

MARCOS TADEU NOLASCO DA SILVA

***FUNÇÃO DE FAGÓCITOS MONONUCLEARES EM
CRIANÇAS INFECTADAS PELO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA DO TIPO 1***

Campinas

1998

MARCOS TADEU NOLASCO DA SILVA

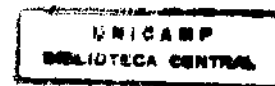
***FUNÇÃO DE FAGÓCITOS MONONUCLEARES EM
CRIANÇAS INFECTADAS PELO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA DO TIPO 1***

*Tese de Doutorado apresentada ao Curso de
Pós-graduação em Pediatria da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor em
Medicina, área de Pediatria.*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Marluce dos Santos Vilela

Campinas

1998



UNIDADE	BC
N.º ORÇAMENTO	
Y	
TUNCO	36 635
PROG.	229/99
U	☒
PROG.	228/11,00
DATA	06/03/99
N.º CPO	

CM-00121445-2

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

Si38f

Silva, Marcos Tadeu Nolasco da

Função de fagócitos mononucleares em crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 / Marcos Tadeu Nolasco da Silva. Campinas, SP : [s.n.], 1998.

Orientador : Maria Marluce dos santos Vilela

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

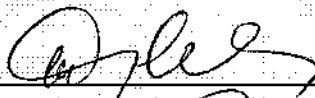
1. Fagocitose. 2. Aids(Doença). 3. Monócitos. 4. Pediatria. I. Maria Marluce dos Santos . III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Banca Examinadora da Tese de Doutorado

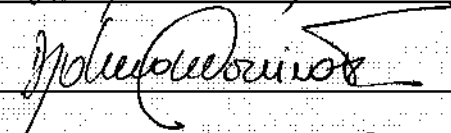
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Marluce dos Santos Vilela

Membros:

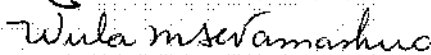
1. Prof. Dr^a. Maria Marluce dos Santos Vilela



2. Prof. Dr. Djalma de Carvalho Moreira Filho



3. Prof^a. Dr^a. Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro



4. Prof^a. Dr^a. Maria Célia Cervi



5. Prof^a. Dr^a. Norma Rubini



Curso de pós-graduação em Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 14/12/1998

Dedicatória

A meus pais,

Amaro e Therezinha;

A Sandra, Lucas e Carolina.

*Todos vocês sempre estiveram por
perto, embora eu às vezes estivesse
um pouco longe...*

AGRADECIMENTOS

A concretização de um projeto de pesquisa depende da união de pessoas (principalmente) e recursos materiais, em torno de um objetivo comum: a busca pelo conhecimento novo. O motor desta busca é a curiosidade primordial, que acompanha nossa espécie desde a savana africana. Na área biomédica, tanto na pesquisa básica como naquela ligada à clínica, acrescenta-se um horizonte, sempre visível, à atividade de pesquisa: o benefício ao semelhante.

As perguntas relativas a esta pesquisa não teriam sido sequer formuladas por mim sem a inspiração da Prof^a. Dr^a. Maria Marluce dos Santos Vilela, minha orientadora há 7 anos. Combinando rigor no trabalho científico com observações bem-humoradas, generosidade e habilidade no encaminhamento de questões práticas, seu apoio foi decisivo não só para a realização deste trabalho, como para a tomada de muitas decisões em minha carreira acadêmica. Seu empenho pessoal em estabelecer o Laboratório de Imunologia Pediátrica propiciou a base física para a concretização do projeto.

No decorrer dos dois anos e meio de ensaios laboratoriais, a Bióloga Elizabeth Cristina Cambiucci, com paciência e bom humor, orientou-me na aquisição de habilidades básicas para o trabalho em laboratório. Também no laboratório, a Sra. Maria Helena Carrion Mazzola, com gentileza e eficiência, assegurou a tranquilidade no trabalho.

Principalmente durante a fase de redação da tese, alguns colegas, com generosidade e desprendimento, assumiram tarefas assistenciais e de ensino que deveriam estar sendo compartilhadas. Destaco o amigo Dr. Roberto Negrão, do corpo clínico da UTI pediátrica, cujas disponibilidade e paciência ajudaram a amenizar muitas dificuldades. Também na UTI pediátrica, tenho sido honrado há 10 anos com a convivência com o Dr. Carlos Eduardo Lopes, modelo de integridade pessoal, correção profissional e erudição médica bem dosada. Sou grato também aos colegas do grupo de Infectologia Pediátrica, Prof^a. Dr^a. Antonia Teresinha Tresoldi, Prof^a. Dr^a. Eliana Barison e Dr. Ricardo Pereira.

Às colegas do Serviço de Imunodeficiência Pediátrica, Dra. Adyléia Toro, Enfermeira Seila Barbosa, Assistente Social Maria Aparecida Montagnolli Moura e Psicóloga Valéria Furlan, agradeço pelos anos de dedicação e coleguismo afetoso.

Ao Prof. Dr. Djalma de Carvalho Moreira Filho, do Departamento de Medicina Preventiva e Social, sou grato pelo enfoque crítico e rigoroso em relação à análise dos resultados.

Sou grato às crianças matriculadas no Serviço de Imunodeficiência Pediátrica e a seus pais e cuidadores, especialmente as avós, por terem colaborado em um projeto que não lhes proporcionou benefício imediato.

Agradeço também aos profissionais de saúde dos diversos serviços que contribuíram em várias etapas operacionais deste projeto, citando pessoas representativas do corpo de profissionais:

Na Seção de Coleta da Divisão de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas, Sr^a. Elza da Silva Zeferino.

No Setor de Imunologia do Laboratório de Patologia Clínica, Prof^ª. Dr^a. Sílvia Barros Mazon, Prof. Dr. Cláudio Rossi, Bióloga Walderez Volpini.

No Setor de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica, Prof^ª. Dr^a. Helena Grotto.

No Laboratório de Marcadores Celulares do Hemocentro, Prof^ª. Dr^a. Irene Lorand-Metze.

No Laboratório de Pesquisa em AIDS do Hospital das Clínicas, Prof. Dr. Francisco Hideo Aoki.

No Centro de Referência em Imunobiológicos Especiais, Prof. Dr. Luiz Jacintho da Silva e Prof^ª. Dr^a. Priscila Papaiordanou.

No Centro de Investigação em Pediatria, Prof. Dr. José Martins Filho.

	PÁG.
RESUMO	<i>i</i>
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Aspectos gerais – ontogenia e evolução.....	2
1.2. Mecanismos de entrada do vírus da imunodeficiência humana nos fagócitos mononucleares.....	4
1.3. Replicação e sobrevivência do vírus da imunodeficiência humana em fagócitos mononucleares.....	5
1.4. Conseqüências da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana sobre os fagócitos mononucleares.....	7
1.5. Estudo das alterações induzidas pelo vírus da imunodeficiência humana sobre a função dos fagócitos mononucleares.....	11
2. OBJETIVOS	16
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	18
3.1. Planejamento experimental.....	19
3.1.1. Modelo do estudo.....	19
3.1.2. Seleção de participantes.....	19
3.1.2.1. Pacientes.....	19
3.1.2.2. Controles.....	21
3.1.3. Protocolo.....	21
3.1.4. Caracterização dos grupos de pacientes e controles.....	21
3.1.5. Dificuldades no estabelecimento dos grupos de estudo.....	22
3.1.6. Estabelecimento de grupos semelhantes em relação à idade.....	23
3.2. Procedimento experimental.....	23
3.2.1. Coleta de amostras de sangue.....	23
3.2.2. Ensaio laboratorial.....	23
3.3. Metodologia da determinação das variáveis laboratoriais presentes no protocolo de pesquisa.....	30

3.3.1. Exames para caracterização da infecção por HIV.....	30
3.3.2. Variáveis hematológicas.....	30
3.3.2.1. Variáveis mensuradas pelo hemograma.....	30
3.3.2.2. Subpopulação linfocitárias.....	31
3.4. Níveis séricos de imunoglobulinas (IgA, IgC, IgM, IgE).....	31
3.5. Carga viral livre no soro.....	32
3.6. Resposta à imunização com vacina anti-hepatite B.....	32
3.7. Análise dos resultados.....	33
3.7.1. Parâmetros analisados.....	33
3.7.2. Metodologia estatística.....	34
3.8. Considerações éticas.....	35
4. RESULTADOS.....	36
4.1. Caracterização dos grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência.....	37
4.1.1. Idade.....	37
4.1.2. Sexo.....	38
4.2. Caracterização laboratorial dos grupos de crianças infectadas e soro- reversoras.....	40
4.2.1. Variáveis hematológicas.....	40
4.2.2. Níveis séricos de imunoglobulinas.....	41
4.2.3. Resposta à imunização com vacina anti-hepatite B.....	43
4.3. Comparação de desempenho fagocitário entre os grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência.....	43
4.3.1. Infectados e soro-reversores.....	43
4.3.2. Infectados e controles de referência, menores de 5 anos.....	43
4.3.3. Infectados e controles de referência, maiores de 5 anos.....	44
4.3.4. Soro-reversores e controles de referência.....	44
4.4. Comparação de desempenho fagocitário no grupo de crianças infectadas.....	53
4.4.1. Variáveis clínicas.....	53
4.5. Variáveis hematológicas.....	65

4.6. Níveis séricos de imunoglobulinas.....	75
4.7. Resposta à vacinação contra a hepatite B.....	75
4.8. Carga viral.....	80
4.9. Desempenho fagocitário para Zimosan, opsonizado com soro normal e soro de paciente.....	80
5. DISCUSSÃO.....	82
6. CONCLUSÃO.....	103
7. SUMMARY.....	105
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	108
9. ANEXOS.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS

° C	Graus Celsius
C1q	Proteína do Sistema Complemento
C1r	Proteína do Sistema Complemento
C1s	Proteína do Sistema Complemento
C3	Proteína do Sistema Complemento
C3b	Produto da ativação de C3
C3bBb	Convertase de C3
C4b	Produto da ativação de C4
CaCl ₂	Cloreto de Cálcio
CCR3	Receptor de Quimiocinas
CCR5	Receptor de Quimiocinas
CD3	Receptor de Células T
CD4	Receptor de Células T para o sistema MHC-II
CD8	Receptor de Células T para o sistema MHC-I
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CF	Capacidade Fagocitária
CO ₂	Dióxido de Carbono
CR1	Receptor de Complemento do tipo 1

