

CAROLINA CARDOSO PRANDO DE ANDRADE

**ASPECTOS CLÍNICOS DE PACIENTES SOB SUSPEITA DE
IMUNODEFICIÊNCIA FAGOCITÁRIA**

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

Campinas, 26 de fevereiro de 2003.



Prof. Dr. Antonio Condino Neto
Orientador

Campinas

2003

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

CAROLINA CARDOSO PRANDO DE ANDRADE

**ASPECTOS CLÍNICOS DE PACIENTES SOB SUSPEITA DE
IMUNODEFICIÊNCIA FAGOCITÁRIA**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Mestre em
Saúde da Criança e do Adolescente, área de
concentração Pediatria.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Condino Neto.

Campinas

2003

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

An24a

Andrade, Carolina Cardoso Prando de

Aspectos clínicos de pacientes sob suspeita de imunodeficiência fagocitária. / Carolina Cardoso Prando de Andrade. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Antonio Condino Neto

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Superóxido. 2. Mutação (Biologia). 3. Doenças imunológicas. 4. Granuloma. I. Antonio Condino Neto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	1701103
V	EX
TOMBO BCI	55640
PROC.	16-12-7/03
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	17/9/03
Nº CPD	

CM00189053-9

bib id 299973

Banca Examinadora da Tese de MESTRADO

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Condino Neto

Membros:

1. Prof.^a Dr.^a Virginia Paes Leme Ferriani

2. Prof. Dr. Marcos Tadeu Nolasco da Silva

3. Prof. Dr. Antonio Condino Neto

4. Prof. Dr. Vitor Nudelman

**Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, área de
concentração Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas.**

Data: 26 de fevereiro de 2003.

.....

DEDICATÓRIA

***Aos meus pais, Artemio e Iolanda, que
através de seus exemplos me ensinaram a
acreditar e lutar pelos meus ideais.***

.....

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, André, que esteve presente em cada momento deste trabalho. Seu apoio, incentivo, paciência, seu amor, são muito importantes.

Aos meus irmãos, Felipe e Camila, pessoas muito importantes para o meu crescer.

À Nice, pelo seu amor e sua dedicação.

À tia Rosa, Magrão, Caco e Cauê, pelos cafezinhos e pela torcida, agora de perto.

Ao apoio da tia Célia, Sônia, Régis, Ana Luísa, que mesmo de longe participaram de perto deste trabalho.

Ao meu orientador, Dr Antonio Condino Neto, por ter confiado na minha capacidade profissional e pelo seu incentivo.

Às Dras Beatriz Costa-Carvalho, Anete Grumach e Maria Aparecida Paiva pela atenção e pela contribuição disponibilizando o material de seus pacientes para o estudo.

Ao Dr Nelson Rosário, pela oportunidade do contato inicial com a Imunologia Clínica e pelo incentivo.

À Loraine, Loreni e Sônia, sempre prontas e atenciosas.

À amigas Sandra e Grace pelo apoio na decisão de iniciar este Mestrado.

À minha amiga Piedad, por suas críticas e opiniões sinceras, por sua imensa ajuda.

Aos colegas do laboratório: Jussara, Juan, Péricles, Lina, Livia, Mônica, Carolzinha e Edgar, pelo apoio.

Aos pacientes que tornaram possível este estudo.

	PÁG.
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxv
1.INTRODUÇÃO	29
1.1. Os fagócitos	32
1.2. O sistema NADPH oxidase	33
1.2.1 Os componentes do sistema NADPH oxidase	35
1.3. Doença Granulomatosa Crônica	43
1.3.1 Mutações na DGC ligada ao X.....	45
1.3.2. Mutações na DGC autossômica	48
1.3.3. Correlação genótipo-fenótipo.....	49
1.3.4. Quadro clínico	50
1.3.5. Diagnóstico	55
1.3.6. Tratamento	57
2. OBJETIVOS	61
2.1. Objetivo geral	63
2.2. Objetivos específicos.....	63
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	65
3.1. Modelo do estudo.....	67
3.2. Casuística.....	67
3.3. Métodos Laboratoriais.....	68
3.3.1. Coleta de sangue venoso periférico	68
3.3.2. Teste do NBT	68
3.3.3. Obtenção de neutrófilos e células mononucleares do sangue periférico	68
3.3.4. Dosagem de ânion superóxido liberado por neutrófilos e células mononucleares	69
3.3.5. Análise estatística	70
4. RESULTADOS	71

5. DISCUSSÃO	85
6. CONCLUSÃO	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
8. ANEXOS	123
Anexo 1: Família 1 (AdrOM; AdeOM)	125
Anexo 2: Família 2 (BTP)	129
Anexo 3: Família 3 (DD; RD)	132
Anexo 4: Família 4 (GAMM)	135
Anexo 5: Família 5 (GCG)	138
Anexo 6: Família 6 (JDM; LEM)	140
Anexo 7: Família 7 (LFRG)	144
Anexo 8: Família 8 (MFB)	146
Anexo 9: Família 9 (MSS)	148
Anexo 10: Família 10 (PMS)	150
Anexo 11: Família 11 (RVSS)	152
Anexo 12: Família 12 (TFP)	155
Anexo 13: Família 13 (TPB; IPB)	157
Anexo 14: Família 14 (VFG)	159
Anexo 15: Família 15 (APMN)	162
Anexo 16: Família 16 (BCF)	165
Anexo 17: Família 17 (CML)	167
Anexo 18: Família 18 (CCS)	169
Anexo 19: Família 19 (FCS)	172
Anexo 20: Família 20 (HFN)	174
Anexo 21: Família 21 (JVR)	176
Anexo 22: Família 22 (LSL)	178
Anexo 23: Família 23 (MLVE)	180
Anexo 24: Família 24 (SH)	182
Anexo 25: Família 25 (VBC)	184

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AR	Herança autossômica recessiva
A-DGC	DGC com herança autossômica
AD	Herança autossômica dominante
anti-KM	Anticorpo contra a proteína KM
anti-KX	Anticorpo contra a proteína KX
AP50	Dihidrorodamina
AR	Fator estimulador de colônias de granulócitos
BAAR	Bacilo ácido-álcool resistente
BCG	Bacilo Calmette-Guérin
BRAGID	Grupo Brasileiro de Estudo em Imunodeficiências
CD	"Cluster of differentiation"
DNA	Ácido desoxirribonucleico
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CH50	Atividade hemolítica do complemento sérico total
CMV	Citomegalovírus
CYBA	Gene da subunidade a do citocromo b
CYBB	Gene da subunidade b do citocromo b
cit <i>b</i>₅₅₈	Citocromo b558
X-DGC	DGC com herança ligada ao X
DHR	Dihidrorodamina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FAD	Flavina-adenina dinucleotídeo
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GDI	Inibidor de dissociação da guanina
GDP	Guanina difostato
GTP	Guanina trifostato

H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HEPES	N-2-Hidroetilpiperazina-N-2-Etano Ácido Sulfônico
HHBSS	Solução Salina equilibrada (com HEPES) de Hank
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
HOCl	Ácido hipocloroso
IFNγ	Interferon-gama
KX	Gene da substância precursora do grupo Kell
LAD	Deficiência de molécula de adesão
LBA	Lavado broncoalveolar
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (forma reduzida)
NBT	"Nitroblue tetrazolium"
NCF-1	Fator citosólico de neutrófilos 1
NCF-2	Fator citosólico de neutrófilos 2
NCF-4	Fator citosólico de neutrófilos 4
NCHS	"National Center for Health Statistics"
NK	"Natural killer"
NO₂⁻	Ânion nitrito
NO₂Cl	Nítril clorídrico
O₂	Oxigênio molecular
O₂⁻	Superóxido
NO₂	Nitrito
PAGID	Grupo Pan-Americano de Estudo em Imunodeficiências
PAK	P21 activated kinase
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	"Polimerase chain reaction"

<i>phox</i>	"Phagocyte oxidase"
PKA	Proteína quinase A
PKB	Proteína quinase B
PKC	Proteína quinase C
PMA	Forbol miristato acetato
rac	"Ras related C3 Botulinum toxin"
Rap1A	"Ras related protein 1A"
Rho	"Ras homology gene"
RNT	Recém nascido a termo
RT-PCR	"Reverse transcription polimerase chain reaction"
SH3	Domínio de homologia Src 3
SMZ+TMP	Sulfametoxazol+trimetoprim
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
SSCP	"Single strain conformational polymorphism"
VHS	Velocidade de hemossedimentação
X	Herança ligada ao X
ZIM	Zimozan

LISTA DE TABELAS

	<i>PÁG.</i>
Tabela 1: Distúrbios de fagócitos.....	34
Tabela 2: Primeira infecção apresentada pelos pacientes de cada grupo e resultado da análise estatística para cada variável estudada.....	77
Tabela 3: Microrganismos isolados em culturas.....	81

LISTA DE FIGURAS

	<i>PÁG.</i>
Figura 1: Desenho esquemático da proteína p22- <i>phox</i>	35
Figura 2: Desenho esquemático da glicoproteína gp91- <i>phox</i>	36
Figura 3: Representação esquemática do transporte de elétrons via FAD para a molécula de oxigênio no interior da gp91- <i>phox</i>	37
Figura 4: Proteína p47- <i>phox</i>	38
Figura 5: (A) Interação dos componentes citosólicos do sistema NADPH oxidase no estado inativo. (B) Ligação entre os componentes da membrana e os componentes citosólicos no estado ativado do sistema NADPH oxidase.....	42
Figura 6: Representação esquemática dos fatores envolvidos na compensação de cargas através da membrana do fagossomo.....	43
Figura 7: Teste do NBT após estímulo com PMA.....	56
Figura 8: Teste da Dihidrorhodamina.....	56
Figura 9: Heredogramas representativos dos pacientes do Grupo I.....	74
Figura 10: Heredogramas representativos dos pacientes do Grupo II.....	75
Figura 11: Frequência relativa de infecções.....	78
Figura 12: Infecção urinária.....	79
Figura 13: História familiar de infecção de repetição.....	80
Figura 14: Granuloma esofágico.....	82
Figura 15: Obstrução do antro gástrico.....	83

.....

Resumo

As infecções de repetição são queixas frequentes no consultório pediátrico. Apesar das características próprias de infecção recorrente nesta faixa etária, o Pediatra deve estar atento para a presença de defeitos imunológicos como fator determinante dos quadros infecciosos de repetição. Entre as imunodeficiências primárias, a Doença Granulomatosa Crônica (DGC) é causada por alteração no sistema NADPH oxidase das células fagocíticas. O objetivo deste estudo foi avaliar aspectos clínicos de 29 pacientes encaminhados a um laboratório especializado, com suspeita de defeito de fagócitos a nível do sistema NADPH oxidase. Foram realizados os testes de NBT e ânion superóxido e os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo I para os pacientes com alteração no sistema NADPH oxidase e grupo II para os pacientes que não apresentaram alteração neste sistema. A ocorrência de infecção urinária esteve associada ao grupo em que não se confirmou o diagnóstico de DGC. A presença de história familiar de infecção de repetição apresentou forte associação ao grupo com diagnóstico DGC. Outros dados da história clínica não apresentaram diferenças estatisticamente significativa entre os 2 grupos. No grupo de pacientes com DGC observou-se a correlação genótipo-fenótipo descrita na literatura, onde pacientes com a forma ligada ao sexo apresentam início dos sintomas mais precocemente e quadros infecciosos mais graves.

Abstract

.....

Recurrent infections are frequently referred to the Pediatrician's office. As the immune system continues to develop after birth and will be completed just after childhood, infants tend to present more infections. Besides this particular characteristic, Pediatricians should be aware to some abnormal conditions, the primary immunodeficiencies. Among the primary immunodeficiencies, Chronic Granulomatous Disease is the result of a defect in any of the proteins of the NADPH oxidase system of human phagocytic cells. The aim of this study was to evaluate the clinical aspects of 29 patients that were referred to a specialized laboratory, being suspected of having a defect in the NADPH oxidase system. It was performed the NBT slide test and superoxide dosage. Patients were divided into two groups: group I for patients with defect in this system and group II for patients without defects in this system. Recurrent urinary tract infections were associated with group II. A history of recurrent infections in the family was strongly associated to group I. Among CGD patients it was observed the genotype-phenotype correlation presented in the literature in which X-CGD is associated with an earlier onset of clinical manifestations and more severe infections.

.....

1. Introdução

Os quadros de infecção de repetição são motivos comuns de consultas pediátricas. Como o desenvolvimento do sistema imunológico completa-se apenas na adolescência, o recém-nascido e o lactente possuem menor capacidade de resposta a antígenos, apresentando com maior frequência infecções invasivas por vírus e bactérias encapsuladas (CONLEY et al., 1999; CONLEY & STIEHM, 1996; SHURIN & SHURIN, 1994). Entretanto, apesar destas características, o Pediatra deve estar alerta para a ocorrência das imunodeficiências primárias como fator determinante de infecções de repetição de gravidade variável, causadas por bactérias, fungos ou protozoários (SHURIN & SHURIN, 1994).

A Fundação Jeffrey Modell (<http://www.jmfworld.org>), que se dedica a pesquisas em imunodeficiências primárias, publicou uma lista com 10 sinais que alertam para a possibilidade de uma imunodeficiência primária:

- 1- Oito ou mais novas infecções de ouvido no período de 1 ano.
- 2- Duas ou mais infecções graves em seios da face no período de 1 ano.
- 3- Dois ou mais meses de tratamento com antibióticos, obtendo pouco efeito.
- 4- Duas ou mais pneumonias no período de 1 ano.
- 5- Déficit do desenvolvimento pôndero-estatural.
- 6- Abscessos profundos de pele ou órgãos internos.
- 7- Lesões ulcerosas em mucosa oral ou pele, após 1 ano de idade.
- 8- Necessidade de antibióticos parenterais para a resolução de infecções.
- 9- Duas ou mais infecções profundas.
- 10- História familiar de Imunodeficiência Primária.

A incidência das imunodeficiências primárias é estimada em 1 em cada 10000 indivíduos, com diferenças regionais (CONLEY et al., 1999; CONLEY & STIEHM, 1996).

No Brasil, os pacientes concentram-se em maior número nas regiões sul e sudeste. Cerca de 62% dos pacientes brasileiros com imunodeficiência primária apresentam defeito predominantemente humoral; os defeitos de fagócitos representam 13% dos casos, os defeitos de células T são responsáveis por 2% dos casos, as imunodeficiências combinadas estão presentes em cerca de 3% dos casos, as deficiências de complemento correspondem a 3%, e as imunodeficiências associadas a outras síndromes correspondem a 17% dos pacientes registrados no BRAGID (Relatório Estatístico BRAGID, 2002).

1.1. Os Fagócitos

Os fagócitos são células do sistema imune responsáveis pela primeira linha de defesa do organismo contra bactérias, fungos e parasitas (BURG & PILLINGER, 2001).

O sistema fagocítico compreende dois principais grupos de células: os granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e os fagócitos mononucleares (monócitos e macrófagos teciduais). Os granulócitos permanecem na corrente sanguínea, onde têm vida média de 6 a 8 horas, até encontrarem sinais quimiotáticos específicos que promovam adesão ao endotélio, diapedese e migração para os locais onde exista invasão de agentes patogênicos. Ao contrário, os fagócitos mononucleares possuem vida média de 1 a 3 dias no compartimento intravascular e atuam principalmente como células residentes, os macrófagos, em certos tecidos, como pulmão, fígado, baço e peritônio, onde podem permanecer por meses ou até anos (DINAUER, 1998; YANG et al., 1999). Outra característica que diferencia estes dois grupos de células é a capacidade de replicação de monócitos e macrófagos, em contraste com os granulócitos, que não se multiplicam, seja na circulação ou nos tecidos (YANG et al., 1999).

As células do sistema fagocítico são células da linhagem mielomonocítica com capacidade de reconhecimento, ingestão e lise de microrganismos. Além disso, por meio dos produtos da explosão respiratória, importantes para a morte de microrganismos fagocitados, estas células também estão relacionadas à lesão tecidual associada a reações inflamatórias, regulação de outras células da resposta imune e moléculas de sinalização intracelular, como as envolvidas no processo de apoptose (KARLSSON & DAHLGREN, 2002).

Deve-se incluir os distúrbios fagocíticos no diagnóstico diferencial de indivíduos que apresentem infecções de repetição, principalmente quando estas acometem locais considerados barreiras naturais do organismo (pele, vias respiratórias, trato gastrointestinal e respectivos linfonodos que drenam estas áreas) (FORREST et al., 1988; SEGAL et al., 2000; WINKELSTEIN et al., 2000).

As imunodeficiências de fagócitos compreendem defeitos quantitativos e qualitativos (Tabela 1). A primeira deficiência de fagócito foi descrita por Kostmann, em 1956, caracterizada por início precoce de infecções bacterianas graves e contagem de neutrófilos abaixo de 200 células/mm³, seguindo um padrão de herança autossômica recessiva (KOSTMANN, 1956). Posteriormente, Berendes, Bridges e Good descreveram o primeiro defeito fagocitário qualitativo, a Doença Granulomatosa Crônica (DGC), que acometia crianças do sexo masculino com pneumonia, linfadenite e abscessos localizados em diferentes áreas (BERENDES et al., 1957; BRIDGES et al., 1959; LANDING & SHIRKEY, 1957).

1.2. O Sistema NADPH oxidase

O sistema NADPH oxidase fagocítico humano é responsável pelo fenômeno conhecido como explosão respiratória, que produz compostos reativos do oxigênio, importantes para promover a morte de patógenos fagocitados. Este sistema consiste de pelo menos 6 componentes: p47-*phox*, p67-*phox* e p40-*phox*, que são encontrados na forma de um complexo no citosol de neutrófilos não ativados; rac2, uma proteína citosólica tipo ras; p22-*phox* e gp91-*phox*, que são componentes da membrana e se associam formando o citocromo *b₅₅₈* (cit *b₅₅₈*) (BURG & PILLINGER, 2001).

A ativação dos fagócitos leva à associação dos componentes deste complexo enzimático, iniciando o fenômeno da explosão respiratória com a transferência de elétrons do NADPH para o oxigênio (O₂), produzindo ânion superóxido (O₂⁻).

Tabela 1. Distúrbios de fagócitos

<i>Doença</i>	<i>Herança</i>	<i>Defeitos característicos</i>
<i>1- Defeitos quantitativos</i>		
1.1- Disgenesia reticular	AR	Falta de células totipotentes
1.2- Síndrome de Kostmann	AR	Interrupção do crescimento ou diferenciação de leucócitos na medula óssea
1.3- Neutropenia cíclica	NC	Regulação hormonal alterada
<i>2- Defeitos qualitativos</i>		
2.1- Defeitos de adesão		
2.1.a- LAD-1	AR, cr 21	Deficiência da molécula CD18
2.1.b- LAD-2	AR	Deficiência de Sialil Lewis X
2.1.c- Periodontite juvenil	AD?	Defeito da glicoproteína GP110
2.2- Defeitos de quimiotaxia		
2.2.a- Disfunção de actina	AR	Defeitos na actina
2.2.b- Síndrome de Job	NC	Hiper-IgE; defeito de célula T?, defeito de quimiotaxia de polimorfonuclear
2.3- Defeitos da explosão respiratória		
2.3.a- Doença Granulomatosa Crônica	AR, RX	Deficiência dos componentes da NADPH oxidase
2.3.b- Deficiência de G6PD	RX	Deficiência de produção de NADPH em leucócitos afetados
2.3.c- Deficiência de glutatona sintetase	AR	Defeito de regeneração da NADPH
2.3.d- Deficiência de mieloperoxidase	AR, cr 17	Deficiência de mieloperoxidase
2.4- Defeitos de desgranulação		
2.4.a- Deficiência de grânulos específicos	AR	Defeito de conteúdo de grânulos com defeito de quimiotaxia de leucócitos
2.4.b- Síndrome de Chediak-Higashi	AR, cr 1	Defeito de transporte granular
2.5- Defeitos de monócitos/macrófagos		
2.5.a- Osteopetrose	AR ou AD	Osteoclasto anormal
2.5.b- Doença de estoque lisossomal	AR, AD ou RX	Defeito de enzimas lisossomais resultando em distúrbios de estoque

AD- autossômica dominante; AR- autossômica recessiva; recessiva ligada ao X; NC- não conhecida; ?interrogada.

O superóxido, um oxidante microbicida relativamente fraco, é metabolizado em um produto mais tóxico, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela enzima superóxido dismutase (SOD). O H_2O_2 , por sua vez, é convertido em ácido hipocloroso (HOCl) e ânion hidroxila (OH⁻) pela mieloperoxidase (MPO).

Os neutrófilos ativados também convertem ânion nitrito (NO_2^-) em oxidante pró-inflamatório nitril clorídrico (NO_2Cl) e $^{\bullet}NO_2$ por uma via mieloperoxidase-dependente.

A óxido nítrico sintase induzível e a mieloperoxidase localizam-se nos grânulos primários dos neutrófilos, sugerindo que os produtos destas vias - NO_2Cl , $^{\bullet}NO_2$ e $O_2^{\bullet-}$ - misturam-se no vacúolo fagocítico, formando novas vias de defesa (EISERICH et al., 1998; EVANS et al., 1996).

Os intermediários reativos do oxigênio e do nitrogênio possuem atividade bactericida sinérgica em vários sistemas *in vitro* (KLEBANOFF, 1993; KLEBANOFF & NATHAN, 1993; PACELLI et al., 1995).

1.2.1. Componentes do sistema NADPH oxidase

Citocromo b_{558}

É um heterodímero composto pela glicoproteína gp91-*phox* (subunidade β) e pela proteína p22-*phox* (subunidade α). É designado cit b_{558} devido ao seu espectro óptico com pico de absorbância em 558nm, ou cit b_{245} pela sua baixa voltagem, a -245mV (DINAUER et al., 1987; LEUSEN et al., 1996).

A subunidade α (Figura 1) contém 195 aminoácidos, com porção amino terminal hidrofóbica, que poderia conter domínios na membrana, e o gene que codifica esta proteína é denominado *CYBA* e está localizado no locus 24 do braço longo do cromossomo 16 (16q24) (BAEHNER et al., 1986).

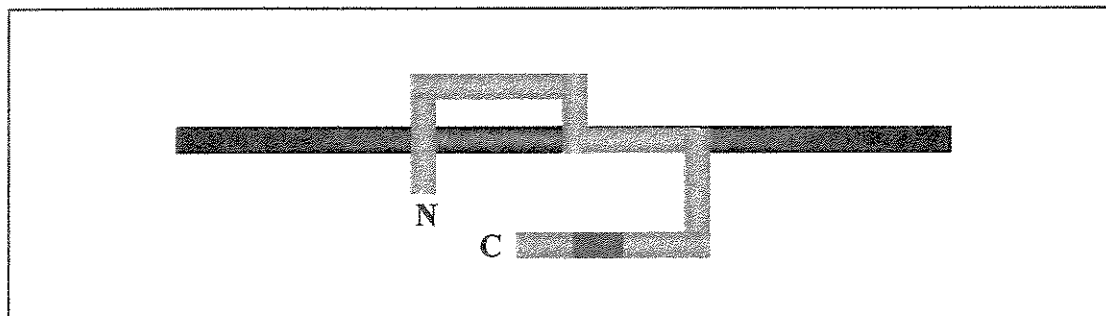


Figura 1. Desenho esquemático da proteína p22-*phox*. Esta figura mostra a disposição da p22-*phox* na membrana citoplasmática (■), destacando a região rica em prolina (■), ponto onde ocorre a ligação com os domínios SH3 da proteína p47-*phox* durante a ativação do sistema NADPH oxidase. (C) porção carboxi-terminal; (N) porção amino-terminal.

A subunidade β gp91-*phox* (Figura 2) contém 570 aminoácidos e é glicosilada com carboidratos ligados à porção amino terminal, principalmente amino-acetil glicosamina e galactose (SEGAL et al., 2000). O domínio amino-terminal desta proteína é hidrofóbico, com hélices transmembranas que associam-se para formar uma barreira porosa na membrana; já a porção carboxi-terminal é mais hidrofílica e atravessa a estrutura

da membrana indo até o citosol (SEGAL, 1996). O gene que codifica a proteína gp91-*phox*, *CYBB*, contém 13 exons e ocupa aproximadamente 30 kb da região Xp21.1 do cromossomo X (BAEHNER et al., 1986; TEAHAN et al., 1987).

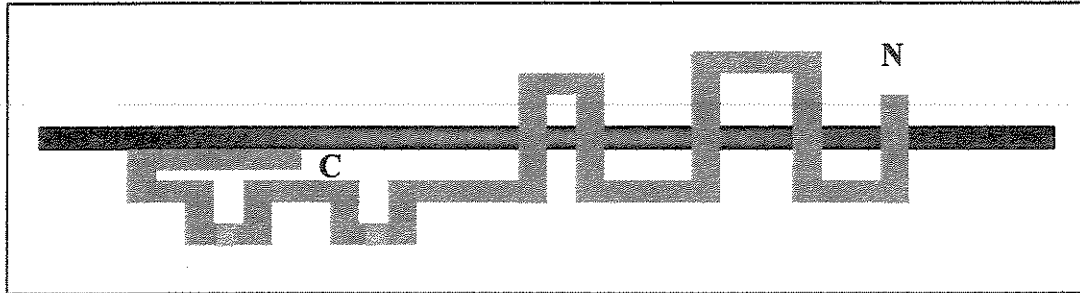


Figura 2. Desenho esquemático da glicoproteína gp91-*phox*. Esta figura apresenta a disposição da gp91-*phox* na membrana citoplasmática (■), destacando os pontos de ligação com a proteína p67-*phox* (▨) durante a ativação do sistema NADPH oxidase. (C) carboxi-terminal; (N) amino-terminal.

Defeitos em quaisquer das subunidades do cit b_{558} resultam na ausência de ambos os componentes do cit b_{558} na membrana dos fagócitos, sugerindo que as subunidades se estabilizam mutuamente. Não se conhece, entretanto, quais regiões na p22-*phox* e na gp91-*phox* estariam envolvidas nesta estabilização (LEUSEN et al., 1996; SEGAL et al., 2000).

Estudos realizados com o sistema “cell free” sem as proteínas citosólicas p47-*phox* e p67-*phox* mostraram que o fluxo de elétrons ocorre normalmente através do cit b_{558} com mutação da p22-*phox* ativado por fosfolípídeos de carga negativa, o que prova que a p22-*phox* e os demais componentes citosólicos atuam como estabilizadores e ativadores do sistema apenas. De fato, a transferência dos elétrons do NADPH para a molécula de oxigênio ocorre via flavina-adenina dinucleotídeo (FAD) e grupos heme que se encontram acomodados na porção hidrofílica da gp91-*phox* (Figura 3) (SEGAL, 1996; SHATWELL & SEGAL, 1996).

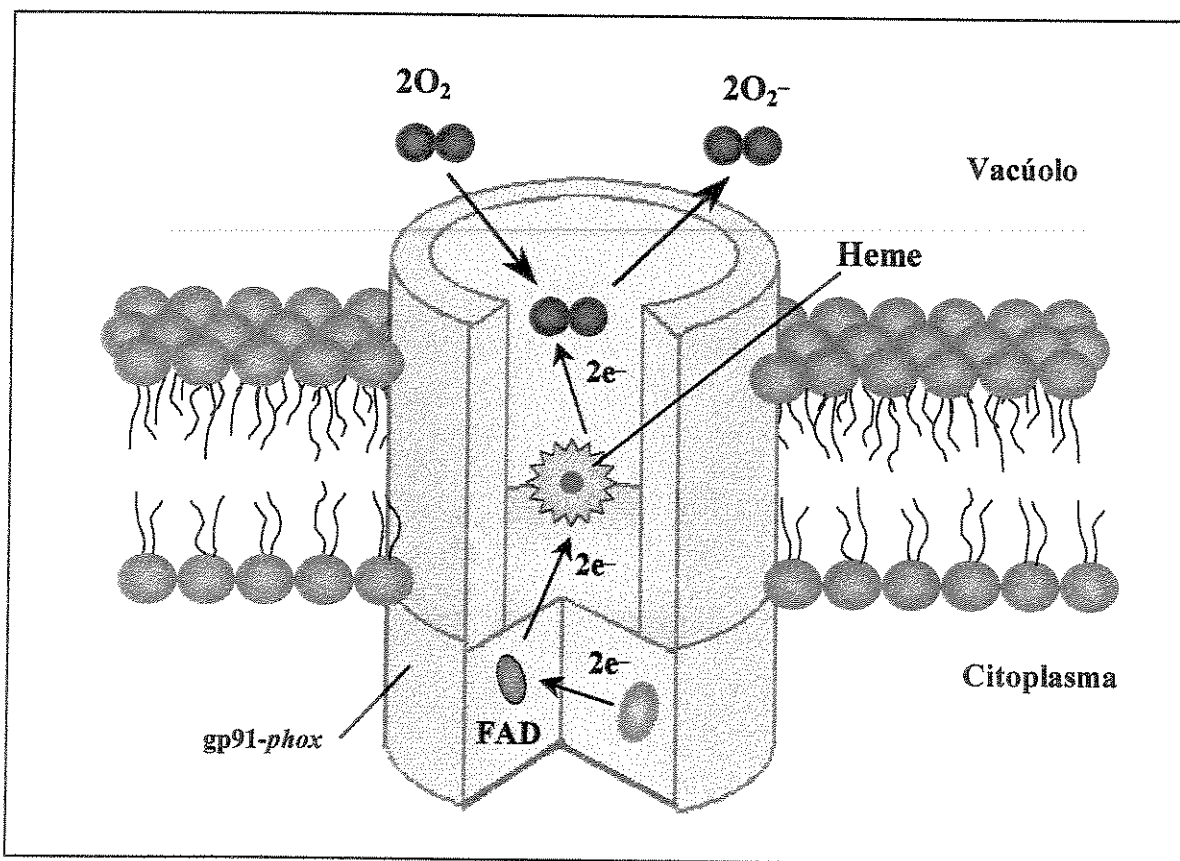


Figura 3. Representação esquemática do transporte de elétrons via FAD para a molécula de oxigênio no interior da gp91-phox .

Embora apenas cerca de 5% do cit b_{558} esteja na membrana celular, assume-se que o sistema NADPH oxidase é acoplado e ativado exclusivamente na membrana do fagossomo. Aproximadamente 85% do cit b_{558} está estocado nos grânulos específicos e nos grânulos de gelatinase, mas não está esclarecido se o cit b_{558} contido nestes grânulos tem a habilidade de transferir elétrons para o oxigênio após a translocação dos grânulos para a membrana plasmática ou do fagossomo. Os outros 10% de cit b_{558} estão nas vesículas secretoras, não estando também esclarecido se o cit b_{558} nelas contido teria habilidade para transferir elétrons para o oxigênio (KARLSSON & DAHLGREN, 2002).

Componentes citoplasmáticos

p47-phox

É uma proteína de 47 kDa, composta de 390 resíduos de aminoácidos e codificada pelo gene *NCF-1*, localizado no cromossomo 7 (7q11.23) (FRANCKE et al., 1990).

A fosforilação desta proteína determina um rearranjo conformacional, expondo domínios SH3, regiões ricas em prolina e domínios PX (Figura 4), que vão intermediar interações com o cit *b₅₅₈* e a p67-*phox*, interações estas que são fundamentais para o acoplamento das subunidades e ativação do sistema NADPH oxidase (LETO et al., 1994; LEUSEN et al., 1996). Entretanto, a fosforilação da p47-*phox* ocorre apenas quando o cit *b₅₅₈* está presente na membrana, sugerindo que a fosforilação se complete após a translocação da p47-*phox* para a membrana (HEYWORTH et al., 1989).

A sequência de aminoácidos da p47-*phox* contém ao menos 6 potenciais sítios de fosforilação de serina para a proteína quinase C (PKC) (LEUSEN et al., 1996), embora apenas 1, na posição S379 (Figura 4) pareça ser necessário para a completa atividade da oxidase (FAUST et al., 1995). CLARK et al. (1990) mostraram que a inibição da PKC bloqueia tanto a associação da p47-*phox* com o citoesqueleto quanto a produção de O_2^- . Outras quinases, como a proteína quinase a (PKA) e a proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK), também fosforilam a p47-*phox*, porém em locais diferentes da PKC, e não possuem efeito positivo sobre a produção de O_2^- (PARK et al., 1997).

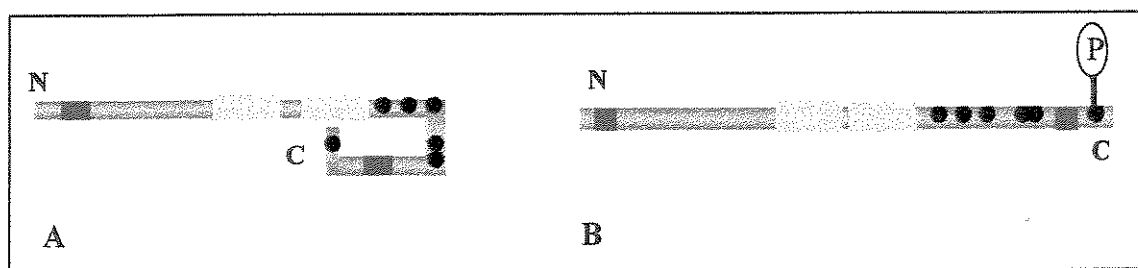


Figura 4. Proteína p47phox. Figura esquemática da proteína p47phox com as regiões ricas em prolina (■), os domínios SH3 (●) e os locais onde podem ocorrer fosforilação (●). No estado inativo (A) a porção carboxi-terminal (C) da p47phox encobre um domínio SH3 e expõe a região rica prolina. Após a fosforilação pela PKC na posição S379 (P) ocorre um rearranjo expondo o domínio SH3 (B).

p67-phox

É codificada pelo gene *NCF-2*, localizado no locus 25 do braço longo do cromossomo 1 (1q25) (FRANCKE et al., 1990).

A *p67-phox* interage com uma pequena região da α -hélice da *gp91-phox* (Figura 5), sobrepondo-se ao nucleotídeo domínio de ligação da NADPH oxidase com função de ativação do sistema (TAYLOR et al., 1993).

HAN et al. (1998) mostraram que a *p67-phox* tem um domínio de ativação que é crítico para a função da NADPH oxidase. Mutações neste domínio eliminam a produção de O_2^- , mesmo que haja ligação normal à *p47-phox* e à *rac*; esta região parece regular a transferência de hidrogênio do NADPH para o FAD (BABIOR et al., 2002; HAN et al., 1998).

Através de experimentos de translocação foi observado que a *p67-phox* não se transloca para a membrana plasmática em células de pacientes deficientes de *p47-phox* (HEYWORTH et al., 1991). Ao contrário, a *p47-phox* parece translocar-se normalmente em células deficientes de *p67-phox* (HEYWORTH et al., 1991; KLEINBERG et al., 1992; UHLINGER et al., 1994).

p40-phox

É um produto de 339 aminoácidos que encontra-se associado à *p67-phox* no citoplasma de neutrófilos não estimulados (WINTJES et al., 1993). O gene que codifica esta proteína é o *NCF-4* e está localizado no locus 22q13.1 (ZHAN et al., 1996)

Esta proteína contém 1 domínio SH3 para associação com *p47-phox* (resíduos 358-390) e com a *p67-phox* (resíduos 144, 145, 187, 345) (Figura 5) (TSUNAWAKI et al., 1994).

As funções da *p40-phox* ainda não estão bem esclarecidas, embora haja evidências tanto para potenciação (CROSS, 2000) quanto para finalização (SATHYAMOORTHY et al., 1997) das atividades do sistema NADPH oxidase.

Estudos de ligação *in vitro* indicam que as proteínas *p47-phox*, *p67-phox* e *p40-phox* ligam-se umas às outras por interação de domínios SH3 com regiões ricas em prolina, e que este complexo forma âncoras junto à membrana por associação entre a *p47-phox* e a

região rica em prolina no carboxi-terminal da subunidade p22-*phox* (Figura 5) (LETO et al., 1994).

Proteínas G (rac e Rap1A)

rac

Pertence à subfamília Rho da superfamília Ras das pequenas proteínas (~21kDa) ligadoras de GTP, que regulam diversas vias de transdução de sinais, incluindo ciclo celular, diferenciação celular, mitogênese e acoplamento e desacoplamento do citoesqueleto de actina em resposta a sinais extracelulares (HEYWORTH et al., 1993).

