligo. *Anais Bras Dermatol* 2004; 79:335-51.

STITES DP, TERR AI, PARSLOW TG. Linfócitos e tecido linfóide. In: *Imunologia Médica*, 5 ed, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 2004. p. 34-51.

STEELE J, STRATFORD B. The United Kingdom population with Down syndrome: present and future projections. *Am J Mental Retard* 1995; 99:664-82.

STUART LM, TAKAHASHI K, SHI L, SAVILL J, EZEKOWITZ RA. Mannose-binding lectin-deficient mice display defective apoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol* 2005; 174:3220-2.

SUPER M, THIEL S, LU J, LEVINSKY RJ, TURNER MW. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect in opsonisation. *Lancet* 1989; 2:1236–9.

TAKAHASHI R, TSUTSUMI A, OHTANI K, MURAKI Y, GOTO D, MATSUMOTO I, WAKAMIYA N, SUMIDA T. Association of mannose binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:311-4.

THIEL S, HOLMSKOV U, HVIID L, LAURSEN SB, JENSENIUS JC. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. Clin Exp Immunol 1992; 90:31-5.

TIJO HJ, LEVAN A. The chromosome number of man. Hereditas 1959; 42:1-6.

THIEL S, HOLMSKOV U, HVIID L, LAURSEN SB, JENSENIUS JC. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. Clin Exp Immunol 1992; 90:31-5.

THIEL, S.; FREDERIKSEN, P. D.; JENSENIUS, J. C. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. Mol Immunol 2006; 43:86-96.

TRINCADO, M.V.R.; et al. Evaluation of the immune system in Down's syndrome patients. Allergol Immunopathol 1984; 12:45-54.

TURNER MW: Mannan-binding lectin (MBL) in health and disease. Immunobiology 1998; 199: 327-39.

TURNER MW. The role of mannose binding lectin in health and disease. Mol Immunol 2003; 40: 423-9.

TURNER MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. Immunol Today 1996; 17:532-40.

UGAZIO AG, MACCARIO R, BURGIO GR. Immunological features of Down syndrome. Am J Med Gen 1990; 7:201-12.

UTIYAMA SR, NISIHARA RM, NASS FR, OLIVEIRA NP, FIEDLER PT, DE MESSIAS-REASON IT. Autoantibodies in patients with Down syndrome: early senescence of the immune system or precocious markers for immunological diseases? J Paediatr Child Health 2008, 44:182-6.

VALDIMARSSON H, STEFANSSON M, VIKINGSDDOTTIR T, ARASON GJ, KOCH C, THIEL S, *et al.* Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. Scand J Immunol 1998; 48:124-6.

VALDIMARSSON H. Infusion of plasma-derived mannan-binding lectin (MBL) into MBL-deficient humans. Biochem Soc Trans 2003; 31:768-9.

VAJRO P, LETTERA P, FONTANELLA A, SBREGLIA C, MANZILLO E, SARTORIO R, DEL GIUDICE E. Vaccination against hepatitis B in preschool children with Down's syndrome. *J Intellect Disabil Res* 1992; 36:77-81.

VAN EMMERIK LC, KUIJPER EJ, FIJEN CA, DANKERT J, THIEL S. Binding of mannan-binding protein to various bacterial pathogens of meningitis. *Clin Exp Immunol* 1994, 97:411-6.

VAN DE GEIJN FE, HAZES JM, GELEIJNS K, EMONTS M, JACOBS BC, DUFOUR-VAN DEN GOORBERGH BC, DOLHAIN RJ. Mannose-binding lectin polymorphisms are not associated with rheumatoid arthritis--confirmation in two large cohorts. *Rheumatology* 2008; 47:1168-71.

VEKEMANS M, ROBINSON J, GEORGALA A et al. Low mannose-binding lectin concentration is associated with severe infection in patients with hematological cancer who are undergoing chemotherapy. *Clin Infect Dis* 2007; 44:1593-601.

VILPULLA AH, AINE R. Polymiosites associated with several immunological disorders. *Clin Rheumatol* 1984; 3:533-9.

WEIJERMAN ME, VAN FURTH AM, VONK NOORDEGRAAF A, VAN WOUWE JP, BROERS CJ, GEMKE RJ. Prevalence, neonatal characteristics, and first-year mortality of Down syndrome: a national study. *J Ped* 2008; 152:15-9.

WOLRAICH ML, SIPERSTEIN GN, REED D. Doctors decisions and prognostications for infants with Down syndrome. *Dev Med Child Neur* 1991; 33: 336 - 42.

YANG Q, RASMUSSEN SA, FRIEDMAN JM. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet* 2002; 23:1019-25.

ZORI RT, SCHATZ DA, OSTRER H, WILLIAMS CA, SPILLAR R, RILEY WJ. Relationship of autoimmunity to thyroid dysfunction in children and adults with Down syndrome. *Am J Med Gen* 1990; 7:238-41.