CR3	Receptor de Complemento do tipo 3
dL	Decilitro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EA	Eritrócitos de carneiro opsonizados
EDTA	Edetato Dissódico
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
env	Gene codificador do envelope do Vírus da Imunodeficiência Humana
FcγRI	Receptor para o fragmento Fc da Imunoglobulina G, do tipo I
FcγRII	Receptor para o fragmento Fc da Imunoglobulina G, do tipo II
FcγRIII	Receptor para o fragmento Fc da Imunoglobulina G, do tipo III
g	Grama
gag	Gene codificador do capsídio do Vírus da Imunodeficiência Humana
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias Granulocíticas e Macrofágicas
gp41	Glicoproteína do envelope do Vírus da Imunodeficiência Humana
gp120	Glicoproteína do envelope do Vírus da Imunodeficiência Humana
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HBsAg	Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B
HBSS	Solução Salina Balanceada de Hanks
HCl	Ácido Clorídrico

HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV - 1	Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
iC3b	Produto de ativação de C3 inativado pelo Fator I
IF	Índice Fagocitário
IFN- α	Interferon-alfa
IFN- β	Interferon-beta
IFN- γ	Interferon-gama
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
KCl	Cloreto de Potássio
KH ₂ PO ₄	Fosfato Diácido de Potássio

M	Molar
MBL	Lectina Ligante de Manose
mg	Miligrama
MgSO ₄ 7H ₂ O	Sulfato de magnésio Hepta-hidratado
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
min.	Minuto
mL	Mililitro
mRNA	Ácido Ribonucleico “mensageiro”
N	Normal
NaCl	Cloreto de Sódio
NaHCO ₃	Hidróxido de Sódio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de Sódio
p24	Antígeno do capsídio do Virus da Imunodeficiência Humana
PMA	Forbol-Acetil Miristato
rpm	Rotações por Minuto
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SNI	Soro Normal
Sp	Soro de paciente
TGF-β	Fator Transformador de Crescimento Beta
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa

U	Unidade
UI	Unidade Internacional
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
V3	Alça variável 3 da glicoproteína gp120
ZYM	Zimosan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1: Comparação entre as idades (em meses) dos grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência.....	37
Tabela 2: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.....	38
Tabela 3: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.....	38
Tabela 4: Comparação dos grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência em relação ao sexo.....	40
Tabela 5: Comparação de variáveis hematológicas entre os grupos de crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95).....	42
Tabela 6: Série linfocitária em crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95).....	42
Tabela 7: Níveis séricos de imunoglobulinas em crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95).....	41
Tabela 8: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e soro-reversoras, semelhantes em relação à idade.....	45
Tabela 9: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e soro-reversoras, semelhantes em relação à idade.....	45
Tabela 10: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.....	47
Tabela 11: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.....	47

Tabela 12: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.....	49
Tabela 13: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.....	49
Tabela 14: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência, semelhantes em relação à idade.....	51
Tabela 15: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência, semelhantes em relação à idade..	51
Tabela 16: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com categorias clínicas.....	55
Tabela 17: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com categorias clínicas.....	55
Tabela 18: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade de início dos sintomas.....	57
Tabela 19: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade de início dos sintomas.....	57
Tabela 20: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade no momento do ensaio.....	59
Tabela 21: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade no momento do ensaio.....	59
Tabela 22: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com forma de evolução clínica.....	61
Tabela 23: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com forma de evolução clínica.....	61
Tabela 24: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas pro HIV-1, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.....	63

Tabela 25: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.....	63
Tabela 26: Associação entre número de plaquetas e ÍNDICES FAGOCITÁRIOS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman.....	65
Tabela 27: Associação entre número de plaquetas e CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman.....	65
Tabela 28: Associação entre linfócitos totais, subpopulações e ÍNDICES FAGOCITÁRIOS, através do coeficiente de correlação de Spearman.....	68
Tabela 29: Associação entre linfócitos totais, subpopulações e CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman.....	69
Tabela 30: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com nível de linfócitos TCD4+ em relação ao percentil 5.....	71
Tabela 31: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com nível de linfócitos TCD4+ em relação ao percentil5.....	71
Tabela 32: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.....	73
Tabela 33: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.....	73
Tabela 34: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com níveis séricos de IgC.....	76

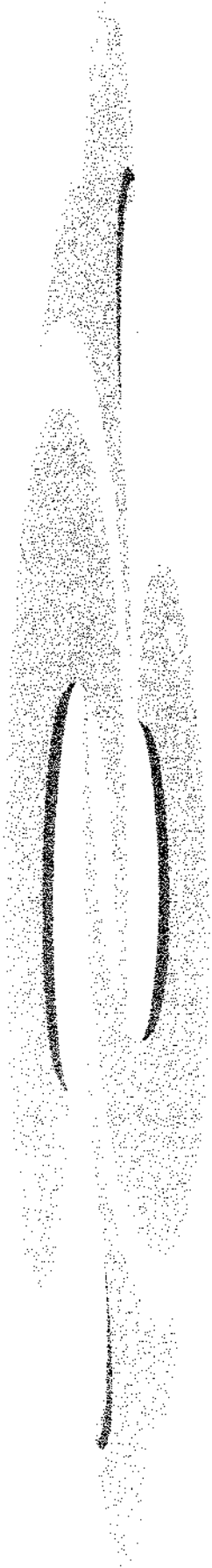
Tabela 35: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas por HIV-1, de acordo com níveis séricos de IgC.....	76
Tabela 36: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.....	78
Tabela 37: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.....	78
Tabela 38: Comparação entre ÍNDICES FAGOCITÁRIAS para zimosan e tipo de opsonização em crianças infectadas pelo HIV-1.....	80

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.....	39
Figura 2: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.....	39
Figura 3: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas e soro-reversoras.....	46
Figura 4: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas e soro-reversoras.....	46
Figura 5: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.....	48
Figura 6: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.....	48
Figura 7: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.....	50
Figura 8: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.....	50
Figura 9: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência.....	52
Figura 10: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência.....	52
Figura 11: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com categorias clínicas.....	56

Figura 12: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com categorias clínicas.....	56
Figura 13: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade de início dos sintomas.....	58
Figura 14: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade de início dos sintomas.....	58
Figura 15: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade.....	60
Figura 16: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade.....	60
Figura 17: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com forma de evolução clínica.....	62
Figura 18: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com forma de evolução clínica.....	62
Figura19: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.....	64
Figura 20: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.....	64
Figura 21: Associação entre número de plaquetas e índices fagocitário para zimosan – soro normal em crianças infectadas.....	70
Figura 22: Associação entre número de linfócitos T CD4+ e índice fagocitário para zimosan-soro normal em crianças infectadas.....	70
Figura 23: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5.....	72
Figura 24: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5....	72

Figura 25: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.....	74
Figura 26: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.....	74
Figura 27: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com níveis séricos de IgG.....	77
Figura 28: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com níveis séricos de IgG.....	77
Figura 29: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.....	79
Figura 30: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.....	79
Figura 31: Associação entre número de linfócitos T CD8+ e índice fagocitário para Zimosan – soro normal em crianças infectadas.....	81
Figura 32: Associação entre carga viral livre no soro e índice fagocitário para Zimosan – soro normal em crianças infectadas.....	81



RESUMO

A suscetibilidade das células da linhagem monocitária à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) pode resultar em deficiências de suas funções efetoras e reguladoras. Mesmo células não parasitadas podem ser afetadas pelas anormalidades de imunomodulação associadas à infecção. Estes mecanismos podem estar associados a algumas características da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) em pediatria, como a alta prevalência de infecções por patógenos intracelulares.

A função monocitária de 33 crianças infectadas pelo HIV-1 e 18 crianças expostas soro-reversoras foi avaliada por meio de um ensaio de fagocitose de monócitos para Zimosan (ZYM) e para hemácias de carneiro (EA), mediada pelos receptores CR1, CR3 e Fc, respectivamente. O ensaio para ZYM foi realizado com ZYM não-opsonizado, opsonizado com soro de indivíduos normais e de paciente. Foram determinados o índice fagocitário (porcentagem de células com fagocitose efetuada em uma lâmina) e a capacidade fagocitária (número de partículas fagocitadas em 100 células). Simultaneamente à coleta de sangue para o ensaio de fagocitose, foram avaliados parâmetros hematológicos (hemograma completo), e imunológicos, ligados ao sistema T (subpopulações linfocitárias), ao sistema B (dosagem de imunoglobulinas), e à interação entre ambos (resposta à vacina anti-hepatite B). Os índices e capacidades fagocitários das crianças expostas ao HIV-1 foram comparados a valores de um grupo de referência saudável.

Os resultados do ensaio de fagocitose mostraram uma redução da fagocitose mediada por CR1 e CR3 em crianças infectadas, comparadas às soro-reversoras, e da fagocitose mediada por CR1, CR3 e Fc entre os grupos infectado e de referência. Comparadas ao grupo de referência, crianças soro-reversoras mostraram uma redução na fagocitose mediada por CR1, CR3 e Fc. No grupo de crianças infectadas, os seguintes fatores foram positivamente associados à intensidade da disfunção fagocitária: idade menor que 5 anos; início dos sintomas no 1º ano de vida; níveis mais elevados de linfócitos T CD4+ e CD8+; níveis mais elevados de carga viral sérica; níveis de IgG acima de 2.000 mg/dL. No ensaio de fagocitose mediada por CR1 e CR3, a opsonização do ligante (ZYM) com soro de “pool” de indivíduos saudáveis não levou a uma atenuação da disfunção fagocitária.

A detecção da disfunção fagocitária em crianças infectadas pelo HIV-1 destaca a necessidade de uma compreensão mais detalhada das consequências imunopatogênicas, clínicas e terapêuticas da interação entre o HIV e as células da linhagem monocitária na população pediátrica. As consequências da exposição precoce ao HIV sobre a função imune das crianças soro-reversoras precisam ser melhor caracterizadas.

1. INTRODUÇÃO

A INTERAÇÃO ENTRE OS FAGÓCITOS MONONUCLEARES E O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

1.1. ASPECTOS GERAIS - ONTOGENIA E EVOLUÇÃO

A resposta fagocitária é um mecanismo de defesa primário e evolucionariamente conservado em todos os organismos eucarióticos. No processo de evolução animal, os invertebrados desenvolveram fagócitos comprometidos, exclusivamente, com os mecanismos efetores da imunidade inespecífica ou inata. A partir do aparecimento dos vertebrados, com o aumento da complexidade dos seres vivos, ampliaram-se os papéis dos fagócitos da linhagem mononuclear, passando estas células a desempenhar, além de atividades próprias da resposta inespecífica (migração aleatória e orientada, ingestão de antígenos, lise intracelular de microorganismos, produção de mediadores inflamatórios, reparação tecidual), funções relacionadas à imunidade adaptativa ou específica (fagocitose de antígenos por meio de receptores específicos, processamento e apresentação de antígenos aos sistemas de células T e B, ações efectoras na imunidade celular, secreção de citocinas reguladoras) (ABBAS, LICHTMAN, POBER, 1997).