Há 2 tipos de proteínas *rac*: a *rac*-1, expressa universalmente e a *rac*-2, expressa apenas nas células de linhagem mielóide (NAKANISHI et al., 1992).

No estado inativo, a p21*rac* forma um complexo com GDP-GDI, mas quando os neutrófilos são estimulados, o complexo se dissocia e a p21-*rac*, na sua forma ligada ao GTP, liga-se à p67-*phox* no complexo de ativação, que então transloca-se até a membrana (Figura 5) (ABO et al., 1994; DIEKMANN et al., 1994).

Provavelmente, as funções da *rac* estejam relacionadas às mudanças do estado inativo ligado à GDP para o estado ativo ligado à GTP, estado no qual a *rac* poderia mediar a ativação da NADPH oxidase (LEUSEN et al., 1996). Entretanto, outro autor demonstrou que a translocação da *rac*-2 não estava diretamente correlacionada à atividade oxidase (PHILIPS et al., 1995). O papel da *rac*-2 na produção de O_2^- parece estar relacionado a sua interação com a p67-*phox* e estabilização desta proteína (BURG & PILLINGER, 2001).

Outra possível função da *rac*-2 seria ancorar e induzir a PAK (p21 activated kinase), uma enzima que fosforila especificamente a proteína p47-*phox*, uma vez que a PAK liga-se especificamente à *rac* na sua forma ligada à GTP e subsequentemente se auto-ativa (BURG & PILLINGER, 2001; KNAUS et al., 1995).

A desativação do sistema NADPH oxidase pode ser induzida pela conversão da p21*rac* da forma GTP para GDP, retornando a *rac*-2 para o citosol, porém permanecendo as proteínas citosólicas *phox* associadas à membrana (SHATWELL & SEGAL, 1996).

Tanto na célula intacta quanto nos ensaios “cell-free”, a ativação da NADPH oxidase é associada à dissociação do complexo formado pela *rac* e pela rhoGDI (ABO et al., 1994).

Rap1A

É outra proteína de membrana da família Ras, que copurifica e imunoprecipita o cit b_{558} dos neutrófilos (KLEBANOFF & NATHAN, 1993). A Rap1A forma complexos estoiquiométricos com o cit b_{558} , sendo a ligação do cit b_{558} com a Rap1A-GTP mais firme que a ligação com a Rap1A-GDP. Esta ligação é desfeita quando ocorre fosforilação da Rap1A no resíduo de serina carboxi-terminal. A translocação da Rap1A até o cit b_{558} parece ser importante para a atividade da oxidase e a fosforilação da Rap1A pode inibir a atividade da oxidase, uma vez que é desfeita a associação com o cit b_{558} .

As proteínas rac-1 e rac-2 e a proteína Rap1A regulam o sistema NADP em locais diferentes. As rac ligam-se à p67-*phox* e interagem com o citoesqueleto, trazendo os componentes citosólicos para perto da membrana para que eles se liguem ao cit b_{558} . Além disso, a rac também pode ativar os componentes citosólicos via PAKs, induzindo a fosforilação da p47-*phox*, o que provoca alterações conformacionais nesta proteína, expondo os domínios necessários para a interação com outros componentes do sistema. Já a Rap1A funciona em um ciclo dinâmico entre as formas ligadas à GTP e à GDP, regulando a ativação do sistema desta forma (SEGAL et al., 2000).

Além das substâncias originadas do sistema NADPH oxidase, enzimas armazenadas no interior dos grânulos citoplasmáticos são importantes para promover a morte do patógeno intracelular. A fim de determinar a relação entre os componentes reativos do oxigênio e estas enzimas foram estudadas as condições do vacúolo fagocítico imediatamente após a fagocitose. A liberação do conteúdo ácido dos grânulos deveria provocar uma redução do pH no vacúolo fagocítico, entretanto o que se observou foi um aumento do pH. A passagem de íons hidrogênio do citoplasma para o interior do vacúolo poderia compensar a redução inicial do pH, sem, no entanto aumentá-lo. Assim, parte do aumento do pH seria resultado do influxo de grandes quantidades de íons K^+ , que aumentaria o pH, tornando os vacúolos hipertônicos e favorecendo a ativação das enzimas proteolíticas (Figura 6). Portanto, a produção de componentes reativos do oxigênio causaria a entrada de íons K para o vacúolo provocando um aumento de pH e hipertonicidade que possibilitariam a ação das proteases (MESSINA et al., 2002; REEVES et al., 2002; SEGAL et al., 1981).

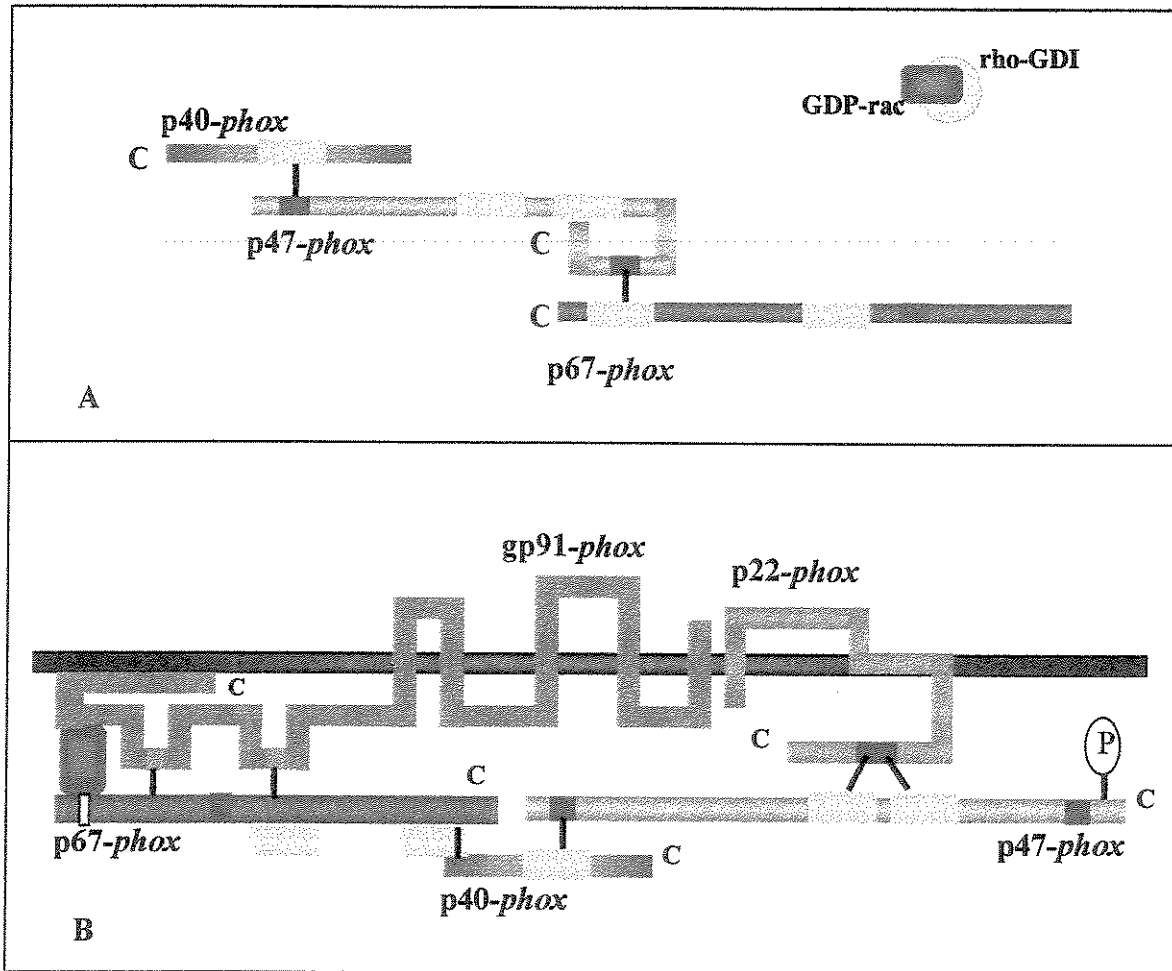


Figura 5. (A) Interação dos componentes citosólicos do sistema NADPH oxidase no estado inativo. Ligação entre as proteínas p40, p47 e p67-phox, identificando as regiões ricas em prolina (■), os domínios SH3 (▨) e as porções carboxi-terminal (C). A rac está ligada ao complexo GDP-rho-GDI. **(B) Ligação entre os componentes da membrana e os componentes citosólicos no estado ativado do sistema NADPH oxidase.** A p47-phox fosforilada expõe o seu segundo domínio SH3, que se liga à p22-phox. Os pontos de ligação entre a gp91-phox e a p67-phox (■) são hipotéticos. A p40-phox faz a ligação entre a p47 e a p67-phox. A rac é liberada do complexo ao qual estava ligada, o que permite a sua interação com a p67-phox.

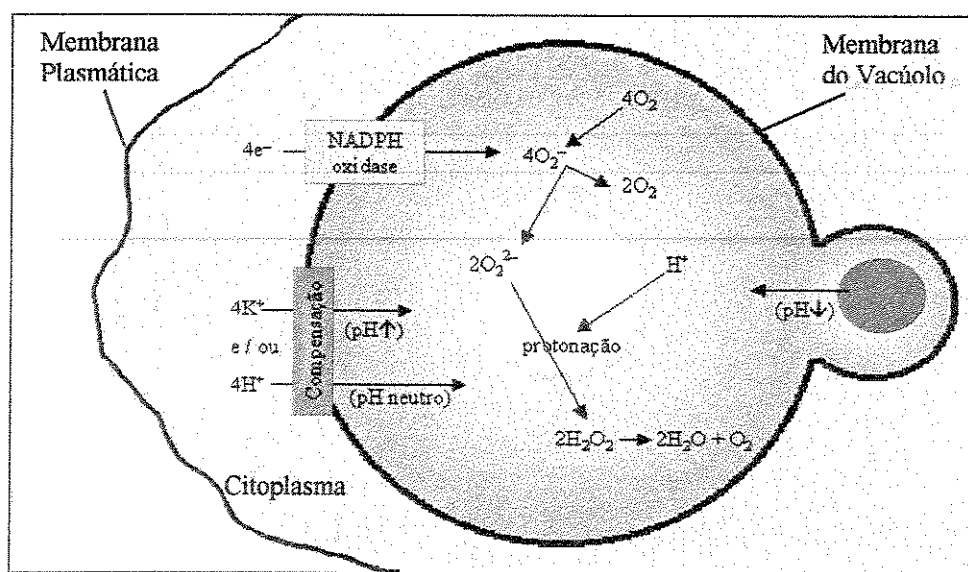


Figura 6. Representação esquemática dos fatores envolvidos na compensação de cargas através da membrana do fagossomo.

1.3. Doença Granulomatosa Crônica

A DGC é uma imunodeficiência primária em que há alteração no sistema NADPH oxidase fagocítico humano, responsável pela explosão respiratória e produção de reativos intermediários do oxigênio (QUIE et al., 1967). Caracteriza-se clinicamente como imunodeficiência grave e rara, com incidência estimada entre 1/200.000 e 1/250.000 nascidos vivos por ano (WINKELSTEIN et al., 2000). Os quadros infecciosos por bactérias catalase positivas como *Staphylococcus aureus* e bacilos gram-negativos, e fungos como *Aspergillus*, *Candida* e *Nocardia*, ocorrem predominantemente em locais considerados barreiras naturais do organismo (FORREST et al., 1988; SEGAL et al., 2000).

Desta maneira, o paciente apresenta infecções graves e recidivantes na pele, nas vias respiratórias, no trato gastrointestinal e nos respectivos linfonodos que drenam essas áreas; além de infecções acometendo fígado, ossos, sistema nervoso central e pâncreas (FORREST et al., 1988). Os microrganismos que produzem peróxido de hidrogênio e não contêm catalase podem ser destruídos pelos neutrófilos de pacientes com DGC, uma vez que seu peróxido de hidrogênio endógeno reage com os cloretos dos fagolisossomas, na presença da mieloperoxidase liberada dos grânulos azurófilos, gerando ácido hipocloroso.

Em função da persistência de microrganismos nos fagolisossomas pode ocorrer a formação de granulomas, na tentativa de conter as infecções. A característica microscópica marcante dos granulomas é a presença de células gigantes multinucleadas, formadas pela fusão de monócitos e macrófagos, os quais contêm microrganismos não destruídos pela oxidase defeituosa, ocorrendo algumas vezes o ingurgitamento das células formadoras dos granulomas pelo acúmulo de lípidos, à semelhança das doenças de depósito (BRIDGES et al., 1959; LANDING & SHIRKEY, 1957; SEGAL, 1988).

O defeito molecular da DGC consiste de ausência, baixa expressão ou mau funcionamento de um dos componentes do sistema NADPH oxidase. Assim, na forma ligada ao sexo, é afetada a cadeia pesada do citocromo b_{558} , no caso, o componente gp91-*phox* (56% dos casos) (DINAUER et al., 1987; WINKELSTEIN et al., 2000). Nas formas autossômicas recessivas é afetado um dos componentes citosólicos da NADPH oxidase, respectivamente a p47-*phox* ou p67-*phox* (respectivamente 33% e 5% dos casos) (CLARK et al., 1990; WINKELSTEIN et al., 2000); ou ainda a cadeia leve do cit b_{558} , o componente p22-*phox* (6% dos casos) (DINAUER et al., 1987; DINAUER et al., 1990; PARKOS et al., 1988; WINKELSTEIN et al., 2000). Ainda não se documentaram pacientes com DGC secundária a defeitos nos componentes p40-*phox*, rap1A, rac1, rac2, ou GDI. A classificação atual de DGC considera os defeitos moleculares específicos, sendo codificada por “A” para autossômica ou “X” para ligada ao sexo; o componente defeituoso da oxidase é representado pelo peso molecular da proteína afetada, “91,” “22,” “47,” ou “67”; e a expressão da proteína daquele componente é indicada pelo sobrescrito “0” para ausente, “+” para presente, e “-” para reduzida. Na maioria dos casos de X-DGC, a gp91-*phox* não é detectada por imunoblot, o que é referido como X91⁰DGC. Em alguns casos, a gp91-*phox* e atividade oxidativa residual estão presentes (X91 DGC), e em número reduzido de casos há quantidades normais da proteína, que no entanto não é funcional (X91⁺DGC) (LEW et al., 1981; NEWBURGER et al., 1986; RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996). A maioria das formas autossômicas recessivas de DGC não guardam expressão residual do componente afetado (fenótipos A22⁰, A47⁰, e A67⁰), entretanto formas variantes autossômicas ocasionais de DGC já foram descritas (DINAUER et al., 1991; LEUSEN et al., 1996; SHURIN et al., 1983).

1.3.1. Mutações na DGC ligada ao sexo

Diversos defeitos moleculares que levam à DGC ligada ao sexo foram identificados na região codificadora, introns e raramente nas regiões 5' regulatórias do gene *CYBB* (ARIGA et al., 1998; ARIGA et al., 1994a; ARIGA et al., 1994b; ARIGA et al., 1995; AZUMA et al., 1995; BU-GHANIM et al., 1995; CROSS et al., 1996b; CROSS et al., 1995; DE BOER et al., 1992; BOHLER et al., 1988; DINAUER et al., 1989; FREY et al., 1988; HEYWORTH et al., 2001; LEUSEN et al., 1994; NEWBURGER et al., 1994; RABBANI et al., 1993; RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996; ROOS et al., 1996 a; SCHAPIRO et al., 1991).

Os tipos de mutações que causam DGC ligada ao sexo incluem grandes deleções multigênicas, deleções e inserções menores, substituições do tipo "missense" e "nonsense", bem como defeitos de "splicing". Dois estudos principais (RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996) mostram que as mutações se distribuem com frequência similar entre os exons e as bordas dos genes.

RAE et al. (1998) identificaram as mutações no gene *CYBB* que levaram ao fenótipo de DGC ligada ao sexo em 131 famílias consecutivas e independentes. Foram identificadas mutações em 124 famílias, por meio do SSCP e o sequenciamento completo dos exons e das regiões próximas às bordas dos introns revelou outras 7 mutações. Nesse estudo foi possível identificar 103 diferentes mutações específicas, sendo que nenhuma mutação isolada se repetiu em mais do que 7 famílias independentes. Os tipos de mutações foram grandes e pequenas deleções (11%), "frameshifts" (24%), mutações "nonsense" (23%), mutações "missense" (23%), mutações na região do "splicing" (17%) e mutações nas regiões regulatórias (2%). Não foi identificando nenhum *locus* preferencial para a ocorrência das mutações. A avaliação de 87 mães identificou o estado de portadora sã em 90% dos casos. ARIGA et al. (1998) concluíram que a proporção de novos casos de DGC é muito baixa, enquanto a proporção de mães portadoras sãs é muito grande.

Na América Latina, PATINO et al. (1999a) estudaram 7 famílias não relacionadas na Colômbia e no Brasil. Nesse estudo 6 mães possuíam um alelo *CYBB* mutante, sendo que um dos casos correspondia a uma mutação 'de novo'. Uma substituição A por G foi identificada no penúltimo nucleotídeo do intron 12, além de quatro novas

mutações "nonsense" (R91X, W106X, R157X, R290X), e de outras duas mutações "missense" (E225V, C244Y).

As deleções envolvendo o gene *CYBB* variam desde simples nucleotídeos até a perda citogeneticamente detectável de múltiplos genes. Grandes deleções na região Xp21.1, envolvendo o gene *CYBB*, podem também afetar os genes adjacentes McLeod (*XK*), o da distrofia muscular de Duchenne ou o locus da retinite pigmentosa ligada ao X (NAGARAJA et al., 1997; RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996).

As deleções menores variam de tamanho desde várias kilobases até a perda de uma única base. Muitas resultam no fenótipo X91⁰, isto é, nenhuma função oxidase. Entretanto, pequenas deleções intersticiais na "moldura", podem resultar na perda de um a seis aminoácidos, que preservam parcialmente a função oxidase, resultando no fenótipo X91⁻ (RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996). Deleções ou inserções de um ou dois nucleotídeos levam a mudanças na 'moldura' e, conseqüentemente, à formação de "stop codons" no mesmo ou próximo exon, gerando uma proteína instável ou truncada, que resulta no fenótipo X91⁰. Tais mutações são relativamente comuns, ocorrendo em 50 de 251 famílias não relacionadas, em dois grandes estudos (ROOS et al., 1996b; RAE et al., 1998).

Mutações "nonsense" podem desestabilizar a estrutura do gene, reduzindo ou tornando indetectáveis os níveis de mRNA correspondente por meio de "northern blots" (MAQUAT, 1995). Essas mutações se localizavam todas no lado 3' terminal das mutações que não afetaram os níveis de mRNA, diferindo das posições predominantemente 5' terminais de codons desestabilizadores "nonsense" em transcritos de globina beta, adenina fosforibosiltransferase e triose fosfato isomerase (KESSLER & CHASIN, 1996; MAQUAT, 1995).

A mudança de um ou mais nucleotídeos alterando a sequência do DNA dá origem a mutações "missense" e o transcrito passa a codificar um aminoácido diferente. Estas mutações levam a desarranjos estruturais, sem no entanto as mesmas conseqüências das mutações "nonsense" ou deleções. Assim, há preservação parcial dos níveis do cit *b*₅₅₈ e da função oxidativa, o que corresponde ao fenótipo X91⁻. Três regiões deste gene concentram tais mutações: aminoácidos 209-223 (codificados no exon 6), aminoácidos 309-339 (codificados no exon 9), e aminoácidos 405-422 (codificados no exon 10).

Entretanto, esses exons não constituem alvos preferenciais para outros tipos de mutações (RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996).

Outras mutações, como substituição de histidina por prolina no resíduo 415; substituição de arginina por cisteína no resíduo 537 resultam em fenótipos X91⁺, com preservação completa do cit *b*₅₅₈, mas ausência de atividade oxidase. Presume-se, então, que esses resíduos sejam essenciais para a função, mas não para a estabilização da proteína. Quando três das histidinas que constituem os sítios potenciais de ligação entre a gp91-*phox* e o heme sofrem mutações “missense” experimentais, nenhuma atividade oxidase residual ou o cit *b*₅₅₈ são detectados, confirmando a importância do heme na formação e na estabilidade do heterodímero cit *b*₅₅₈ (YU et al., 1998; YU et al., 1997). Por outro lado, várias mutações envolvendo sítios de prolina mostraram preservação completa ou parcial do cit *b*₅₅₈, mas não de sua função, apesar do importante papel deste aminoácido na formação de dobraduras e, portanto, da correta estrutura secundária. Polimorfismos, isto é, mutações “missense” com nenhum efeito na função oxidase são extraordinariamente raras (KURIBAYASHI et al., 1996).

Aproximadamente dois terços das mutações “nonsense” e um terço das mutações “missense” se referem a transições C→T ou complementares “antisense” G→A nos dinucleotídeos CG (ROOS et al., 1996b; RAE et al., 1998).

Mutações próximas ou nos sítios de “splicing” podem interferir com o processamento do mRNA. A maioria das mutações ocorrem nos sítios de “splicing” resultam no fenótipo X91⁰ devido à deleção de um ou mais exons (DE BOER et al., 1992). Entretanto, pode ocorrer manutenção parcial do “splicing” normal resultando no fenótipo X91⁻ (RAE et al., 1998). Outras mutações nos sítios de “splicing” chegam a criar novos sítios de “splicing” dentro dos exons, resultando em fenótipos X91⁰, X91⁺, ou X91⁻, dependendo da gravidade das deleções intersticiais resultantes (RAE et al., 1998; ROOS et al., 1996).

Somente três famílias com mutações na sequência regulatória da região do flanco do gene *CYBB* foram documentadas (NEWBURGER et al., 1994; SUZUKI et al., 1998). Os locais onde foram identificadas as mutações correspondiam aos nucleotídeos das posições – 53, –55 e –57, sítios de ligação de fatores transcricionais (HAF-1, PU.1 e proteína de consenso para ligação do INFγ), impedindo a ligação dos mesmos durante o processo de

transcrição (EKLUND et al., 1998; EKLUND & SKALNIK, 1995; SUZUKI et al., 1998). Esses pacientes têm uma forma peculiar de X91⁻-DGC, com atividade oxidase ausente em 90-95% de seus neutrófilos e monócitos, mas presente e normal nos 10% restantes (WOODMAN et al., 1995). A associação dessas mutações com DGC denotam, portanto, a importância destes fatores de transcrição para a expressão do gene *CYBB*.

Em 85-90% das portadoras sãs de DGC ligada ao sexo, confirmou-se o gene mutado ou uma sub-população de fagócitos funcionalmente anormais (ARIGA et al., 1998; RAE et al., 1998).

1.3.2. Mutações na DGC autossômica

O número de mutações identificadas em pacientes com DGC autossômica é menor que na DGC ligada ao sexo, devido à menor incidência de DGC autossômica. A identificação das mutações em famílias com alteração na p22 ou na p67-*phox* indicam que as bases genético-moleculares das deficiências destas proteínas são tão heterogêneas quanto as observadas nas deficiências de gp91-*phox*, ligadas ao X.

Entre as mutações de 25 pacientes com A22-DGC foram encontradas 5 deleções, 10 mutações do tipo “missense”, 4 “nonsense”, 4 erros de “splincing” e 2 inserções (CROSS et al., 1996a; CROSS et al., 2000). Somente em 2 famílias não relacionadas, foram encontrados pacientes com a mesma mutação. Apenas um paciente com fenótipo A22⁺ foi identificado até o momento, e sua mutação consistia de uma substituição Pro145Glu (DINAUER et al., 1991), região rica em prolina que serve se sítio de ligação com o domínio SH3 da p47-*phox* (LEUSEN et al., 1994). Esta substituição foi a primeira interferência na interação SH3-prolina identificada que resulta em uma doença genética.

Nos 26 pacientes com alteração na p67-*phox* estudados, predominaram as mutações do tipo “missense” e as deleções, seguidas dos erros de “splicing”, das mutações “nonsense” e da inserção (CROSS et al., 1996a; CROSS et al., 2000). Em alguns casos de DGC autossômica por deficiência de p67-*phox*, o nível de mRNA para p67-*phox* foi normal, mas a proteína p67-*phox* mostrou-se indetectável. Entretanto, em um dos pacientes com 1 deleção de 3 nucleotídeos (1718-1720), cerca de 50% da proteína estava presente. Neste paciente, a mutação prediz uma deleção na “moldura” (LYS-58) e resulta na

expressão de uma p67-*phox* não funcional que não se transloca para a membrana plasmática (LEUSEN et al., 1996).

De 82 pacientes com alteração na p47-*phox* estudados até o ano de 2000, 74 apresentavam a mesma mutação, uma deleção homozigota do nucleotídeo GT, correspondente às 4 primeiras bases do segundo exon do gene *NCF-1*. Os demais pacientes eram heterozigotos para a deleção GT (n=6) ou apresentavam outra mutação associada à deleção GT (n=2) (CASIMIR et al., 1991; IWATA et al., 1994; ROESLER et al., 2000; ROOS et al., 1996; VOLPP & LIN, 1993). A amplificação por PCR do cDNA ou DNA genômico de indivíduos normais também revelou a presença simultânea da sequência GTGT e do produto com a deleção GT. Isso sugeriu a existência de um pseudogene com a deleção GT, além do gene *NCF-1*, normal e que a DGC autossômica por defeito da p47-*phox* se deve à recombinação entre o gene *NCF-1* e o pseudogene relacionado (GORLACH et al., 1997). Assim, elevada frequência da deleção GT no início do exon 2 do gene *NCF-1* em pacientes não aparentados com alteração na p47*phox* é explicada pela presença de um pseudogene altamente homólogo, o qual por meio de fenômenos de recombinação meiótica faz com que o gene normal seja eliminado ou convertido à sequência anormal (ROESLER et al., 2000; VAZQUEZ et al., 2001). Recentemente, Roesler et al publicaram novas mutações na proteína p47-*phox* em duas pacientes: uma mutação homozigota G579A, com a formação de um “stop codon”, sendo os pais deste paciente heterozigotos para tal mutação e no segundo caso, mutação heterozigota G579A (DE BOER et al., 2002).

1.3.3. Correlação genótipo-fenótipo

Dentre os defeitos no código genético de pacientes com DGC, ocorrem deleções, inserções e substituições. A maior parte dos pacientes com X-DGC tem mutações exclusivas de suas famílias, o que não acontece com as formas A-DGC. A diversidade dessas mutações e os múltiplos genes afetados parecem constituir uma explicação para a heterogeneidade clínica e genética da DGC (CURNUTTE, 1993; SEGAL, 1992).

De maneira geral, os casos de DGC autossômica A22⁰-DGC e p67⁰-DGC costumam ser tão graves quanto os casos de DGC ligada ao X91⁺-DGC. Por outro lado, diversas comparações clínicas entre DGC ligada ao sexo e DGC autossômica secundária a defeitos na p47-*phox* sugerem que esta última tem evolução mais benigna (MARGOLIS et

al., 1990; WEENING et al., 1985), o que, segundo alguns autores, poderia ser atribuído a uma produção residual de superóxido e peróxido de hidrogênio por neutrófilos deficientes de p47-*phox* (BEMILLER et al., 1995; CROSS et al., 1995; CROSS et al., 1994).

Isto pôde ser melhor avaliado com a casuística de 368 pacientes apresentada por WINKELSTEIN et al (2000), onde se demonstrou maior precocidade em relação ao início dos sintomas e maior taxa de mortalidade nos pacientes com X-DGC ($p < 0,02$). Neste estudo as comparações foram realizadas entre o grupo de casos de X-DGC e o total do grupo de A-DGC e também entre o primeiro grupo e apenas pacientes do sexo masculino do grupo de A-DGC. Além disso, foi observada maior prevalência de manifestações inflamatórias causando obstrução gástrica e urinária e de determinados tipos de infecção (abscesso perirretal, adenite supurativa e septicemia) no grupo de X-DGC (WINKELSTEIN et al., 2000).

Portadoras sãs do gene para DGC ligada ao X raramente apresentam manifestações clínicas similares aos pacientes com DGC ligada ao X. Isto acontece em casos de extrema lionização do alelo defeituoso, resultando numa população de fagócitos normais abaixo de 10% e neste caso há descrição de portadora apresentando infecções graves, como pneumonia, abscesso pulmonar, osteomielite, abscesso perianal, abscesso subcutâneo (ARIGA et al., 1998; CURNUTTE et al., 1992; JOHNSTON et al., 1985; ROOS et al., 1996).

1.3.4. Quadro clínico

A maioria dos acientes com DGC apresenta infecções graves e precoces durante o primeiro ano de vida, com diferenças em relação ao padrão genético da doença, uma vez que pacientes com a forma autossômica recessiva ou outras formas “variantes” tendem a apresentar quadro clínico menos grave, com início tardio dos sintomas (LIESE et al., 1996; WEENING et al., 1985; WINKELSTEIN et al., 2000).

Os granulomas característicos, algumas vezes com histiócitos pigmentados, são achados freqüentes nas biópsias; entretanto, infiltrados inflamatórios inespecíficos são mais comuns nas infecções iniciais (DINAUER et al., 2000).

Por se tratar de uma imunodeficiência que acomete um sistema importante para a primeira linha de defesa do organismo, os principais locais acometidos pelos processos

infecciosos são: superfície cutânea e mucosa, vias respiratórias, órgãos do trato gastrointestinal e linfonodo que drenam estas áreas e tecidos adjacentes (CONDINO-NETO et al., 1996; CONDINO-NETO et al., 1993; FORREST et al., 1988; PATINO et al., 1999a; PATINO et al., 1999b; WINKELSTEIN et al., 2000). Os quadros sépticos não são a regra e estão principalmente relacionados a eventos terminais (FORREST et al., 1988; LANDING & SHIRKEY, 1957).

A maioria das infecções são causadas pelo *Staphylococcus aureus*, por bacilos entéricos gram-negativos e micobactérias; entretanto, agentes oportunistas são também importantes patógenos. Entre os gram-negativos, a *Burkholderia cepacia* é uma causa comum de pneumonia, podendo evoluir rapidamente para sepse; esta bactéria é considerada altamente específica para DGC, além de fibrose cística, e geralmente resistente aos antibióticos convencionais (BOTTONE et al., 1975; SPEERT et al., 1994). O *Aspergillus* sp é um dos principais agentes causadores das infecções pulmonares e tendem a invadir os tecidos adjacentes e os ossos da cavidade torácica (WILHELM et al., 2000).

Entre as infecções cutâneas destacam-se a piodermite, furunculose e abscessos. Em adultos com quadro mais leve da doença, os achados dermatológicos podem ser particularmente proeminentes. Entre as portadoras da forma ligada ao sexo é comum a presença de lupus discóide (FORREST et al., 1988; HUMBERT et al., 1976; JOHNSTON et al., 1985; LINDSKOV et al., 1983).

As infecções pulmonares são os achados freqüentes em diversas séries apresentadas na literatura (CALE et al., 2000; LIESE et al., 2000; MARTIN MATEOS et al., 1998; ORTEGA et al., 1980; WINKELSTEIN et al., 2000). Os patógenos mais freqüentes nas infecções pulmonares são o *Staphylococcus aureus*, bacilos entéricos e *Aspergillus*. Não existe um padrão radiológico característico, podendo a pneumonia apresentar-se na forma lobar, bronquial ou difusa e generalizada, freqüentemente acompanhada de linfadenopatia hilar (FORREST et al., 1988). A maioria dos casos de pneumonia são tratados empiricamente com antibióticos; entretanto, quando suspeita-se de infecção fúngica ou não há resposta ao tratamento instituído pode ser necessária biópsia pulmonar, além da remoção cirúrgica do tecido infectado (POGREBNIK et al., 1993). As infecções pulmonares crônicas ou de repetição na DGC evoluem na forma de pneumopatia

crônica, caracterizada por infiltrado granulomatoso e fibrose pulmonar em pacientes adultos ou pediátricos (LIESE et al., 1996).

Na orofaringe, estes pacientes tendem a apresentar estomatite ulcerativa e gengivite (FORREST et al., 1988; RENNER et al., 1991). A estomatite é também um achado comum entre portadoras da X-DGC (HUMBERT et al., 1976; LINDSKOV et al., 1983).

O envolvimento do trato gastrointestinal inferior pode levar à estenose do piloro, à gastroenterite eosinofílica, à discenesia, à enterite crônica, ou à peritonite (GRISCOM et al., 1974). Os sinais e os sintomas mais frequentes são vômito persistente, diarreia, malabsorção ou franca obstrução. Abscessos retais, perianais e fistulas são comuns e persistentes. Abscessos hepáticos podem ocorrer, geralmente por *Staphylococcus aureus*, e necessitam intervenção cirúrgica; sua presença em crianças sugere o diagnóstico de DGC (NAKHLEH et al., 1992).

O envolvimento esquelético, além de local primário de infecção, pode ocorrer também por contigüidade de infecções nos linfonodos, pulmões, ou trato gastrointestinal, especialmente quando se tem o *Aspergillus*, outros fungos ou micobactérias como agentes etiológicos. Osteomielite ocorre com predileção no metacarpo, metatarso, coluna vertebral e costelas, sendo que *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus marcescens*, e *Nocardia* são os agentes mais frequentes (SPONSELLER et al., 1991).

Em trato genitourinário já foram relatados: infecção de trato urinário, glomerulonefrite, abscesso renal e inflamação granulomatosa do parênquima renal. A presença de granulomas na parede vesical apresenta-se clinicamente como cistite crônica e pode evoluir para uropatia obstrutiva (FORBES et al., 1976; WALTHER et al., 1992). O envolvimento gonadal pode se manifestar como abscessos tubovarianos em garotas e granulomas testiculares em garotos (WALTHER et al., 1992). No estudo publicado por WALTHER et al (1992) 38% de 60 pacientes com DGC avaliados em 15 anos apresentavam acometimento do trato urinário, com predomínio de infecções envolvendo a bexiga ou os rins, formação de granulomas inflamatórios e aumento dos níveis séricos de creatinina. Entretanto, os últimos estudos referem uma menor incidência de acometimento deste sistema, entre 3,2% e 14% dos pacientes (BOTTONNE et al., 1975; CALE et al., 2000; LIESE et al., 2000; WINKELSTEIN et al., 2000).

Sepse ou meningite foram relatadas em 17% de 168 casos, como evento terminal. *Salmonella* foi o microrganismo mais comumente isolado, entretanto, a *Burkholderia cepacia* é agora reconhecida como outro importante agente de sepsse, geralmente como complicação de pneumonia (BOTTONNE et al., 1975; SPEERT et al., 1994).

Outras complicações raras incluem coriorretinite obstrutiva, conjuntivite, tireoidite, pericardite, abscessos cerebrais, e envolvimento granulomatoso do cérebro ou da medula espinhal (FORREST et al., 1988; GRUMACH et al., 1987; HADFIELD et al., 1991; LIESE et al., 1996; WILSCHANSKI et al., 1992).

A DGC foi descrita inicialmente como “granulomatose fatal da infância” (BERENDES et al., 1957; BRIDGES et al., 1959). Durante os anos setenta, os estudos mostravam que 50 a 75% dos pacientes morriam antes dos 7 anos de idade. Atualmente, tratamentos mais modernos reduziram muito, mas não eliminaram as mortes por complicações infecciosas; a maioria das mortes por DGC ocorrem durante as duas primeiras décadas da vida, sendo a sobrevivência de 50% aos 20 anos (FINN et al., 1990; WINKELSTEIN et al., 2000).