Os fagócitos mononucleares compreendem a segunda maior população celular do sistema imune. Tais células distribuem-se nos vasos sanguíneos no estágio de monócitos, compondo dois “pools”, um circulante e um marginal, sendo este último mais numeroso. Após um período variável de 8 a 71 horas na circulação, os monócitos migram para os tecidos, atingindo o estágio de macrófagos (TURPIN & LOPEZ-BERESTEIN, 1993). A diferenciação dos fagócitos mononucleares ocorre de acordo com um processo contínuo de maturação celular, a partir da célula-tronco na medula óssea. Alcançado o estágio de monócito, cessa a divisão celular, passando a ocorrer apenas diferenciação. A heterogeneidade morfológica e funcional apresentada pelas células da linhagem fagocitária mononuclear é provavelmente determinada pela exposição a fatores de crescimento e diferenciação nos microambientes teciduais, não havendo evidências que existam diferentes clones populacionais. Sua capacidade funcional depende do seu estado de **ativação**, definida como a expressão, geneticamente regulada e dependente de estímulo, de produtos solúveis e expressos em membrana, necessários para a competência na execução de funções específicas.

A regulação dos processos de ativação é extremamente delicada, podendo imperfeições em sua modulação resultar em lesão celular e tecidual (HAUSCHILDT & KLEINE, 1995; HAMILTON *et al.*, 1993; RICEVUTI, 1997).

Os processos de diferenciação e ativação do fagócito mononuclear resultam na expressão, constitutiva ou estimulada, na membrana celular, de receptores específicos.

O receptor de complemento do tipo 1 (CR1) tem como principais funções a intensificação da fagocitose de partículas recobertas pelos componentes C3b e C4b, clareamento de imunocomplexos e regulação da ativação do sistema. O receptor do tipo 3 (CR3) é específico para o fragmento iC3b, gerado pela clivagem de C3b mediada pelo fator I, desempenhando importante papel na ingestão de microorganismos. Em adição, como membro da família das integrinas, promove a adesão do fagócito ao endotélio (ROSS, 1989; BROWN, 1991).

Os receptores para a porção Fc da imunoglobulina G (FcγRI, FcγRII e FcγRIII) reconhecem partículas opsonizadas por IgG, aumentando a eficiência do processo de fagocitose. Participam também de processos de regulação da síntese de imunoglobulinas e da ativação celular (RAGHAVAN & BJORKMAN, 1996).

A fagocitose de microorganismos não opsonizados por reconhecimento direto de carboidratos da parede celular é realizada pelos receptores de manose-fucose, com estrutura lectina-símile (STAHL & GORDON, 1982; SUNG, NELSON, SILVERSTEIN, 1983).

O receptor do componente C1q do complemento media a ativação da via clássica independente de anticorpos. Este receptor também está provavelmente envolvido na intensificação da fagocitose de microorganismos recobertos por colectinas (TURNER, 1996; ABBAS LICHTMAN, POBER, 1997).

1.2. MECANISMOS DE ENTRADA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA NOS FAGÓCITOS MONONUCLEARES

Os fagócitos mononucleares são as células-alvo iniciais na infecção pelo HIV. As linhagens do HIV comprometidas com a infecção primária são tipicamente variantes com tropismo para monócitos ou macrófagos. A progressão da infecção é associada a um aumento seletivo de variantes com tropismo para linfócitos T CD4⁺ e com capacidade de indução de sincícios. As variantes “monotrópicas” apresentam também capacidade de infectar linfócitos, não ocorrendo o inverso com as variantes “linfotrópicas” (SCHUITMAKER *et al.*, 1992). Tal tropismo é determinado por uma sequência de 20 aminoácidos presente na alça V3 da glicoproteína gp120 do envelope viral. A suscetibilidade celular depende também do seu estágio de maturação, sendo os macrófagos mais suscetíveis do que os monócitos circulantes (MELTZER *et al.*, 1993; CROWE, 1995).

A penetração do vírus no fagócito mononuclear ocorre por um mecanismo dependente da interação da glicoproteína gp 120, do envelope viral, com o receptor CD4 da membrana celular, expresso principalmente em macrófagos. A expressão deste receptor, no entanto, apesar de essencial, não é suficiente para a infecção. A penetração depende também criticamente da expressão dos receptores de quimiocinas CCR3 e / ou CCR5 (RUSSO-MARIE, 1997).

Um segundo mecanismo seria a ligação de partículas virais opsonizadas aos receptores Fc, de complemento ou de proteínas manosiladas. Esta via de penetração, no entanto, ainda não foi verificada “*in vivo*”. A importância da caracterização de tal mecanismo justifica-se pela plausibilidade de consequências paradoxais na resposta imune humoral ao HIV: de um lado, proteção ao hospedeiro, por meio da fagocitose do vírus e sua lise por mecanismos oxidativos intracelulares; de outro lado, facilitação da infecção e da sobrevivência do HIV no interior da célula-alvo (CHASE & KLEBANOFF, 1992; BAKKER *et al.*, 1992; MELTZER *et al.*, 1993; FÜST, 1997). Adicionalmente, a entrada na célula hospedeira via receptor de complemento pode fornecer uma vantagem ao microorganismo, por desencadear um fraco estímulo à liberação de radicais oxidativos microbicidas (HAUSCHILDT & KLEINE, 1995).

A detecção de material genético do HIV “in vitro”, em co-culturas de monócitos de indivíduos infectados com monócitos de doadores saudáveis, ocorre com uma taxa de sucesso maior que 90%. Este resultado independe de fatores como idade, sexo, número de linfócitos T CD4+, estágio clínico ou uso de zidovudina, sugerindo que a infecção de monócitos está invariavelmente presente no contexto da infecção por HIV. No entanto, a proporção de monócitos infectados em relação ao “pool” circulante total é bastante baixa. Entre os macrófagos teciduais de indivíduos infectados esta proporção é mais alta, como demonstram estudos com macrófagos alveolares e de tecido cerebral. Representam importante exceção as células de Kupfer, cuja suscetibilidade ao HIV ainda não foi verificada “in vivo” (MELTZER *et al.*, 1993).

As formas variantes do HIV com tropismo para células da linhagem macrofágica desempenham papel central na infecção por transmissão vertical. Nesta forma de transmissão, o principal mecanismo é a deglutição pelo feto e recém-nascido de líquido amniótico, sangue, secreções de canal de parto ou leite materno contendo vírus livre ou intracelular. Evidências de estudos em modelos animais sugerem que o transporte de partículas virais se dá através das células epiteliais ou das “células M” da mucosa do trato gastrointestinal, permitindo aos microorganismos alcançarem as células fagocitárias mononucleares do tecido linfóide da submucosa (WAHL, ORENSTEIN, SMITH, 1996; RUSSO-MARIE, 1997).

1.3. REPLICAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA EM FAGÓCITOS MONONUCLEARES

A replicação do material genético do HIV em fagócitos mononucleares ocorre de forma mais lenta, e com diferenças significativas, em relação ao linfócito T CD4+. Após penetração na célula, transcrição reversa e integração ao núcleo, são formados vírus que não induzem a expressão de antígenos na membrana plasmática. Os vírus se concentram em inclusões vacuolares intracitoplasmáticas, cujas membranas são derivadas do complexo de Golgi. A expressão genética das variantes “monotrópicas” apresenta um predomínio de proteínas derivadas do gene *gag*, ao contrário das linhagens “linfotrópicas”, nas quais

predominam proteínas derivadas do gene *env*. Além destas diferenças, a replicação não necessita proliferação ou divisão celular. O fagócito mononuclear funciona, desta forma, como uma “fábrica” e um “reservatório” de material viral, não expondo os antígenos do microorganismo aos mecanismos de citotoxicidade do hospedeiro. Durante o curso da infecção pelo HIV, a interação com agentes patogênicos e outros estímulos de ativação da resposta inflamatória no hospedeiro irão determinar a liberação de vírus dos vacúolos intracitoplasmáticos (MELTZER *et al.*, 1993; CROWE, 1995; RUSSO-MARIE, 1997).

As linhagens de HIV associadas à infecção primária não são capazes de citólise ou indução de sincícios em fagócitos mononucleares. Desta forma, o efeito citopático é muito discreto. No entanto, as linhagens produzidas a partir da sua replicação no macrófago apresentam tropismo “dual” (macrofágico e linfocitário), podendo causar citólise e induzir sincícios em linfócitos e, mais raramente, em macrófagos (RUSSO-MARIE, 1997).

Estes mecanismos de adaptação à célula hospedeira permitem que o HIV, ao infectar o fagócito mononuclear, escape da vigilância imune. Esta sobrevivência no interior do fagócito pode ser comparada à observada na infecção humana por vários patógenos, como bactérias (*Salmonella*, *Legionella*, *Listeria*, *Mycobacterium*) fungos (*Cryptococcus*, *Paracoccidioides*) ou protozoários (*Leishmania*, *Toxoplasma*). Estes parasitas foram capazes de desenvolver, em sua co-evolução com a espécie humana, mecanismos adaptativos de evasão da resposta imune e exploração dos próprios recursos do hospedeiro (DAMIAN, 1997).

Evidências experimentais sugerem que neste mecanismo adaptativo o HIV induza no macrófago um bloqueio transcricional intenso e altamente específico da síntese de Interferon-alfa (IFN- α). Esta citocina parece ser o mediador imunológico mais potente na proteção do macrófago não infectado em relação ao HIV. Macrófagos em cultura, previamente tratados com interferon-alfa, tornam-se capazes de resistir completamente à infecção experimental. O mesmo tratamento em células já infectadas experimentalmente, promove redução na expressão viral, acúmulo de grandes quantidades de DNA proviral, e ausência de integração do genoma viral ao patrimônio genético da célula. O potente efeito protetor do IFN- α em relação à infecção de macrófagos não se observa, no entanto, em

modelos experimentais de infecção de linfócitos (GENDELMAN *et al.*, 1990; MELTZER *et al.*, 1991; MELTZER *et al.*, 1993). Há evidências experimentais demonstrando inibição da replicação viral em monócitos tratados com Interferon-beta (IFN- β) e Interferon-gama (IFN- γ), porém menos potente que a observada com o IFN- α (KORNBLUTH *et al.*, 1990).