Com a melhora do prognóstico dos pacientes com DGC tem tornado mais frequentes os relatos de complicações não infecciosas da DGC (MENDELSON & BERANT, 1982). Processos inflamatórios com formação de granulomas podem causar obstrução em vísceras ocas do trato gastrointestinal (GRISCOM, 1974; HILLER, 1995; RENNER, 1991; HOFFEL, 1996; CHIN, 1987; DICKERMAN, 1986; CONTRERAS, 1998; MULHOLLAND, 1983; VARMA, 1982; DANZIGER, 1993) e urinário (HOEFFEL, 1995; CHIN, 1987; DANZIGER, 1993). A patogenia do processo que leva à formação dos granulomas ainda não está esclarecida, podendo ser resultado da persistência da resposta inflamatória devido à falha na inativação de fatores quimiotáticos pelo sistema mieloperoxidase (OHNO, 1996) ou à falha no clareamento de material antigênico dos locais onde ocorreram infecções (CHIN, 1987). O diagnóstico dos quadros obstrutivos é feito pela história clínica de vômitos e disfagia associada ao exame radiológico contrastado de esôfago, estômago e duodeno mostrando áreas de estreitamento da luz do órgão acometido, não existindo padrão característico para as áreas de estreitamento (RENNER, 1991). Um processo inflamatório intestinal pode resultar em quadro clínico e radiológico

indistinguível de doença de Crohn. Nestes casos, a presença de histiócitos pigmentados no material biopsiado pode auxiliar a diferenciar manifestações gastrointestinais da DGC de outras doenças inflamatórias intestinais (WERLIN, 1982; ISAACS, 1985; NEWMAN, 1985; STY, 1979).

Como a inativação ao acaso de cada cromossomo X resulta em proporções similares de fagócitos normais e anormais, geralmente, as portadoras sãs do gene mutante da DGC ligada ao sexo não apresentam maior susceptibilidade às infecções. Entretanto, o desenvolvimento do fenótipo de DGC em função de uma distribuição desequilibrada da inativação do X em portadoras sãs já foi documentado em pacientes com menos de 10% dos granulócitos normais (BOLSCHER et al., 1991; JOHNSTON et al., 1985; MILLS et al., 1980; MIYAZAKI et al., 1976). Um dos primeiros casos descritos de DGC no sexo feminino e, portanto, tido como autossômico recessivo, na verdade representava uma portadora do gene da DGC ligada ao sexo, que apresentava inativação uniforme do cromossomo X normal em seus granulócitos (CURNUTTE et al., 1992; NEWBURGER et al., 1994). As portadoras sãs do gene da DGC ligada ao sexo, habitualmente apresentam *lupus* discóide, fotossensibilidade ou estomatite aftosa. Apesar das lesões infiltrativas em forma de placas envolvendo a face e as extremidades distais, estudos clínicos dessas pacientes não trouxeram nenhuma evidência clínica ou sorológica de *lupus* eritematoso sistêmico (FORREST et al., 1988). Lindskov et al (1993) investigaram a possibilidade do estado de portadora em 34 mulheres que apresentavam *lupus* discóide e estomatite recorrente e todas apresentavam teste do NBT normal. Apesar destes resultados, os autores recomendam que a investigação seja realizada em casos como estes devido à importância do aconselhamento genético para as portadoras de X-DGC (LINDSKOV et al., 1983).

Quando as deleções no cromossomo X incluem o gene *XK*, o fenótipo McLeod associa-se às infecções de repetição da DGC. O fenótipo McLeod inclui hemólise compensada, acantocitose e alterações neuromusculares degenerativas progressivas (REDMAN & MARSH, 1993). A transfusão de hemácias nestes pacientes pode induzir a formação de anticorpos anti-Km e anti-Kx, tornando futuras transfusões complicadas, pois será necessário que o doador compartilhe do mesmo fenótipo McLeod (FREY et al., 1988; RUSSO et al., 2000; UCHIDA et al., 1992). Por essa razão, os pacientes com DGC,

particularmente aqueles com deleções, devem ser investigados para o fenótipo McLeod (DENSEN et al., 1981).

1.3.5. Diagnóstico

O diagnóstico tem como base os aspectos clínicos da DGC e a comprovação laboratorial da falha na produção de reativos intermediários do oxigênio. O teste do NBT é o método mais simples e econômico para o diagnóstico de DGC (OCHS & IGO, 1973; REPINE et al., 1978; REPINE et al., 1979). O teste do NBT positivo, isto é, normal, ocorre quando o corante NBT, amarelo e solúvel, é reduzido pelo superóxido, transformando-se em partículas azuis e insolúveis de formazan (Figura 7.A). Este método permite a identificação segura de portadoras sãs do gene da DGC ligada ao sexo, bem como de pacientes com formas variantes de DGC ($X91^-$ ou $X91^+$). Nestes dois últimos casos, os fagócitos mostram coloração heterogênea e tênue (Figura 7.B). Portanto, ao interpretar este teste, devemos levar em conta a proporção de células positivas e a intensidade da redução do NBT no seu interior.

Ensaio por citometria de fluxo para avaliação da atividade NADPH oxidase propiciam não só medidas simultâneas da liberação de superóxido, mas também dados sobre sua distribuição no interior das células (ROESLER et al., 1991; WOODMAN et al., 1995). O teste da 123 dihidrorodamina (DHR) aderida às membranas dos granulócitos tem como princípio a capacidade de emissão de fluorescência pela DHR em contato com os reativos intermediários do oxigênio (ROESLER et al., 1991). Assim como ocorre no teste de redução do NBT, pode-se identificar portadoras através do teste da DHR (Figura 8).

Outros testes diagnósticos para DGC incluem medidas quantitativas da atividade NADPH oxidase, como a liberação de superóxido, o consumo de oxigênio ou a produção de peróxido de hidrogênio. Entretanto, esses métodos avaliam a atividade NADPH oxidase global das células, não sendo apropriados para a detecção de portadoras sãs do gene da DGC ligada ao sexo (HASUI et al., 1991).

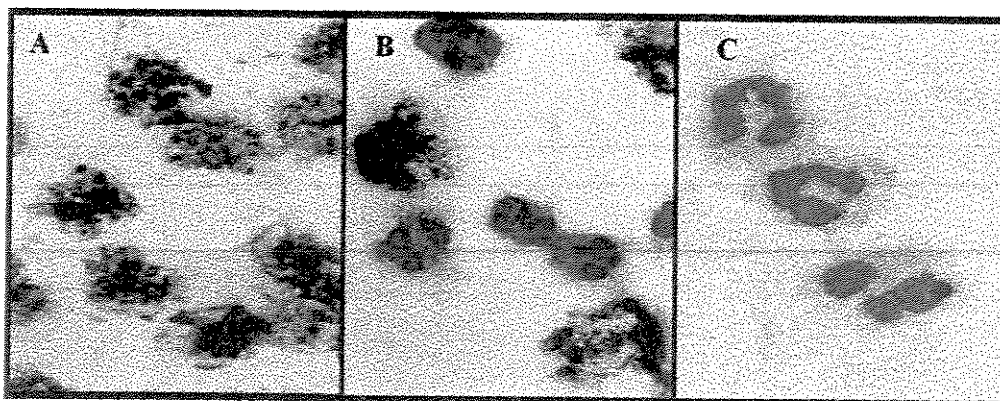


Figura 7. Teste do NBT após estímulo com PMA. Em (A) está representado o teste do NBT de um indivíduo normal, onde ocorre a redução do NBT e a formação dos complexos de formazan, no interior das células. Em (B) observa-se duas populações de células, representando o padrão do teste para uma portadora de X-DGC. Em (C) o padrão do teste de um indivíduo com DGC.

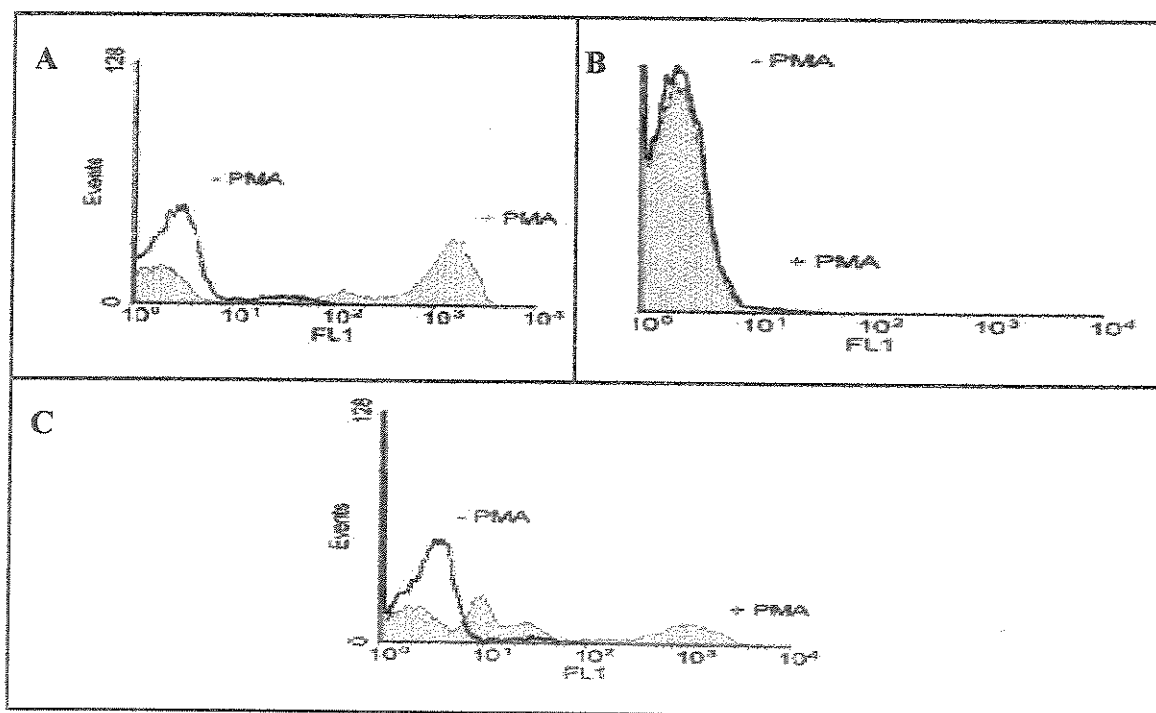


Figura 8. Teste da Dihidrorhodamina. Em (A) está representado o padrão normalidade deste teste; em (B) o teste de uma paciente com DGC. Em (C) observa-se o padrão misto característico de portadoras de X-DGC.

O diagnóstico pré-natal pode ser feito aplicando o teste do NBT a leucócitos isolados de amostras de sangue fetal, obtidas por punção percutânea umbilical ou de vasos placentários. Este procedimento pode ser feito com segurança entre a 17ª e 19ª semanas de gestação. O diagnóstico pré-natal de DGC ligada ao sexo ou autossômica pode também ser feito por meio de análise de DNA dos vilos coriônicos ou amniótico a partir da 10ª semana de gestação (DE BOER et al., 1992; DE BOER et al., 2002; HOSSLE et al., 1994; KENNEY et al., 1993).

De acordo com o Grupo Pan-Americano de Estudo em Imunodeficiências Primárias (PAGID), o diagnóstico de DGC é estabelecido para o indivíduo do sexo masculino ou feminino com teste de NBT ou atividade de explosão respiratória de neutrófilos alterados (menos de 5% dos controles) e que possuam 1 dos seguintes itens: mutação na *gp91-phox*, *p22-phox*, *p47-phox* ou *p67-phox*; ausência de mRNA observado por análise de “Northern blot” para um dos genes citados; mãe, primos, tios ou sobrinhos com alteração no teste de NBT ou explosão respiratória (CONLEY et al., 1999).

Outros achados laboratoriais inespecíficos refletem a presença de doença inflamatória crônica. Durante as infecções, observa-se neutrofilia e velocidade de hemossedimentação (VHS) elevado. A anemia secundária às infecções crônicas, muitas vezes agravada em função de distúrbios nutricionais, tem sua resolução durante os intervalos livres de infecção, sendo que os pacientes podem se beneficiar da terapia com ferro. Hipergamaglobulinemia policlonal é freqüente, com concentrações elevadas de IgG, IgM, e IgA (BRIDGES et al., 1959; ROOS & CURNUTTE, 1999; SEGAL, 1991). Outros testes de função imune são normais, podendo raramente ocorrer distúrbios na transformação blástica linfocitária ou quimiotaxia, provavelmente devido à infecção crônica. A atividade fagocítica pode estar normal ou aumentada (CONDINO-NETO et al., 1996; FORREST et al., 1988; ROOS & CURNUTTE, 1999).

1.3.6. Tratamento

Os cuidados profiláticos são de extrema importância para os indivíduos com DGC. Estes cuidados incluem a prevenção das infecções por meio de imunizações e remoção das fontes de patógenos; o uso de antibiótico profilático e o uso de interferon-gama humano recombinante. Em vigência de um quadro infeccioso é recomendado o uso

precoce e agressivo de antibióticos parenterais, para impedir que as infecções sobrepujem o já comprometido sistema imunológico do paciente com DGC e, para os casos de persistência de focos infecciosos ou difícil tratamento pode ser necessário a drenagem cirúrgica ou ressecção dos mesmos (ROOS & CURNUTTE, 1999).

Todos os pacientes devem receber as imunizações de rotina (incluídas as vacinas de vírus vivos atenuados), bem como a vacina anual contra influenza. Vacinas contendo bactérias vivas atenuadas, como a BCG, são contra-indicadas devido ao risco de reações adversas graves em imunodeficientes (CASANOVA et al., 1996; GRUMACH et al., 1997; PASIC et al., 1998).

Como há persistência do microrganismo no interior dos fagócitos, o antibiótico escolhido para profilaxia e tratamento das infecções deve ter capacidade de penetração e ação intracelular. Antibióticos lipofílicos, como a clindamicina, o sulfametoxazol+trimetoprim (SMZ+TMP) e a rifampicina possuem esta característica e devem ter preferência para uso em pacientes com DGC. Foi demonstrado que estes antibióticos podem reduzir a densidade bacteriana no interior de polimorfonucleares a níveis comparáveis aos de polimorfonucleares normais, ao passo que a dicloxacilina, a gentamicina e a cefazolina não foram eficazes contra o *Staphylococcus aureus* intracelular neste estudo (JACOBS & WILSON, 1983).

A profilaxia com SMZ+TMP (5 mg/kg/dia, via oral em uma ou duas doses, até o máximo de 160 mg de TMP) reduz pela metade a incidência de infecções bacterianas em pacientes com DGC (MARGOLIS et al., 1990; MOUY et al., 1989). A boa resposta a esta medicação suscitou estudos que tentavam explicar outros meios de ação além de puramente efeito antibiótico. A hipótese de que esta substância inibiria a enzima catalase bacteriana, permitindo assim a utilização do H_2O_2 produzido pela bactéria, não foi comprovada, assim como não o foi a hipótese de que ocorreria um aumento no metabolismo oxidativo (GMUNDER & SEGER, 1981; JOHNSTON et al., 1975). A possibilidade de sinergismo entre doses profiláticas de SMZ+TMP com mecanismos não dependentes do oxigênio não pode ser comprovada no estudo realizado por GMUNDER & SEGER (1981), entretanto, os autores sugerem que os experimentos sejam repetidos utilizando-se células intactas para que se crie um microambiente próximo do normal para o processo de degranulação. TSUJI et al. (2002) demonstraram que ocorre um aumento significativo na produção de óxido

nítrico por neutrófilos de pacientes com DGC em uso de SMZ+TMP profilático, sugerindo que os benefícios observados com o uso desta medicação devam-se a um incremento no metabolismo do óxido nítrico.

Para prevenir infecções fúngicas é recomendado o uso do itraconazol na dose de 10 mg/kg/dia (MOUY et al., 1994). Ainda não se tem estudos comparativos randomizados sobre os efeitos da profilaxia com itraconazol na redução da incidência de infecções fúngicas, entretanto, alguns estudos retrospectivos demonstram menor número de infecções pelo *Aspergillus* nos grupos de pacientes que receberam esta medicação (CALE et al., 2000; LIESE et al., 2000; MOUY et al., 1994).

O INF γ é capaz de ativar macrófagos *in vitro* e *in vivo*, estimulando a síntese de reativos intermediários do oxigênio a partir do sistema NADPH oxidase. Devido a esta característica, o INF γ , na forma do interferon-gama humano recombinante, começou a ser utilizado para os pacientes com DGC (1991). O interferon-gama humano recombinante está indicado na dose de 50 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ de superfície corporal, por via subcutânea, três vezes por semana. Ele reduz o risco relativo de infecções graves em 70% e seus efeitos colaterais mais frequentes são cefaléia moderada, febre baixa e outros sintomas constitucionais, dentro de poucas horas após sua administração. Seu mecanismo de ação, ainda não está totalmente esclarecido, e age particularmente bem nas formas variantes e autossômicas recessivas de DGC (BEMILLER et al., 1995; CONDINO-NETO et al., 1993; EZEKOWITZ et al., 1987; FORREST et al., 1988; PATINO et al., 1999a; WEENING et al., 1995). Recentemente demonstrou-se que o IFN- γ incrementa a fidelidade do "splicing" e a estabilidade dos transcritos do gene *CYBB* e, com isto, corrige parcialmente a expressão do componente gp91-*phox*, atenuando o fenótipo de DGC ligada ao sexo em uma família especialmente responsável ao IFN- γ (CONDINO-NETO & NEWBURGER, 2000; EZEKOWITZ et al., 1987; ISHIBASHI et al., 2001; RAE et al., 1998). CONDINO-NETO et al. (1996) avaliaram o efeito do interferon gama sobre a produção de óxido nítrico em pacientes com DGC em uso desta medicação por 6 meses, encontrando aumento na excreção urinário deste metabólito, porém não houve aumento na produção de óxido nítrico por polimorfo ou mononucleares. Alguns anos depois, AHLIN et al. (1999) demonstraram que os neutrófilos de pacientes com DGC em tratamento com interferon gama humano recombinante tem sua capacidade de produção de óxido nítrico aumentada, atribuindo o

efeito de proteção contra infecções que o interferon gama humano recombinante confere aos pacientes com DGC ao aumento na capacidade de produção de óxido nítrico pelos neutrófilos.

Os corticoesteróides são utilizados no controle dos granulomas inflamatórios que causam obstrução de trato gastrointestinal ou vias urinárias. A melhora clínica costuma ser observada na primeira semana de tratamento nos pacientes que receberam Prednisona na dose de 2mg/kg/dia (CHIN et al., 1987; COLLMAN & DICKERMAN, 1990; DANZIGER et al., 1993).

O transplante de medula óssea é uma alternativa de cura para a DGC. Além do transplante convencional, com mieloablação, tem sido realizado para estes pacientes o chamado “mini-transplante”, em que a imunossupressão não acarreta mieloablação. Entretanto, os dois métodos não estão isentos de complicações, tanto na fase de indução de imunossupressão quando após o transplante. Os estudos de grupos de pacientes submetidos a ambos os tipos de tratamento mostram que os resultados obtidos são melhores em crianças do que em adultos e concordam que o procedimento deve ser realizado com doador HLA-idêntico (HORWITZ et al., 2001; SEGER et al., 2002).

A terapia gênica tem sido estudada em modelos murinos de X-DGC e A-DGC e mostra restauração da função do sistema NADPH oxidase em cerca de 50 a 80% dos neutrófilos de X-DGC e em 8 a 17% dos neutrófilos de A-DGC. Estudos clínicos fase I baseados na transferência gênica mediada por retrovírus estão sendo realizados; MALECH et al. (1999) apresentaram 5 pacientes adultos com A47-DGC submetidos a terapia gênica com melhora da função do sistema NADPH oxidase após o procedimento (DINAUER et al., 2000; MALECH et al., 1997a; MALECH et al., 1997b).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Analisar aspectos clínicos de pacientes com infecções de repetição sugestivas de distúrbio fagocitário encaminhados a um laboratório especializado para avaliação do sistema NADPH oxidase.....

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Descrição do grupo de pacientes com alteração no sistema NADPH oxidase.
2. Descrição do grupo de pacientes que não apresentaram alteração no sistema NADPH oxidase.
3. Comparar os dados clínicos dos pacientes que apresentaram anormalidades no sistema NADPH oxidase com o grupo de pacientes em que não se confirmou anormalidades neste sistema.
4. Apresentar a evolução de um grupo de 18 pacientes com DGC.

.....

3. Casuística e Métodos

.....

3.1. MODELO DO ESTUDO

O presente estudo seguiu o modelo de estudo observacional descritivo de uma série de casos, com componentes retrospectivos, através da revisão de prontuários, e prospectivos.

3.2. CASUÍSTICA

Foram avaliados 29 pacientes encaminhados para o Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Investigação em Pediatria da Universidade Estadual de Campinas, com suspeita de imunodeficiência primária por alteração nas células fagocíticas, para que fosse realizado estudo do sistema NADPH oxidase. Os pacientes foram encaminhados de diversos serviços e apresentavam história sugestiva de defeito fagocitário, em particular DGC.

Após aceite do termo de consentimento esclarecido, foram realizadas anamnese detalhada e revisão de prontuário e coletada amostra de sangue venoso para os testes laboratoriais, que incluíram teste do NBT e dosagem de ânion superóxido.

Os dados clínicos considerados relevantes para pesquisa de imunodeficiência primária na anamnese e analisados neste estudo foram: locais acometidos por infecção em cada paciente, considerando-se separadamente a primeira infecção e todas as intercorrências infecciosas apresentadas até o momento do início do estudo; microrganismos isolados por cultura em vigência de infecção; necessidade de hospitalização para tratamento das infecções; reação vacinal; história familiar de infecção de repetição e/ou imunodeficiência primária. Também foi analisado o motivo pelo qual iniciou-se a pesquisa de imunodeficiência para cada paciente (diagnóstico de imunodeficiência primária em familiares, apenas uma infecção grave ou infecções de repetição), além do tempo decorrido entre a primeira manifestação infecciosa e o início da investigação imunológica.

Para avaliação do estado nutricional foram utilizados os gráficos de peso e estatura publicados pelo “National Center for Health Statistics” (NCHS) em 30 de maio de 2000 e modificados em 20 de abril de 2001 (<http://www.cdc.gov/growthcharts>).

Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com os resultados dos testes realizados em nosso laboratório (grupo I- pacientes com alteração no sistema NADPH oxidase; grupo II- pacientes sem alteração neste sistema).

3.3. MÉTODOS LABORATORIAIS

3.3.2. Coleta de sangue venoso periférico

A coleta de sangue foi realizada por meio de punção de veia periférica, com material estéril e descartável. Foram coletados 5ml para a realização do teste do NBT e 10ml para a dosagem de ânion superóxido.

3.3.2. Teste do NBT

Este teste baseia-se na redução do corante NBT para complexos azulados, denominados complexos de formazan, no interior de leucócitos (OCHS & IGO, 1973). A ausência de redução do corante ou quantidade de células positivas abaixo de 5% é necessária para o diagnóstico de DGC (CONLEY et al., 1999). Pacientes com DGC “variante” podem apresentar positividade do teste acima de 95%, mas com uma quantidade muito menor de formazan no interior das células. O teste foi realizado com 5ml de sangue venoso colocados, imediatamente após a coleta, sobre lâmina de vidro previamente incubada a 37°C por 30 minutos. Para cada paciente foi montada uma lâmina para análise das células em repouso, sobre a qual foi adicionado o corante NBT (Sigma N-6876) e PBS a uma concentração de 1mg/ml acrescido de 1µl/ml de dimetilsulfóxido (DMSO), e outra lâmina em que as células foram estimuladas com acetato de forbol-miristato (PMA, 1 µg/ml, concentração final). Todos os ensaios foram realizados simultaneamente com um controle sadio (OCHS & IGO, 1973; PATINO et al., 1999a).

3.3.3. Obtenção de Neutrófilos e Células Mononucleares do Sangue Periférico

A preparação da suspensão de neutrófilos e células mononucleares como populações celulares puras a partir do sangue periférico foi realizada utilizando-se um “kit” com gradientes de densidade descontínuos (Sigma Histopaque 1.077 g/ml e 1.119 g/ml, St.

Louis, E.U.A.) de acordo com as instruções do fabricante (ENGLISH & ANDERSEN, 1974).

Sumariamente, as amostras de sangue citratadas dos voluntários e pacientes, foram transferidas para outro tubo plástico contendo os gradientes de densidade descontínuos. A ordem dos reagentes dentro do tubo foi: Histopaque 1,119 g/ml (camada inferior), Histopaque 1,077 g/ml (camada intermediária), sangue (camada superior); respectivamente nas proporções de 25%, 25% e 50% (v/v/v). Esta mistura foi centrifugada a $700 \times g$ durante 30 minutos em temperatura ambiente, resultando em 3 camadas compostas predominantemente de: células mononucleares (camada superior), neutrófilos (camada intermediária) e hemácias (camada inferior). As camadas contendo células mononucleares e neutrófilos foram cuidadosa e individualmente transferidas para tubos distintos, ressuspensas em meio de Hanks (pH 7,4) sem cálcio e magnésio, suplementado com N-2-hidroetilpiperazina-N-2-etano ácido sulfônico (HEPES) (10 mM, solução salina equilibrada de Hank- HHBSS) e lavadas três vezes consecutivas nesse meio. Eritrócitos contaminantes foram lisados hipotonicamente, quando necessário. A contagem dos leucócitos foi determinada automaticamente (contador Coulter, modelo T 890, Hialeah, Fla., E.U.A.), sendo sua concentração ajustada conforme a necessidade dos experimentos, em HHBSS (pH 7,4), contendo cloreto de cálcio (1mM). A pureza das populações de neutrófilos e de células mononucleares foi, em média, de 95%, com viabilidade superior a 90%, avaliada pelo azul de tripan.

3.3.4. Dosagem do Ânion Superóxido Liberado por Neutrófilos e Células Mononucleares

A quantificação do ânion superóxido liberado pelos neutrófilos e células mononucleares dos voluntários e pacientes foi realizada de acordo com procedimento previamente publicado e modificado por CONDINO-NETO (CONDINO-NETO et al., 1996; CONDINO-NETO et al., 1993; MCCORD & FRIDOVICH, 1969).

Resumidamente, as suspensões de neutrófilos e de células mononucleares numa concentração final de 2×10^6 céls./ml em HHBSS (pH 7,4, CaCl_2 1mM), obtidas como descrito no item anterior, foram incubadas com forbol-miristato-acetato (PMA, 30 nM) ou zimosan (ZIM, 100 partículas/célula), na presença de citocromo C (80 μM), durante 60

minutos a 37°C. A liberação espontânea de ânion superóxido foi avaliada usando-se HHBSS, ao invés de PMA ou ZIM. Metade dos tubos continha superóxido dismutase (SOD, 90 U/ml) no início do experimento, como controle da redução inespecífica do citocromo C. A reação foi interrompida, colocando-se todos os tubos em banho de gelo e adicionando-se SOD (90 U/ml) aos que não a continham. Após centrifugar os tubos a 2200 x g durante 15 minutos a 4°C, foi medida a absorbância de seus sobrenadantes a 550nm. A produção de ânion superóxido foi calculada usando-se um coeficiente de extinção de 21.100 M⁻¹ cm⁻¹ e os resultados expressos em nmols/ 10⁶ células/hora. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

3.4. Análise Estatística

Os dados obtidos na anamnese foram submetidos à análise exploratória. As comparações entre os dois grupos foi feita pelo teste exato de FISCHER bicaudal, levando-se em consideração o nível de significância de 5% (LEVIN, 1987).

4. Resultados

Foram comparados dados clínicos de 29 pacientes (10 pacientes do sexo feminino e 19 pacientes do sexo masculino) encaminhados de diversos serviços para o Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Investigação em Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, com suspeita de defeitos de fagócitos, para investigação específica de defeitos do sistema NADPH oxidase.

Todos os pacientes, com exceção de 2 pacientes que tinham irmãos com diagnóstico de DGC, apresentavam infecções graves e/ou de repetição acometendo órgãos de barreira, tendo necessitado hospitalização e antibioticoterapia parenteral para controle de infecções, e já haviam iniciado investigação de imunodeficiência primária nos serviços de origem.

Com base nos resultados dos estudos bioquímicos para avaliação do sistema NADPH oxidase, os pacientes foram divididos em dois grupos: o primeiro grupo, composto de 4 pacientes do sexo feminino e 14 do sexo masculino, apresentava teste de NBT e/ou dosagem de ânion superóxido compatíveis com DGC; o segundo grupo, composto de 6 pacientes do sexo feminino e 5 do sexo masculino, apresentava teste de NBT e/ou dosagem de ânion superóxido normais. No grupo I foram identificadas 5 portadoras de DGC através do método do NBT.

O grupo I foi então composto por 18 pacientes de 14 famílias (Figura 9), todas sem consanguinidade, com primeira infecção tendo acontecido entre 15 dias de vida e 10 anos de idade (média: 21,9 meses; mediana: 60,25 meses) e com idade entre 2 meses e 13 anos e 6 meses ao início do estudo (média: 79 meses e mediana: 56 meses). Neste grupo, 6 pacientes apresentavam peso e estatura acima do percentil 50; 4 pacientes tinham peso e estatura abaixo do percentil 5; os demais pacientes concentravam-se entre os percentis 10 e 50.

No grupo II foram estudados 11 pacientes, de 11 diferentes famílias (Figura 10), também sem consanguinidade, com primeira infecção ocorrendo entre 15 dias de vida e 7 anos (média: 19,9 meses; mediana: 42,25 meses). Ao início do estudo, estes pacientes apresentavam entre 4 meses e 26 anos (média: 81,45 meses; mediana: 158 meses). Em relação ao estado nutricional, 1 paciente estava acima do percentil 50 para peso e idade e outro abaixo do percentil 5; os demais pacientes apresentavam peso e estatura entre os percentis 10 e 50.

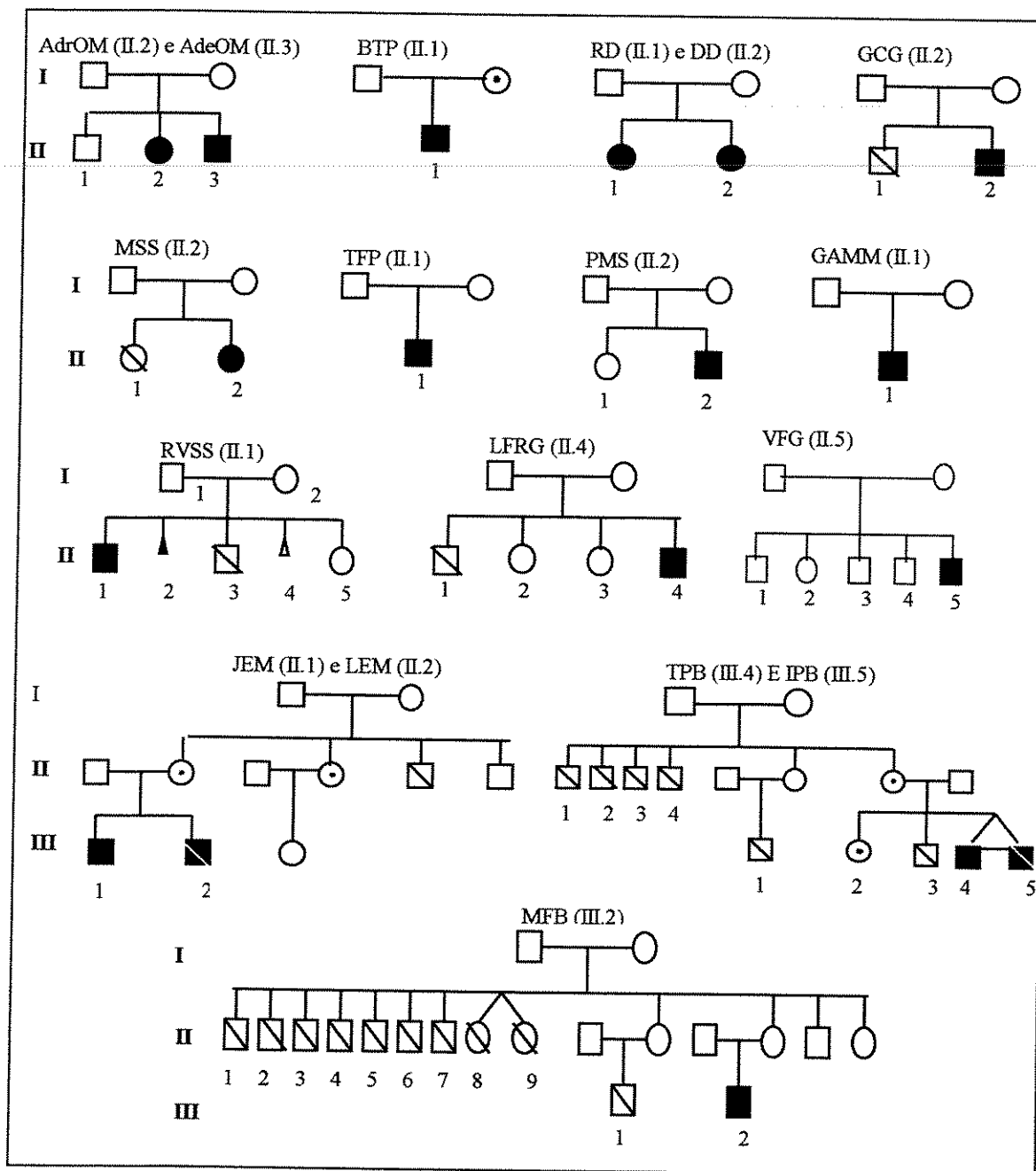


Figura 9. Heredogramas representativos dos pacientes do Grupo I. Os símbolos (■) e (●) representam os indivíduos, do sexo masculino e feminino respectivamente, estudados e nos quais se confirmou alteração no sistema NADPH oxidase; o símbolo (⊙) representa portadoras do gene da DGC; os símbolos com traço diagonal indicam história de infecção de repetição com conseqüente óbito.

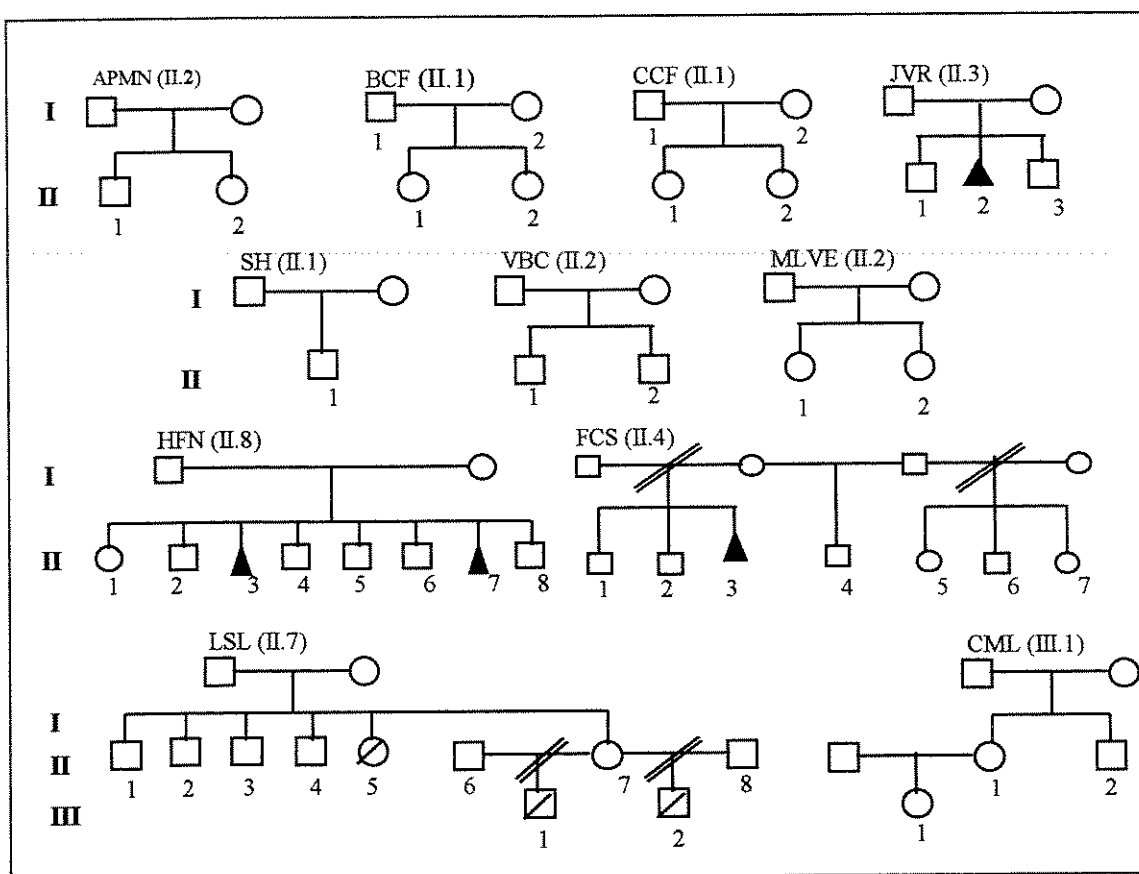


Figura 10. Heredogramas representativos dos pacientes do Grupo II. Os símbolos $\square$ e $\circ$ representam os indivíduos do sexo masculino e feminino respectivamente; o símbolo ($\blacktriangle$) representa a ocorrência de abortos.