1.4. CONSEQUÊNCIAS DA INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA SOBRE OS FAGÓCITOS MONONUCLEARES

Não há relatos de alterações no número absoluto de monócitos, mesmo em estágios avançados da infecção. A proporção de monócitos infectados em relação ao número total é baixa. Na circulação, a carga viral intracelular se concentra principalmente nos linfócitos T CD4⁺ (SPEAR *et al.*, 1990). A análise dos macrófagos teciduais, no entanto, mostra um panorama bastante diferente. Na pele, as células de Langerhans sofrem extensas alterações morfológicas e citólise, mesmo na fase inicial da infecção. A detecção de material genético do HIV neste grupo de células é raramente observada, sugerindo que tais alterações não decorram de efeito citopático em células parasitadas. As células dendríticas em folículos linfóides e linfonodos também apresentam importantes e progressivas alterações degenerativas. No sistema nervoso central, observa-se também aumento da população de macrófagos, da proporção de células com infecção produtiva e da carga viral intracelular (MELTZER *et al.*, 1993). No tecido pulmonar, ocorre aumento da população de macrófagos alveolares, sem evidência de mudanças significativas na sua morfologia. Há relatos de um aumento na proporção de macrófagos alveolares parasitados com a evolução temporal da infecção (AGOSTINI & SEMENZATO, 1994; SIERRA-MADERO *et al.*, 1994).

NOTTET *et al.* (1993), utilizando um modelo de infecção experimental por HIV em macrófagos derivados de monócitos de doadores saudáveis, não observaram qualquer anormalidade na expressão de receptores Fc ou de complemento nas células infectadas em relação às células-controle.

KENT *et al.* (1994), utilizando também um modelo de infecção experimental em macrófagos, demonstraram uma redução global na expressão dos receptores de opsoninas, sendo esta redução intensa para FcγRI e FcγRIII, moderada para CR3 e leve para FcγRII. Tal redução ocorreu tanto na porcentagem de células a expressar os receptores como na frequência de expressão por célula. Observaram também que a redução foi mais intensa, embora não exclusiva, nas células com antígeno p24 detectável. Ao se administrar IFN-γ à cultura de células infectadas, houve aumento na expressão de todos os receptores, porém em níveis inferiores aos observados na cultura de células não infectadas.

Os resultados de pesquisas que utilizaram células provenientes de pacientes infectados também são conflitantes. No entanto, a maioria dos estudos com metodologia de corte transversal, utilizando monócitos e macrófagos, principalmente alveolares, obtidos de indivíduos infectados, revela aumento na expressão de moléculas como: antígenos MHC da classe II, moléculas de adesão, receptores Fc, de complemento, e de lipopolissacáride. Tais alterações apresentam em geral uma associação positiva com a gravidade de evolução clínica e de deterioração imunológica, não havendo entretanto estudos longitudinais que caracterizem mais precisamente sua evolução temporal (MANN *et al.*, 1990; CAPSONI *et al.*, 1992, 1994; AGOSTINI & SEMENZATO, 1996; GILBODY *et al.*, 1997).

Contrariamente aos estudos citados acima, TRIAL *et al.* (1995) relatam uma diminuição global na expressão de antígenos do sistema HLA, receptores de complemento e moléculas de adesão em monócitos de pacientes infectados sintomáticos. SPEAR *et al.* (1990), em um grupo de adultos assintomáticos, demonstraram uma redução na expressão do receptor de complemento CR3.

Até o momento, não estão esclarecidos os mecanismos que regulam as alterações de expressão destas moléculas. CAPSONI *et al.* (1992, 1994) relacionam o aumento da expressão de receptores Fc em pacientes infectados a altos níveis circulantes de interferon-gama. Em relação ao aumento da expressão do receptor FcγRIII em monócitos de pacientes infectados, há referência que, provavelmente, este fenômeno seja decorrente da maior produção e secreção do fator transformador de crescimento-beta (TGF-β), induzida

pela infecção (ALLEN *et al.*, 1991). TRIAL *et al.* (1995) associam a redução na expressão fenotípica de moléculas de adesão aos níveis de imunocomplexos circulantes, mais altos em pacientes sintomáticos.

ESSER *et al.* (1991), estudando macrófagos artificialmente infectados em cultura, observaram secreção espontânea de quantidades elevadas de TNF- α , Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-8 (IL-8) em relação à cultura-controle. Após estímulo com IFN- γ , as células infectadas produziram quantidades maiores de neopterin, identificada como marcador de atividade de síntese de citocinas. Quando estimuladas com lipopolissacáride de *Salmonella abortus-equii*, as células infectadas produziram quantidades elevadas de TNF, IL-1 β , IL-6 e IL-8.

HERBEIN *et al.* (1994) detectaram aumento da expressão de mRNA para TNF- α e IL-1 β em macrófagos artificialmente infectados entre meia e três horas após a infecção. A adição de CD4 solúvel à cultura mostrou ação inibitória sobre esta expressão gênica. Tais resultados sugerem um fenômeno de ativação precoce e dependente da interação gp-120 e CD4.

MOLINA *et al.* (1990), contrariamente aos resultados citados anteriormente, relatam que a infecção experimental de macrófagos em cultura, ou o tratamento destas células com proteínas do envelope viral, não determina secreção aumentada de TNF- α , IL-1 β , IL-6 ou Fator Estimulador de Colônias Granulocíticas e Macrofágicas (GM-CSF). As células infectadas respondem com intensa produção das mesmas citocinas após estímulo com lipopolissacáride e IFN- γ . Os autores sugerem que os altos níveis de citocinas circulantes observados em pacientes infectados se devam à ativação imune por infecções secundárias, e não pela infecção viral primária.

O padrão de secreção de citocinas pelos fagócitos mononucleares de pacientes com infecção crônica é de difícil caracterização, devido à complexidade da rede de citocinas, na qual o macrófago desempenha papéis efetores e reguladores. Contribui para aumentar a complexidade da interação agente-hospedeiro a multiplicidade de estímulos do ambiente, como o uso de medicamentos potencialmente estimulatórios e a presença de infecções oportunistas.

A maior parte dos estudos em adultos infectados, analisando principalmente os níveis séricos de citocinas ou a produção constitutiva e estimulada por leucócitos mononucleares “in vitro” sugere um estado crônico de ativação imune. As citocinas cujos níveis elevados são documentados com maior frequência são TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TGF- β e IFN- γ (MURRAY *et al.*, 1985; SIERRA-MADERO *et al.*, 1994; ALONSO *et al.*, 1997; LIPMAN, JOHNSON, POULTER, 1997).

A quase totalidade dos estudos analisando a produção de citocinas em pacientes infectados é do tipo corte transversal, não fornecendo evidências conclusivas sobre aspectos evolutivos da infecção.

As evidências atualmente disponíveis sugerem que a produção de citocinas pelos leucócitos mononucleares (tanto fagócitos como linfócitos) nos pacientes infectados se enquadra em um modelo em que o HIV demonstra competência adaptativa para explorar os mecanismos genéticos da síntese de citocinas pelo hospedeiro e promover sua própria replicação. A análise dos estudos em adultos, visando o estabelecimento de um padrão da produção de citocinas em pacientes infectados em relação ao estágio evolutivo da infecção, levou à proposição de uma hipótese unificadora. Nas fases iniciais da infecção, predominaria a secreção de citocinas associadas a uma resposta do tipo “T-helper 1”, evoluindo para uma resposta do tipo “T-helper 2” ou, ainda, “T-helper 0”. Na primeira, as citocinas de expressão mais intensa seriam IFN- γ e IL-2, protegendo contra a transmissão intercelular do HIV e invasão do macrófago por agentes oportunistas. Evolutivamente, a ação de “co-fatores” ambientais, principalmente infecções virais, e a seleção de novas linhagens do HIV pela resposta imune do hospedeiro, influenciariam a resposta do tipo “T-helper 2”, com predomínio da secreção das citocinas IL-4 e IL-10 e aumento da suscetibilidade à transmissão intercelular e replicação do HIV (CLERICI & SHEARER, 1993; SHEARER & CLERICI, 1996). Estudos de corte transversal em crianças infectadas por transmissão vertical sugerem a associação entre resposta do tipo “T-helper 2” e maior gravidade clínica, embora a associação entre evolução favorável e resposta do tipo “T-helper 1” não tenha sido demonstrada (VIGANÓ *et al.*, 1995; THAN *et al.*, 1997).

1.5. ESTUDO DAS ALTERAÇÕES INDUZIDAS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA SOBRE A FUNÇÃO DOS FAGÓCITOS MONONUCLEARES:

A infecção experimental pelo HIV em cultura de monócitos ou macrófagos de doadores soronegativos permite o estudo das repercussões funcionais da interação vírus-célula com isenção de numerosos fatores do ambiente.

Os resultados de estudos realizados nestas condições sugerem uma série de disfunções celulares, destacando-se: diminuição da quimiotaxia (TAS, DREXHAGE, GOUDSMIT, 1988; WAHL *et al.*, 1989); inibição da fagocitose de *Candida albicans* (CROWE *et al.*, 1995) e da fagocitose e lise intracelular de *Toxoplasma gondii* (BIGGS *et al.*, 1995) e *Candida pseudotropicalis* (BALDWIN *et al.*, 1990); deficiências de ação fungistática contra *Cryptococcus neoformans* (CAMERON *et al.*, 1994) e de ação bacteriostática contra *Mycobacterium avium* (KÄLLENIUS *et al.*, 1992; NEWMAN *et al.*, 1993; ZERLAUTH *et al.*, 1995).

Outros estudos, no entanto, sugerem funções celulares preservadas, como fagocitose normal de *Cryptococcus neoformans*, demonstrada por CAMERON *et al.* (1994) e produção normal de H₂O₂ após estímulo com zimosan ou Forbol-Acetil Miristato (PMA) (DUKES, MATTHEUS, WEINBERG, 1993). Em estudo bastante abrangente, NOTTET *et al.* (1993) relatam adesão e internalização normais de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* opsonizados, produção preservada de ânion superóxido após estímulo com *Escherichia coli*, zimosan ou PMA e lise intracelular normal de *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Avaliações funcionais em fagócitos de pacientes infectados têm potencial relevância clínica, porém, fatores como variações genotípicas e fenotípicas virais, estágio de evolução clínica e imunológica, uso de medicamentos e infecções intercorrentes podem contribuir para grande heterogeneidade nos resultados.

Estudos de corte transversal em adultos com infecção assintomática apresentam resultados heterogêneos, porém em sua maioria sugerem função fagocitária preservada ou mesmo aumentada, como: capacidade normal de ingestão de *Staphylococcus aureus* (SZKARADKIEWICZ, 1992; TRIAL *et al.*, 1995); aumento da capacidade de ingestão e de lise intracelular de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (MUSHER *et al.*, 1990; BANDRES *et al.*, 1993); aumento da atividade fungistática contra *Cryptococcus neoformans* (REARDON *et al.*, 1996); alterações ultraestruturais com enrugamento da membrana, aumento do número de vacúolos e fagocitose de linfócitos em macrófagos alveolares (MUSHER *et al.*, 1990).

No entanto, disfunção fagocitária precoce também é relatada em pacientes assintomáticos, com deficiência na lise intracelular de *Candida albicans* (ESTEVEZ *et al.*, 1986) e na geração de radicais oxidativos microbicidas (SPEAR *et al.*, 1990; BRAVO-CUELLAR *et al.*, 1992).

Em adultos com infecção sintomática, as principais alterações de função fagocitária relatadas incluem deficiências nas etapas de: quimiotaxia (SMITH *et al.*, 1984; POLI *et al.*, 1985; RIZZO *et al.*, 1987); capacidade de ligação a *Histoplasma capsulatum* (CHATURVEDI, FRAME & NEWMAN, 1995); capacidade de ingestão de hemácias de carneiro (CAPSONI *et al.*, 1994) e *Staphylococcus aureus* (MUSHER *et al.*, 1990; POS *et al.*, 1992; SZKARADKIEWICZ, 1992; TRIAL *et al.*, 1995); lise intracelular de *Toxoplasma gondii* (EALES, MOSHTAEL, PINCHING, 1987; DELEMARRE *et al.*, 1993; 1995) *Candida albicans* (ESTEVEZ *et al.*, 1986), *Cryptococcus neoformans* (REARDON *et al.*, 1996) e *Histoplasma capsulatum* (CHATURVEDI, FRAME & NEWMAN, 1995); produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio (MÜLLER, ROLLAG & FROLAND, 1990; CHEN *et al.*, 1993).

Outros autores, no entanto, relatam normalidade em várias etapas do processo de fagocitose, como: quimiotaxia (NIELSEN, KHARAZMI, FABER, 1986); capacidade de ingestão e lise intracelular de *Candida albicans* opsonizada (ESTEVEZ *et al.*, 1986; NIELSEN, KHARAZMI, FABER, 1986; CAPSONI *et al.*, 1992), *Aspergillus*, *Thermoascus*

e *Cryptococcus* (WASHBURN, TUAZON & BENNET, 1985); geração de ânion superóxido (NIELSEN, KHARAZMI, FABER, 1986; CAPSONI *et al.*, 1992)

FLØ *et al.*, em 1994, relatam os resultados de um estudo longitudinal com seguimento de 50 adultos infectados por um período médio de 28 meses, com avaliação de função fagocitária em intervalos de 6 meses a 1 ano. A função monocitária avaliada foi a atividade oxidativa através da produção de quimioluminescência durante a fagocitose de Zimosan opsonizado. Cada indivíduo infectado foi pareado em sexo e idade com um controle soronegativo. No início do estudo, todos os pacientes eram assintomáticos. No final, 20 haviam se tornado sintomáticos. Não foi detectada influência da infecção pelo HIV sobre a atividade oxidativa de monócitos em relação aos controles em nenhuma fase do estudo. Em relação à função de polimorfonucleares, foram relatadas deficiências precoces, que se acentuaram evolutivamente.

Os estudos sobre a função fagocitária em crianças infectadas são mais escassos, sendo todos, até o momento, do tipo corte transversal.

No primeiro estudo relatado na literatura, CLEMENT *et al.* (1988), ao estudarem macrófagos alveolares de 5 crianças infectadas, demonstraram aumento na geração espontânea e estimulada de H_2O_2 , em relação às células de pacientes não-infectados com doenças pulmonares.

SZELC *et al.* (1992), ao avaliarem a citotoxicidade para polimorfo e mononucleares dependente de anticorpos em 12 crianças infectadas, demonstraram atividade significativamente inferior em relação a crianças e adultos não infectados. Adicionalmente, o plasma de crianças infectadas demonstrou efeito inibitório sobre a citotoxicidade dependente de anticorpos de células de doadores normais. Tais observações sugerem um defeito celular intrínseco associado a uma deficiência funcional de anticorpos nas crianças infectadas.

CHEN *et al.* (1993) analisaram a produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio por monócitos, após estímulo com PMA, em 18 crianças infectadas. Em relação ao grupo-controle, os monócitos de crianças infectadas produziram quantidades significativamente menores de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio.

ROILIDES *et al.* (1993) detectaram, numa amostra de 19 crianças infectadas, com idade média de 9 anos, diminuição estatisticamente significativa dos índices fagocíticos de macrófagos derivados de monócitos para *Aspergillus fumigatus* em relação a 16 controles adultos soronegativos. Os mesmos autores, em estudo posterior avaliando a função de polimorfonucleares 31 crianças infectadas, demonstraram também redução na lise intracelular de *Aspergillus fumigatus*, com intensidade de tal redução diretamente proporcional à depleção de linfócitos T CD4+ (ROILIDES *et al.*, 1993).

PITTIS *et al.* (1997), analisaram a fusão fagolisossômica de monócitos em 45 crianças infectadas por transmissão vertical, comparadas a 38 controles soro-reversores e 14 controles de mães soronegativas. Foi quantificada a porcentagem de partículas de levedura fagocitadas por monócitos a absorver o corante laranja-acridina. O desempenho dos monócitos foi significativamente inferior no grupo de crianças infectadas em relação aos dois grupos-controle, não havendo diferenças entre os últimos. A fusão fagolisossômica correlacionou-se inversamente com a idade e diretamente com os níveis de linfócitos T CD4+.

A ausência de lise da célula infectada, a geração de formas variantes do vírus com tropismo dual, a capacidade de manter o patógeno “oculto” à vigilância imune do hospedeiro e a grande disseminação tecidual dos fagócitos mononucleares habilitam tais células a atuar como “os perfeitos vetores na propagação de uma infecção viral prolongada e persistente” (RUSSO-MARIE, 1997).

Estas características da linhagem macrofágica, com sua capacidade de migração tecidual, sobrevivência provavelmente longa e funcionamento como o maior reservatório in vivo do HIV, impõem dificuldades ao desenvolvimento de esquemas eficazes de terapia antiretroviral. A maior parte das pesquisas sobre a atividade das drogas antiretrovirais concentra-se na avaliação da capacidade destes medicamentos em inibir a replicação do HIV em linfócitos T. No entanto, estudos “in vitro” em macrófagos cronicamente infectados demonstram que a inibição da replicação viral nestas células é significativamente menor (CROWE, 1995). O “pool” de macrófagos infectados é considerado atualmente a segunda maior barreira à eficácia dos novos esquemas antiretrovirais de grande atividade, superado

em importância apenas pelo “pool” de linfócitos T CD4+ de memória (BARTLETT & MOORE, 1998).

Evidências experimentais mostram também a possibilidade de um defeito precoce na capacidade de apresentação de antígenos em macrófagos infectados, sugerindo a plausibilidade de uma deficiência na cooperação celular para a síntese de anticorpos (MEYAARD, SCHUTTEMAKER, MIEDEMA, 1993).

A disfunção fagocitária multifatorial das células da linhagem macrofágica em pacientes infectados provavelmente tem implicação na alta incidência, principalmente na fase de imunodepressão grave, de infecções por patógenos de sobrevivência intracelular, notadamente os agentes oportunistas.

Uma das manifestações mais graves e devastadoras da infecção por HIV, a encefalopatia, que afeta um terço dos pacientes infectados, tem na disfunção dos macrófagos o aspecto central de sua patogênese (NOTTET & GENDELMAN, 1995).

Um melhor conhecimento da interação entre HIV e fagócitos mononucleares no homem pode indicar novos caminhos na quimioterapia antiretroviral e na imunoterapia. O delineamento mais preciso da significância clínica da facilitação, mediada por anticorpos, da infecção retroviral do fagócito, é uma etapa fundamental na busca da prevenção por meio de uma vacina eficaz e segura (DAMIAN, 1997).

No decorrer de quase duas décadas, desde o reconhecimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, tem havido um esforço intenso da comunidade científica para estabelecer as relações entre o HIV e o sistema imune. Há porém, indubitavelmente, que se aceitar a citação de RUSSO-MARIE (1997): “na história da pesquisa relacionada à SIDA, até bem recentemente, as células da linhagem monocitária ocuparam os bastidores, sendo o palco dominado pelos linfócitos. Na busca de novas estratégias terapêuticas, este é, talvez, o momento de remeter os macrófagos para a frente do palco”.

2. OBJETIVOS

São objetivos do presente estudo:

- Investigar a atividade funcional de monócitos do sangue periférico de crianças nascidas de mães infectadas pelo HIV-1, por meio de:
- Estudo da fagocitose de mononucleares mediada por receptores Fc, por meio de ensaio laboratorial com hemácias de carneiro opsonizadas;
- Estudo da fagocitose de mononucleares mediada por receptores CR1 e CR3, utilizando-se partículas opsonizadas com IgG e/ou componentes do sistema complemento;
- Comparar os resultados de atividade fagocitária no grupo de crianças infectadas com os resultados em um grupo de crianças filhas de mães infectadas pelo HIV-1, soro-reversoras.
- Comparar os resultados de atividade fagocitária de ambos os grupos anteriores com os valores de referência do método para crianças normais (VILELA, 1985).
- Investigar se, no grupo de crianças infectadas, há associação entre as funções estudadas dos monócitos e marcadores da evolução clínica e imunológica da infecção pelo HIV-1.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

3.1.1. Modelo do estudo

- Estudo observacional, do tipo corte transversal (ALTMAN, 1991).

3.1.2. Seleção de participantes

3.1.2.1. Pacientes

Os pacientes foram selecionados entre as crianças infectadas pelo HIV-1 por transmissão vertical, em acompanhamento no Serviço de Imunodeficiência Pediátrica do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), no período de 16/11/1995 a 16/04/1998. Estas crianças fazem parte de uma coorte, acompanhada de acordo com um protocolo clínico e laboratorial. O atendimento dos pacientes é efetuado por uma equipe multiprofissional, com médicos, assistentes sociais, enfermeiras e psicóloga. O autor principal do estudo é membro do corpo clínico do Serviço.

Foram incluídas crianças nas 4 fases clínicas da classificação proposta em 1994 pelos CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Foram estudadas 33 crianças infectadas, sendo 1 na categoria N, 11 na categoria A, 11 na categoria B e 10 na categoria C. Na seleção de pacientes, buscou-se uma proporcionalidade entre as categorias clínicas da classificação.