Ao iniciar este estudo, todos os pacientes apresentavam sorologia negativa para vírus da imunodeficiência humana (HIV). A avaliação inicial do sistema complemento, com dosagem de CH50, AP50, C3 e C4, realizada em 4 pacientes do grupo II e 9 pacientes do grupo I, apresentava-se normal. No grupo I, havia sido realizada dosagem de imunoglobulinas em 15 pacientes, estando o nível sérico aumentado em 11 pacientes (6 pacientes com aumento de IgA, IgG e IgM; 1 paciente com aumento de IgG e IgM; 2 pacientes com aumento de IgG e IgA; 1 paciente com aumento de IgA e 1 paciente com aumento de IgG); no grupo II 10 pacientes traziam dosagem de imunoglobulinas, que estava aumentada em 4 pacientes (1 paciente com aumento de IgA, 1 com aumento de IgG e 2 com aumento de IgG e IgM). O leucograma apresentava-se normal em 9 pacientes do

grupo I, com leucocitose em 4 pacientes do grupo II e em 8 pacientes do grupo I e com leucopenia em 7 pacientes do grupo II.

Em alguns pacientes, outros estudos da função fagocitária já haviam sido realizados: atividade bactericida (diminuída em 3 pacientes e normal em 1 pacientes do grupo I), fagocitose (normal em 5 e diminuída em 2 pacientes do grupo I; normal em 1 paciente do grupo II), quimiotaxia (diminuída em 4 e normal em 3 pacientes do grupo I; normal em 2 pacientes do grupo II). Além disso, a atividade “natural killer” (NK) estava normal no único paciente em que foi realizada e a atividade proliferativa de linfócitos estava normal em 2 pacientes do grupo I e diminuída em 1 paciente do grupo II.

A dosagem de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) estava normal em 1 paciente e diminuída em outro paciente, ambos do grupo I.

O motivo pelo qual os pacientes iniciaram investigação de imunodeficiência primária foi: diagnóstico familiar de imunodeficiência primária em 2 pacientes do grupo I, infecção grave em 4 pacientes do grupo I e 3 pacientes do grupo II, infecções de repetição em 12 pacientes do grupo I e 9 pacientes do grupo II.

No grupo I, todos os pacientes com padrão de herança autossômica recessiva (AdrOM, AdeOM, DD, RD, MSS) apresentaram o primeiro quadro infeccioso após os 2 anos de idade (média: 5,5 anos; mediana: 6,2 anos), enquanto os demais pacientes apresentaram a primeira infecção antes dos 2 anos (média: 4,53 meses; mediana: 9,25 meses). Mesmo excluindo-se os 3 pacientes do sexo masculino que não apresentavam maiores evidências para herança ligada ao X (GAMM, PMS, TFP), a diferença quanto à idade de início das manifestações foi estatisticamente significativa ($p=0,0003$).

As manifestações iniciais dos pacientes do grupo I consistiram principalmente de infecções cutâneas e pulmonares, seguidas de adenites. Neste grupo, 1 paciente (GAMM) apresentava diarreia crônica desde os 2 meses, com biópsia compatível com processo inflamatório crônico e resolução do quadro após tratamento com sulfassalazina e prednisona; no segundo ano de vida apresentou abscesso perianal, otite supurada bilateral e estomatite e foi encaminhado para o ambulatório de Imunologia.

Também no grupo II predominaram as infecções pulmonares e as piodermites na apresentação inicial do quadro, porém as infecções do trato urinário, que não apareceram no grupo I, corresponderam à terceira infecção mais comum no grupo II.

A análise estatística referente à primeira infecção apresentada em cada grupo não foi significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Primeira infecção apresentada pelos pacientes de cada grupo e resultado da análise estatística para cada variável estudada.

Primeira Infecção	Grupo I	Grupo II	p
Pele	7	3	0,6942
Pulmão	6	3	1
Linfonodo	3	1	1
Trato Urinário	0	2	0,1355
Seios da Face	0	1	0,3793
Mastóide	1	0	1
Ouvido	1	0	1
Amígdala	0	1	0,3793
Osso	1	0	1
Sepse	1	0	1

Até o início da investigação de imunodeficiência primária, a maioria dos pacientes do grupo I havia apresentado pneumonia (66,66%), seguida de adenites, infecções cutâneas e abscessos profundos. No grupo II, predominaram também as pneumonias (81,81%), entretanto seguidas de otites, infecção urinária e amigdalite (Figura 10). Um paciente do grupo I possuía diagnóstico prévio de Histiocitose.

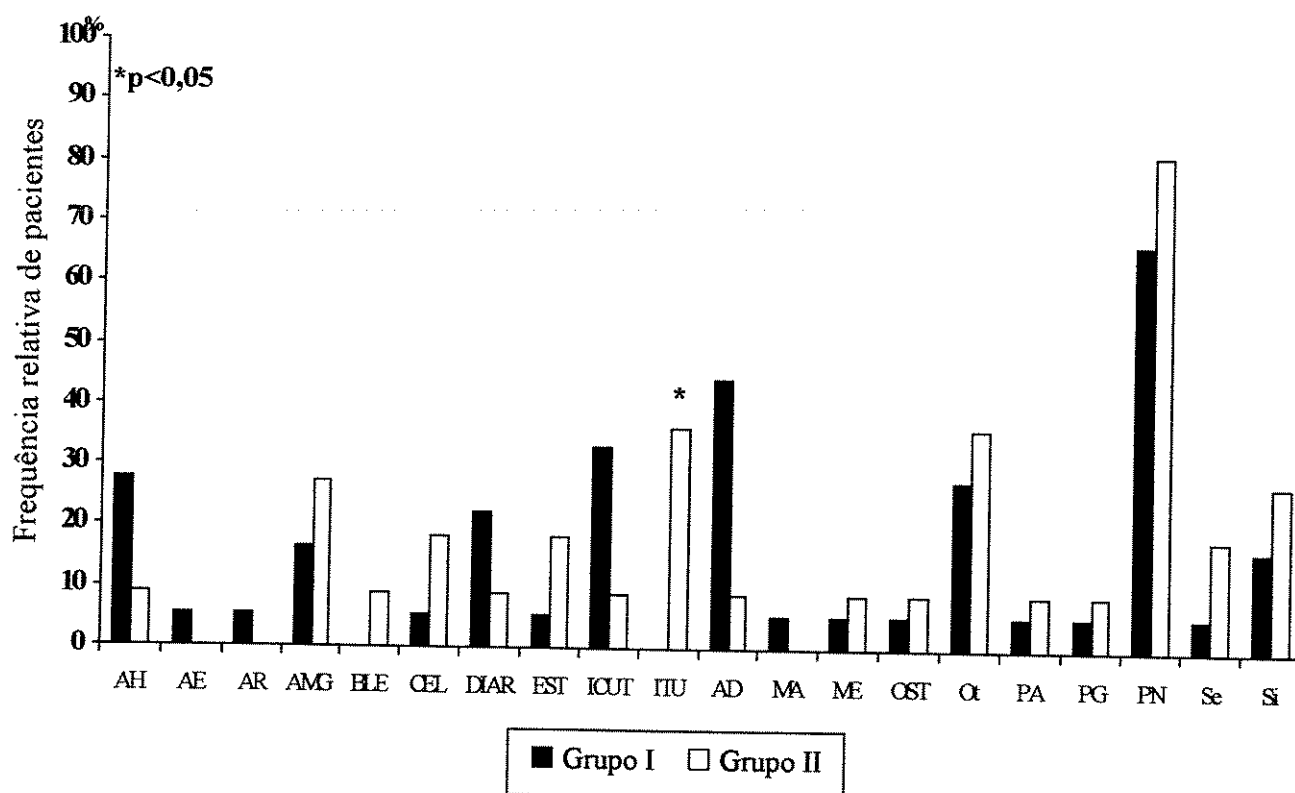


Figura 11. Frequência relativa de infecções. Estão representados neste gráfico os tipos de infecção apresentadas pelos pacientes de cada um dos grupos estudados, sendo HA- abscesso hepático; HE- abscesso esplênico; HR- abscesso renal; Am- amigdalite; Ble- blefarite; Cel- celulite; Diar- diarreia; Est- estomatite; ICUT- infecção cutânea; ITU- infecção do trato urinário; Ad- linfadenite; Ma- mastoidite; Me- meningite; Ost- osteomielite; Ot- otite média aguda; PA- pioartrite; PG- pioderma gangrenoso; PN- pneumonia; Se- sepse; SI- sinusite.

Observou-se diferença estatisticamente significativa para infecção urinária, presente em 4 pacientes no grupo II e sem representantes no grupo I (Figura 12).

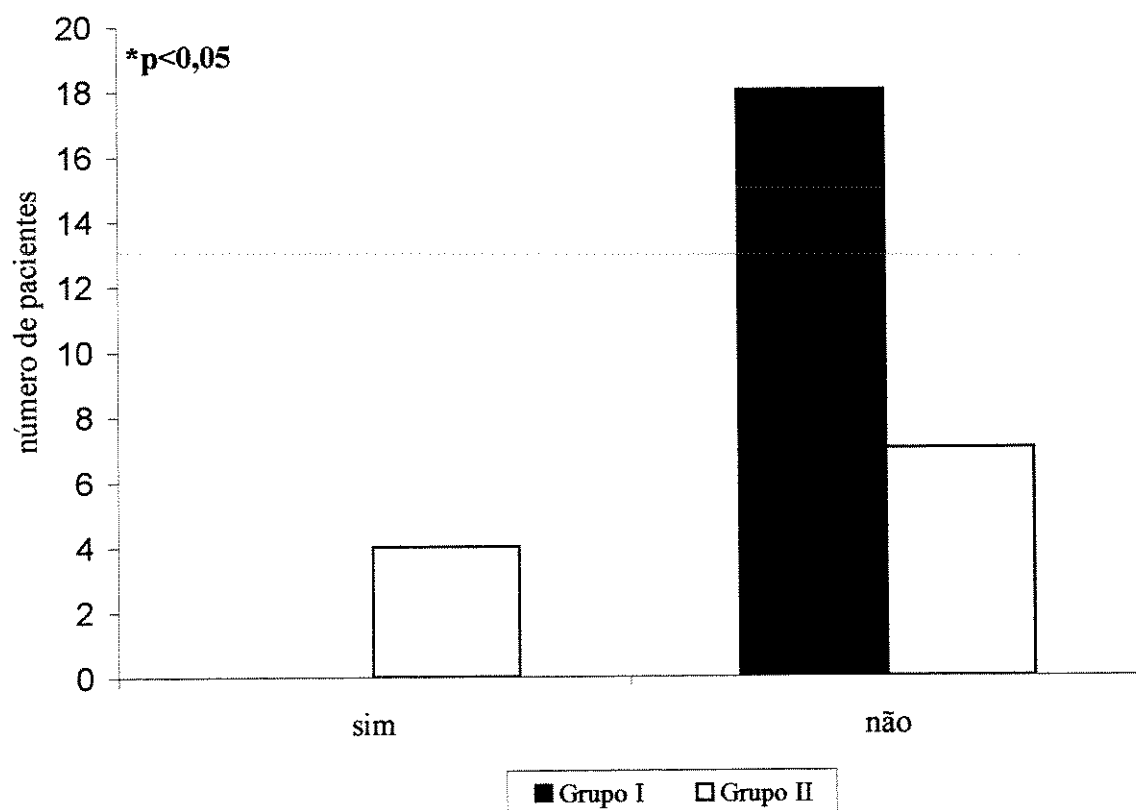


Figura 12. Infecção urinária. Este gráfico representa o número de pacientes que apresentaram, ou não, infecção urinária nos grupos I e II. Há diferença estatística significativa quanto à ocorrência de infecção urinária entre os grupos ($p=0,01$).

A história familiar de infecção de repetição foi referida por 11 pacientes do grupo I e por apenas um paciente do grupo II. A análise estatística desta variável indicou uma forte associação entre a presença de história familiar de infecção de repetição e o diagnóstico bioquímico de DGC ($p=0,008$) (Figura 13).

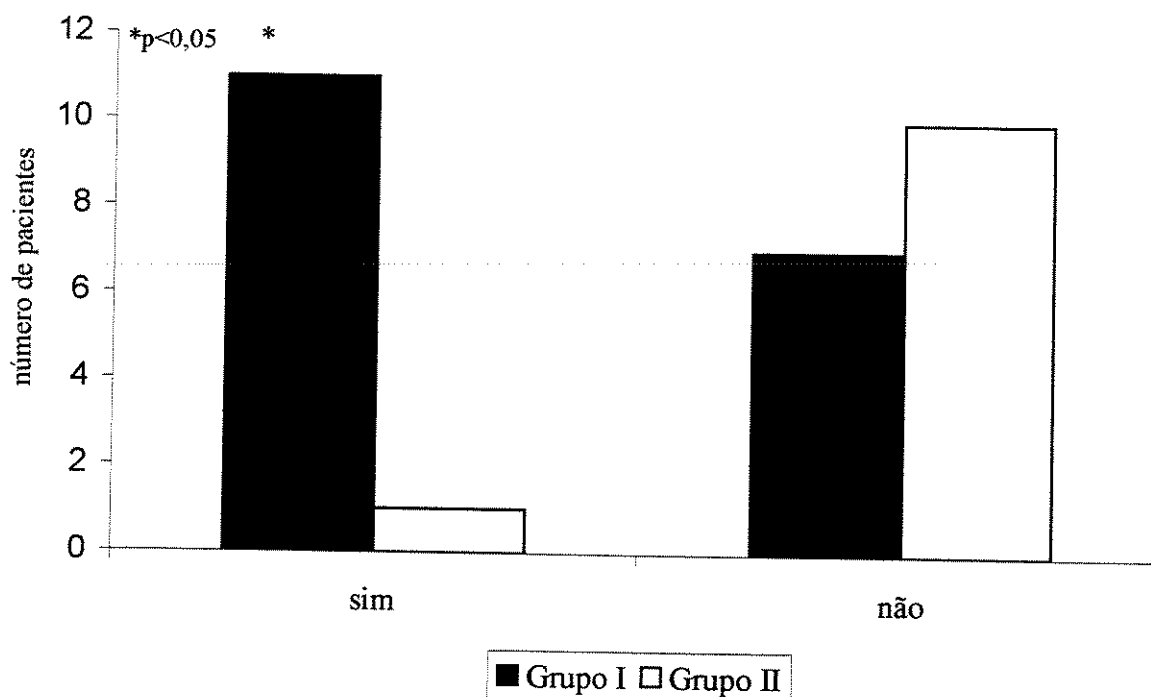


Figura 13. História familiar de infecção de repetição. Este gráfico apresenta o número de pacientes com história familiar de infecção de repetição, ou não, nos dois grupos estudados ($p = 0,008$).

As reações adversas à vacina BCG estiveram presentes na forma de úlcera maior que 1 cm de diâmetro, profunda, e que não cicatrizou até 6 meses depois da aplicação da vacina, linfadenopatia regional supurada e reação disseminada. Apenas pacientes do grupo I ($n=5$) apresentaram reação adversa à BCG, entretanto, a diferença observada entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p=0,1261$).

Entre os agentes causadores dos processos infecciosos destacaram-se: o *Staphylococcus aureus*, presente nos 2 grupos, e a *Burkholderia cepacea*, presente em 2 pacientes do grupo I. O *Aspergillus sp* foi isolado em fragmento pulmonar de 1 paciente do grupo I e *Mycobacterium tuberculosis* foi isolado em lavado broncoalveolar de 1 pacientes do grupo II (Tabela 3).

Tabela 3. Microrganismos isolados em culturas.

Local	Microrganismo isolado	Microrganismo isolado
	Grupo I	Grupo II
Pele	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Chromobacterium violaceae</i>	
Linfonodo	<i>Burkholderia. cepacea</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Pulmão	<i>Burkholderia. cepacea</i>	
	<i>Aspergillus sp</i>	
LBA	<i>Candida sp</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
	<i>Klebsiella sp</i>	
Fígado	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Rins	<i>Staphylococcus aureus</i>	
SNC		<i>Klebsiella oxytoca</i>
Sangue	<i>Burkholderia cepacea</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Propionebacterium sp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Medula óssea		<i>Histoplasma sp</i>

LBA- lavado broncoalveolar; SNC- sistema nervoso central.

O tempo decorrente entre a primeira manifestação infecciosa e o diagnóstico de DGC nos pacientes do grupo I foi em média de 2 anos e 1 mês; um paciente cujo irmão possuía diagnóstico prévio de DGC teve seu diagnóstico estabelecido precocemente, 6 meses antes de apresentar a primeira infecção.

Entre os 18 pacientes com diagnóstico de DGC, 3 perderam seguimento e assim não temos informações sobre a evolução clínica dos mesmos; 4 pacientes evoluíram para óbito (3 com pneumonia e sepse, e 1 com tuberculose disseminada). Dos pacientes em seguimento, 9 recebem SMZ+TMP e itraconazol profiláticos. O uso do INFγ humano recombinante é utilizado por 4 pacientes; 1 interrompeu o uso devido a efeitos colaterais. Três pacientes apresentaram granulomas com quadro clínico de obstrução: 1 paciente com

granuloma esofágico (Figura 14), outro com granuloma gástrico (Figura 15) e o terceiro com granuloma gástrico e mediastinal.

Foram identificadas 6 portadoras de DGC em 4 famílias do grupo I. Apenas 1 apresentava sintomas, com estomatite recorrente e lesão hiperocrômica em dorso do nariz, com anátomo-patológico compatível com lupus discóide.

Os pacientes do grupo I que prosseguem seguimento clínico, estão em avaliação em nosso laboratório para identificar da mutação responsável pelo fenótipo da DGC. Os pacientes do grupo II permanecem em investigação para esclarecimento do diagnóstico nos serviços de origem.



Figura 14. Granuloma esofágico. Exame contrastado do esôfago, estômago e duodeno, do paciente JEM. Observa-se estreitamento no terço médio do esôfago, correspondendo a compressão extrínseca por granuloma.

.....

5. Discussão

.....

Este estudo analisou dados clínicos de 29 pacientes encaminhados para o Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Investigação em Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, comparando os achados clínicos dos pacientes em que se constatou alteração do sistema NADPH oxidase (grupo I) com o grupo em que este sistema apresentava-se normal (grupo II).

O predomínio de indivíduos do sexo masculino no grupo I e de indivíduos do sexo feminino no grupo II não apresentou diferença estatisticamente significativa. Entretanto maior frequência de meninos no grupo I pode ser explicada pelo fato da herança ligada ao X ser a principal forma de apresentação da DGC, correspondendo a mais da metade dos casos. Embora em 1 desses pacientes (AdeOM) já tenha sido identificada mutação na proteína p47-*phox* (PRANDO et al., 2002), correspondendo a uma forma autossômica recessiva da doença, a 4 pacientes (TPB, IPB, LFRG, BTP) pode-se atribuir herança ligada ao X pelo fato de possuírem mãe, irmã ou tia com padrão de portadoras no teste de redução do NBT, e a outros 3 pacientes (MFB, RVSS, GCG) por apresentarem histórico familiar de infecção de repetição em indivíduos do sexo masculino. Em 1 paciente (JEM), além da identificação do estado de portadora para a mãe e uma tia materna, o sequenciamento genético prévio identificou uma mutação no exon 5 da gp91-*phox* (PATINO et al., 1999a) e portanto pode-se atribuir a herança ligada ao X também ao seu irmão (LEM).

Em relação ao estado nutricional, maior número de pacientes encontrava-se abaixo do percentil 50 para o peso, entretanto, o grupo I apresentou maior número de pacientes com peso abaixo do percentil 5. A estatura estava intensamente comprometida em 3 pacientes do grupo I e em apenas 1 paciente do grupo II. O comprometimento de peso e estatura nos dois grupos poderia ser atribuído ao grande número de infecções, entretanto não foi possível obter dados suficientes para estabelecer uma correlação efetiva. No caso de pacientes com DGC, embora se observe baixa estatura na infância, quando na idade adulta sua estatura tende a se equiparar a dos progenitores (BUESCHER & GALLIN, 1984; PAYNE et al., 1983).

Embora a idade de início das manifestações infecciosas não tenha apresentado diferença estatística significativa, é interessante observar a diferença que existe dentro do grupo I, entre os pacientes do sexo feminino e masculino. Assim como em outras séries de

pacientes com DGC apresentadas na literatura (CALE et al., 2000; FORREST et al., 1988; LIESE et al., 2000; LIESE et al., 1996; WINKELSTEIN et al., 2000), entre os pacientes diagnosticados neste estudo, observou-se idade de início dos quadros infecciosos abaixo dos 2 anos de idade para os casos tidos como X-DGC.

Além desta diferença em relação ao início dos sintomas, os pacientes com A-DGC têm apresentado evolução mais favorável em relação aos X-DGC (FORREST et al., 1988; LIESE et al., 2000; WINKELSTEIN et al., 2000). Em especial 2 pacientes com A-DGC (AdrOM e AdeOM), que apresentam a mesma deleção GT no início do exon 2 do gene *NCF-1* identificada na quase a totalidade de A47-DGC estudados até o momento (CROSS et al., 2000), iniciaram manifestação clínica aos 10 anos de idade e com exceção de 1 infecção pulmonar grave em AdrOM, que foi o motivo da investigação de imunodeficiência primária, evoluíram sem infecções graves. AdrOM abandonou o uso do INF γ e antibiótico profiláticos cerca de 1 ano após o diagnóstico e em 7 anos apresentou apenas 1 abscesso em região perineal tratado ambulatorialmente; ao contrário, embora mantenha o uso das medicações profiláticas, ainda que de forma irregular, JEM tem apresentado pneumonias (*Aspergillus* isolado em 1 episódio), infecções de pele e granuloma esofágico.

Os pacientes de ambos os grupos apresentavam infecções causadas por agentes comuns na DGC. Nestes pacientes há maior suscetibilidade a bactérias catalase-positivas, bem como germes intracelulares e oportunistas. O *Staphylococcus aureus* foi o agente isolado com maior frequência, responsável por infecções em 4 pacientes do grupo I e 2 pacientes do grupo II. Entretanto, a *Burkholderia cepacea*, apresentada na literatura como altamente específica para DGC, foi isolada apenas em pacientes do grupo I, como causa de pneumonia e sepse em 1 paciente e adenite em outro (SPEERT et al., 1994). O *Aspergillus* é um patógeno importante como causa de pneumonia na DGC, e foi causa de pneumonia em 1 paciente do grupo I (JEM).

As infecções pulmonares são a forma mais comum de infecção invasiva na DGC (FORREST et al., 1988; GALLIN & BUESCHER, 1983; MOUY et al., 1989; WINKELSTEIN et al., 2000) e estiveram presentes em 72% (n=13) dos pacientes do grupo I, na forma de pneumonia em 12 pacientes e de pneumonia com derrame pleural em 1 paciente. O envolvimento pulmonar está associado a aumento significativo da morbidade e

da mortalidade, uma vez que pneumonias de repetição podem evoluir para bronquiectasia e fibrose pulmonar. Observou-se aqui padrões diferentes na evolução do quadro pulmonar entre 1 paciente X-DGC e outro A47-DGC. BTP teve pneumonias de repetição com evolução para fibrose pulmonar e atualmente apresenta prova de função pulmonar alterada e extensas áreas de fibrose observadas nos exames de imagem. Já a paciente AdrOM, portadora da forma autossômica recessiva da DGC apresentou pneumonia grave, de difícil tratamento evoluindo com alteração importante das provas de função pulmonar até cerca de 2 anos após a infecção, entretanto, em 5 anos, esta paciente passou a apresentar prova de função pulmonar e exames de imagem normais.

O trato gastrointestinal é local freqüente de complicações infecciosas e/ou inflamatórias na DGC (FORREST et al., 1988). Com o aumento da sobrevida observado atualmente, as complicações gastrointestinais têm se tornado mais importantes. MULHOLLAND et al. (1983) encontraram acometimento gastrointestinal em 55% dos pacientes acompanhados num período de 10 anos, estando estes eventos relacionados a 18% do total de internações. A complicação mais freqüente na casuística apresentada por aquele autor foi o abscesso hepático, que esteve presente em 5 dos 18 pacientes do grupo I deste estudo. Antes de estabelecido o diagnóstico de DGC e instituídas as medidas profiláticas, um desses pacientes (VFG) apresentou 8 episódios de abscesso hepático, todos tratados com drenagem cirúrgica e antibióticos parenterais.

Em agosto de 2002, BTP apresentou abscesso hepático tratado com antibióticos parenterais por 20 dias, mantendo imagem ultrassonográfica inalterada e febre constante, não podendo ser realizada drenagem cirúrgica do abscesso em função do comprometimento pulmonar não oferecer condições adequadas para o procedimento anestésico. A punção do local acometido apresentou saída de pequena quantidade de secreção purulenta com culturas negativas. Como o paciente apresentava melhora do estado geral, hemograma normal e cultura da secreção normal, foi associada Prednisona (2mg/kg/dia) à Vancomicina, na tentativa de controlar o processo inflamatório e na primeira semana já se pode observar redução do tamanho da imagem hipocóica ao ultrassom e o paciente manteve-se afebril.

O tratamento dos granulomas inflamatórios em tratos gastrointestinal e urinário tem sido bem sucedido com o uso de corticoesteróides por via parenteral ou oral. Com o uso

de antibióticos parenterais obteve-se regressão dos granulomas em alguns casos, porém as recidivas aconteceram mais precocemente do que observado no tratamento com corticoesteróide associado ou não aos antibióticos (AL-TAWIL et al., 1996; CHANDRA et al., 1986; CHIN et al., 1987; DANZIGER et al., 1993; GRANOT et al., 1986; HILLER et al., 1995; RENNER et al., 1991; VARMA et al., 1982). No caso dos nossos pacientes, além do uso do corticoesteróide no caso do paciente BTP, foi realizada videotoracoscopia com biópsia dos granulomas que um paciente (GCG) deste estudo apresentou em mediastino, sem evidências de infecção; para os outros dois episódios de formação de granuloma (JEM, GCG) não foi realizada biópsia da lesão, porém considerou-se descartada etiologia infecciosa com base em aspectos clínicos e hemograma sem evidências de processo infeccioso. O tratamento dos quadros obstrutivos foi realizado com Prednisona 1 a 2 mg/kg/dia, com resolução completa do quadro e sem recidivas até o momento.

A infecção urinária de repetição esteve fortemente associada ao grupo II, sem representantes no grupo I. No grupo I a única forma de acometimento de vias urinárias aconteceu na forma de abscesso renal. Infecções urinárias de repetição têm maior associação com fatores hormonais e anatômicos do que imunológicos (HEXTALL, 2000; HOOTON, 2001; MALONEY, 2002; NUUTINEN, Uhari, 2001; WINIECKA et al., 2002). Estudos em modelo animal observaram que as respostas mediadas por anticorpos estão mais associadas a defeitos de células T ou de fagócitos (FLOEGE et al., 1990; SVANBORG EDEN et al., 1985). Assim, é prudente a investigação da anatomia das vias urinárias e da possibilidade de granulomas causando obstrução em vias urinárias de pacientes com DGC apresentando infecção urinária de repetição.

Para um paciente do grupo I, a biópsia de lesões da pele estabeleceu o diagnóstico de Histiocitose, entretanto não houve resposta adequada aos tratamentos instituídos. Até os 13 anos, este paciente havia apresentado 15 pneumonias, otite média crônica desde os 2 meses, 2 episódios de sinusite, adenite cervical recorrente e 8 abscessos hepáticos (em 3 foi isolado *Staphylococcus aureus*). Foi encaminhado ao Laboratório de Biologia Molecular em agosto de 2002, quando se diagnosticou DGC. Os histiócitos “azul-marinho”, como os visualizados na biópsia deste paciente, estão presentes em várias patologias, sendo que a maioria delas associa-se a alterações hematológicas ou neurológicas; eles caracterizam-se por conterem grânulos com acúmulo de

glicoesfingolipídeos que se tornam azulados quando corados com Giemsa (INVERNIZZI et al., 1979; TANAKA et al., 1984). O material encontrado no interior dos grânulos citoplasmáticos parece acontecer devido ao acúmulo de produtos de degradação devido a aumento da atividade fagocítica, ou talvez por alteração no mecanismo de degradação de lipídeos. Histiócitos pigmentados foram descritos nos primeiros pacientes com DGC (LANDING & SHIRKEY, 1957). GAHR et al (1991) descrevem a presença de histiócitos “azul-marinho” na medula óssea de uma paciente com forma variante de DGC e supõem que o acúmulo de metabólitos determinado pela degradação parcial de material fagocitado resulte na transformação de monócitos e macrófagos em histiócitos “azul-marinho” (GAHR et al., 1991). Diante destes fatos e considerando que o paciente não apresentou resposta a dois diferentes protocolos para tratamento de histiocitose, é possível que as lesões de pele façam parte do quadro de DGC e que estes histiócitos correspondam ao histiócitos pigmentados que se observa na própria DGC.

A via das hexoses monofosfato é responsável pela produção de NADPH. Quando os níveis de G6PD, primeira enzima desta via, estão abaixo de 5% do normal nos neutrófilos fica prejudicada a produção de NADPH e conseqüentemente a produção de compostos reativos do oxigênio. Um paciente (RVSS) apresentava níveis reduzidos de G6PD eritrocitária, sem hemólise e com infecções de repetição graves. O teste de redução do NBT mostrou-se alterado e a dosagem de ânion superóxido liberado por mononucleares e polimorfonucleares estava muito comprometida, estando estes resultados compatíveis com DGC (ROSA-BORGES et al., 2001). Este paciente está em estudo para avaliação molecular dos componentes do sistema NADPH oxidase.

É recomendado a todos os pacientes com DGC o uso de SMZ+TMP e itraconazol profiláticos, além do INF γ . Dos 13 pacientes em seguimento apenas 4 fazem uso do INF γ , devido, principalmente, ao elevado custo do tratamento. Embora tenha apresentado leucopenia relacionada ao uso do INF γ , GCG manteve o uso da medicação em ciclos de 3 a 4 meses a cada 3 meses. Cefaléia e hipertermia estiveram presentes após cada aplicação em 1 paciente (BTP) levando-o a interromper o uso da medicação.

Entre as 6 portadoras de DGC, 1 apresentava estomatite recorrente e lesão hipercrômica em dorso do nariz, com anátomo-patológico compatível com lupus discóide. Estes achados são freqüentemente relatados em portadoras (FORREST et al., 1988).

É de extrema importância que o diagnóstico de DGC seja feito precocemente para que os cuidados profiláticos sejam instituídos, a fim de se evitar seqüelas que poderiam ocorrer em razão dos processos infecciosos. Também é importante o diagnóstico precoce para o adequado aconselhamento genético devido à característica hereditária da DGC.

A presença de história familiar de imunodeficiência primária é um dos 10 sinais propostos pela Fundação Jeffrey Modell que devem servir como alerta para investigação de defeitos imunológicos. Apesar do desenvolvimento de métodos diagnósticos na área da imunologia, em nosso país são poucos os casos diagnosticados de imunodeficiência primária (GRUMACH et al., 1997; ZELAZKO et al., 1998). Assim, a presença de história familiar de infecção de repetição teria um peso maior para a suspeita de imunodeficiência primária do que o diagnóstico já estabelecido de imunodeficiência primária em familiares. De fato, a história positiva de infecções de repetição apresentou forte associação ao grupo com diagnóstico bioquímico de DGC, sendo que de 5 pacientes com este dado positivo, apenas 2, com irmãos previamente diagnosticados para DGC, foram encaminhados para avaliação antes do início de processos infecciosos graves. Além disso, dois pacientes (MFB e TPB) referiam história de infecção de repetição e óbito por infecções na geração anterior a sua.

Com relação aos cuidados de prevenção, deve-se ressaltar a contra-indicação vacinas contendo bactérias vivas atenuadas, como a BCG, devido ao risco de reações adversas graves (CASANOVA et al., 1996; GRUMACH et al., 1997; JACOB et al., 1996; PASIC et al., 1998). Em relação ao nosso país, a BCG é a primeira vacina a ser aplicada, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde e da Sociedade Brasileira de Pediatria. Identificamos, entre os pacientes com diagnóstico de DGC, 5 pacientes que apresentaram reação a esta vacina, incluindo 1 paciente com BCG disseminada. Destas crianças, 2 apresentavam história familiar de infecção de repetição e os pais poderiam ter sido alertados para investigação do sistema imunológico da criança antes da vacinação. Posteriormente, para o irmão de um destes pacientes, foi orientado, antes do seu nascimento, que os pais não o vacinassem com a BCG até que investigação do sistema NADPH oxidase fosse concluída; como o diagnóstico de DGC foi confirmado, evitou-se neste caso uma possível reação à BCG, que nestes pacientes pode levar ao óbito. Embora a

ocorrência ou não de reação à vacina BCG não tenha resultado em diferença estatisticamente significativa nos grupos estudados, por se tratar de uma complicação extremamente grave, é recomendável que indivíduos com história familiar de infecções de repetição ou de imunodeficiência primária não recebam este imunobiológico antes que se averigüe a resposta imune celular e de fagócitos. Entre os estudos com grande número de casos de DGC não se faz referência à ocorrência ou não de reação adversa à BCG (CALE et al., 2000; LIESE et al., 2000; WINKELSTEIN et al., 2000).

O diagnóstico de DGC deve ser aventado em qualquer indivíduo, independente da idade, com história de infecções purulentas crônicas ou de repetição, ou que apresente infecção invasiva por *B. cepacia*, *S. marcescens*, ou patógenos oportunistas como *Aspergillus* e *Nocardia*. O teste NBT é um método simples para o diagnóstico de DGC, além de possibilitar a identificação de portadoras sãs do gene da DGC ligada ao sexo. Outro teste capaz de detectar portadoras é a DHR, entretanto este método requer equipamento mais sofisticado, o que implica em maior custo, não se adequando à situação de muitos serviços de nosso país.

Atualmente, as técnicas de Biologia Molecular permitem a identificação do gene alterado e sua respectiva mutação, sendo este um dos critérios para o diagnóstico definitivo proposto pelo PAGID (CONLEY et al., 1999). A técnica de RT-PCR tem se mostrado um método útil para a detecção do componente do sistema NADPH oxidase alterado; em relação ao método de “Western-Blot”, o RT-PCR é mais rápido, tecnicamente menos complicado e de menor custo (AGUDELO et al., 2002).

No Brasil o número de casos de imunodeficiência primária em geral está muito aquém do que se espera, dada a população do país. Além disso, cerca de 80% dos casos diagnosticados concentram-se na região Sudeste, uma vez que nesta região existe maior facilidade de acesso a exames laboratoriais específicos para a pesquisa de imunodeficiência primária. Com o objetivo de difundir o conhecimento sobre as imunodeficiências primárias e criar uma rede de laboratórios abrangendo todo o país, foi criado o Grupo Brasileiro de Imunodeficiência Primária (BRAGID). Em relação a suspeita diagnóstica de imunodeficiência fagocitária, não existindo na história clínica elementos que diferenciem os pacientes com DGC dos demais pacientes, é importante garantir o acesso a exames laboratoriais específicos a todos estes indivíduos.

O presente estudo deve prosseguir a fim de se ampliar a correlação de dados depois de estabelecidos diagnósticos para os pacientes do grupo II, bem como ampliar a amostra estudada para que se possa confirmar a ausência de diferença estatística significativa na maioria das variáveis consideradas.

.....

.....

6. Conclusão

.....

A presença de história familiar de infecção de repetição apresentou associação ao grupo com diagnóstico bioquímico de DGC. Assim como infecção urinária esteve associada ao grupo em que não se confirmou o diagnóstico de DGC. Outros dados da avaliação clínica, apesar de sugestivos de DGC, não são conclusivos.

As características clínicas predominantes no grupo com diagnóstico de DGC foram concordantes com dados da literatura, constituindo-se de pneumonia seguida de adenites, infecções cutâneas e abscessos profundos. Também se observa neste grupo a correlação genótipo-fenótipo, onde pacientes com X-DGC apresentam início dos sintomas mais precocemente, neste caso todos abaixo de dois anos, e apresentam evolução com quadros infecciosos mais graves.

7. Referências Bibliográficas

.....

A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. THE INTERNATIONAL CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE COOPERATIVE STUDY GROUP. **N Engl J Med** **324**: 509-16, 1991.

ABO, A., WEBB, M. R., GROGAN, A., SEGAL, A. W. Activation of NADPH oxidase involves the dissociation of p21rac from its inhibitory GDP/GTP exchange protein (rhoGDI) followed by its translocation to the plasma membrane. **Biochem J** **298 Pt 3**: 585-91, 1994.

AGUDELO, P., PRANDO, C., LOPEZ, J. A., COSTA-CARVALHO, B., GRUMACH, A. S., CONDINO NETO, A. RT-PCR as an alternative method for the identification of the defective NADPH oxidase component in patients with chronic granulomatous disease. **Clin Immunol** **103**: S119, 2002.

AHLIN, A., LARFARS, G., ELINDER, G., PALMBLAD, J., GYLLENHAMMAR, H. Gamma interferon treatment of patients with chronic granulomatous disease is associated with augmented production of nitric oxide by polymorphonuclear neutrophils. **Clin Diagn Lab Immunol** **6**: 420-4, 1999.

AL-TAWIL, Y. S., ABRAMSON, S. L., GILGER, M. A., PAUL, M. E. Steroid-responsive esophageal obstruction in a child with chronic granulomatous disease (CGD). **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **23**: 182-5, 1996.

ARIGA, T., FURUTA, H., CHO, K., SAKIYAMA, Y. Genetic analysis of 13 families with X-linked chronic granulomatous disease reveals a low proportion of sporadic patients and a high proportion of sporadic carriers. **Pediatr Res** **44**: 85-92, 1998.

ARIGA, T., SAKIYAMA, Y., FURUTA, H., MATSUMOTO, S. Molecular genetic studies of two families with X-linked chronic granulomatous disease: mutation analysis and definitive determination of carrier status in patients' sisters. **Eur J Haematol** **52**: 99-102, 1994a.

ARIGA, T., SAKIYAMA, Y., MATSUMOTO, S. Two novel point mutations in the cytochrome b 558 heavy chain gene, detected in two Japanese patients with X-linked chronic granulomatous disease. **Hum Genet** **94**: 441, 1994b.

ARIGA, T., SAKIYAMA, Y., MATSUMOTO, S. A 15-base pair (bp) palindromic insertion associated with a 3-bp deletion in exon 10 of the gp91-*phox* gene, detected in two patients with X-linked chronic granulomatous disease. **Hum Genet** **96**: 6-8, 1995.

- AZUMA, H., OOMI, H., SASAKI, K., KAWABATA, I., SAKAINO, T., KOYANO, S., SUZUTANI, T., NUNOI, H., OKUNO, A. A new mutation in exon 12 of the gp91-*phox* gene leading to cytochrome b-positive X-linked chronic granulomatous disease. **Blood** **85**: 3274-7, 1995.
- BABIOR, B. M., LAMBETH, J. D., NAUSEEF, W. The neutrophil NADPH oxidase. **Arch Biochem Biophys** **397**: 342-4, 2002.
- BAEHNER, R. L., KUNKEL, L. M., MONACO, A. P., HAINES, J. L., CONNEALLY, P. M., PALMER, C., HEEREMA, N., ORKIN, S. H. DNA linkage analysis of X chromosome-linked chronic granulomatous disease. **Proc Natl Acad Sci U S A** **83**: 3398-401, 1986.
- BEMILLER, L. S., ROBERTS, D. H., STARKO, K. M., CURNUTTE, J. T. Safety and effectiveness of long-term interferon gamma therapy in patients with chronic granulomatous disease. **Blood Cells Mol Dis** **21**: 239-47, 1995.
- BERENDES, H., BRIDGES, R. A., GOOD, R. A. A fatal granulomatous of childhood: the clinical study of a new syndrome. **Minn Med** **40**: 309-312, 1957.
- BOLSCHER, B. G., DE BOER, M., DE KLEIN, A., WEENING, R. S., ROOS, D. Point mutations in the beta-subunit of cytochrome b558 leading to X-linked chronic granulomatous disease. **Blood** **77**: 2482-7, 1991.
- BOTTONE, E. J., DOUGLAS, S. D., RAUSEN, A. R., KEUSCH, G. T. Association of *Pseudomonas cepacia* with chronic granulomatous disease. **J Clin Microbiol** **1**: 425-8, 1975.
- BRIDGES, R. A., BERENDES, H., GOOD, R. A. A fatal granulomatosis disease of childhood. The clinical, pathological and laboratory features of a new syndrome. **Am J Dis Child** **97**: 387-408, 1959.
- BUESCHER, E. S., GALLIN, J. I. Stature and weight in chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **104**: 911-3, 1984.
- BU-GHANIM, H. N., SEGAL, A. W., KEEP, N. H., CASIMIR, C. M. Molecular analysis in three cases of X91- variant chronic granulomatous disease. **Blood** **86**: 3575-82, 1995.
- BURG, N. D., PILLINGER, M. H. The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity. **Clin Immunol** **99**: 7-17, 2001.
- CALE, C. M., JONES, A. M., GOLDBLATT, D. Follow up of patients with chronic

- granulomatous disease diagnosed since 1990. **Clin Exp Immunol** **120**: 351-5, 2000.
- CASANOVA, J. L., BLANCHE, S., EMILE, J. F., JOUANGUY, E., LAMHAMEDI, S., ALTARE, F., STEPHAN, J. L., BERNAUDIN, F., BORDIGONI, P., TURCK, D., LACHAUX, A., ALBERTINI, M., BOURRILLON, A., DOMMERGUES, J. P., POCIDALO, M. A., LE DEIST, F., GAILLARD, J. L., GRISCELLI, C., FISCHER, A. Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection: a French national retrospective study. **Pediatrics** **98**: 774-8, 1996.
- CASIMIR, C. M., BU-GHANIM, H. N., RODAWAY, A. R., BENTLEY, D. L., ROWE, P., SEGAL, A. W. Autosomal recessive chronic granulomatous disease caused by deletion at a dinucleotide repeat. **Proc Natl Acad Sci U S A** **88**: 2753-7, 1991.
- CHANDRA, R. K., PURI, S., HOBEIKA, C. A., HENEGHAN, W. D., YOUNG, L. W. Radiological case of the month. Chronic granulomatous disease. **Am J Dis Child** **140**: 1065-7, 1986.
- CHIN, T. W., STIEHM, E. R., FALLOON, J., GALLIN, J. I. Corticosteroids in treatment of obstructive lesions of chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **111**: 349-52, 1987.
- CLARK, R. A., VOLPP, B. D., LEIDAL, K. G., NAUSEEF, W. M. Two cytosolic components of the human neutrophil respiratory burst oxidase translocate to the plasma membrane during cell activation. **J Clin Invest** **85**: 714-21, 1990.
- COLLMAN, R. J., DICKERMAN, J. D. Corticosteroids in the management of cystitis secondary to chronic granulomatous disease. **Pediatrics** **85**: 219-21, 1990.
- CONDINO-NETO, A., MUSCARA, M. N., BELLINATI-PIRES, R., CARNEIRO-SAMPAIO, M. M., BRANDAO, A. C., GRUMACH, A. S., DE NUCCI, G. Effect of therapy with recombinant human interferon-gamma on the release of nitric oxide by neutrophils and mononuclear cells from patients with chronic granulomatous disease. **J Interferon Cytokine Res** **16**: 357-64, 1996.
- CONDINO-NETO, A., MUSCARA, M. N., GRUMACH, A. S., CARNEIRO-SAMPAIO, M.M., DE NUCCI, G. Neutrophils and mononuclear cells from patients with chronic granulomatous disease release nitric oxide. **Br J Clin Pharmacol** **35**: 485-90, 1993.
- CONDINO-NETO, A., NEWBURGER, P. E. Interferon-gamma improves splicing efficiency of *CYBB* gene transcripts in an interferon-responsive variant of chronic granulomatous disease due to a splice site consensus region mutation. **Blood** **95**: 3548-54,

2000.

CONLEY, M. E., NOTARANGELO, L. D., ETZIONI, A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). **Clin Immunol** **93**: 190-7, 1999.

CONLEY, M. E., STIEHM, E. R. Immunodeficiency Disorders: General Considerations. In: STIEHM, E. R. (Ed.) **Immunologic Disorder in Infants and Children** (4th Edition), 1996, pp. 201-252.

CROSS, A. R. p40 (phox) Participates in the activation of NADPH oxidase by increasing the affinity of p47 (phox) for flavocytochrome b (558). **Biochem J** **349**: 113-7, 2000.

CROSS, A. R., CURNUTTE, J. T., HEYWORTH, P. G. Hematologically important mutations: the autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. **Blood Cells Mol Dis** **22**: 268-70, 1996a.

CROSS, A. R., CURNUTTE, J. T., RAE, J., HEYWORTH, P. G. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease. **Blood Cells Mol Dis** **22**: 90-5, 1996b.

CROSS, A. R., HEYWORTH, P. G., RAE, J., CURNUTTE, J. T. A variant X-linked chronic granulomatous disease patient (X91+) with partially functional cytochrome b. **J Biol Chem** **270**: 8194-200, 1995.

CROSS, A. R., D., RAE, J., CURNUTTE, J. T., HEYWORTH, P. G. Hematologically important mutations: the autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease (first update). **Blood Cells Mol Dis** **26**: 561-5, 2000.

CROSS, A. R., YARCHOVER, J. L., CURNUTTE, J. T. The superoxide-generating system of human neutrophils possesses a novel diaphorase activity. Evidence for distinct regulation of electron flow within NADPH oxidase by p67-phox and p47-phox. **J Biol Chem** **269**: 21448-54, 1994.

CURNUTTE, J. T. Chronic granulomatous disease: the solving of a clinical riddle at the molecular level. **Clin Immunol Immunopathol** **67**: S2-15, 1993.

CURNUTTE, J. T., HOPKINS, P. J., KUHL, W., BEUTLER, E. Studying X inactivation. **Lancet** **339**: 749, 1992.

DANZIGER, R. N., GOREN, A. T., BECKER, J., GREENE, J. M., DOUGLAS, S. D. Outpatient management with oral corticosteroid therapy for obstructive conditions in

- chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **122**: 303-5, 1993.
- DE BOER, M., BOLSCHER, B. G., DINAUER, M. C., ORKIN, S. H., SMITH, C. I., AHLIN, A., WEENING, R. S., ROOS, D. Splice site mutations are a common cause of X-linked chronic granulomatous disease. **Blood** **80**: 1553-8, 1992.
- DE BOER, M., SINGH, V., DEKKER, J., DI ROCCO, M., GOLDBLATT, D., ROOS, D. Prenatal diagnosis in two families with autosomal, p47 (phox)-deficient chronic granulomatous disease due to a novel point mutation in NCF1. **Prenat Diagn** **22**: 235-40, 2002.
- BOHLER, G., BOHLER, M. C., FISCHER, A., CARTRON, J., DUFIER, J. L., GRISCELLI, C., ORKIN, S. H. Xp21 DNA microdeletion in a patient with chronic granulomatous disease, retinitis pigmentosa, and McLeod phenotype. **Hum Genet** **80**: 85-9, 1988.
- DENSEN, P., WILKINSON-KROOVAND, S., MANDELL, G. L., SULLIVAN, G., OYEN, R., MARSH, W. L. Kx: its relationship to chronic granulomatous disease and genetic linkage with Xg. **Blood** **58**: 34-7, 1981.
- DIEKMANN, D., ABO, A., JOHNSTON, C., SEGAL, A. W., HALL, A. Interaction of Rac with p67phox and regulation of phagocytic NADPH oxidase activity. **Science** **265**: 531-3, 1994.
- DINAUER, M. C. The phagocytic system and disorders of granulopoiesis and granulocyte function. In: NATHAN, D. G., ORKIN, S. T. (Eds.) **Hematology of Infancy and Childhood**, Philadelphia: Saunders, 1998, pp. 889-920.
- DINAUER, M. C., CURNUTTE, J. T., ROSEN, H., ORKIN, S. H. A missense mutation in the neutrophil cytochrome b heavy chain in cytochrome-positive X-linked chronic granulomatous disease. **J Clin Invest** **84**: 2012-6, 1989.
- DINAUER, M. C., LEKSTROM-HIMES, J. A., DALE, D. C. Inherited Neutrophil Disorders: Molecular Basis and New Therapies. **Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)** 303-318, 2000.
- DINAUER, M. C., ORKIN, S. H., BROWN, R., JESAITIS, A. J., PARKOS, C. A. The glycoprotein encoded by the X-linked chronic granulomatous disease locus is a component of the neutrophil cytochrome b complex. **Nature** **327**: 717-20, 1987.
- DINAUER, M. C., PIERCE, E. A., BRUNS, G. A., CURNUTTE, J. T., ORKIN, S. H.

- Human neutrophil cytochrome b light chain (p22-*phox*). Gene structure, chromosomal location, and mutations in cytochrome-negative autosomal recessive chronic granulomatous disease. **J Clin Invest** **86**: 1729-37, 1990.
- DINAUER, M. C., PIERCE, E. A., ERICKSON, R. W., MUHLEBACH, T. J., MESSNER, H., ORKIN, S. H., SEGER, R. A., CURNUTTE, J. T. Point mutation in the cytoplasmic domain of the neutrophil p22-*phox* cytochrome b subunit is associated with a nonfunctional NADPH oxidase and chronic granulomatous disease. **Proc Natl Acad Sci U S A** **88**: 11231-5, 1991.
- EISERICH, J. P., HRISTOVA, M., CROSS, C. E., JONES, A. D., FREEMAN, B. A., HALLIWELL, B., VAN DER VLIET, A. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. **Nature** **391**: 393-7, 1998.
- EKLUND, E. A., JALAVA, A., KAKAR, R. PU.1, interferon regulatory factor 1, and interferon consensus sequence-binding protein cooperate to increase gp91(*phox*) expression. **J Biol Chem** **273**: 13957-65, 1998.
- EKLUND, E. A., SKALNIK, D. G. Characterization of a gp91-*phox* promoter element that is required for interferon gamma-induced transcription. **J Biol Chem** **270**: 8267-73, 1995.
- ENGLISH, D., ANDERSEN, B. R. Single-step separation of red blood cells. Granulocytes and mononuclear leukocytes on discontinuous density gradients of Ficoll-Hypaque. **J Immunol Methods** **5**: 249-52, 1974.
- EVANS, T. J., BUTTERY, L. D., CARPENTER, A., SPRINGALL, D. R., POLAK, J. M., COHEN, J. Cytokine-treated human neutrophils contain inducible nitric oxide synthase that produces nitration of ingested bacteria. **Proc Natl Acad Sci U S A** **93**: 9553-8, 1996.
- EZEKOWITZ, R. A., ORKIN, S. H., NEWBURGER, P. E. Recombinant interferon gamma augments phagocyte superoxide production and X-linked variant chronic granulomatous disease gene expression in X-linked variant chronic granulomatous disease. **J Clin Invest** **80**: 1009-16, 1987.
- FAUST, L. R., EL BENNA, J., BABIOR, B. M., CHANOCK, S. J. The phosphorylation targets of p47*phox*, a subunit of the respiratory burst oxidase. Functions of the individual target serines as evaluated by site-directed mutagenesis. **J Clin Invest** **96**: 1499-505, 1995.
- FINN, A., HADZIC, N., MORGAN, G., STROBEL, S., LEVINSKY, R. J. Prognosis of chronic granulomatous disease. **Arch Dis Child** **65**: 942-5, 1990.

- FLOEGE, J., BODDEKER, M., STOLTE, H., KOCH, K. M. Urinary IgA, secretory IgA and secretory component in women with recurrent urinary tract infections. **Nephron** **56**: 50-5, 1990.
- FORBES, G. S., HARTMAN, G. W., BURKE, E. C., SEGURA, J. W. Genitourinary involvement in chronic granulomatous disease of childhood. **Am J Roentgenol** **127**: 683-6, 1976.
- FORREST, C. B., FOREHAND, J. R., AXTELL, R. A., ROBERTS, R. L. , JOHNSTON, R.B., JR. Clinical features and current management of chronic granulomatous disease. **Hematol Oncol Clin North Am** **2**: 253-66, 1988.
- FRANCKE, U., HSIEH, C. L., FOELLMER, B. E., LOMAX, K. J., MALECH, H. L., LETO, T. L. Genes for two autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease assigned to 1q25 (NCF2) and 7q11.23 (NCF1). **Am J Hum Genet** **47**: 483-92, 1990.
- FREY, D., MACHLER, M., SEGER, R., SCHMID, W., ORKIN, S. H. Gene deletion in a patient with chronic granulomatous disease and McLeod syndrome: fine mapping of the Xk gene locus. **Blood** **71**: 252-5, 1988.
- GAHR, M., JENDROSSEK, V., PETERS, A. M., TEGTMAYER, F., HEYNE, K. Sea blue histiocytes in the bone marrow of variant chronic granulomatous disease with residual monocyte NADPH-oxidase activity. **Br J Haematol** **78**: 278-80, 1991.
- GALLIN, J. I. , BUESCHER, E. S. Abnormal regulation of inflammatory skin responses in male patients with chronic granulomatous disease. **Inflammation** **7**: 227-32, 1983.
- GMUNDER, F. K., SEGER, R. A. Chronic granulomatous disease: mode of action of sulfamethoxazole/trimethoprim. **Pediatr Res** **15**: 1533-7, 1981.
- GORLACH, A., LEE, P. L., ROESLER, J., HOPKINS, P. J., CHRISTENSEN, B., GREEN, E. D., CHANOCK, S. J., CURNUTTE, J. T. A p47-*phox* pseudogene carries the most common mutation causing p47-*phox*- deficient chronic granulomatous disease. **J Clin Invest** **100**: 1907-18, 1997.
- GRANOT, E., MATOTH, I., KORMAN, S. H., LUDOMIRSKY, A., LAX, E. Functional gastrointestinal obstruction in a child with chronic granulomatous disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** **5**: 321-3, 1986.
- GRISCOM, N. T., KIRKPATRICK, J. A., JR., GIRDANY, B. R., BERDON, W. E., GRAND, R. J., MACKIE, G. G. Gastric antral narrowing in chronic granulomatous disease

of childhood. **Pediatrics** **54**: 456-60, 1974.

GRUMACH, A. S., DUARTE, A. J., BELLINATI-PIRES, R., PASTORINO, A. C., JACOB, C. M., DIOGO, C. L., CONDINO-NETO, A., KIRSCHFINK, M., CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. Brazilian report on primary immunodeficiencies in children: 166 cases studied over a follow-up time of 15 years. **J Clin Immunol** **17**: 340-5, 1997.

GRUMACH, A. S., JACOB, C. M., STOLF, N. G., MAKSOUD, J. G., CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. [Constrictive pericarditis as a complication of chronic granulomatous disease of childhood]. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo** **42**: 30-2, 1987.

HADFIELD, M. G., GHATAK, N. R., LAINE, F. J., MYER, E. C., MASSIE, F. S., KRAMER, W. M. Brain lesions in chronic granulomatous disease. **Acta Neuropathol (Berl)** **81**: 467-70, 1991.

HAN, C. H., FREEMAN, J. L., LEE, T., MOTALEBI, S. A., LAMBETH, J. D. Regulation of the neutrophil respiratory burst oxidase. Identification of an activation domain in p67(phox). **J Biol Chem** **273**: 16663-8, 1998.

HASUI, M., HIRABAYASHI, Y., HATTORI, K., KOBAYASHI, Y. Increased phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes of chronic granulomatous disease as determined with flow cytometric assay. **J Lab Clin Med** **117**: 291-8, 1991.

HEXTALL, A. Oestrogens and lower urinary tract function. **Maturitas** **36**: 83-92, 2000.

HEYWORTH, P. G., CURNUTTE, J. T., NAUSEEF, W. M., VOLPP, B. D., PEARSON, D. W., ROSEN, H., CLARK, R. A. Neutrophil nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase assembly. Translocation of p47-phox and p67-phox requires interaction between p47-phox and cytochrome b558. **J Clin Invest** **87**: 352-6, 1991.

HEYWORTH, P. G., CURNUTTE, J. T., RAE, J., NOACK, D., ROOS, D., VAN KOPPEN, E., CROSS, A. R. Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (second update). **Blood Cells Mol Dis** **27**: 16-26, 2001.

HEYWORTH, P. G., KNAUS, U. G., XU, X., UHLINGER, D. J., CONROY, L., BOKOCH, G. M., CURNUTTE, J. T. Requirement for posttranslational processing of Rac GTP-binding proteins for activation of human neutrophil NADPH oxidase. **Mol Biol Cell** **4**: 261-9, 1993.

HEYWORTH, P. G., SHRIMPTON, C. F., SEGAL, A. W. Localization of the 47 kDa phosphoprotein involved in the respiratory-burst NADPH oxidase of phagocytic cells.

Biochem J 260: 243-8, 1989.

HILLER, N., FISHER, D., ABRAHAMOV, A., BLINDER, G. Esophageal involvement in chronic granulomatous disease. Case report and review. **Pediatr Radiol** 25: 308-9, 1995.

HOEFFEL., TRAN MINH, V. A. and PRACROS, J. P. Esophageal involvement in chronic granulomatous disease. **Pediatr Radiol** 26: 169, 1996.

HOOTON, T. M. Recurrent urinary tract infection in women. **Int J Antimicrob Agents** 17: 259-68, 2001.

HORWITZ, M. E., BARRETT, A. J., BROWN, M. R., CARTER, C. S., CHILDS, R., GALLIN, J. I., HOLLAND, S. M., LINTON, G. F., MILLER, J. A., LEITMAN, S. F., READ, E. J., MALECH, H. L. Treatment of chronic granulomatous disease with nonmyeloablative conditioning and a T-cell-depleted hematopoietic allograft. **N Engl J Med** 344: 881-8, 2001.

HOSSLE, J. P., DE BOER, M., SEGER, R. A., ROOS, D. Identification of allele-specific p22-*phox* mutations in a compound heterozygous patient with chronic granulomatous disease by mismatch PCR and restriction enzyme analysis. **Hum Genet** 93: 437-42, 1994.

HUMBERT, J. R., FISHMAN, C. B., WESTON, W. L., DEARMEY, P. A., THOREN, C. H. Frequency of the carrier state for X-linked chronic granulomatous disease among females with lupus erythematosus. **Clin Genet** 10: 16-20, 1976.

INVERNIZZI, R., CATTANEO, G., MALAMANI, G., MARINI, G., IPPOLITI, G., ASCARI, E. [Chronic granulomatous disease with sea-blue histiocytosis: a case report (author's transl)]. **Haematologica** 64: 90-5, 1979.

ISAACS, D., WRIGHT, V. M., SHAW, D. G., RAAFAT, F. and WALKER-SMITH, J. A. Chronic granulomatous disease mimicking Crohn's disease. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 4: 498-501, 1985.

ISHIBASHI, F., MIZUKAMI, T., KANEGASAKI, S., MOTODA, L., KAKINUMA, R., ENDO, F., NUNOI, H. Improved superoxide-generating ability by interferon gamma due to splicing pattern change of transcripts in neutrophils from patients with a splice site mutation in *CYBB* gene. **Blood** 98: 436-41, 2001.

IWATA, M., NUNOI, H., YAMAZAKI, H., NAKANO, T., NIWA, H., TSURUTA, S., OHGA, S., OHMI, S., KANEGASAKI, S., MATSUDA, I. Homologous dinucleotide (GT or TG) deletion in Japanese patients with chronic granulomatous disease with p47-*phox*

- deficiency. **Biochem Biophys Res Commun** **199**: 1372-7, 1994.
- JACOB, C. M., PASTORINO, A. C., AZEVEDO, A. M., MARQUES, H. H., SATO, H. K., FERRAZOLE, L., AQUINO, M. Z., SAKANE, P. T., GRUMACH, A. S. Mycobacterium bovis dissemination (BCG strain) among immunodeficient Brazilian infants. **J Investig Allergol Clin Immunol** **6**: 202-6, 1996.
- JACOBS, R. F., WILSON, C. B. Activity of antibiotics in chronic granulomatous disease leukocytes. **Pediatr Res** **17**: 916-9, 1983.
- JOHNSTON, R. B., HARBECK, R. J., JOHNSTON, R. B., JR. Recurrent severe infections in a girl with apparently variable expression of mosaicism for chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **106**: 50-5, 1985.
- JOHNSTON, R. B., JR., WILFERT, C. M., BUCKLEY, R. H., WEBB, L. S., DCCHATELET, L. R., MCCALL, C. E. Enhanced bactericidal activity of phagocytes from patients with chronic granulomatous disease in the presence of sulphisoxazole. **Lancet** **1**: 824-7, 1975.
- KARLSSON, A., DAHLGREN, C. Assembly and activation of the neutrophil NADPH oxidase in granule membranes. **Antioxid Redox Signal** **4**: 49-60, 2002.
- KENNEY, R. T., MALECH, H. L., EPSTEIN, N. D., ROBERTS, R. L., LETO, T. L. Characterization of the p67phox gene: genomic organization and restriction fragment length polymorphism analysis for prenatal diagnosis in chronic granulomatous disease. **Blood** **82**: 3739-44, 1993.
- KESSLER, O., CHASIN, L. A. Effects of nonsense mutations on nuclear and cytoplasmic adenine phosphoribosyltransferase RNA. **Mol Cell Biol** **16**: 4426-35, 1996.
- KLEBANOFF, S. J. Reactive nitrogen intermediates and antimicrobial activity: role of nitrite. **Free Radic Biol Med** **14**: 351-60, 1993.
- KLEBANOFF, S. J., NATHAN, C. F. Nitrite production by stimulated human polymorphonuclear leukocytes supplemented with azide and catalase. **Biochem Biophys Res Commun** **197**: 192-6, 1993.
- KLEINBERG, M. E., MITAL, D., ROTROSEN, D., MALECH, H. L. Characterization of a phagocyte cytochrome b558 91-kilodalton subunit functional domain: identification of peptide sequence and amino acids essential for activity. **Biochemistry** **31**: 2686-90, 1992.
- KNAUS, U. G., MORRIS, S., DONG, H. J., CHERNOFF, J., BOKOCH, G. M. Regulation

of human leukocyte p21-activated kinases through G protein-coupled receptors. **Science** **269**: 221-3, 1995.

KOSTMANN, R. Infantile genetic agranulocytopenia: new recessive lethal disease in man. **Acta Paediatrica Scandinavica** **45**: 1-78, 1956.

KURIBAYASHI, F., DE BOER, M., LEUSEN, J. H., VERHOEVEN, A. J., ROOS, D. A novel polymorphism in the coding region of *CYBB*, the human gp91-*phox* gene. **Hum Genet** **97**: 611-3, 1996.

LANDING, B. H., SHIRKEY, H. S. A syndrome of recurrent infection and infiltration of the viscera by pigmented lipid histiocytes. **Pediatrics** **20**: 431-442, 1957.

LETO, T. L., ADAMS, A. G., DE MENDEZ, I. Assembly of the phagocyte NADPH oxidase: binding of Src homology 3 domains to proline-rich targets. **Proc Natl Acad Sci U S A** **91**: 10650-4, 1994.

LEUSEN, J. H., BOLSCHER, B. G., HILARIUS, P. M., WEENING, R. S., KAULFERSCH, W., SEGER, R. A., ROOS, D., VERHOEVEN, A. J. 156Pro->Gln substitution in the light chain of cytochrome b558 of the human NADPH oxidase (p22-*phox*) leads to defective translocation of the cytosolic proteins p47-*phox*, p67-*phox*. **J Exp Med** **180**: 2329-34, 1994.

LEUSEN, J. H., VERHOEVEN, A. J., ROOS, D. Interactions between the components of the human NADPH oxidase: intrigues in the *phox* family. **J Lab Clin Med** **128**: 461-76, 1996.

LEVIN, J. Testes Não-paramétricos. *in: Estatística Aplicada a Ciências Humanas* (2^o Edition), São Paulo: editora Harbra, 1987, pp. 193-265.

LEW, P. D., SOUTHWICK, F. S., STOSSEL, T. P., WHITIN, J. C., SIMONS, E., COHEN, H. J. A variant of chronic granulomatous disease: deficient oxidative metabolism due to a low-affinity NADPH oxidase. **N Engl J Med** **305**: 1329-33, 1981.

LIESE, J., KLOOS, S., JENDROSSEK, V., PETROPOULOU, T., WINTERGERST, U., NOTHEIS, G., GAHR, M., BELOHRADSKY, B. H. Long-term follow-up and outcome of 39 patients with chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **137**: 687-93, 2000.

LIESE, J. G., JENDROSSEK, V., JANSSON, A., PETROPOULOU, T., KLOOS, S., GAHR, M., BELOHRADSKY, B. H. Chronic granulomatous disease in adults. **Lancet** **347**: 220-3, 1996.

- LINDSKOV, R., MUNKVAD, J. M., VALERIUS, N. H. Discoid lupus erythematosus and carrier status of X-linked chronic granulomatous disease. **Dermatologica** **167**: 231-3, 1983.
- MALECH, H. L. Progress in gene therapy for chronic granulomatous disease. **J Infect Dis** **179 Suppl 2**: S318-25, 1999.
- MALECH, H. L., BAUER, T. R., JR., HICKSTEIN, D. D. Prospects for gene therapy of neutrophil defects. **Semin Hematol** **34**: 355-61, 1997a.
- MALECH, H. L., MAPLES, P. B., WHITING-THEOBALD, N., LINTON, G. F., SEKHSARIA, S., VOWELLS, S. J., LI, F., MILLER, J. A., DECARLO, E., HOLLAND, S. M., LEITMAN, S. F., CARTER, C. S., BUTZ, R. E., READ, E. J., FLEISHER, T. A., SCHNEIDERMAN, R. D., VAN EPPS, D. E., SPRATT, S. K., MAACK, C. A., ROKOVICH, J. A., COHEN, L. K., GALLIN, J. I. Prolonged production of NADPH oxidase-corrected granulocytes after gene therapy of chronic granulomatous disease. **Proc Natl Acad Sci U S A** **94**: 12133-8, 1997b.
- MALONEY, C. Estrogen and recurrent UTI in postmenopausal women. **Am J Nurs** **102**: 44-52, 2002.
- MAQUAT, L. E. When cells stop making sense: effects of nonsense codons on RNA metabolism in vertebrate cells. **Rna** **1**: 453-65, 1995.
- MARGOLIS, D. M., MELNICK, D. A., ALLING, D. W., GALLIN, J. I. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in the management of chronic granulomatous disease. **J Infect Dis** **162**: 723-6, 1990.
- MARTIN MATEOS, M. A., ALVARO, M., GINER, M. T., PLAZA, A. M., SIERRA, J. I., MUNOZ-LOPEZ, F. Chronic granulomatous disease: six new cases. **Allergol Immunopathol (Madr)** **26**: 241-9, 1998.
- MCCORD, J. M., FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **J Biol Chem** **244**: 6049-55, 1969.
- MENDELSON, H. B., BERANT, M. Chronic granulomatous disease: a new clinical variant. **Acta Paediatr Scand** **71**: 869-72, 1982.
- MESSINA, C. G., REEVES, E. P., ROES, J., SEGAL, A. W. Catalase negative *Staphylococcus aureus* retain virulence in mouse model of chronic granulomatous disease. **FEBS Lett** **518**: 107-10, 2002.
- MILLS, E. L., RHOLL, K. S., QUIE, P. G. X-linked inheritance in females with chronic

- granulomatous disease. **J Clin Invest** **66**: 332-40, 1980.
- MIYAZAKI, S., SHIN, H., GOYA, N., NAKAGAWARA, A. Identification of a carrier mother of a female patient with chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **89**: 784-6, 1976.
- MOUY, R., FISCHER, A., VILMER, E., SEGER, R., GRISCELLI, C. Incidence, severity, and prevention of infections in chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **114**: 555-60, 1989.
- MOUY, R., VEBER, F., BLANCHE, S., DONADIEU, J., BRAUNER, R., LEVRON, J. C., GRISCELLI, C., FISCHER, A. Long-term itraconazole prophylaxis against *Aspergillus* infections in thirty-two patients with chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **125**: 998-1003, 1994.
- MULHOLLAND, M. W., DELANEY, J. P. and SIMMONS, R. L. Gastrointestinal complications of chronic granulomatous disease: surgical implications. **Surgery** **94**: 569-75, 1983.
- NAGARAJA, R., MACMILLAN, S., KERE, J., JONES, C., GRIFFIN, S., SCHMATZ, M., TERRELL, J., SHOMAKER, M., JERMAK, C., HOTT, C., MASISI, M., MUMM, S., SRIVASTAVA, A., PILIA, G., FEATHERSTONE, T., MAZZARELLA, R., KESTERSON, S., MCCAULEY, B., RAILEY, B., BURROUGH, F., NOWOTNY, V., D'URSO, M., STATES, D., BROWNSTEIN, B., SCHLESSINGER, D. X chromosome map at 75-kb STS resolution, revealing extremes of recombination and GC content. **Genome Res** **7**: 210-22, 1997.
- NAKANISHI, A., IMAJOH-OHMI, S., FUJINAWA, T., KIKUCHI, H., KANEGASAKI, S. Direct evidence for interaction between COOH-terminal regions of cytochrome b558 subunits and cytosolic 47-kDa protein during activation of an O(2⁻)-generating system in neutrophils. **J Biol Chem** **267**: 19072-4, 1992.
- NAKHLEH, R. E., GLOCK, M., SNOVER, D. C. Hepatic pathology of chronic granulomatous disease of childhood. **Arch Pathol Lab Med** **116**: 71-5, 1992.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. National Health and Nutrition Examination Survey: Clinical Growth Charts. Disponível em <<http://www.cdc.gov/growthcharts>> Acesso em: 20 de set. de 2001.
- NEWBURGER, P. E., LUSCINSKAS, F. W., RYAN, T., BEARD, C. J., WRIGHT, J., PLATT, O. S., SIMONS, E. R., TAUBER, A. I. Variant chronic granulomatous disease:

- modulation of the neutrophil defect by severe infection. **Blood** **68**: 914-9, 1986.
- NEWBURGER, P. E., SKALNIK, D. G., HOPKINS, P. J., EKLUND, E. A., CURNUTTE, J. T. Mutations in the promoter region of the gene for gp9--*phox* in X-linked chronic granulomatous disease with decreased expression of cytochrome b558. **J Clin Invest** **94**: 1205-11, 1994.
- NEWMAN, S. L. and LINDAHL, J. A. Chronic granulomatous disease: a model for gastrointestinal manifestations of immunodeficiency. **J Clin Gastroenterol** **7**: 470-1, 1985.
- NUUTINEN, M. , UHARI, M. Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. **Pediatr Nephrol** **16**: 69-72, 2001.
- OCHS, H. D., IGO, R. P. The NBT slide test: a simple screening method for detecting chronic granulomatous disease and female carriers. **J Pediatr** **83**: 77-82, 1973.
- OHNO. and GALLIN, J. I. Diffusion of extracellular hydrogen peroxide into intracellular compartments of human neutrophils. Studies utilizing the inactivation of myeloperoxidase by hydrogen peroxide and azide. **J Biol Chem** **260**: 8438-46, 1985.
- ORTEGA, J. J., SAENZ, A., CARDELUS, I., JAVIER, G. [Chronic granulomatous disease: clinical and functional studies in six cases (author's transl)]. **An Esp Pediatr** **13**: 405-22, 1980.
- PACELLI, R., WINK, D. A., COOK, J. A., KRISHNA, M. C., DEGRAFF, W., FRIEDMAN, N., TSOKOS, M., SAMUNI, A., MITCHELL, J. B. Nitric oxide potentiates hydrogen peroxide-induced killing of *Escherichia coli*. **J Exp Med** **182**: 1469-79, 1995.
- PARK, J. W., HOYAL, C. R., BENNA, J. E., BABIOR, B. M. Kinase-dependent activation of the leukocyte NADPH oxidase in a cell-free system. Phosphorylation of membranes and p47(PHOX) during oxidase activation. **J Biol Chem** **272**: 11035-43, 1997.
- PARKOS, C. A., ALLEN, R. A., COCHRANE, C. G., JESAITIS, A. J. The quaternary structure of the plasma membrane b-type cytochrome of human granulocytes. **Biochim Biophys Acta** **932**: 71-83, 1988.
- PASIC, S., LILIC, D., PEJNOVIC, N., VOJVODIC, D., SIMIC, R., ABINUN, M. Disseminated *Bacillus Calmette-Guerin* infection in a girl with hyperimmunoglobulin E syndrome. **Acta Paediatr** **87**: 702-4, 1998.
- PATINO, P. J., PEREZ, J. E., LOPEZ, J. A., CONDINO-NETO, A., GRUMACH, A. S., BOTERO, J. H., CURNUTTE, J. T. and GARCIA DE OLARTE, D. Molecular analysis of

chronic granulomatous disease caused by defects in gp91-*phox*. **Hum Mutat** **13**: 29-37, 1999a.