CrITÉRIOS de inclusão

- Estar caracterizada como infectada pelo HIV, por transmissão vertical, de acordo com as definições propostas pelo CDC em 1994:

a) Uma criança com menos de 18 meses de idade, com sorologia positiva para o HIV ou nascida de mãe infectada e que:

- Apresente resultados positivos, em duas determinações, de um ou mais dos seguintes testes laboratoriais:

Reação em cadeia de polimerase

Antígeno P24

ou

- preencha critérios para o diagnóstico de SIDA, baseado na definição de vigilância de casos de SIDA do CDC:

b) Uma criança com 18 meses ou mais nascida de mãe infectada pelo HIV que:

- apresente sorologia positiva para o HIV em 2 exames do tipo ELISA e um teste confirmatório (“Western blot” ou Imunofluorescência);

ou

- preencha qualquer um dos critérios enumerados no item a).

Crítérios de exclusão

- Ser considerada clinicamente instável, por apresentar sintomas sugerindo infecções secundárias agudas ou crônicas não controladas, como: febre, diarreia, perda de peso, necessidade de tratamento antimicrobiano ou internação hospitalar nas 2 semanas anteriores à realização do experimento;

- Ter recebido algum hemoderivado (concentrado de hemácias, plasma, concentrado de plaquetas ou imunoglobulina intravenosa) nos 30 dias anteriores à realização dos ensaios previstos no protocolo de pesquisa.

3.1.2.2. Controles

O primeiro grupo-controle, denominado grupo soro-reversor, constituiu-se de 18 crianças saudáveis, filhas de mães infectadas pelo HIV-1, que corresponderam aos critérios de soro-reversão, caracterizada de acordo com a classificação proposta em 1994 pelo CDC:

- Apresentar exames sorológicos negativos para o HIV (dois ou mais testes de ELISA negativos realizados entre 6 e 18 meses, ou um teste negativo após 18 meses); e
- não apresentar outra evidência laboratorial de infecção
- e
- não apresentar doenças ou condições indicadoras de SIDA.

Para comparação dos resultados de fagocitose utilizou-se o padrão de normalidade do Laboratório de Imunologia Pediátrica, construído a partir dos resultados de desempenho fagocitário de 28 crianças saudáveis, com idades entre 1 ano e meio e 13 anos (VILELA *et al.*, 1989). Este grupo de crianças foi denominado grupo-controle de referência.

3.1.3. Protocolo

As características das crianças pertencentes ao grupo de infectados e ao grupo-controle soro-reversor foram registradas em protocolo de pesquisa (anexo 1), incluindo dados clínicos e resultados laboratoriais. Em relação ao grupo-controle de referência foram registrados apenas os dados relativos à idade e aos resultados de ensaios fagocíticos, transcritos de estudo anterior (VILELA, 1985).

3.1.4. Caracterização dos grupos de pacientes e controles

Os grupos de pacientes, controles soro-reversores e controles de referência foram comparados em relação a idade e sexo.

Os grupos de pacientes e soro-reversores foram comparados em relação a:

Idade e sexo;

Características laboratoriais

- Variáveis hematológicas - Taxa de hemoglobina; leucócitos totais; números absolutos de granulócitos; linfócitos totais e subpopulações linfocitárias; taxa de plaquetas;
- Níveis de imunoglobulinas
- Resposta à imunização com vacina anti-hepatite B

3.1.5. DIFICULDADES NO ESTABELECIMENTO DOS GRUPOS DE ESTUDO

Em relação à idade, o estabelecimento de grupos-controle semelhantes ao grupo de crianças infectadas apresentou as seguintes dificuldades:

O grupo-controle soro-reversor é composto de crianças acompanhadas pelo serviço até os 5 anos de idade, ocasião em que recebem alta do ambulatório. Como o seguimento das crianças infectadas é mantido durante toda a infância e adolescência, houve neste grupo uma tendência a apresentar mediana de idade significativamente superior à dos soro-reversores.

O grupo-controle de referência é composto de crianças saudáveis cujos responsáveis permitiram voluntariamente a coleta de sangue, em estudo prévio (VILELA *et al.*, 1989). Este grupo apresenta idade maior que as idades dos grupos de soro-reversores e de infectados. É sabido que, dos pontos-de-vista ético e afetivo, há dificuldade em estabelecer grupos-controle de crianças normais que necessitem procedimentos envolvendo dor e desconforto, além do volume mínimo de sangue (23 mL para a realização dos exames do protocolo) e da anuência dos responsáveis na realização de exames específicos para descartar a infecção por HIV. Considerando estes aspectos, tornou-se razoável, inicialmente, não estabelecer um grupo-controle simultâneo com crianças nascidas de mães soronegativas.

3.1.6. ESTABELECIMENTO DE GRUPOS SEMELHANTES EM RELAÇÃO À IDADE

Para atenuar o efeito da idade em relação ao desempenho fagocitário, a análise das diferenças de função fagocitária entre os grupos infectado e de referência com o grupo soro-reversor foi realizada excluindo-se do grupo de infectados e do grupo de referência as crianças com idade acima de 49 meses, correspondente ao percentil 95 do grupo soro-reversor (tab. 1, capítulo de resultados). Nas comparações envolvendo apenas o grupo de infectados e o grupo de referência, estratificaram-se os pacientes em grupos maiores ou menores que 5 anos de idade.

3.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1. Coleta de amostras de sangue

De cada criança do grupo de pacientes e do grupo-controle soro-reversor foi colhida, por punção venosa periférica, uma amostra de 23 mL de sangue, para separação de mononucleares (10 mL em seringa com 500 UI de heparina), obtenção de soro de paciente (4 mL em tubo estéril sem anticoagulante), hemograma (2,5 mL em tubo com EDTA), dosagem de imunoglobulinas (4 mL em tubo estéril sem anticoagulante) e estudo de subpopulações linfocitárias (2,5 mL em tubo com EDTA).

Os pais ou responsáveis pelas crianças participantes do estudo foram orientados a mantê-las em jejum por 6 horas e suspender o uso de medicamentos por 12 horas anteriormente à coleta dos exames.

3.2.2. Ensaio laboratorial

O ensaio laboratorial para determinação da função fagocitária de monócitos foi realizado no Laboratório de Imunologia Pediátrica, localizado no Núcleo de Medicina e

Cirurgia Experimental da UNICAMP. A metodologia do ensaio segue protocolos estabelecidos por TERRITO & CLINE, (1976); MASUDA, (1977); VanFURTH, VanZWET, LEIJH, (1978), modificados por VILELA, (1985). Para o manuseio do material infectado por HIV, foram seguidas as normas de biossegurança estabelecidas pelo CDC (1988).

DESCRIÇÃO DO ENSAIO

MATERIAL DE LABORATÓRIO

- Anticorpo de coelho de tipo 7S anti-eritrócito de carneiro (CECON, SP, Brasil);
- Butanol (Merck S.A. Indústrias Químicas, RJ, Brasil);
- Corante de May-Grünwald (Merck S.A. Indústrias Químicas, RJ, Brasil);
- Eosina G Amarela Certistain® (Merck S.A. Indústrias Químicas, RJ, Brasil);
- Eritrócitos de carneiro (Biotério Boa Vista, SP, Brasil) conservados a 4° C em solução de Alsever estéril;
- Etanol absoluto (Merck S.A., Indústrias Químicas, RJ, Brasil);
- Gradiente de Ficoll-Hypaque com densidade 1077(Hystopaque® -1077, Sygma-Aldrich, Irvine, UK);
- HBSS - Solução salina balanceada de HANKS;
- Hematoxilina de Harris (E. Merck, Darmstadt, RFA);
- Heparina (Liquemine® - 5.000 UI/mL - Roche Produtos Químicos e Farmacêuticos, S.A., RJ, Brasil);
- Metanol (Merck S.A. Indústrias Químicas, RJ, Brasil);

- Resina de fixação Entellan® (E. Merck, Darmstadt, RFA);
- Siliconização de vidraria: Polidimetilsiloxane 360/350 CS fluido de silicone (Dow Corning do Brasil Ltda);
- Tubos de LEIGHTON (Vidrolabor - Indústria e Comércio de Vidros de Laboratório Ltda., SP, Brasil);
- Tubos descartáveis de 15 mL para separação de células (Corning, NY, USA);
- Xileno (Merck S.A., Indústrias Químicas, RJ, Brasil);
- Zimosan, preparado a partir de fermento Fleischman - fermento fresco de pão, no Laboratório de Imunologia Pediátrica do Núcleo de Cirurgia e Medicina Experimental - UNICAMP.

PREPARO DO ZIMOSAN

Preparado a partir do fermento Fleischman - fermento fresco de pão, seguindo-se a técnica descrita por PILLEMER et al. (1956). 250 g. de fermento Fleischman foram dissolvidas em 100 mL de salina 0,15 M, pH 7,15 e aquecidos em banho-maria fervente durante 15 minutos, com agitação contínua. Após resfriamento, a suspensão foi lavada três vezes com 100 mL de acetona. O material foi colocado em um dessecador a vácuo por uma noite. Em seguida, pesado e tratado com HCl 0,02 N por 30 minutos a 75° C, usando-se 10 mL da solução para 1 g do material. Esta mistura foi centrifugada e o sedimento lavado três vezes com água destilada, duas vezes com álcool a 96% e uma vez com etanol absoluto. Após estes procedimentos, colocado em dessecador a vácuo e após 1 noite, pesado. Todas as lavagens foram realizadas a 4° C a 2.000 RPM, durante 15 minutos, com a finalidade de remover os carboidratos solúveis e as gorduras.

A amostra inicial de 250g de fermento fresco rendeu 58g de Zimosan.

Para uso, a suspensão de Zimosan foi preparada a partir de 300 mg deste material em 20 mL de salina 0,15 M e autoclavado a 120° C durante 1 hora. Suspensões contendo 1×10^8 partículas por mL foram armazenadas de modo estéril a -4 °C.

PREPARO DE HBSS

Preparada a partir da solução estoque 10 vezes concentrada (OLIVEIRA LIMA & DIAS DA SILVA, 1970) de acordo com a fórmula abaixo e esterilizada por filtração em membrana de millipore.

Solução A:	NaCl	80g
	KCl	4g
	CaCl ₂	1,4g
	MgSO ₄ 7H ₂ O	2g
	Água destilada q.s.p.	0,5L
Solução B:	Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	1,52g
	KH ₂ PO ₄	0,6g
	Glicose	10g
	Vermelho fenol 1%	16mL
	Água Destilada q.s.p.	0,5 L

As soluções A e B foram misturadas sob agitação e o volume completado para 1 litro. Para uso, esta solução foi diluída 1:10 em água destilada e tamponada pela adição de 1,25% de solução de NaHCO_3 a 2,8% e armazenada de modo estéril a -20°C .