PATINO, P. J., RAE, J., NOACK, D., ERICKSON, R., DING, J., DE OLARTE, D. G., CURNUTTE, J. T. Molecular characterization of autosomal recessive chronic granulomatous disease caused by a defect of the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) oxidase component p67-*phox*. **Blood** **94**: 2505-14, 1999b.

PAYNE, N. R., HAYS, N. T., REGELMANN, W. E., SORENSON, M., MILLS, E. L., QUIE, P. G. Growth in patients with chronic granulomatous disease. **J Pediatr** **102**: 397-9, 1983.

PHILIPS, M. R., FEOKTISTOV, A., PILLINGER, M. H., ABRAMSON, S. B. Translocation of p21rac2 from cytosol to plasma membrane is neither necessary nor sufficient for neutrophil NADPH oxidase activity. **J Biol Chem** **270**: 11514-21, 1995.

POGREBNIK, H. W., GALLIN, J. I., MALECH, H. L., BAKER, A. R., MOSKALUK, C. A., TRAVIS, W. D., PASS, H. I. Surgical management of pulmonary infections in chronic granulomatous disease of childhood. **Ann Thorac Surg** **55**: 844-9, 1993.

PRANDO, C., AGUDELO, P., LOPEZ, J. A., PAIVA, M. A., NAVARRO, S., CORNEJO, M., COSTA-CARVALHO, B., CONDINO NETO, A. Autosomal chronic granulomatous disease: Case report and mutation analysis in two Brazilian and two Chilean non-related siblings. **Clin Immunol** **103**: S119, 2002.

QUIE, P. G., WHITE, J. G., HOLMES, B., GOOD, R. A. In vitro bactericidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes: diminished activity in chronic granulomatous disease of childhood. **J Clin Invest** **46**: 668-79, 1967.

Relatório Estatístico BRAGID, abril 2002. Disponível em: <<http://www.imunopediatria.org.br/dados/textos.asp?id=bragid>> Acesso em: 20 nov. 2002.

RABBANI, H., DE BOER, M., AHLIN, A., SUNDIN, U., ELINDER, G., HAMMARSTROM, L., PALMBLAD, J., SMITH, C. I., ROOS, D. A 40-base-pair duplication in the gp91-*phox* gene leading to X-linked chronic granulomatous disease. **Eur J Haematol** **51**: 218-22, 1993.

RAE, J., NEWBURGER, P. E., DINAUER, M. C., NOACK, D., HOPKINS, P. J.,

- KURUTO, R., CURNUTTE, J. T. X-Linked chronic granulomatous disease: mutations in the *CYBB* gene encoding the gp91-*phox* component of respiratory-burst oxidase. **Am J Hum Genet** **62**: 1320-31, 1998.
- REDMAN, C. M., MARSH, W. L. The Kell blood group system and the McLeod phenotype. **Semin Hematol** **30**: 209-18, 1993.
- REEVES, E. P., LU, H., JACOBS, H. L., MESSINA, C. G., BOLSOVER, S., GABELLA, G., POTMA, E. O., WARLEY, A., ROES, J., SEGAL, A. W. Killing activity of neutrophils is mediated through activation of proteases by K⁺ flux. **Nature** **416**: 291-7, 2002.
- RENNER, W. R., JOHNSON, J. F., LICHTENSTEIN, J. E., KIRKS, D. R. Esophageal inflammation and stricture: complication of chronic granulomatous disease of childhood. **Radiology** **178**: 189-91, 1991.
- REPINE, J. E., RAO, G., BEALL, G. D., WHITE, J. G. Inhibition of human neutrophil oxidative metabolism , degranulation in vitro by nitroblue tetrazolium and vitamin E. **Am J Pathol** **90**: 659-74, 1978.
- REPINE, J. E., RASMUSSEN, B., WHITE, J. G. An improved nitroblue tetrazolium test using phorbol myristate acetate-coated coverslips. **Am J Clin Pathol** **71**: 582-5, 1979.
- ROESLER, J., CURNUTTE, J. T., RAE, J., BARRETT, D., PATINO, P., CHANOCK, S. J., GOERLACH, A. Recombination events between the p47-*phox* gene and its highly homologous pseudogenes are the main cause of autosomal recessive chronic granulomatous disease. **Blood** **95**: 2150-6, 2000.
- ROESLER, J., HECHT, M., FREIHORST, J., LOHMANN-MATTHES, M. L., EMMENDORFFER, A. Diagnosis of chronic granulomatous disease and of its mode of inheritance by dihydrorhodamine 123 and flow microcytofluorometry. **Eur J Pediatr** **150**: 161-5, 1991.
- ROOS, D., CURNUTTE, J. T. Chronic Granulomatous Disease. In: OCHS, H. D., SMITH, C. I. E., Puck, J. M. (Eds.) **Primary Immunodeficiency Diseases: a molecular and genetic approach**, New York: Oxford University Press, 1999, pp. 353-374.
- ROOS, D., DE BOER, M., KURIBAYASHI, F., MEISCHL, C., WEENING, R. S., SEGAL, A. W., AHLIN, A., NEMET, K., HOSSLE, J. P., BERNATOWSKA-MATUSZKIEWICZ, E., MIDDLETON-PRICE, H. Mutations in the X-linked and autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. **Blood** **87**: 1663-81, 1996.

- ROSA-BORGES, A., SAMPAIO, M. G., CONDINO NETO, A., BARRETO, O. C. O., NUDELMAN, V., CARNEIRO-SAMPAIO, M. M., NOGUEIRA, S. A., ABREU, T. F., REHDER, J., COSTA-CARVALHO, B. Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase com infecções de repetição: relato de caso. **J Pediatr (Rio J)** 77: 331-6, 2001.
- RUSO, D. C., OYEN, R., POWELL, V. I., PERRY, S., HITCHCOCK, J., REDMAN, C. M., REID, M. E. First example of anti-Kx in a person with the McLeod phenotype and without chronic granulomatous disease. **Transfusion** 40: 1371-5, 2000.
- SATHYAMOORTHY, M., DE MENDEZ, I., ADAMS, A. G., LETO, T. L. p40(phox) down-regulates NADPH oxidase activity through interactions with its SH3 domain. **J Biol Chem** 272: 9141-6, 1997.
- SCHAPIRO, B. L., NEWBURGER, P. E., KLEMPNER, M. S., DINAUER, M. C. Chronic granulomatous disease presenting in a 69-year-old man. **N Engl J Med** 325: 1786-90, 1991.
- SEGAL, A. W. The molecular and cellular pathology of chronic granulomatous disease. **Eur J Clin Invest** 18: 433-43, 1988.
- SEGAL, A. W. Chronic granulomatous disease. **Clin Exp Allergy** 21 Suppl 1: 195-8, 1991.
- SEGAL, A. W. Biochemistry and molecular biology of chronic granulomatous disease. **J Inherit Metab Dis** 15: 683-6, 1992.
- SEGAL, A. W. The NADPH oxidase and chronic granulomatous disease. **Mol Med Today** 2: 129-35, 1996.
- SEGAL, A. W., GEISOW, M., GARCIA, R., HARPER, A., MILLER, R. The respiratory burst of phagocytic cells is associated with a rise in vacuolar pH. **Nature** 290: 406-9, 1981.
- SEGAL, B. H., LETO, T. L., GALLIN, J. I., MALECH, H. L., HOLLAND, S. M. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. **Medicine (Baltimore)** 79: 170-200, 2000.
- SEGER, R. A., GUNGOR, T., BELOHRADSKY, B. H., BLANCHE, S., BORDIGONI, P., DI BARTOLOMEO, P., FLOOD, T., LANDAIS, P., MULLER, S., OZSAHIN, H., PASSWELL, J. H., PORTA, F., SLAVIN, S., WULFFRAAT, N., ZINTL, F., NAGLER, A., CANT, A., FISCHER, A. Treatment of chronic granulomatous disease with myeloablative conditioning and an unmodified hemopoietic allograft: a survey of the

- European experience, 1985-2000. **Blood** **100**: 4344-50, 2002.
- SHATWELL, K. P., SEGAL, A. W. NADPH oxidase. **Int J Biochem Cell Biol** **28**: 1191-5, 1996.
- SHURIN, S. B., COHEN, H. J., WHITIN, J. C., NEWBURGER, P. E. Impaired granulocyte superoxide production and prolongation of the respiratory burst due to a low-affinity NADPH-dependent oxidase. **Blood** **62**: 564-71, 1983.
- SHURIN, R. U., SHURIN, C. Immunology in the pediatrician's office. **Pediatr Clin North Am** **41**: 691-714, 1994.
- SPEERT, D. P., BOND, M., WOODMAN, R. C., CURNUTTE, J. T. Infection with *Pseudomonas cepacia* in chronic granulomatous disease: role of nonoxidative killing by neutrophils in host defense. **J Infect Dis** **170**: 1524-31, 1994.
- SPONSELLER, P. D., GEARHART, J. P., JEFFS, R. D. Anterior innominate osteotomies for failure or late closure of bladder exstrophy. **J Urol** **146**: 137-40, 1991.
- STY, J. R., CHUSID, M. J., BABBITT, D. P. and WERLIN, S. L. Involvement of the colon in chronic granulomatous disease of childhood. **Radiology** **132**: 618, 1979.
- SUZUKI, S., KUMATORI, A., HAAGEN, I. A., FUJII, Y., SADAT, M. A., JUN, H. L., TSUJI, Y., ROOS, D., NAKAMURA, M. PU.1 as an essential activator for the expression of gp91(phox) gene in human peripheral neutrophils, monocytes, and B lymphocytes. **Proc Natl Acad Sci U S A** **95**: 6085-90, 1998.
- SVANBORG EDEN, C., BRILES, D., HAGBERG, L., MCGHEE, J., MICHALEC, S. Genetic factors in host resistance to urinary tract infection. **Infection** **13 Suppl 2**: S171-6, 1985.
- TANAKA, T., TAKAHASHI, K., MORITA, H., UCHIDA, Y., NAGASE, K., HAYASHI, H., YAMATOGLI, Y., KITAMURA, I., KIMOTO, H. Chronic granulomatous disease of childhood and sea-blue histiocytosis. A pathologic study of an autopsy case. **Acta Pathol Jpn** **34**: 1385-401, 1984.
- TAYLOR, W. R., JONES, D. T., SEGAL, A. W. A structural model for the nucleotide binding domains of the flavocytochrome b-245 beta-chain. **Protein Sci** **2**: 1675-85, 1993.
- TEAHAN, C., ROWE, P., PARKER, P., TOTTY, N., SEGAL, A. W. The X-linked chronic granulomatous disease gene codes for the beta-chain of cytochrome b-245. **Nature** **327**: 720-1, 1987.

THE JEFFREY MODELL FOUNDATION MEDICAL ADVISORY BOARD. 10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency. Disponível em < <http://www.jmfworld.org> >. Acesso em: 15 jun. 2000.

TSUJI, S., TANIUCHI, S., HASUI, M., YAMAMOTO, A., KOBAYASHI, Y. Increased nitric oxide production by neutrophils from patients with chronic granulomatous disease on trimethoprim-sulfamethoxazole. **Nitric Oxide 7**: 283-8, 2002.

TSUNAWAKI, S., MIZUNARI, H., NAGATA, M., TATSUZAWA, O., KURATSUJI, T. A novel cytosolic component, p40phox, of respiratory burst oxidase associates with p67phox and is absent in patients with chronic granulomatous disease who lack p67phox. **Biochem Biophys Res Commun 199**: 1378-87, 1994.

TSUJI, S., TANIUCHI, S., HASUI, M., YAMAMOTO, A. and KOBAYASHI Y. Increased nitric oxide production by neutrophils from patients with chronic granulomatous disease on trimethoprim-sulfamethoxazole. **Nitric Oxide 7**: 283-8, 2002.

UCHIDA, K., NAKAJIMA, K., SHIMA, H., ICHIBA, K. The first example of the McLeod phenotype in a Japanese baby with chronic granulomatous disease. **Transfusion 32**: 691, 1992.

UHLINGER, D. J., TAYLOR, K. L., LAMBETH, J. D. p67-*phox* enhances the binding of p47-*phox* to the human neutrophil respiratory burst oxidase complex. **J Biol Chem 269**: 22095-8, 1994.

VARMA, V. A., SESSIONS, J. T., KAHN, L. B., LIPPER, S. Chronic granulomatous disease of childhood presenting as gastric outlet obstruction. **Am J Surg Pathol 6**: 673-6, 1982.

VAZQUEZ, N., LEHRNBECHER, T., CHEN, R., CHRISTENSEN, B. L., GALLIN, J. I., MALECH, H., HOLLAND, S., ZHU, S., CHANOCK, S. J. Mutational analysis of patients with p47-*phox*-deficient chronic granulomatous disease: The significance of recombination events between the p47-*phox* gene (NCF1) and its highly homologous pseudogenes. **Exp Hematol 29**: 234-43, 2001.

VOLPP, B. D., LIN, Y. In vitro molecular reconstitution of the respiratory burst in B lymphoblasts from p47-*phox*-deficient chronic granulomatous disease. **J Clin Invest 91**: 201-7, 1993.

- WALTHER, M. M., MALECH, H., BERMAN, A., CHOYKE, P., VENZON, D. J., LINEHAN, W. M., GALLIN, J. I. The urological manifestations of chronic granulomatous disease. **J Urol** **147**: 1314-8, 1992.
- WEENING, R. S., ADRIAANSZ, L. H., WEEMAES, C. M., LUTTER, R., ROOS, D. Clinical differences in chronic granulomatous disease in patients with cytochrome b-negative or cytochrome b-positive neutrophils. **J Pediatr** **107**: 102-4, 1985.
- WEENING, R. S., LEITZ, G. J., SEGER, R. A. Recombinant human interferon-gamma in patients with chronic granulomatous disease-European follow up study. **Eur J Pediatr** **154**: 295-8, 1995.
- WERLIN, S. L., CHUSID, M. J., CAYA, J. and OECHLER, H. W. Colitis in chronic granulomatous disease. **Gastroenterology** **82**: 328-31, 1982.
- WINTJES, F. B., HSUAN, J. J., TOTTY, N. F., SEGAL, A. W. p40phox, a third cytosolic component of the activation complex of the NADPH oxidase to contain src homology 3 domains. **Biochem J** **296** (Pt 3): 557-61, 1993.
- WILHELM, L., MCLEARY, M. S., JANNER, D. MR diagnosis of pulmonary and chest wall aspergillosis as an initial presentation of chronic granulomatous disease in a 7-month-old male. **Pediatr Radiol** **30**: 719-20, 2000.
- WILSCHANSKI, M., ABRAHMOV, A., WEINTRAUB, M., FERBER, B., GLASER, J., KAPLAN, M. Neonatal pericarditis as a presenting manifestation of chronic granulomatous disease. **Acta Paediatr** **81**: 849-50, 1992.
- WINIECKA, W., ZOCH-ZWIERZ, W., WASILEWSKA, A., WIERCINSKI, R., TOMASZEWSKA, B., KORZENIECKA-KOZERSKA, A., POROWSKI, T. Evaluation of bladder instability in children with recurrent urinary tract infections. **Med Sci Monit** **8**: CR19-23, 2002.
- WINKELSTEIN, J. A., MARINO, M. C., JOHNSTON, R. B., JR., BOYLE, J., CURNUTTE, J., GALLIN, J. I., MALECH, H. L., HOLLAND, S. M., OCHS, H., QUIE, P., BUCKLEY, R. H., FOSTER, C. B., CHANOCK, S. J., DICKLER, H. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. **Medicine (Baltimore)** **79**: 155-69, 2000.
- WOODMAN, R. C., NEWBURGER, P. E., ANKLESARIA, P., ERICKSON, R. W., RAE, J., COHEN, M. S., CURNUTTE, J. T. A new X-linked variant of chronic granulomatous

disease characterized by the existence of a normal clone of respiratory burst-competent phagocytic cells. **Blood** **85**: 231-41, 1995.

YANG, K. D., QUIE, P. G., HILL, H. R. Phagocytic System. In: OCHS, H. D., EDVARD SMITH, C. I., PUCK, J. M. (Eds.) **Primary immunodeficiency diseases: a molecular and genetic approach**, New York, 1999, pp. 82-96.

YU, L., QUINN, M. T., CROSS, A. R., DINAUER, M. C. Gp91(phox) is the heme binding subunit of the superoxide-generating NADPH oxidase. **Proc Natl Acad Sci U S A** **95**: 7993-8, 1998.

YU, L., ZHEN, L., DINAUER, M. C. Biosynthesis of the phagocyte NADPH oxidase cytochrome b558. Role of heme incorporation and heterodimer formation in maturation and stability of gp91phox & p22phox subunits. **J Biol Chem** **272**: 27288-94, 1997.

ZELAZKO, M., CARNEIRO-SAMPAIO, M., CORNEJO DE LUIGI, M., GARCIA DE OLARTE, D., PORRAS MADRIGAL, O., BERRON PEREZ, R., CABELLO, A., ROSTAN, M. V., SHURIN, R. U. Primary immunodeficiency diseases in Latin America: first report from eight countries participating in the LAGID. Latin American Group for Primary Immunodeficiency Diseases. **J Clin Immunol** **18**: 161-6, 1998.

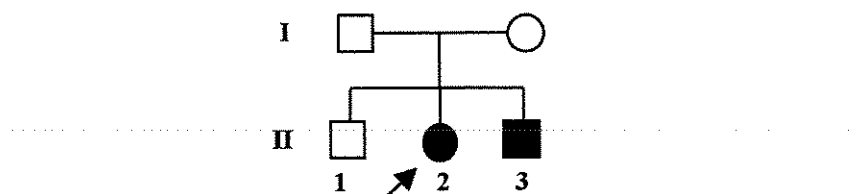
ZHAN, S., VAZQUEZ, N., WINTJES, F. B., BUDARF, M. L., SCHROCK, E., RIED, T., GREEN, E. D., CHANOCK, S. J. Genomic structure, chromosomal localization, start of transcription, tissue expression of the human p40-*phox*, a new component of the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase complex. **Blood** **88**: 2714-21, 1996.

.....

8. Anexos

.....

Família 1
(AdrOM e AdeOM)



II.2- Adr.O.M. (caso índice)

Data de nascimento: 15/08/1981

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural e procedente do Rio de Janeiro- RJ

Recém nascido a termo (RNT), peso nascimento 3550g, comprimento 52cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôn timero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Durante os 6 primeiros meses de 1992, a paciente apresentou 3 episódios de piodermite em membros inferiores, tratadas com medicação tópica.

Em junho deste mesmo ano, iniciou quadro de infecção pulmonar de difícil tratamento. Inicialmente recebeu Ampicilina (2 períodos de 15 dias), seguida de esquema tríplice com rifampicina, isoniazida e pirazinamida durante 45 dias, sem melhora clínica ou radiológica.

Encaminhada ao Serviço de Pediatria Ambulatorial do Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro, foi suspenso esquema tríplice e prescrito cefalotina e cloranfenicol durante 54 dias, com moderada melhora clínica e radiológica. Neste serviço foi realizada biópsia pulmonar, que evidenciou reação inflamatória inespecífica caracterizada por infiltrado linfo-histiocitário com presença de granulomas de células

gigantes multinucleadas e circundados por fibrose; presença de hemorragia alveolar; cultura do material de biópsia negativa para fungos e bactérias. A tomografia computadorizada de tórax mostrava opacidades heterogêneas nos lobos superior e inferior do pulmão direito, havendo redução volumétrica no lobo superior direito. O teste do suor obteve os seguintes resultados: sódio 26,88 mEq/l e cloro 18,08 mEq/l.

Frente a este quadro infeccioso de difícil controle considerou-se a necessidade de investigar imunodeficiência.

✓ Exame físico (1993)

Regular estado geral, acianótica, taquidispnéia moderada e levemente descorada. Propedêutica pulmonar: tiragem intercostal leve, roncos, estertores crepitantes e subcrepitantes disseminados. Propedêutica do abdome: fígado e baço palpáveis na borda costal. Peso 29,8kg.

✓ Exames laboratoriais

Hemograma: hemoglobina 10,9mg/dl; hematócrito 32%; leucócitos totais 9900/mm³ (bastonetes 23%, segmentados 62%, linfócitos 13%, monócitos 2%); plaquetas 350000/mm³.

Mielograma: hemácias e infiltrado inflamatório: linfócitos (6%), macrófagos (8%), monócitos (15%) e polimorfonucleares (71%). As culturas para fungos, *Mycobacterium tuberculosis* e outras bactérias foram negativas.

Complemento sérico: C3 246 mg/dl e C2 64 mg/dl (11/92); C3 291 mg/dl e C4 83 mg/dl.

Sorologia para HIV (ELISA): negativa (realizada 2 vezes).

Imunoglobulinas séricas: IgG 2570 mg/dl, IgM 578 mg/dl, IgA 2420 mg/dl (11/93); IgG 4040 mg/dl, IgM 797 mg/dl, IgA 5000 mg/dl (04/93); IgG 1980 mg/dl, IgM 324 mg/dl, IgA 1660 mg/dl (02/93).

Teste cutâneo de hipersensibilidade tardia à candidina: 7mm.

Índice de fagocitose: 4,72 (controle: 6,59).

Atividade bactericida: 37,41% (controle: 63%).

Quimiotaxia de neutrófilos: migração espontânea 33,8µm (controle: 58,8µm); quimiotaxia 62µm (controle: 101,8µm).

Teste do NBT estimulado: 0% (mãe: 100%; controle: 100%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo -1,33; estimulado com PMA 0,37. **Polimorfonucleares:** espontâneo 1,0; estimulado com PMA 1,03.

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Uma vez estabelecido o diagnóstico de DGC foi recomendado o uso de SMZ+TMP profilático e INFγ, entretanto a paciente apenas fez uso das medicações nos primeiros 12 meses após o diagnóstico.

No ano de 1993, Adr.O.M. foi internada 2 vezes (19 dias em fevereiro, 14 dias em abril) em função do agravo de sua pneumopatia crônica.

Em 9 anos após o diagnóstico a paciente apresentou apenas 1 quadro infeccioso (abscesso perineal) tratado ambulatorialmente, e evoluiu com normalização da função pulmonar.

✓ **Exame físico (2001)**

Bom estado geral, eupneica. Ausculta pulmonar simétrica, sem ruídos adventícios. Abdome: fígado e baço não palpáveis. Peso: 58kg. Estatura: 164,2cm.

II.3- Ade.O.M.

Data de nascimento: 19/07/1990

Sexo: masculino

Cor: branca

Natural e procedente do Rio de Janeiro- RJ.

RNT, peso nascimento 3750g, comprimento 52,5cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Apresentou 3 episódios de impetigo entre 10 e 11 anos, todos tratados com medicação tópica e Amoxicilina VO.

Com 10anos e 6 meses apresentou pneumonia tratada com SMZ+TMP durante 10 dias, sem intercorrências.

✓ **Exame físico (2001)**

Bom estado geral, corado, hidratado, eupneico, acianótico. Lesões cicatriciais, hipocrômicas, com cerca de 0,5cm de diâmetro em tronco. Sem outras anormalidades.

✓ **Exames laboratoriais**

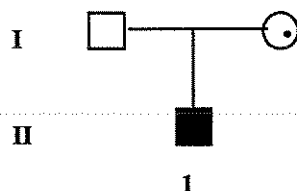
Teste do NBT estimulado com PMA: 0% (mãe: 100%; controle: 100%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo: 1,22; estimulado com PMA 0,37. **Polimorfonucleares:** espontâneo -0,01; estimulado com PMA 1,94.

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Apresentou 3 episódios de piodermite tratados ambulatorialmente com medicação tópica.

Família 2
(BTP)



Data de nascimento: 15/10/1984

Sexo: masculino

Natural e procedente de Piracicaba- SP

RNT, sem informações referente a peso e comprimento. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor desenvolvimento pômdero—estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

No primeiro mês de vida apresentou otite média aguda bilateral, tratada ambulatorialmente.

Aos 2 meses foi internado para tratamento de diarreia, broncopneumonia e otite média perfurada bilateralmente. Desde então foi hospitalizado a cada 2 meses em média, para tratamento de quadros infecciosos graves acometendo tratos respiratório e digestivo (otite, sinusite, amigdalite, pneumonia com ou sem derrame pleural, gastroenterocolite), apesar de estar recebendo SMZ+TMP em dose profilática neste período.

Aos 4 anos apresentou abscesso hepático de múltiplas lojas, de tratamento extremamente complexo, envolvendo o uso de vários esquemas antimicrobianos, drenagens cirúrgicas, além de medidas de tratamento de suporte (terapêutica hidroeletrólítica, correção de distúrbios metabólicos, assistência ventilatória). Somente aos 6 anos de idade obteve-se controle do abscesso hepático. Cultura de material drenado isolou *Staphylococcus aureus*.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, ativo, emagrecido, eupneico, descorado e com micropoliadenopatia. Lesões cicatriciais correspondentes às áreas de drenagem de abscesso em flanco direito. Ausculta pulmonar simétrica, com roncos difusos. Fígado palpável a 5 cm e baço palpável a 2 cm do rebordo costal, ambos com superfície lisa, borda romba e dolorosos à palpação. Peso 24,2 kg. Estatura 126 cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 9,8mg/dl; hematócrito 29%; leucócitos totais 14500/mm³ (bastonetes 20%, segmentados 52%, eosinófilos 3%, linfócitos 22%, monócitos 3%); plaquetas 390000/mm³.

Complemento sérico: C3 120 mg/dl; C4 50 mg/dl; CH50 175 U/ml.

Imunoglobulinas séricas: IgG 1180 mg/dl, IgM 160mg/dl, IgA 180 mg/dl; IgE 63 UI/ml.

Sorologia para HIV (ELISA): negativa (realizada 2 vezes).

TCST: estreptodornase-estreptoquinase 3mm; candidina 7mm; Mantoux negativo; fitohemaglutinina 10mm.

Teste do NBT: 3% (pai 60%, mãe 23%); estimulado 9% (pai90%, mãe 40%).

Dosagem de ânion superóxido: **mononucleares:** espontâneo 0 (mãe 0,3; pai 0,3), estimulado com PMA 0,2 (mãe 12,8; pai 35,6), estimulado com ZIM 0,1 (mãe 4,5; pai 11,3); **polimorfonucleares:** espontâneo 0,1 (mãe 0,2; pai 5,2), estimulado com PMA 0,2 (mãe 11,8; pai 48,9), estimulado com ZIM 0,1 (mãe 4,4; pai 13,5).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Iniciou tratamento profilático com SMZ+TMP e INF γ . Entretanto suspendeu o uso do INF γ devido a reações adversas, como febre e calafrios após cada infusão.

Evoluiu com pneumonias de repetição e pneumopatia crônica. Devido a otites de repetição evoluiu com hipoacusia, com melhora do quadro após cirurgia em 2002.

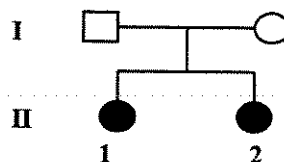
Em agosto/2002 apresentou novo abscesso hepático, multilobulado de difícil tratamento, uma vez que, devido as suas condições pulmonares, não foi possível realizar drenagem cirúrgica. Cultura do material obtido por punção foi negativa para fungos, bactérias e micobactérias. Após 20 dias de evolução mantinha febre e volume do abscesso

inalterado ao exame de ultrassom. Foi associado Prednisona (1mg/kg/dia) à Vancomicina e o paciente manteve-se afebril após o primeiro dia desta associação.

✓ **Exame físico (2002)**

Bom estado geral, hidratado, descorado, eupneico, ativo. Ausculta pulmonar com murmúrio vesicular diminuído em bases, roncos disseminados. Fígado a 3,5 cm do rebordo costal direito e baço a 2 cm do rebordo costal esquerdo. Micropoliadenopatia cervical.

Família 3
(DD e RD)



II.1- R.D.

Data de nascimento: 1987

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural e procedente de Assunção- Paraguai

Sem dados sobre gestação, parto.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pônbero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Aos 2 anos e 6 meses apresentou pneumonia, permanecendo internada por 22 dias para tratamento clínico. Recebeu antibiotico-profilaxia durante 6 meses.

Aos 3 anos e 5 meses foi internada por 8 dia para o tratamento do segundo episódio de pneumonia; sendo então orientada profilaxia com penicilina benzatina mensalmente.

Aos 5 anos e 5 meses apresentou ectima necrótico na região glútea, recebendo antibioticoterapia por 21 dias. *Chromobacterium violaceae* foi isolada em cultura do material da lesão.

Após este terceiro quadro infeccioso foi encaminhada para investigação de imunodeficiência. Estava em uso regular de cefalexina 21 dias e vitamina C 10 dias de maneira intercalada.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, acianótica, eupneica, corada.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 11,9mg/dl; hematócrito 35%; leucócitos totais 9500/mm³ (bastonetes 10%, segmentados 52%, linfócitos 33%, monócitos 5%); plaquetas 250000/mm³.

Complemento sérico: CH50, C3 e C4 normais.

Sorologia para HIV (ELISA): negativa.

Imunoglobulinas séricas: IgG 2220 mg/dl, IgA 400 mg/dl

Índice de fagocitose: 3,13 (controle: 3,99).

Atividade bactericida: 47,8% (controle: 81,73%).

Quimiotaxia de neutrófilos: migração espontânea 30,7µm (controle: 39µm); quimiotaxia 88,5µm (controle: 86,75µm).

Teste do NBT estimulado: 16% (mãe: 96%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,4 (mãe 4,3), estimulado com PMA 1,5 (mãe 35,8), estimulado com ZIM 2,6 (mãe 17,7); **polimorfonucleares:** espontâneo 2,0 (mãe 4,4), estimulado com PMA 1,6 (mãe 45,9), estimulado com ZIM 3,3 (mãe 39,2).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Perdeu seguimento.

II.2- D.D.

Data de nascimento: 1989

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural e procedente de Assunção- Paraguai

Sem dados sobre gestação, parto.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Sua primeira infecção aconteceu aos 2 anos e 5 meses, sendo internada durante 22 dias para tratamento de septicemia.

Aos 3 anos e 6 meses apresentou meningite e aos 4 anos adenite purulenta, sendo isolada *Pseudomonas cepacea*.

Quando foi encaminhada para investigação de imunodeficiência estava em uso regular de cefalexina 21 dias e vitamina C 10 dias de maneira intercalada.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, acianótica, eupneica, corada.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 12,5mg/dl; hematócrito 36%; leucócitos totais 8000/mm³ (bastonetes 12%, segmentados 54%, linfócitos 30%, monócitos 4%); plaquetas 250000/mm³.

Complemento sérico: CH50, C3 e C4 normais.

Sorologia para HIV (ELISA): negativa.

Imunoglobulinas séricas: IgG 1700 mg/dl, IgA 400 mg/dl

Índice de fagocitose: 4,74 (controle: 3,99).

Atividade bactericida: 57,5% (controle: 81,73%).

Quimiotaxia de neutrófilos: migração espontânea 23µm (controle: 39µm); quimiotaxia 77,2µm (controle: 86,75µm).

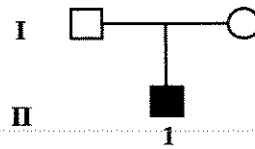
Teste do NBT estimulado: 3% (mãe: 96%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 1,6 (mãe 4,3), estimulado com PMA 1,2 (mãe 35,8), estimulado com ZIM 2,0 (mãe 17,7); **polimorfonucleares:** espontâneo 1,4 (mãe 4,4), estimulado com PMA 1,7 (mãe 45,9), estimulado com ZIM 3,0 (mãe 39,2).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Perdeu seguimento.

Família 4
(GAMM)



Data nascimento: 25/07/1992

Sexo: masculino

Natural e Procedente de Campinas- SP

RNT, peso ao nascimento 3270g. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pômdero—estatural comprometido.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Iniciou acompanhamento no ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica, em abril/1993 (9meses), com história de diarreia com muco e sangue, 6 a 8x/dia, desde os 2 meses de idade; otite crônica desde os 4 meses; freqüentemente apresentava febrícula no final da tarde. Aos 4 e aos 5 meses apresentou abscesso em região cervical.

Em março/1994 (1ano e 8 meses) mantinha quadro de diarreia 3 a 4x/dia, com muco e sangue esporadicamente; excluído leite de vaca da dieta. Apresentava enema opaco normal, colonoscopia com processo inflamatório crônico não ulcerativo, enantematoso moderado em sigmóide e leve no reto. O laudo da biópsia foi de um processo inflamatório crônico. Iniciou uso de Prednisona e Sulfasalazina por 3 meses, com resolução do quadro.

Com 1 ano de idade apresentou estomatite, abscesso perianal, otite supurada bilateral, sendo encaminhado para o ambulatório de Imunologia Pediátrica em novembro/1994.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 6,4 mg/dl; plaquetas 320000/mm³ ; leucócitos totais 17500 (30% neutrófilos; 63% linfócitos; 7% monócitos)

VHS: 29mm

Mucoproteína: 10.8

Teste suor: Na 22 mEq/l; Cl 25 mEq/l

Imunoglobulinas: IgA 146 mg/dl; IgG 1510 mg/dl; IgM 333 mg/dl

Sorologia HIV: não reagente

Quimiotaxia: normal

Dosagem de ânion superóxido: polimorfonuclear espontâneo 0,5 (controle 0,6); polimorfonuclear estimulado com PMA 1,0 (controle 11).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Iniciou uso de SMZ+TMP profilático e INFγ em julho de 1995, interrompendo uso do INFγ em maio/1996, devido a dificuldade em obter a medicação.

Em janeiro/1997 apresentava linfonodomegalia submandibular- citologia material constituído predominantemente de linfócitos maduros, de permeio células maiores com citoplasma basofílico, núcleo com cromatina frouxa e núcleo evidente em neutrófilos; biópsia fragmento ovulado 1.5x0.6x0.34cm tecido esbranquiçado com áreas acastanhadas, consistência firme, linfadenite crônica granulomatosa reacional, pesquisa BAAR (Ziehl-Nielsen) e fungos (Grocott) negativas; cultura *Staphylococcus epidermidis*.

Em abril/1997 apresentou abscesso hepático e permaneceu internado para tratamento durante 60 dias.

Em setembro/1998 internado para tratamento de pneumonia com derrame pleural. Citologia do líquido pleural: inflamação aguda e crônica; material citológico pleural, sem evidência de malignidade, sugere hiperplasia mesotelial reacional inflamatória. Biópsia pulmonar com cultura negativa para micobactéria e fungos; reação inflamatória granulomatosa. Recebeu alta em janeiro/1999, em uso de oxigênio-terapia domiciliar.

Reinternou após 5 dias, em insuficiência respiratória, sendo iniciado tratamento com Ciprofloxacina, esquema tríptico e Anfotericina B. Neste período realizado Mantoux (3mm), lavado gástrico (*Candida albicans*). Recebeu alta em abril/1998, em uso de

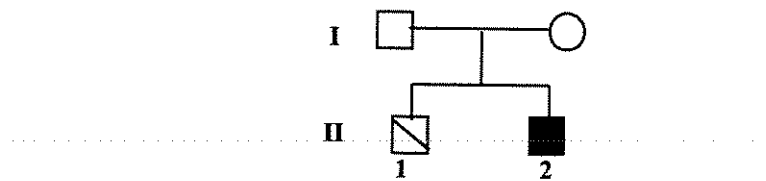
oxigênio-terapia domiciliar, Ciprofloxacina, Etambutol, Rifampicina, Isoniazida e Itraconazol.