OBTENÇÃO DE LEUCÓCITOS MONONUCLEARES

Após coleta asséptica com heparina (aproximadamente 100 U de heparina por mL de sangue), foi realizada centrifugação do sangue total por 30 min a 1500 rpm em gradiente de Ficoll-Hypaque (Hystopaque®) com densidade 1077 (para separação de leucócitos mononucleares). Os leucócitos mononucleares foram cuidadosamente removidos do gradiente e lavados três vezes com solução de HANKS aquecida a 37°C . Em seguida, foram suspensos em solução de HANKS e ajustada a concentração para 1×10^6 células/mL. Em média, 18,7% da população total de mononucleares era constituída de monócitos (desvio-padrão = 6,8%).

FAGOCITOSE DE ERITRÓCITOS DE CARNEIRO INCUBADOS COM ANTICORPOS DE COELHO ANTI-ERITRÓCITOS DE CARNEIRO (EA)

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

FAGOCITOSE DE PARTÍCULAS DE ZIMOSAN INCUBADAS PREVIAMENTE COM SORO HUMANO

As partículas de Zimosan, após serem lavadas três vezes em solução de HANKS, foram ressuspensas na mesma solução contendo 10% de soro humano fresco (“pool” de voluntários adultos normais, conservado a -70°C , e soro de cada paciente), numa concentração de 1×10^7 partículas por mL.

ENSAIO FAGOCÍTICO (PARA EA E ZIMOSAN)

Um mililitro da suspensão contendo 1×10^6 leucócitos mononucleares de pacientes ou de controles foi incubado no interior de tubos de LEIGHTON (contendo uma laminula de vidro, previamente desengordurada e seca), por 30 minutos, a 37°C , em atmosfera úmida, com 5% de CO_2 , para que os monócitos pudessem aderir à laminula.

Após este período de incubação, os tubos foram lavados três vezes com agitação vigorosa, em solução de HANKS à temperatura ambiente, para a remoção das células que não aderiram, no caso, linfócitos.

Em seguida, as células aderentes à laminula foram incubadas por mais 30 min. nas mesmas condições anteriores, com uma suspensão de partículas previamente opsonizadas a serem fagocitadas, constituídas de EA, para investigação dos receptores para Fc de IgG ou com Zimosan incubado com soro para evidencição de receptores para a fração C3 do complemento.

Foram feitos também tubos-controle, onde a suspensão a ser fagocitada foi constituída de partículas não opsonizadas: suspensão de partículas de Zimosan, incubadas por 30 min. a 37°C apenas com solução de HANKS.

Os experimentos foram realizados dentro do seguinte esquema:

- Fagocitose de Eritrócitos de Carneiro:
- Monócitos de paciente incubados com EA

- Fagocitose de Zimosan:
- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro normal;
- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com soro de paciente;
- Monócitos de paciente + Zimosan incubado com meio de HANKS.

Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

COLORAÇÃO E LEITURA

Após 30 min. de incubação, como referido no item anterior, as lamínulas foram vigorosamente lavadas três vezes com solução de HANKS, à temperatura ambiente, para a remoção das partículas que não foram fagocitadas. Em seguida, as lamínulas foram retiradas do interior dos tubos de LEIGHTON e colocadas em um suporte para lamínulas. Para os experimentos com EA, procedeu-se à fixação com álcool metílico e coloração pela hematoxilina-eosina.

Para as lamínulas previamente incubadas com Zimosan, utilizou-se o corante de MAY-GRÜNWALD.

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

Finalmente, a leitura em microscópio foi realizada com objetiva de imersão em aumento de 1.000 vezes, contando-se 200 a 400 monócitos em cada lâmina, identificando-se as células que haviam fagocitado as partículas. Os resultados foram expressos em porcentagem de células que fagocitaram em relação ao número total de monócitos identificados (definido como índice fagocitário) e pelo número total de partículas fagocitadas por 100 monócitos (definido como capacidade fagocitária).

3.3. METODOLOGIA DA DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS LABORATORIAIS PRESENTES NO PROTOCOLO DE PESQUISA

3.3.1. Exames para caracterização da infecção por HIV

- Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (ROGERS; SCHOCHETMAN; HOFF, 1994);
- Western blot (ROGERS; SCHOCHETMAN; HOFF, 1994).

3.3.2. Variáveis hematológicas

3.3.2.1. Variáveis mensuradas pelo hemograma:

Taxa de hemoglobina;

Leucócitos totais;

Granulócitos;

Linfócitos totais;

Monócitos totais;

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

3.3.2.2. Subpopulações linfocitárias

linfócitos T totais (CD3+);

linfócitos T CD4+;

linfócitos T CD8+;

A determinação das subpopulações linfocitárias, durante o decorrer do estudo, foi efetuada por dois métodos diferentes, respectivamente:

Imunofluorescência: realizada no Setor de Imunologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Método utilizado entre 16/11/95 (paciente nº 1) e 22/05/96 (paciente nº 11). O procedimento laboratorial consiste na coleta de sangue em tubo heparinizado, separação dos mononucleares com o uso de gradiente de Ficoll-Hypaque (Hystopaque®) e marcação das células com o uso de anticorpo monoclonal (ORTHO-MUNE® - ORTHO Diagnostic Systems). Após lavagem e montagem entre lâmina e lamínula, é realizada leitura em microscópio específico para imunofluorescência.

Citometria de Fluxo: método utilizado entre 23/7/96 (paciente nº 12) e 18/12/97 (paciente nº 53). A citometria de fluxo foi realizada no Laboratório de Pesquisa em SIDA do Hospital das Clínicas da UNICAMP e no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia da UNICAMP. Foi utilizado um citômetro FACSCalibur® (BECKTON & DICKINSON), com o emprego de anticorpos monoclonais (ORTHO-MUNE® - ORTHO Diagnostic Systems). As amostras foram analisadas com o auxílio dos programas CELLQUEST® e SIMULSET®.

3.4. NÍVEIS SÉRICOS DE IMUNOGLOBULINAS (IgA, IgG, IgM, IgE)

Dosagens realizadas no Setor de Imunologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

A determinação dos níveis séricos de IgA, IgG e IgM, durante o decorrer do estudo, foi efetuada por dois métodos diferentes, respectivamente:

Turbidimetria: Método utilizado entre 16/11/95 (paciente nº 1) e 24/01/96 (paciente nº 7). O método de turbidimetria mede a redução na transmissão da luz causada por formação de partículas, e quantifica a luz residual transmitida (PESCE, FRINGS, GAULDIE, 1996). A leitura foi realizada em um aparelho Turbitimer® (Behring Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil).

Nefelometria: método utilizado a partir de 22/05/96 (paciente nº 8). O método de nefelometria mede a quantidade de luz dispersa por partículas em suspensão, em uma variedade de ângulos (PESCE, FRINGS, GAULDIE, 1996). A leitura é realizada em um sistema Array® 360 (Beckman Instruments, Brea, CA, EUA).

Os níveis séricos de IgE foram determinados por Ensaio Imunoenzimático de Micropartículas (THOMPSON, 1996). A leitura foi realizada no sistema IMX® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EUA).

3.5. CARGA VIRAL LIVRE NO SORO

Mensurada com o uso da técnica quantitativa NASBA® HIV-RNA QT (ORGANON TEKNIKA). A técnica NASBA® consiste em uma amplificação de ácidos nucleicos baseada em sequência. O ensaio mimetiza o ciclo de replicação do RNA viral. É realizada a extração de RNA viral altamente purificado, seguida de amplificação isotérmica a 41° C. Realiza-se então a leitura com uma curva padronizada de calibração, fornecendo um resultado quantitativo (número de cópias por mL) (ROMANO; VanGEMEN; KIEVITS, 1996).

3.6. RESPOSTA À IMUNIZAÇÃO COM VACINA ANTI-HEPATITE B

Os dados de soroconversão para a vacina anti-Hepatite B foram obtidos dos pacientes participantes do estudo “Resposta imunológica à vacinação contra a hepatite B em crianças infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)”. Este estudo vem sendo

conduzido desde 1995 pelo Centro de Referência em Imunobiológicos Especiais da UNICAMP em cooperação com o Serviço de Imunodeficiência Pediátrica, com o objetivo de avaliar a resposta humoral contra a hepatite B em crianças infectadas pelo HIV e sorologia para hepatite B negativa.

O imunógeno utilizado foi a vacina ENGERIX B® (Smith, Kline & French, USA).

A determinação da resposta humoral ao antígeno vacinal foi realizada em equipamento automatizado COBAS CORE® ELISA (Roche Diagnostics).

Foram consideradas soro-conversoras as crianças com sorologia anti-HBsAg positiva após 4 doses de vacina. Devido à probabilidade de rápida evolução da imunodepressão em crianças com SIDA, foram utilizados resultados obtidos no prazo de um ano antes ou após o ensaio de fagocitose.

3.7. ANÁLISE DOS RESULTADOS

3.7.1. Parâmetros analisados

A análise dos resultados visou explorar:

- Diferenças nos indicadores de atividade fagocitária entre o grupo de crianças infectadas e os grupos-controle soro-reversores e de referência;
- Diferenças nos indicadores de atividade fagocitária entre os grupos-controle;
- Diferenças nos indicadores de atividade fagocitária no grupo de crianças infectadas, de acordo com as seguintes variáveis clínicas e laboratoriais:

Estágio clínico segundo a classificação de SIDA pediátrica proposta pelo CDC em 1994;

Idade de início dos sintomas de infecção pelo HIV;

Idade no momento do ensaio de fagocitose;

Presença de infecção comprovada por patógeno de sobrevivência intracelular;

Variáveis hematológicas das séries eritrocitária, granulocitária, monocitária e plaquetária;

Variáveis hematológicas da série linfocitária;

Níveis séricos de imunoglobulinas;

Resposta à vacinação contra a hepatite B;

Carga viral;

Associação entre os índices e capacidades fagocitárias para Zimosan no grupo de crianças infectadas, de acordo com o tipo de opsonização (soro de indivíduos normais ou soro de paciente).

3.7.2. Metodologia estatística

A confecção do banco de dados e a abordagem estatística descritiva e analítica foram realizadas utilizando-se o programa SPSS para Windows, versão 6.0, de 17 de junho de 1993, de propriedade do Departamento de Pediatria da FCM-UNICAMP (nº de usuário 708621).