Internado novamente em 12/08//1999 com insuficiência respiratória crônica agudizada, evoluindo com óbito em 02/09/1999.

.....

Família 5

(GCG)



Data de nascimento: 24/03/1990

Sexo: masculino

Natural e procedente de Uberlândia- MG.

RNT, peso nascimento 3850g, comprimento 51cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor desenvolvimento pômdero-estatural adequados.

Antecedentes familiares: **I.1-** hepatite C; **II.1-** óbito aos 2 anos (há 13 anos) por sepses; apresentava pneumonias de repetição.

Com 1 ano e 6 meses paciente apresentou amigdalite e quadro febril que persistiu por 40 dias; foi diagnosticado citomegalovírus e após tratamento adequado manteve-se afebril. Apresentou 3 episódios de pneumonia (2 anos, 3 anos e 6 meses, 6 anos), necessitando internação apenas no último episódio (23 dias). Durante seu 3º ano de vida apresentou quadro de diarreia crônica, com melhora após dieta sem leite de vaca.

Até os 6 anos apresentou vários episódios de piodermite e amigdalite e mantinha linfonodomegalia submandibular persistente desde 1 ano e 6 meses.

✓ Exame físico

Bom estado geral, hidratado, corado, eupneico, ativo. Linfonodo submandibular de cerca de 3 cm de diâmetro, consistência fibroelástica, móvel, sem sinais flogísticos. Sem outras alterações. P 26 kg. E 130 cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 12,9 mg/dl; hematócrito 37,5%; leucócitos totais 8600/mm³; 2400 linfócitos/mm³; plaquetas 250000/mm³.

Imunofenotipagem de linfócitos: CD4 672 (28%); CD8 528 (22%)

Complemento sérico: CH50 286 U; C3 98 mg/dl; C4 35 mg/dl; C1q 12 mg/dl; C3a 40 mg/dl.

Imunoglobulinas séricas: IgG 2060 mg/dl, IgA 268 mg/dl, IgM 244 mg/dl, IgE 62 UI/ml; IgG1 1300 mg/dl, IgG2 475 mg/dl, IgG3 35 mg/dl, IgG4 50 mg/dl.

Sorologia para HIV (ELISA): negativa.

Índice de fagocitose: neutrófilos 43,5% (controle 74, 7%); monócitos 46,1% (controle: 92,6%).

Quimiotaxia de neutrófilos: migração espontânea 46µm (controle: 52µm); estímulo com C5a 69µm (controle: 123µm).

Teste do NBT estimulado: 0% (controle: 94%).

✓ **Evolução após o diagnóstico de DGC**

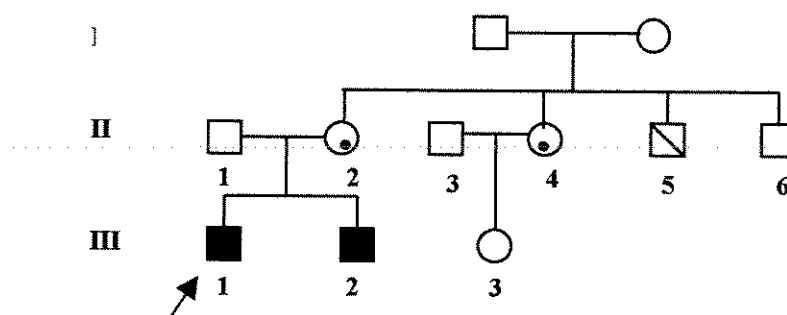
Desde o diagnóstico faz uso de antibiótico profilático. Em vigência de uso de INFγ evoluiu com leucopenia e tem usado a medicação em ciclos com duração de 3 a 4 meses, a cada 3 meses.

Na evolução apresentou amigdalites e sinusites de repetição; sinusite com cisto de retenção maxilar à esquerda.

Desde os 2 anos apresentou 5 episódios de estomatite e cerca de 20 episódios de infecção cutânea; 10 episódios de amigdalite, desde 1 ano e 6 meses; 4 episódios de otite média aguda desde 1 ano e 6 meses.

Em janeiro de 2002 apresentou quadro de obstrução gástrica por granuloma, com resolução após uso de Prednisona. No mesmo ano apresentou quadro de insuficiência respiratória, sendo evidenciada compressão extrínseca da árvore brônquica, foi realizada videotoracoscopia com biópsia dos granulomas sem evidências de infecção ou processo neoplásico. Nesta ocasião também houve regressão dos granulomas após o uso de Prednisona.

Família 6
(JEM e LEM)



III.1- J.E.M. (Caso índice)

Data de nascimento: 15/05/1990

Sexo: masculino

Cor: branco

Natural e Procedente de Pirassununga – SP.

RNT, sem informações referente a peso e comprimento. Sem intercorrências gestação e parto.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pôndero-estatural abaixo do percentil 2,5.

Antecedentes familiares: **II.5**-infecção de repetição, óbito aos 6 meses.

No período neonatal apresentou impetigo generalizado, com boa resposta a tratamento com Neomicina tópica. Durante o primeiro ano de vida apresentou também 2 pneumonias (8 meses e 10 meses) tratadas com antibiótico parenteral, sendo a primeira pneumonia acompanhada de “sarampo” e a segunda de gastroenterocolite. Aos 13 meses foi internado com história de febre há 40 dias, úlceras em membros inferiores e adenite inguinal bilateral fistulizada.

✓ **Exame físico**

Regular estado geral, descorado, hipoativo, eupneico. Adenite inguinal bilateral fistulizada. Úlceras de 8 a 15cm de diâmetro, arredondadas, com fundo granuloso e bordas

planas e mal delimitadas, acometendo membros inferiores e superiores (8 lesões). Sem anormalidades dos aparelhos cardiovascular e respiratório. Abdome normotenso, com fígado e baço a 2cm do rebordo costal direito e esquerdo respectivamente, ambos com superfície lisa, bordas ligeiramente rombas e discretamente dolorosos à palpação. Peso 7,5kg. Estatura 72cm.

✓ **Exames laboratoriais iniciais**

Hemograma: Leucocitose moderada.

Imunoglobulinas: IgA e IgG aumentadas; IgM e IgE normais.

Complemento: CH50, C3 e C4 normais.

Quimiotaxia de neutrófilos: normal.

Teste qualitativo G6PD: normal.

Sorologia HIV: negativo.

Biópsia lesões de pele: infiltrado inflamatório crônico, constituído por histiócitos formando granulomas epitelióides, com necrose coagulativa central.

Teste do NBT estimulado com PMA: paciente 3%; mãe 43%; tia materna 21%; controle 67%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,3 (mãe 0,5; pai 2,9), estimulado com PMA 0 (mãe 11,6; pai 33,4), estimulado com ZIM 0,8 (mãe 4,8; pai 16,8); **polimorfonucleares:** espontâneo 0 (mãe 1,5; pai 0,6), estimulado com PMA 0,3 (mãe 10,6; pai 55,7), estimulado com ZIM 0,4 (mãe 5,6; pai 11,6).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Aos 6 anos apresentou pioartrite em joelho direito, evoluindo com artrose nesta articulação. Aos 9 anos apresentou a terceira pneumonia, sem agente etiológico definido e tratada por 10 dias com antibióticos parenterais (Cefazolina e Amicacina). Cerca de 1 ano depois apresentou nova pneumonia, de difícil tratamento, sendo identificado *Aspergillus sp* em cultura de material de biópsia pulmonar.

Desde o início dos quadros infecciosos, este paciente apresenta infecções de repetição em pele, com dificuldade de cicatrização de uma lesão ulcerosa em 1/3 médio do membro inferior direito. Nos períodos de exacerbação são realizadas cultura da secreção

das lesões, sempre positivas para *Staphylococcus epidermidis* ou *Staphylococcus aureus* multissensível.

Em junho/2001 um granuloma localizado em 1/3 médio do esôfago evoluiu com obstrução deste órgão. Foi descartada etiologia infecciosa com base em aspectos clínicos e hemograma sem padrão infeccioso e iniciado tratamento com Prednisona (1mg/kg/dia), com resolução clínica e radiológica do quadro em 1 semana. A medicação foi mantida na dose de 1mg/kg/dia por 2 meses e só então se iniciou a retirada lenta da medicação.

Desde os 3 anos de idade, época em que foi estabelecido o diagnóstico de DGC, faz uso de SMZ+TMP em dose profilática e uso irregular de INFγ. E desde a infecção por *Aspergillus sp* recebe Itraconazol profilático. Durante o período em que o paciente recebeu Prednisona, foram utilizadas doses terapêuticas do SMZ+TMP e do Itraconazol.

✓ Exame físico

Bom estado geral, ativo, corado, eupneico. Lesão ulcerada de cerca de 3cm de diâmetro, com secreção fluida e clara e fundo granuloso, localizada em 1/3 distal da face lateral do membro inferior direito. Abdome normotenso, indolor à palpação; com fígado a 1,5cm do rebordo costal direito e baço a 5cm do rebordo costal esquerdo, ambos com superfície lisa. Aftas em mucosa oral. Sem anormalidades dos aparelhos cardiovascular e respiratório. Peso 23,5kg. Estatura 125cm.

III.2- L.E.M.

Data de nascimento: 28/07/1999

Sexo: masculino

Cor: branco

Natural e Procedente de Pirassununga – SP.

RNT, sem informações referente a peso e comprimento. Sem intercorrências gestação e parto.

Imunização: não recebeu BCG e Sabin. Demais vacinas do calendário foram administradas sem reação adversa.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Antecedentes familiares: **II.5-** infecção de repetição, óbito aos 6 meses; **III.1-** irmão com diagnóstico de DGC aos 2 anos e 6 meses.

Como irmão mais velho tinha diagnóstico de DGC, antes de receber a BCG foi realizado estudo do sistema NADPH oxidase, com diagnóstico de DGC aos 2 meses de idade.

✓ **Exame físico inicial**

Bom estado geral, corado, hidratado, eupneico. Sem anormalidades aparelhos cardiovascular e respiratório, abdome, otoscopia e oroscopia. Ausência de linfonodomegalia. Peso 5kg. Comprimento 57cm.

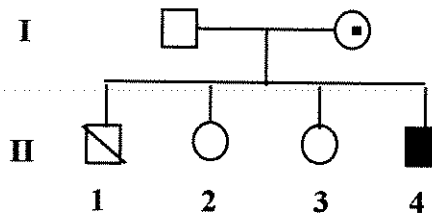
✓ **Exames laboratoriais**

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,25, estimulado com PMA 0,2; **polimorfonucleares:** espontâneo 0,1, estimulado com PMA 0,6.

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

A primeira infecção de L.E.M. aconteceu aos 5 meses, na forma de mastoidite. Com a idade de 8 meses, o paciente apresentou pneumonia. No 4º dia de tratamento domiciliar o paciente apresentou uma crise convulsiva tônico-clônica generalizada; foi colhido líquor e diagnosticado meningite viral (34 leucócitos- 95% linfócitos, 5% neutrófilos; 3 hemácias; proteína 86,3; glicose 40,5). Durante a internação observada hepatoesplenomegalia e realizada ultrassonografia abdominal, que evidenciou esplenomegalia (11,2cm no sentido longitudinal) lesões hipoecóicas em baço (abscessos), hepatomegalia leve. Como não apresentava resposta satisfatória ao tratamento instituído, foi realizada biópsia pulmonar, que constatou broncopneumonia com presença de bactérias e ausência de fungos e bacilo ácido-álcool resistente (BAAR). A cultura de fragmento pulmonar e hemocultura foi positiva para *Burkholderia cepacea* sensível à Ceftriaxona, medicação em uso desde o 1º dia da internação. O paciente evoluiu com disfunção de múltiplos órgãos, insuficiência renal, acidose metabólica e pancitopenia, indo a óbito no 12º dia de internação.

Família 7
(LFRG)



Data de nascimento: 13/03/1984.

Sexo: masculino.

Cor: branca.

Natural de Cerquilho – SP.

Procedente de Sorocaba - SP.

Sem dados referentes ao nascimento.

Imunização completa, sem reações adversas.

Antecedentes familiares: **II.1**- óbito por pneumonia, com 1 ano; laudo da necropsia: reação inflamatória granulomatosa em pulmões, pleura, traquéia, fígado, baço e linfonodos; hiperplasia linforeticular generalizada e sialoadenite crônica focal, com pesquisa negativa de fungos, bactérias e BAAR.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôn timero-estatural adequados.

Iniciou quadros infecciosos na 3ª semana de vida, apresentando pneumonia de difícil tratamento. Até completar 1 ano, teve várias pneumonias bilateralmente, necessitando internações, apesar do uso de SMZ+TMP profilático. Com 1 ano e 6 meses apresentou hepatoesplenomegalia e adenite purulenta axilar e cervical causada por *Staphylococcus aureus*.

✓ **Exame físico**

Regular estado geral, ativo, acianótico, eupneico, descorado. Adenomegalia cervical e inguinal. Hiperemia conjuntival. Na cavidade oral: dentes em mal estado de conservação, gengivas hipertróficas, congestionadas e com drenagem de secreção purulenta dos

espaços periodontais. Ausculta pulmonar com roncos disseminados. Fígado a 4 cm do rebordo costal direito e baço a 3 cm do rebordo costal esquerdo; ambos com superfície lisa, bordas rombas e indolores. Cicatrizes incisoriais nas regiões axilares e inguinais.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 10,5 mg/dl, hematócrito 37%; leucócitos totais 11100/mm³ (47% segmentados; 2% bastonetes; 5% eosinófilos; 42% linfócitos; 4% monócitos).

Complemento: CH50, C3 e C4 normais.

Imunoglobulinas: IgA 427mg/dl; IgG 2930 mg/dl; IgM 259 mg/dl.

TCST: Mantoux 10mm; Candidina 8mm; Levedurina 8mm; Varidase negativo.

Teste do suor: Na 15 mEq/l; Cl sem informação

Sorologia HIV: negativa.

Teste do NBT: em repouso 4%; estimulado com PMA 9%. Repetido aos 6 anos: em repouso 11% (mãe 18%; controle 58%), estimulado com PMA 30% (mãe 55%; controle 84%). Havia formação de poucos precipitados intracelulares, com reação de fraca intensidade.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,6 (mãe 0,3; controle 4,9), estimulado com PMA 5,5 (mãe 23,7; controle 41,3), estimulado com ZIM 3,1 (mãe 0,3; controle 11,3); **polimorfonucleares:** espontâneo 0 (mãe 2,4; controle 4,5), estimulado com PMA 0,8 (mãe 17,3; controle 61,3), estimulado com ZIM 0,6 (mãe 3,3; controle 14,5).

✓ **Evolução após o diagnóstico de DGC**

Em janeiro de 1986 foi estabelecido diagnóstico de DGC e mantido SMZ+TMP profilático.

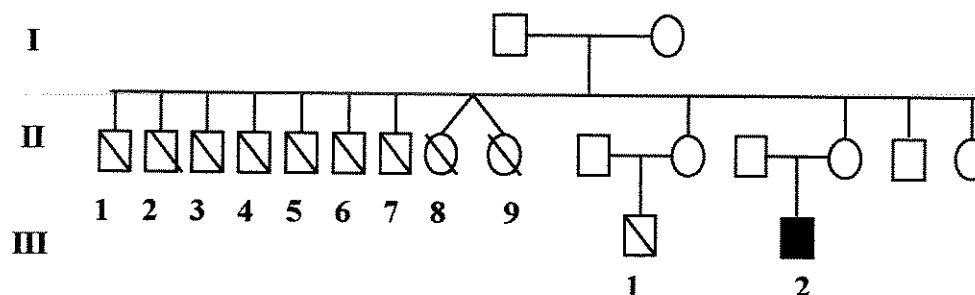
Evoluiu apresentando episódios de febre intermitente, conjuntivite purulenta, sinusite, pneumonia e piodermite.

Aos 10 anos e 11 meses apresentou abscesso renal à esquerda.

Em seguida apresentou pneumonia, evoluindo para sepse e óbito.

Família 8

(MFB)



Data de nascimento: 07/05/1997.

Sexo: masculino.

Cor: branca.

Natural e procedente de Santos - SP.

RNT, peso ao nascimento 3140g, comprimento 50cm. Período neonatal: piodermite.

Imunização completa, sem reações adversas.

Antecedentes familiares: **II.1 a II.9**- óbito no 1o mês de vida; diarreia e vômitos; **III.1**: óbito aos 3 meses; pneumonia.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado até os 6 meses, pôndero-estatural adequado até os seis meses.

Aos 6 meses teve uma pneumonia e no mês seguinte apresentou osteomielite. Com 8 meses apresentou abscesso axilar e subfrênico com fistulização espontânea, tratados com Vancomicina e Ceftriaxone; no 14º dia de evolução apresentou abscesso hepático e foi acrescentado Metronidazol ao tratamento; como apresentou, neste período, monilíase oral e de pele, foi acrescentado Anfotericina B ao tratamento. Apresentou infecção cutâneas por *Candida sp* aos 9 anos.

Em fevereiro de 1998 foi estabelecido o diagnóstico de DGC para esta criança e iniciado o uso de SMZ+TMP profilático.

✓ **Exame físico**

Regular estado geral. Polimicroadenopatia cervical posterior, axilar e inguinal. Fígado a 3 cm do rebordo costal direito, baço a 1,5 cm do rebordo costal esquerdo. Lesões de pele eritemato-papulosas, menores que 1mm em região abdominal e torácica. Peso 5580g. Estatura 65,5cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 7,8 mg/dl, hematócrito 25%; leucócitos totais 22400/mm³ (74% segmentados; 1% bastonetes; 24% linfócitos; 1% monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD4 935 (44%); CD8 1670 (25%).

Imunoglobulinas: IgA 97 mg/dl; IgG 1270 mg/dl; IgM 249 mg/dl.

Sorologia HIV: negativa.

Índice de Fagocitose: 16% (controle 45%).

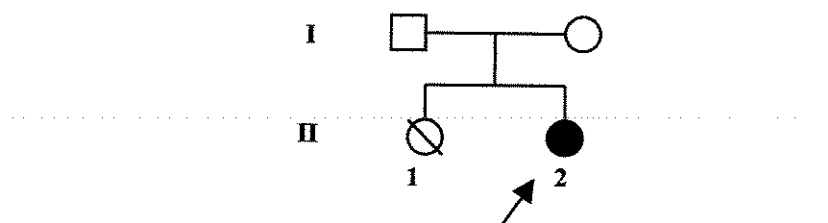
Teste do NBT: 0% (controle 96%).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Em janeiro de 2001 apresentou quadro de vômitos durante 9 dias, com melhora com o uso de Bromoprida. Voltou a apresentar vômitos em abril do mesmo ano, cerca de 3 vezes ao dia durante 20 dias. Realizada ultrasonografia de abdome e iniciado Prednisona via oral, com resolução do quadro em 5 dias.

Família 9

(MSS)



Data de nascimento: 1994

Sexo: feminino

Cor: negra

Natural e procedente de Votuporanga- SP.

RNT, sem dados de peso e comprimento. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pômdero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Paciente foi internada com 1 ano para tratamento de suporte durante quadro diarréico. Não apresentou intercorrências até os 3 anos, quando iniciou quadro de febre, gemência, dispnéia, anorexia e hipoatividade; com radiografia de tórax sugestivo de tuberculose miliar + pneumonia. Foi internada no dia 02/03/1997 em sua cidade, recebendo esquema triplice (isoniazida, rifampicina, pirazinamida), oxacilina, ceftriaxone, aminofilina e inalação com β_2 -adrenérgico. Houve melhora do padrão respiratório, porém como mantinha febre foi transferida para São José do Rio Preto no dia 18/03/1997. Neste serviço recebeu Vancomicina e Amicacina por 5 dias, com piora do padrão respiratório, sendo associado SMZ+TMP por 21 dias, e então iniciado Anfotericina B. No 42º dia de internação criança apresentava-se em bom estado geral, ativa, afebril, com discreta taquipnéia e no 50º dia de internação foi realizada biópsia pulmonar a céu aberto.

✓ **Exame físico admissão**

Regular estado geral, taquidispneica, hipocorada ++/4+, consciente, ativa, acianótica. Ausculta pulmonar diminuída globalmente, com roncos difusos e sibilos. Fígado palpável a 2cm do rebordo costal direito, baço não palpável. Sem outras alterações. Peso 14,2 kg. Estatura 96,4 cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 9,6 mg/dl, hematócrito 30%; leucócitos totais 16800/mm³ (68% segmentado; 8% eosinófilos; 21% linfócito; 3% monócito); plaquetas 580000/mm³.

Mielograma: hiper celularidade, sem linfócitos atípicos.

Broncoscopia, LBA: esfregaço mostra hemácias, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, numerosos macrófagos com pigmento acastanhado intracitoplasmático, bactérias, fungos, células epiteliais e descamação, sem atipias nem sinal de malignidade; pesquisa BK, *P. carinii* e histoplasma negativa; cultura positiva para *Staphylococcus aureus* multiresistente.

Sorologia HIV: negativa

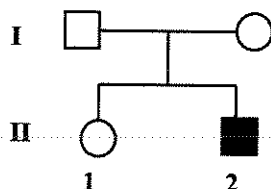
Dosagem de ânion superóxido: mononucleares em repouso 0,16, estimulado com PMA 0,19; polimorfonucleares em repouso 0,28, estimulado com PMA 0,52.

✓ **Evolução após o diagnóstico de DGC**

Perdeu seguimento.

Família 10

(PMS)



Data de nascimento: 30/07/1999

Sexo: masculino

Cor: branca

Natural e procedente de São Paulo - SP.

RNT, peso ao nascimento 3630g, comprimento 51cm. Período neonatal sem intercorrências.

Imunização completa, com reação local à vacina BCG.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Após 3 meses da vacina BCG apresentou tumoração no local da vacina, com hiperemia, edema e ulceração recidivante.

Com 7 meses apresentou febre alta e gânglio cervical esquerdo aumentado; a febre persistiu 20 dias, mantendo estado geral. Foi realizada drenagem cirúrgica com saída de material purulento, evoluindo com boa cicatrização. Permaneceu bem por mais 7 meses, até 1 ano e 4 meses, quando voltou a apresentar linfonomegalia nas regiões cervical e inguinal.

Com 1 ano e 8 meses, 2 episódios de infecção de vias aéreas superiores. No segundo episódio apresentou sangramento da narina direita, febre baixa e fez uso de Cefamox 10 dias. Após término do Cefamox, voltou a apresentar febre diária, até 39°C, 2 a 3 vezes ao dia, mantendo estado geral, sem outros sintomas. Permaneceu febril 23 dias, 4 dias internado no Hospital Samaritano (radiografias de tórax e seios face, ecocardiograma, sorologia citomegalovírus (CMV), mononucleose, toxoplasmose, HIV, dosagem de amilase, dosagem de CH50/ C3/ C4, todos normais). Evoluiu com celulite peri-orbitária e

orbitária por volta do 23º dia. A tomografia computadorizada evidenciou sinusite etmoidal à direita, celulite à direita, otite e mastoidite à direita. Foi iniciado antibiótico parenteral, sem melhora do quadro até o 4º dia de tratamento, quando apresentou bacteremia, sendo então iniciado Vancomicina (18dias) e Ceftriaxone (21 dias). Nos locais onde se obteve acesso venoso periférico houve aparecimento de bolhas, evoluindo com placas purulentas.

Após 15 dias (com 1 ano e 11 meses), linfonodo cervical direito aumentando, sem sinais flogísticos locais (abscesso frio): feito tomografia computadorizada de crânio e tórax, sendo observada atelectasia em pulmão direito. Após 1 semana resolução do quadro. Após 1 semana e meia novo aumento do linfonodo direito associado a infecção de vias aéreas superiores, com febre, tosse, coriza. Apresentou em seguida otite média aguda à direita.

✓ **Exame físico**

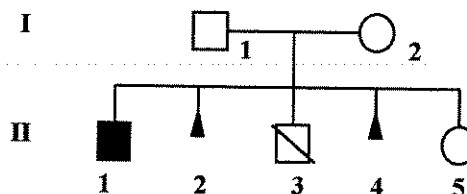
Bom estado geral, descorado, hidratado, eupneico, ativo. Linfonodos submandibulares, cervical e axilares de 0,5 cm, móveis. Lesões maculares hiperocrômicas cicatriciais em membros inferiores. Fígado 3cm rebordo costal direito, baço a 1 cm do rebordo costal esquerdo. Peso 12.700g. Estatura 84cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Teste do NBT estimulado com PMA: 0% (mãe 100%; irmã 100%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,37 (controle 1,32); estimulado com PMA -0,31 (controle 6,16). **Polimorfonucleares:** espontâneo -0,65 (controle -0,8); estimulado com PMA 2,37 (controle 8).

Família 11
(RVSS)



Data de nascimento: 12/12/1993

Sexo: masculino

Cor: negro

Natural e procedente do Rio de Janeiro

RNT, peso nascimento 2950g, comprimento 58cm. Sem intercorrências gestação e parto.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pôndero-estatural abaixo do 5.

Antecedentes familiares: **I.1** e **II.5** portadores de traço falciforme; **II.3**- óbito aos 3 anos por pneumonia, abscessos pulmonar e hepático evoluindo para sepse.

Primeira infecção aos 6 meses, necessitando internação para tratamento de pneumonia durante 30 dias. Com 1 ano de idade apresentou febre de origem indeterminada por 90 dias; realizado Mantoux, com nódulo de 11mm e iniciado esquema tríplice para tratamento de tuberculose durante 6 meses, sem melhora. Para esclarecimento diagnóstico também foram realizados: ultrassonografia de abdome (fevereiro/1995- apresentava hepatoesplenomegalia homogênea), mielograma (abril/1995- hiperplasia mielóide), biópsia hepática (abril/1995- infiltrado inflamatório mononuclear nos espaços porta; hepatócitos tumefeitos, notando-se em alguns fragmentos áreas de necrose hepatocitária com infiltrado de células de Kupffer, preenchidas de material coróide e acúmulo pequeno de mononucleares nos sinusóides, podendo por vezes serem associados a degeneração hepatocitária) e biópsia pulmonar (maio/1995- parênquima com alterações mínimas,

infiltrado intersticial focal, às vezes formando acúmulo linfóide peribronquiolar, com raros macrófagos intra-alveolares. Pleura com aumento do coxim conjuntivo com células mesoteliais hiperplasiadas. Alterações inflamatórias mínimas). Depois de suspenso o esquema tríptico, recebeu Ceftriaxone, Amicacina e Anfotericina por 30 dias, com resolução do quadro. Apresentou, até dezembro de 1999, 3 otite média aguda, 3 sinusites, 13 pneumonias (última em março/1999), 2 infecções de pele e 2 episódios de diarreia, sendo isolada *Salmonella sp* no primeiro.

Em setembro de 1997 iniciou uso de Amoxicilina profilática. Entre os meses de dezembro de 1997 e abril de 1998 recebeu gamaglobulina intravenosa, sem controle dos episódios infecciosos. Desde agosto de 1999 faz uso de SMZ+TMP profilático.

✓ **Exame físico**

Regular estado geral, descorado, hidratado, eupneico. Abdome normotenso, indolor à palpação; fígado a 5 cm do rebordo costal direito, baço a 3 cm do rebordo costal esquerdo, ambos com superfície lisa à palpação. Sem outras anormalidades. Peso 23kg. Estatura 125cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 9 mg/dl, hematócrito 27%; leucócitos totais 28000/mm³ (2400 bastonetes, 19600 segmentados, 2800 linfócitos, 3360 monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: linfócitos totais 12500; CD4 19%, CD8 28%.

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 111 mg/dl, IgG 924 mg/dl, IgM 354 mg/dl (06/1994); IgA 137 mg/dl, IgG 1663 mg/dl, IgM 235 mg/dl (05/1995); IgA 194 mg/dl, IgG 1767 mg/dl, IgM 471 mg/dl (10/1995); IgA 271 mg/dl, IgG 2490 mg/dl, IgM 320 mg/dl, IgE 102 UI/ml (05/1997); IgG1 1130 mg/dl, IgG2 645 mg/dl, IgG3 95 mg/dl, IgG4 2 mg/dl (11/1996).

Complemento: C3 161 mg/dl, C4 49,7 mg/dl (05/1997); CH50 291 U, C3 142 mg/dl, C4 41 mg/dl (17/1997).

Isohemaglutininas: anti-A 1/256; anti-B 1/256; Rh positivo.

Teste do Suor: Na 18 mEq/l; Cl 22 mEq/l.

Atividade proliferativa de linfócitos: estimulada com fitohemaglutinina 9504 (controle 7922); Pokweed 3023 (controle 3199); Concanavalina A 3649 (controle 5628).

Teste cutâneo de hipersensibilidade tardia: PPD 11mm; Candidina negativo; Estrepto C negativo.

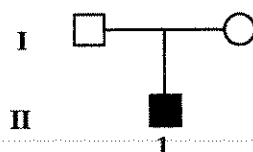
Dosagem de G6PD: 34 um/bilhão de eritrócitos; 1,8µl/g Hb/min a 37°C (dosagem intracelular).

Sorologia HIV: negativa (02/1995 e 07/1999).

DHR: 6% (controle 78%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,062 (controle 0,68), estimulado com PMA -0,03 (controle 5,77); **polimorfonucleares:** espontâneo 0,17 (controle 0,26), estimulado com PMA 0,58 (controle 9,18).

Família 12
(TFP)



Data de nascimento: 11/05/1999

Sexo: masculino

Cor: branca

Natural e procedente de Santo André – SP.

RNT, peso nascimento 3950g, comprimento 52cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Aos 5 meses apresentou adenite em região cervical à esquerda, tratada com antibiótico parenteral e realizada drenagem cirúrgica. Aos 9 meses iniciou quadro de infecção de vias aéreas superiores evoluindo com adenite cervical à direita e pneumonia, sendo internado devido à falta de resposta aos tratamentos com Amoxicilina, Cefalexina e Amoxicilina + Clavulanato. Dois dias após a alta hospitalar, voltou a apresentar febre e exame radiológico de tórax mostrou piora do quadro pulmonar; recebeu alta após 14 dias de internação. Cerca de 1 mês depois voltou a apresentar pneumonia no mesmo local e adenite cervical; biópsia de linfonodo cervical evidenciou processo inflamatório inespecífico e as culturas do material foram negativas para fungos, bactérias e BAAR.

Foi solicitado, então, exame para investigação de DGC realizado em laboratório da cidade de São Paulo que confirmou a hipótese diagnóstica de DGC.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, corado, hidratado, eupneico. Ausculta pulmonar simétrica, com roncocal disseminados. Sem outras Alterações. Peso 10,150 kg. Estatura 74,5cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 6,5 mg/dl, hematócrito 22%; leucócitos totais 13900/mm³ (4309 neutrófilos, 417 eosinófilos, 7784 linfócitos, 695 monócitos).

Dosagem de imunoglobulinas: IgA, IgG, IgM normais.

Complemento: C3 e C4 normais.

Sorologia HIV: negativa.

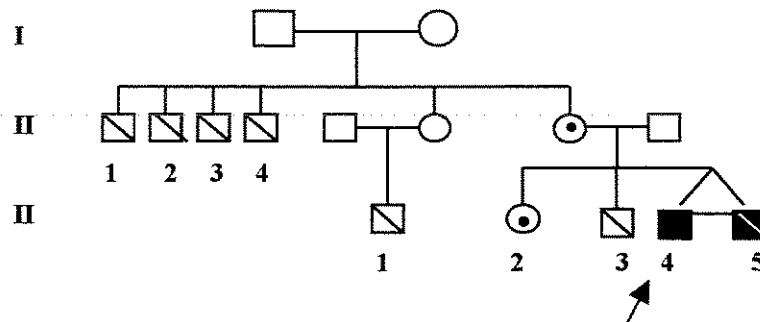
DHR: <5%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: estimulado com PMA 2,11; polimorfonucleares: estimulado com PMA 15,6.

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Com 1 ano e 3 meses T.F.P. teve nova pneumonia tratada com antibiótico parenteral durante 14 dias.

Família 13
(TPB e IPB)



III.4- T.P.B.

Data de nascimento: 18/03/1997

Sexo: masculino

Cor: branco

Natural e Procedente do Rio de Janeiro- RJ

RNT, 1º gemelar. Peso nascimento 2660g, comprimento 48cm. Sem intercorrências gestação e parto.

Recebeu imunização completa, com reação adversa à BCG.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pômdero-estatural abaixo do percentil 2,5.

Antecedentes familiares: **II.1,2,3,4, e III.1**- óbito por processos infecciosos; **III.3**- óbito aos 3 meses (picada de inseto em membro superior, após 3 dias apresentava sinais inflamatórios no local, evoluiu para celulite com áreas de necrose e sepse); **III.4**- gêmeo univitellino (**I.P.B.**); óbito aos 11 meses; aos 6 meses apresentou abscesso em calcanhar direito, sendo realizada drenagem cirúrgica. Como não apresentava melhora com os tratamentos instituídos, após 1 mês foi realizada biópsia, no mesmo local, compatível com tuberculose, e iniciado esquema triplice. O tratamento para tuberculose foi suspenso em razão de alterações hepáticas importantes e em 1 semana evoluiu para óbito. Laudo da necropsia: Doença granulomatosa- Tuberculose (pulmão, fígado, baço, linfonodos, pele); enfisema; infecção bacteriana; pericardite; esteatose hepática; nefrite intersticial; esofagite.

Cerca de 1 mês após ter recebido a vacina BCG, T.P.B. apresentou linfonodomegalia submandibular bilateral volumosa com fistulização, tratada por 40 dias com Rifampicina e Isoniazida.

Com 1 ano de vida apresentou quadro de febre que persistiu por 40 dias, evoluindo com insuficiência respiratória aguda e necessitando de internação em unidade de terapia intensiva. Devido ao antecedente de BCGite e óbito do irmão gêmeo por tuberculose disseminada e foi iniciado esquema tríplice, porém como não apresentava melhora, foi acrescentado Anfotericina.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, hidratado, eupneico, afebril. Fígado a 3 cm do rebordo costal direito. Sem outras alterações ao exame físico. Peso 9 kg. Estatura 70,8 cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 11 mg/dl, hematócrito 32,4%; leucócitos totais 8500/mm³ (60%neutrófilos, 1% eosinófilos, 38% linfócitos, 1% monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD4 857, CD8 499.

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 325 mg/dl, IgG 1630 mg/dl, IgM 359 mg/dl, IgE 84 UI/ml.

Complemento: CH50 112 U, C3 84 mg/dl, C4 38,6 mg/dl.

Sorologia HIV: negativa.

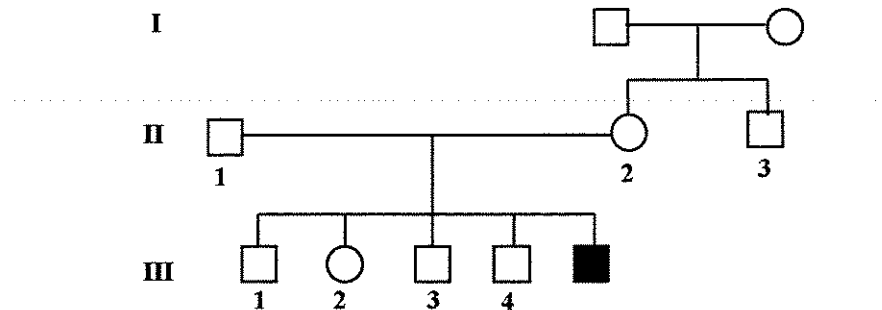
Teste do NBT estimulado com PMA: 0%; mãe 50%; irmã 50%; controle 100%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,12 (mãe 0,15; irmã 0,2); estimulado com PMA 0,27 (mãe 3,62; irmã 2,28). **Polimorfonucleares:** espontâneo 0,26 (mãe 1,01; irmã 0,64); estimulado com PMA 0,22 (mãe 8,83; irmã 8,97).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Em abril de 1998 foram estabelecidos o diagnóstico de DGC para o paciente e o estado de portadoras para a mãe e a irmã. Desde então T.P.B. Faz uso de SMZ+TMP e itraconazol profiláticos, bem como de INF γ , entretanto apresenta episódios de febre e adenite cervical de repetição e ocasionalmente estomatite.

Família 14
(VFG)



Data de nascimento: 11/08/1989.

Sexo: masculino.

Cor: branca.

Natural e procedente de Campinas- SP.

RNT, peso ao nascimento 3350g, comprimento 52cm.

Dermatite seborréica a partir do 2º dia de vida; impetigo.

Apenas BCG, com demora de cerca de 5 meses para adequada cicatrização.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pômdero-estatural inadequado.

Antecedentes familiares: **II.3** –histiocitose X, leucemia.

Encaminhado para o ambulatório de Imunodeficiência Primária do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas devido a história de infecções de repetição, consistindo de 15 pneumonias, otite média crônica desde os 2 meses, 2 episódios de sinusite, adenite cervical recorrente, 8 abscessos hepáticos (em 3 foi isolado *Staphylococcus aureus*).

Foi internado inúmeras vezes para tratamento das infecções e os abscessos hepáticos foram sempre tratados com antibiótico parenteral e drenagem cirúrgica.

Desde os 8 meses era acompanhado no ambulatório da Dermatologia devido a lesões de pele (lesões pápulo-vesiculosas medindo aproximadamente 2 mm de diâmetro, achatadas, violáceas, com certo brilho e consistência elástica em tronco e membros

superiores; em frente algumas lesões vesiculares com conteúdo esbranquiçado; descamação com formação de crostas brancas em área levemente eritematosa em couro cabeludo; eritema e fissura em inversão do pavilhão retroauricular). A biópsia de pele realizada no ano de 1990 apresentava diagnóstico compatível com doença de Letterer-Siwe (infiltrado inflamatório focal intenso que borra o limite dermo-epidérmico, com presença de neutrófilos, células mononucleares, hemácias extravasadas e alguns eosinófilos; algumas células com citoplasma róseo que não permitem, no entanto, melhor caracterização). Foi então encaminhado ao Centro Boldrini, onde iniciou quimioterapia, sem resposta clínica apropriada a 2 diferentes protocolos para tratamento de histiocitose.

Além dos exames laboratoriais, em nosso serviço foram realizados: tomografia computadorizada de tórax (08/2002 – áreas de aprisionamento aéreo, espessamento inter e intralobular e aspecto de vidro fosco esparsos) e biópsia pulmonar (frequentes formações granulomatosas com necrose caseosa central e distribuição periférica em paliçada de células epitelióides. Leve quantidade de células gigantes tipo Langerhans. Em algumas áreas, nota-se agrupamento de neutrófilos e raros eosinófilos e plasmócitos. Pleura espessa e, em áreas, revestida por fibrina. Proteína S-100 positiva em células esparsas).

✓ Exame físico

Bom estado geral, taquipneico, sem esforço respiratório, hidratado, descorado ++/ 4. Linfonodomegalia cervical e submandibular bilateral. Estertores crepitantes em 1/3 médio de ambos os hemitórax, murmúrio vesicular abolido em base do hemitórax direito. Sem outras anomalias. Peso 24,5 kg. Estatura 137,3 cm.

✓ Exames laboratoriais

Hemograma: hemoglobina 12,5 mg/dl, hematócrito 37,2%; leucócitos totais 14700/mm³ (8673 neutrófilos, 2646 eosinófilos, 2793 linfócitos, 588 monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD4 446, CD8 636.

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 195 mg/dl, IgG 1080 mg/dl, IgM 199 mg/dl, IgE 835 UI/ml.

Complemento: C3 1,02 g/dl, C4 0,24 g/dl.

Sorologia HIV: negativa.

Quimiotaxia: normal.

Fagocitose: normal.

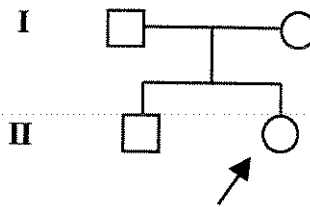
Teste do NBT estimulado com PMA: 0%; avó 100%; controle 100%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,12 (avó 0,53; controle 0,01); estimulado com PMA 0,01 (avó 5,07; controle 6,3). **Polimorfonucleares:** espontâneo 0 (avó 0,46; controle 5,07); estimulado com PMA 0,06 (avó 8,62; controle 8,99).

✓ **Evolução após diagnóstico de DGC**

Em setembro de 2002 apresentou abscesso em região axilar esquerda, tratado com drenagem cirúrgica e Cefalexina. Cultura do material drenado negativa para bactérias e fungos.

Família 15
(APMN)



Data de nascimento: 23/07/1991.

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural de Cotia – SP.

Procedente de Itapecerica da Serra – SP.

RNT, peso ao nascimento 3600g, comprimento 48cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Nega antecedentes familiares de infecções e repetição.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Em 1995 a criança submetida a amidalectomia por apresentar infecções de repetição (mais de 10 episódios), com exame anátomo-patológico compatível com tuberculose em amígdalas. Recebeu esquema tríplice para tratamento de tuberculose durante 6 meses, apresentando neste período 2 episódios de broncopneumonia tratados ambulatorialmente.

No ano de 1999 apresentou lesão ulcerada em mucosa nasal à esquerda associada a gengivite. A biópsia das lesões foi compatível com leishmaniose e em maio deste ano a criança foi internada para tratamento com glucantime. Como não houve resposta clínica, após 2 ciclos de glucantime foi iniciado Anfotericina B. Nesta ocasião as lâminas da biópsia foram revisadas, com laudo de diagnóstico histológico de actinomicose, e foi iniciado tratamento com Penicilina cristalina com melhora do quadro.

Para investigação dos quadros de pneumonia (5 casos em 3 anos) foram realizados tomografia computadorizada de tórax (06/1999 – bronquiectasia; 07/2000- pneumopatia inflamatória associada a bronquiectasia no lobo médio; parênquima pulmonar apresenta infiltrado alveolar com áreas de fibrose e estrias e dilatação e espessamento das paredes das vias aéreas adjacentes ao lobo médio) e lavado broncoalveolar (06/1999- culturas negativas para BAAR e fungos, não realizada cultura para actino; 11/2001- processo inflamatório difuso com prováveis pontos infecciosos na submucosa, com cultura positiva para *Streptococcus viridans*). A cintilografia pulmonar evidenciou déficit perfusional em lobo médio.

Em agosto de 2000 voltou a apresentar edema e hiperemia na gengiva, edema discreto em nariz com hiperemia à esquerda e queilite angular bilateral. Realizada biópsia das lesões, com culturas negativas para bactérias e fungos e descartado actinomicose.

Desde os 3 anos apresenta crises de sibilância a cada 2 ou 3 meses.

A.P.M.N. também apresentou 3 episódios de diarreia aos 2 anos e 2 episódios de infecção do trato urinário aos 8 anos.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, hidratada, eupneica, afebril. Micropoliadenopatia cervical. Corneto nasal direito com palidez ++ / 4. Lesão ulcerada em mucosa nasal esquerda. Hipertrofia e hiperemia de gengiva, com retração. Abdome sem visceromegalias. Tórax sem deformidades, com boa expansibilidade; ausculta pulmonar livre. Peso: 28 kg; Estatura: 136cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 10,5 mg/dl, hematócrito 33,2%; leucócitos totais 5650/mm³ (3051 neutrófilos, 237 eosinófilos, 28 basófilos, 2084 linfócitos, 248 monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD3 1392; CD4 893; CD8 476.

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 220 mg/dl, IgG 1140 mg/dl, IgM 53,7 mg/dl, IgE 2497 UI/ml.

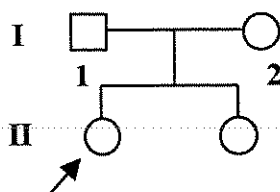
Complemento: CH50 160 U, C3 230 mg/dl, C4 28 g/dl.

Sorologia HIV: negativa.

Teste do NBT estimulado com PMA: 72% (controle 87%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,17; estimulado com PMA 1,38. **Polimorfonucleares:** espontâneo -11,6; estimulado com PMA 7,8. Exame realizado novamente- **mononucleares:** espontâneo 1,725 (mãe 2,175); estimulado com PMA 8,62 (mãe 8,812). **Polimorfonucleares:** espontâneo não realizado (mãe 6,6); estimulado com PMA 17,33 (mãe 35,2).

Família 16
(BCF)



Data de nascimento: 16/05/1996

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural e procedente de Passo Fundo- RS.

RNT, peso ao nascimento 3175g, comprimento 47 cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Antecedentes familiares: **I.2-** hipertireoidismo, sinusite crônica.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado.

Desenvolvimento pômbero-estatural comprometido.

Aos 6 meses evoluiu com sinusite no pós-operatório imediato de correção de pé torto congênito. Com 1 ano e 4 meses apresentou infecção de vias aéreas superiores, e desde então apresenta otite média aguda, amigdalite, faringite e sinusite de repetição, acompanhada de febre na maioria das vezes.

Durante o 2º ano de vida apresentou lesão hiperemiada em região perianal, de difícil tratamento, sempre usando medicações tópicas; sem evidências de formação de abscessos nesta região. Também durante seu 2º ano de vida apresentou estomatite e gengivite de repetição.

Em maio e junho/2001 esteve internada por 26 dias para tratamento de pneumonia com derrame pleural. Recebeu Vancomicina e Ceftriaxone, evoluindo com formação de cálculos biliares, que regrediram após suspensão da Ceftriaxone.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, corada, hidratada. Fígado a 2 cm do rebordo costal direito; baço não palpável. Peso 14 kg. Estatura 105 cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 9,2 mg/dl; leucocitose.

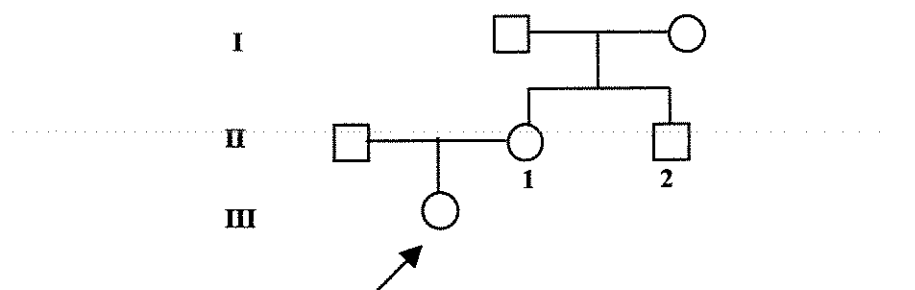
Dosagem de imunoglobulinas: IgA, IgG e IgM normais; IgE 898 UI/ml.

Complemento: CH50, C3 e C4 normais.

Teste do NBT estimulado com PMA:

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,56 (mãe 0,6; controle – 0,36); estimulado com PMA 6,55 (mãe 3,26; controle 8,6). **Polimorfonucleares:** espontâneo 1,0 (mãe 0,62; controle 0,95); estimulado com PMA 9,3 (mãe 7,91; controle 4,2)

Família 17
(CML)



Data de nascimento: 09/03/1988

Sexo: feminino.

Cor: branca.

Natural de Guarulhos – SP.

Procedente de Atibaia – SP.

RNT, peso ao nascimento 2500g, comprimento 44 cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Antecedentes familiares: **II.2-** hipogamaglobulinemia.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Com 15 dias de vida diagnosticado infecção do trato urinário, evoluindo com sepses, sendo que neste mesmo período apresentou também bronquiolite.

Até os 8 anos a criança apresentou 7 episódios de infecção do trato urinário, 31 pneumonias, 2 otites e sinusite de repetição, sendo então encaminhada para o Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (08/1996) para investigação de imunodeficiência primária.

No serviço de origem já haviam sido realizadas: dosagem sérica de imunoglobulinas, dosagem de IgA salivar, avaliação inicial do sistema complemento (CH50, C3 e C4), fenotipagem de linfócitos, quimiotaxia de neutrófilos. Todos estes exames apresentavam valores normais. A avaliação de anticorpos contra os vírus 1, 2 e 3 da

poliomielite foi negativa, sendo então repetida em outro laboratório, com produção normal de anticorpos; a produção de anticorpos contra o vírus do sarampo foi avaliada pelos métodos de imunofluorescência (IgG não reagente e IgM inconclusiva) e por fixação de complemento (não reagente).

Durante os 5 anos de acompanhamento foi diagnosticado toxocaríase (07/1997 e 02/2000).

O início da investigação componentes reativos do oxigênio consistiu, além dos exames laboratoriais, de tomografia computadorizada de tórax (08/1996 – discreta redução volumétrica do lobo médio, onde se nota, junto à grande fissura, imagem de faixa com elevada atenuação radiológica de natureza a esclarecer, cujo aspecto sugere atelectasia), cintilografia pulmonar de perfusão (10/1996 – distribuição heterogênea do radiofármaco nos 2 pulmões; imagens conseqüentes de processo cicatricial no parênquima pulmonar bilateralmente) e broncoscopia (12/1996 – traqueobronquite purulenta) com culturas positivas para *Mycobacterium tuberculosis* e *Branhamella catarralis*.

Recebeu esquema triplice para tratamento de tuberculose, com melhora clínica.

Em julho de 1997 voltou a apresentar tosse produtiva e eosinofilia, mantendo imagem radiológica. Nesta época, foram realizadas sorologia para toxocaríase (reagente) e biópsia pulmonar (peribronquiolite crônica, estendendo-se focalmente ao interstício e alvéolos adjacentes; atelectasias focais) com cultura de fragmento pulmonar positiva para *Penicillium sp.*

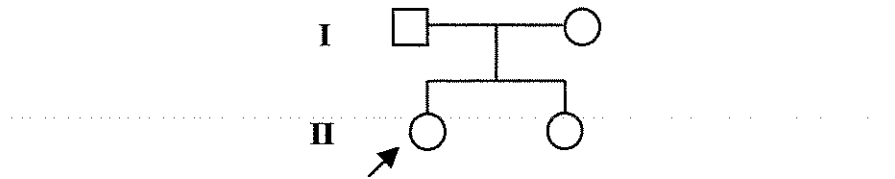
✓ Exames laboratoriais

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: estimulado com PMA 6,43.

Polimorfonucleares: estimulado com PMA 8,15.

Família 18
(CCS)



Data de nascimento: 02/1992.

Sexo: feminino

Cor: parda

Natural e procedente de Americana – SP.

RNT, sem informações referentes a peso e comprimento. Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Em acompanhamento desde 10/01/97 (4 anos e 11 meses), quando foi encaminhada para investigação de imunodeficiência. Relata com infecção de vias aéreas superiores de repetição, 3 episódios de pneumonias (entre 1 e 4 anos), monilíase oral, onicomicose desde 1 ano de idade; desacompanhados de outros sintomas como febre, emagrecimento, indisposição, disúria ou diarreia. Para tratamento da onicomicose usou anti-fúngicos por longos períodos, sem melhora.

Também acompanhada pelo serviço de Oftalmologia, com diagnóstico de blefarite estafilocócica, hordéolos de repetição, meibomite e ceratite puntata. Usou eritromicina por períodos prolongados, várias vezes, apresentando melhora flutuante do quadro, independente dos períodos de uso do antibiótico.

Para investigação de imunodeficiência primária foram realizados os seguintes exames laboratoriais: hemograma, dosagem de imunoglobulinas séricas, imunofenotipagem de linfócitos, dosagem de C3 e C4, teste de fagocitose, teste de quimiotaxia, dosagem de

ânion superóxido e sorologia para HIV. Todos os exames apresentavam resultados normais e a hipótese diagnóstica era de Candidíase Mucocutânea Crônica.

Perdeu seguimento durante 1 ano e 7 meses, quando retornou ao serviço referindo “ferida na perna” havia 2 meses (em uso de neomicina pomada de collagenase com cloranfenicol), mantendo lesões oculares,. A paciente referia também história de febre diária havia 4 meses e aparecimento de lesões nodulares subcutâneas, arroxeadas e pruriginosas, que evoluíam para ulceração e crostas em membros inferiores e superiores, tronco, face e mucosa oral e nasal. Ao exame físico apresentava linfomegalia cervical e inguinal e persistência da onicomicose. As lesões de pele foram diagnosticadas como Pioderma Gangrenoso e foi iniciado tratamento com Cefalexina. Foi realizada nasofibrosopia, que evidenciou rino, oro e hipofaringe com indícios de ulcerações, com presença de crostas em fossa nasal, aparentemente atrófica, com secreção purulenta; foi indicada endoscopia com biópsia nasal, porém não foi realizada devido a quadro febril da paciente. O laudo da biópsia das lesões de pele foi de inflamação crônica inespecífica.

Como não houve melhora do quadro, procurou Posto de Saúde em sua cidade, onde foram realizados exames e levantada a hipótese diagnóstica de Leucose. Foi encaminhada ao Centro Boldrini, onde chegou prostrada, pálida, hipohidratada, icterica +++/+4, com monilíase oral intensa, lesões nodulares arroxeadas subcutâneas, e lesões úlcero-crostosas disseminadas pelo corpo. Apresentava estertoração crepitante em bases pulmonares, FR=24, sem esforço respiratório; sopro sistólico panfocal, FC=140, abdome globoso, ascítico, doloroso à palpação superficial e profunda, fígado palpável à 4,5 cm do rebordo costal direito, e baço à 4,5 cm do rebordo costal esquerdo; edema em pés, e terço distal das pernas. Nesta ocasião foi realizada ultrassonografia abdominal (hepatoesplenomegalia moderada; linfonomegalia em região de hilo hepático, hilo esplênico mesentéricos, ascite moderada), mielograma (numerosos histiócitos), cultura do material da biópsia da lesão de pele (*Staphylococcus aureus* multi-sensível), biópsia da medula óssea (moderada quantidade de fungos, sugestivos de *Histoplasma sp*) e inventário ósseo (lesões líticas em ossos longos). Com as hipóteses diagnósticas de micose profunda, insuficiência cardíaca congestiva e imunodeficiência foi iniciado Anfotericina B e Clindamicina com melhora do quadro, embora mantivesse febre diária. Foi então novamente transferida para o Hospital das Clínicas da UNICAMP.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, hidratada, icterica+/-4. Ausculta pulmonar normal. Sopro sistólico panfocal ++/+6, FC=110. Abdome com fígado à 3 cm do rebordo costal direito, baço à 3 cm do rebordo costal esquerdo. Edema +/-4 em pé direito; joelho esquerdo hiperemiado, edemaciado, doloroso à palpação e à mobilização. Onicomicose. Linfonodos palpáveis em cadeia cervical anterior, axilar, pré-auricular direita, inguinal bilateral, com diâmetros entre 0,3 e 1,5 cm, todos fibroelásticos, não aderidos ao plano profundo, indolores à palpação.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 6,6 mg/dl; hematócrito 21,2%; leucócitos totais 4390/mm³ (mielócitos 87,8%; metamielócitos 43,9%; bastonetes 175,6%; segmentados 355,9%; linfócitos 263,4%, monócitos 263,4%);

Imunofenotipagem de linfócitos: CD4 149; CD8 67.

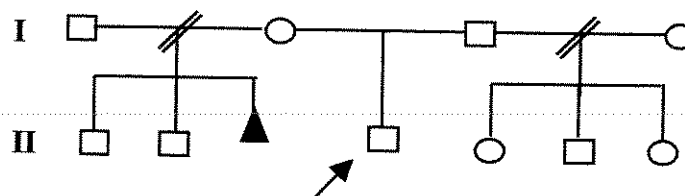
Imunoglobulinas: IgA 104 mg/dl; IgG 1814 mg/dl; IgM 151 mg/dl; IgE 1280 UI/ml.

Sorologia HIV: negativa.

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,77; estimulado com PMA 7,0. **Polimorfonucleares:** espontâneo 2,22; estimulado com PMA 7,13.

Família 19
(FCS)



Data de nascimento: 29/07/2002

Sexo: masculino

Cor: branca

Natural e procedente de Araras- SP

RNT, peso nascimento 3370g, comprimento 52cm. Apresentou icterícia fisiológica no período neonatal.

Recebeu BCG, sem reação adversa.

Desenvolvimento neuropsicomotor adequado

Desenvolvimento pômbero-estatural entre os percentis 10 e 25.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

No dia 15/08/2002 F.C.S. foi internado com história de febre havia 12 horas e dificuldade respiratória, necessitando intubação orotraqueal por obstrução alta de vias aéreas devido a uma massa cervical, com aumento progressivo de tamanho, calor e rubor. No 5º dia de internação apresentou saída de secreção purulenta por boca e narinas piopneumotórax; a hemocultura colhida neste dia foi positiva para *Staphylococcus aureus*. Foi extubado no 10º dia de internação e realizada então laringoscopia, que evidenciou uma fistula laringo-esofágica. Após 2 dias necessitou de nova drenagem torácica, com saída de grande quantidade de secreção purulenta. Desde o 6º dia de internação evoluía com hipocalcemia e hipomagnesemia recorrentes e no 30º dia de internação apresentou crise convulsiva associada a distúrbios metabólicos. Foi então encaminhado para a unidade de terapia intensiva Pediátrica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, onde foi realizada laringoscopia e broncoscopia (24/09- massa em região posterior da faringe, com obstrução

parcial do esôfago) e tomografia computadorizada da região cervical (27/09- aumento difuso e homogêneo de partes moles com localização entre o mediastino superior e a região cervical inferior, estendendo-se lateralmente à esquerda. Poderiam ser decorrentes de processo inflamatório devido a abscesso cervical pregresso.) Nos dias 28 e 30/09 foram realizadas novas hemoculturas, positivas para *Klebsiella pneumoniae*. Exame radiológico de tórax revelou presença de imagem tímica, porém de tamanho reduzido. No dia 25/10 paciente foi transferido para enfermaria com melhora do quadro, sem clínica de obstrução respiratória.

✓ **Exames laboratoriais**

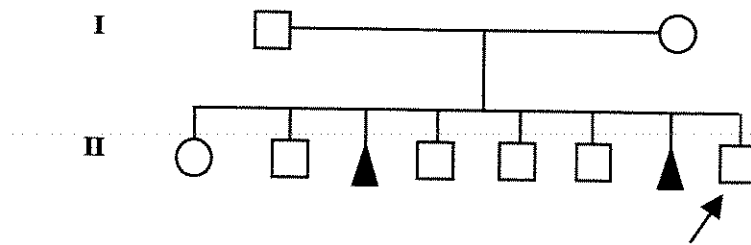
Hemograma: hemoglobina 9,7 mg/dl; hematócrito 29,6%; plaquetas 316000/mm³; leucócitos totais 11590/mm³ (2920 neutrófilos, 1331 eosinófilos, 23 basófilos, 6575 linfócitos, 741 monócitos).

Imunoglobulinas: IgA 38,7 mg/dl; IgG 893 mg/dl; IgM 195 mg/dl; IgE 90,6 UI/ml.

Imunofenotipagem de linfócitos: CD3 5052 (84,2%); CD4 3084 (51,4%); CD8 1818 (30,3%); CD19 390 (6,5%); CD16+56 456 (7,6%).

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%.

Família 20
(HFN)



Data de nascimento: 12/03/1999.

Sexo: masculino.

Cor: branca.

Natural e procedente de São Paulo - SP.

RNT, peso ao nascimento 3850g, comprimento 49cm.

Sem intercorrências no período neonatal.

Imunização completa, sem reações adversas.

Nega antecedentes familiares de infecções e repetição.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Aos 3 meses apresentou pneumonia, necessitando internação para tratamento. Com 2 anos e 2 meses H.F.N. sofreu queda da própria altura com hematoma em região frontal, sem solução de continuidade. Após 2 dias apresentou queda do estado e sinais flogísticos em toda a face, sendo internado para tratamento de celulite em face. Recebeu Vancomicina durante 21 dias, e neste período foram realizadas 3 drenagens cirúrgicas da lesão. Recebeu alta e foi encaminhado para investigação de imunodeficiência primária.

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, hidratado, eupneico. Sinais flogísticos em região periorbitária direita. Ptose palpebral à direita. Peso 15kg. Estatura 88cm.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 10,7 mg/dl; hematócrito 33%; plaquetas 299000/mm³; leucócitos totais 7320/mm³ (2283 neutrófilos, 292 eosinófilos, 4599 linfócitos, 146 monócitos).

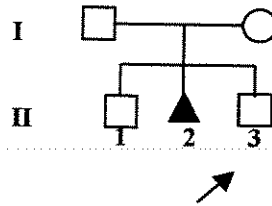
Imunoglobulinas: IgA 58,2 mg/dl; IgG 887 mg/dl; IgM 136 mg/dl.

Imunofenotipagem de linfócitos: CD3 5052 (84,2%); CD4 3084 (51,4%); CD8 1818 (30,3%); CD19 390 (6,5%); CD16+56 456 (7,6%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 1,14 (controle 0,89); estimulado com PMA 8,38 (controle 10,83). **Polimorfonucleares:** espontâneo 0,49 (controle 0,14); estimulado com PMA 15,87 (controle 13,02).

Família 21

(JVR)



Data de nascimento: 21/01/2000

Sexo: masculino.

Cor: branca.

Natural e procedente de Cascavel- PR.

RNT, sem informações referentes a peso e comprimento. Sem intercorrências neonatais.

Imunização completa, sem reações adversas.

Nega antecedentes familiares de infecções e repetição.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Aos 9 meses de idade apresentou adenomegalia cervical bilateral acompanhada de febre, sem fistulização, com melhora após uso de antibiótico via oral. Desde então este quadro se repete sempre após 1 semana do término do tratamento com antibiótico. Nos dois últimos episódios não fez uso de antibiótico e houve resolução espontânea do quadro em cerca de 5 dias.

✓ Exame físico

Sem anormalidades. Peso 12 kg. Estatura 84 cm.

✓ Exames laboratoriais

Hemograma: sem alterações.

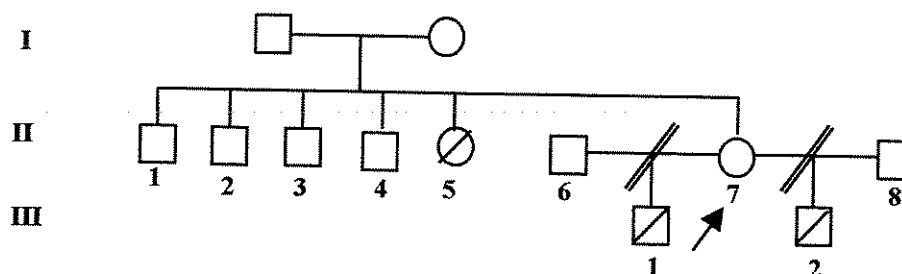
Imunoglobulinas: IgA, IgG e IgM normais. IgE 1882 UI/ml.

Teste do NBT: 100% (mãe 100%, controle 100%).

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,2 (mãe 1,0); estimulado com PMA 6,3 (mãe 4,3). Polimorfonucleares: espontâneo 2,55 (mãe 2,7); estimulado com PMA 17,12 (mãe 15,72).

Família 22

(LSL)



Data de nascimento: 1975.

Sexo: feminino.

Cor: parda.

Natural e procedente de Campinas- SP.

RNT, sem informações referentes a peso e comprimento.

Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu imunização completa, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural adequados.

Antecedentes familiares: **II.5**- óbito aos 9 meses, por pneumonia; **III.1**- óbito aos 7 meses, meningoencefalite por *Haemophilus influenza*; **III.2**- óbito com 1 ano e 2 meses, meningococcemia.

A paciente em questão apresentou infecção de repetição em trato urinário entre 7 e 12 anos de idade. Desde os 18 anos apresentou 6 pneumonias, sendo 2 durante a sua primeira gestação e 1 durante a segunda gestação.

✓ Exame físico

Sem anormalidades.

✓ **Exames Laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 13,7 mg/dl, hematócrito 39,3%; leucócitos totais 4990/mm³ (2464 neutrófilos, 169 eosinófilos, 1947 linfócitos, 410 monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD19 342 (9,91%); CD3 2564 (74,1%); CD4 1754 (50,71%); CD8 767 (22,18%); CD16+56 485 (14,03%).

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 214 mg/dl, IgG 1580 mg/dl, IgM 274 mg/dl, IgE 26,5 UI/ml.

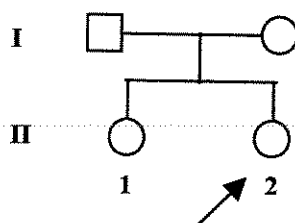
Complemento: CH50 74 U; C3 0,97 g/dl; C4 0,22 g/dl.

Sorologia HIV: negativa.

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%; controle 100%.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 1,84 (controle 0,25); estimulado com PMA 2,96 (controle 5,17). Polimorfonucleares: espontâneo 1,84 (controle 0,31); estimulado com PMA 2,96 (controle 7,5).

Família 23
(MLVE)



Data de nascimento: 20/01/2001

Sexo: feminino

Cor: branca

Natural e procedente de Campo Grande – MS.

RNT, peso nascimento 3155g, comprimento sem informação.

Período neonatal: infecção de pele, tratada com antibiótico parenteral.

Imunização em dia, sem reações adversas.

Desenvolvimentos neuropsicomotor e pônbero-estatural adequados.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Criança acompanhada pela equipe da Genética, com diagnóstico de glicogenose tipo Ib. Foi encaminhada para o ambulatório de Imunologia por apresentar infecções de repetição e neutropenia.

No primeiro ano de vida M.L.V.E. apresentou 2 episódios de piodermite tratados com antibiótico perenteral e 1 pneumonia, tratada ambulatorialmente. No segundo ano de vida apresentou celulite em região cervical posterior, moníliase perineal, pneumonia, estomatite, otite média aguda e furunculose; permaneceu internada 14 dias para tratamento de infecção do trato urinário.

✓ **Exame físico**

Fígado a 3 cm do rebordo costal direito. Sem outras alterações. Peso 8,5 kg. Estatura 71 cm.

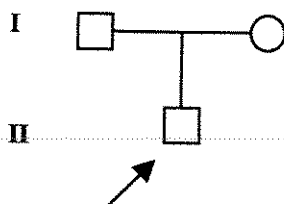
✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 9,3 mg/dl, hematócrito 31%; leucócitos totais 4700/mm³ (564 neutrófilos, 47 eosinófilos, 3431 linfócitos, 94 linfócitos atípicos, 564 monócitos).

Sorologia HIV: negativa.

Dosagem de ânion superóxido: mononucleares: espontâneo 0,43 (mãe 0,72; controle 0,74); estimulado com PMA 5,32 (mãe 4,09; controle 7,8). Polimorfonucleares: espontâneo 0,78 (mãe 1,04; controle 1,11); estimulado com PMA 2,96 (mãe 2,64; controle 8,99).

Família 24
(SH)



Data de nascimento: 06/04/2002

Sexo: masculino

Cor: branca

Natural e procedente de Piracicaba- SP

RNPT, peso nascimento 2595g, comprimento 46cm

Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu BCG, sem reação adversa.

Desenvolvimento neuropsicomotor: dificuldade de sucção.

Desenvolvimento pômdero-estatural adequado.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição.

Foi internado em hospital da sua cidade de origem desde 14/07/2002, com história de dispnéia, sem febre, apresentando opacidade radiológica em hemitórax direito. A partir da segunda semana de internação começou a apresentar febre, com episódios de cianose de extremidades. Tomografia computadorizada de tórax realizada durante a internação evidenciou opacidade persistente em lobo superior direito, sem broncogramas, não sugestiva de processo infeccioso, mas sim de malformação congênita. Foram utilizados vários esquemas antibióticos, sem melhora do quadro e a criança foi então encaminhada para o Hospital de Clínicas da UNICAMP no dia 16/08/2002. Os antibióticos foram suspensos e a criança permaneceu afebril por 2 semanas. Entre os exames laboratoriais realizados, apresentava IgM reagente para *Mycoplasma pneumoniae*. Tomografia computadorizada de tórax realizada no HC apresentava as mesmas alterações do primeiro

exame (17/09- consolidação parenquimatosa extensa comprometendo parte do segmento posterior do lobo superior direito, todo o segmento apical e parte do segmento basal do lobo inferior direito; não se evidencia broncograma aéreo, mas os vasos de permeio ao parênquima consolidado não estão opacificados; pequeno foco de consolidação em segmento posterior do lobo inferior esquerdo; sendo os achados compatíveis com “seqüestro pulmonar”. Foi então programada retirada cirúrgica da área comprometida e durante o procedimento observada aderência pulmonar em parede torácica, com material parenquimatoso friável e com secreção purulenta; o local foi biopsiado e as culturas para fungos e bactérias foram negativas. O laudo anatomopatológico foi o seguinte: granuloma, SOE. Frente a este achado o paciente foi encaminhado para investigação de DGC, não confirmada).

✓ **Exame físico**

Bom estado geral, hidratado, eupneico, afebril. MV diminuído à direita. Sem outras alterações ao exame físico.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 8,5 mg/dl, hematócrito 26,1; leucócitos totais 11160/mm³ (5413 neutrófilos, 324 eosinófilos, 4319 linfócitos, 1104 monócitos).

Imunofenotipagem de linfócitos: CD19 2022 (32,1%); CD3 3528 (56%); CD4 2381 (37,8%); CD8 938 (14,9%); CD16+56 516 (8,2%).

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 49,6 mg/dl, IgG 680 mg/dl, IgM 137 mg/dl, IgE 3,6 UI/ml.

Teste do Suor: Na 24,1 mEq/l; Cl 12,8 mEq/l.

Sorologia HIV: negativa.

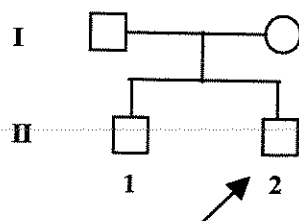
Sorologia toxoplasmose: IgG e IgM não reagentes.

Sorologia citomegalovírus: IgG 8 U/ml; IgM não reagente.

Sorologia para Mycoplasma: IgM reagente.

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%; controle 100%.

Família 25
(VBC)



Data de nascimento: 04/09/2000

Sexo: masculino

Cor: parda

Natural e procedente de Indaiatuba – SP.

RNT, peso nascimento 3290g, comprimento 51cm. Sem intercorrências no período neonatal.

Recebeu BCG, sem reações adversas.

Desenvolvimento neuropsicomotor e pôndero-estatural comprometidos.

Nega antecedentes familiares de infecção de repetição, doenças auto-imunes ou neoplasias.

Desde o 2º mês de vida apresenta lesões típicas de dermatite atópica em face. Entre o 12º e o 14º mês de vida, VBC apresentou amigdalites (2 episódios) e 1 pneumonia.

Com 1 ano e 5 meses a criança apresentou meningite, causada por *Klebsiella oxytoca*. Cerca de 20 dias após receber alta apresentou quadro catarral tratado com Cefadroxil e desde então manteve anorexia, vômitos e diarreia e episódios frequentes de febre.

Para investigação foram realizados ultrasonografia de abdome (04/2002 – cisto simples no segmento 7 do lobo hepático direito, medindo 2,4 x 1,3 x 1,7 cm), tomografia computadorizada de abdome (04/2002 – lesão hipoatenuante de aproximadamente 3 cm, forma ovóide e bordas irregulares no lobo direito do fígado, periférico e posterior; abscesso hepático interrogado), endoscopia digestiva alta (05/2002 - bulboduodenite enantemato-nodular moderada de etiologia parasitária – *Giardia sp*), colonoscopia (06/2002 –

hiperplasia nodular linfóide em retosigmóide), biópsia de cólon (06/2002 – processo inflamatório crônico inespecífico em mucosa colônica, leve a moderado).

Devido ao emagrecimento importante (1 ano e 9 meses – 8230g) e quando de anorexia, em 15/06/2002 foi instalada sonda nasogástrica para recuperação nutricional (1 ano e 10 meses – 9800g).

✓ **Exame físico**

Regular estado geral, descorado, hidratado, afebril, ativo. Fígado a 3 cm do rebordo costal direito; baço não palpável. Peso 8230 g.

✓ **Exames laboratoriais**

Hemograma: hemoglobina 13,1mg/dl, hematócrito 37%; plaquetas 464000/mm³; leucócitos totais 13600/mm³ (38% segmentados, 6% eosinófilos, 47% linfócitos, 8% monócitos).

Dosagem de imunoglobulinas: IgA 111 mg/dl, IgG 794 mg/dl, IgM 93 mg/dl, IgE 104 UI/ml.

Sorologia HIV: negativa.

Teste do NBT estimulado com PMA: 100%; controle 100%.