Uma proporção significativa das variáveis numéricas contínuas apresentou distribuição não-normal. Na análise dos resultados, foram utilizados os testes não-paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para a avaliação da associação entre variáveis numéricas contínuas e duas ou mais categorias. Para a avaliação da associação entre duas variáveis numéricas contínuas, foi utilizado o coeficiente de correlação não-paramétrico de Spearman. Para a avaliação da associação entre duas variáveis categóricas, foi utilizado o teste do qui-quadrado. Na análise das diferenças entre variáveis numéricas contínuas relativas a amostras pareadas de dois grupos, utilizou-se o teste da soma de postos de Wilcoxon (ALTMAN, 1991).

Para a rejeição da hipótese nula, foram considerados estatisticamente significativos valores de P menores ou iguais a 0,05. A notação do valor de P no texto foi efetuada pelo valor exato, exceto nos valores inferiores a 0,001, que foram descritos como " $P < 0,001$ ".

3.8. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A metodologia de pesquisa obedeceu inicialmente às normas estabelecidas na resolução nº 01/88, do CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, sendo solicitada permissão verbal dos pais ou responsáveis para a coleta de sangue após entrevista com o investigador principal e descrição dos objetivos do estudo. Com a entrada em vigor da resolução nº 196/96 do CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, em 10/10/1996, foi redigido um termo de consentimento esclarecido de acordo com as normas da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, sendo solicitada, a partir desta data, aos pais ou responsáveis, a assinatura do termo após entrevista com o investigador principal.

O projeto de pesquisa foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, e aprovado.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS DE CRIANÇAS INFECTADAS, SORO-REVERSORAS E CONTROLES DE REFERÊNCIA

4.1.1. Idade

Houve diferenças significativas de idade entre os três grupos. O grupo com maior idade foi o grupo-controle de referência, seguido do grupo de crianças infectadas e do grupo de soro-reversores (tab. 1).

Tabela 1: Comparação entre as idades (em meses) dos grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência

GRUPO	NÚMERO	IDADE (mediana, percentis 5 e 95)
INFECTADOS	33	45,53 (12,1 - 133,56)
SORO-REVERSORES	18	24,93 (7,8 - 49,72)
REFERÊNCIA	28	87 (19,35 - 150,6)
<i>P</i>		<0,001

ASSOCIAÇÃO ENTRE IDADE E FUNÇÃO FAGOCITÁRIA NO GRUPO-CONTROLE DE REFERÊNCIA:

Em análise preliminar dos dados, observou-se associação entre idade e indicadores de função fagocitária no grupo-controle de referência. Neste grupo, as crianças com mais de 5 anos apresentaram desempenho superior nas capacidades fagocitárias para EA ($P = 0,002$) e zimosan não-opsonizado ($P = 0,02$) (tab.3, fig. 2) e no índice fagocitário para zimosan opsonizado ($P = 0,03$) (tab. 2, fig. 1).

Tabela 2: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias

IDADE	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
≤ 5 anos	10	29,56 (11,11 - 39,47)	86,18 (75,26 - 91,96)	75,32 (41,67 - 87,24)
> 5 anos	18	32,31 (19,19 - 45,91)	92,77 (76,18 - 97,10)	78,32 (62,44 - 87,69)
P		0,23	0,03	0,62

Tabela 3: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias

IDADE	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
≤ 5 anos	10	159 (138 - 222)	515 (423 - 606)	255 (185 - 319)
> 5 anos	18	199 (165 - 245)	552 (399 - 689)	300 (257 - 333)
P		0,02	0,42	0,002

4.1.2. Sexo

Os três grupos não apresentaram diferenças significativas em relação ao sexo (tab. 4).

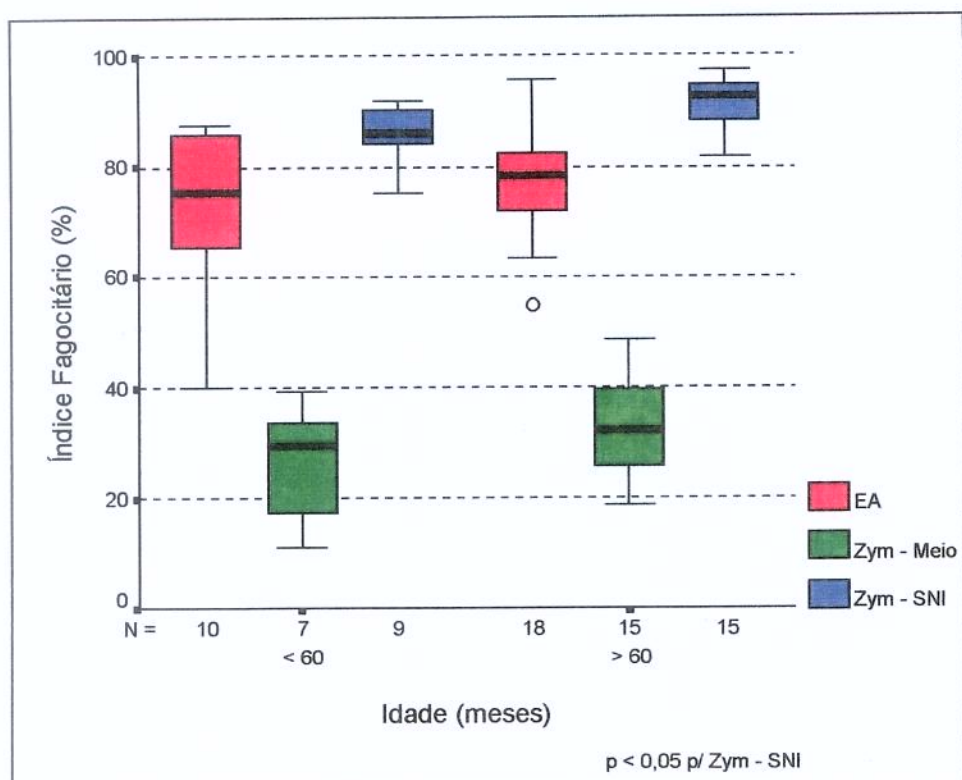


Figura 1. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.

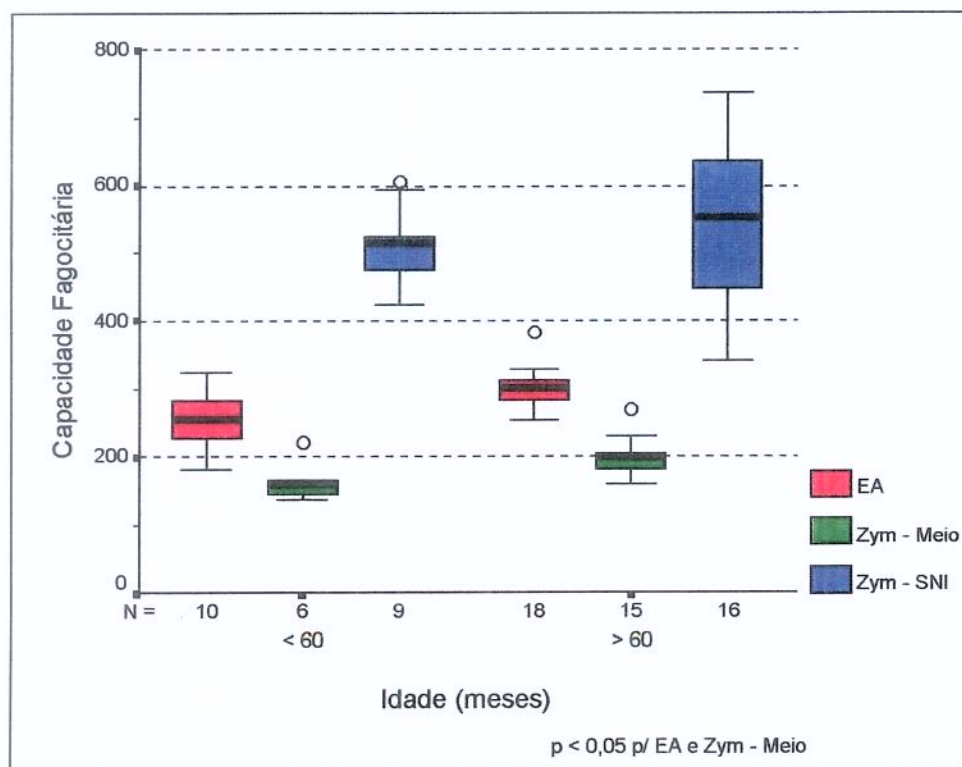


Figura 2. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças do grupo de referência, de acordo com faixas etárias.

Tabela 4: Comparação dos grupos de crianças infectadas, soro-reversoras e controles de referência em relação ao sexo

GRUPO	SEXO	
	MASCULINO	FEMININO
Infectado	15	18
Soro-reversor	9	9
Referência	15	13
P	0,82	

4.2. CARACTERIZAÇÃO LABORATORIAL DOS GRUPOS DE CRIANÇAS INFECTADAS E SORO-REVERSORAS

4.2.1. Variáveis hematológicas

SÉRIES ERITROCITÁRIA, GRANULOCÍTICA, MONOCITÁRIA E PLAQUETÁRIA

Observaram-se no grupo de crianças infectadas taxas de hemoglobina ($P < 0,001$), leucócitos totais ($P = 0,003$) e plaquetas ($P = 0,03$) significativamente inferiores em relação ao grupo de soro-reversores. Não houve diferenças significativas em relação ao número absoluto de neutrófilos, basófilos, eosinófilos e monócitos. A única anormalidade hematológica observada no grupo de soro-reversores foi anemia discreta (níveis de hemoglobina entre 10,5 g/dL e 11,5 g/dL) em duas crianças (tab. 5).

LINFÓCITOS TOTAIS E SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS.

O grupo de crianças infectadas apresentou um número significativamente inferior de linfócitos totais ($P < 0,001$), linfócitos T (CD3+) ($P = 0,003$) e linfócitos T CD4+ ($P < 0,001$). Não houve diferenças entre os dois grupos no número absoluto de linfócitos T CD8+. A relação CD4+ / CD8+ foi significativamente inferior no grupo de crianças infectadas ($P < 0,001$), bem

como a porcentagem de linfócitos T CD4+ em relação aos totais ($P < 0,001$). Todos os soro-reversores apresentaram números normais de linfócitos totais e subpopulações linfocitárias (tab. 6).

4.2.2. Níveis séricos de imunoglobulinas

Em relação ao grupo soro-reversor, o grupo de crianças infectadas apresentou níveis séricos de todas as classes de imunoglobulinas significativamente superiores. Com o ordenamento dos níveis de IgA, IgG e IgM em escores-z de acordo com a idade, as diferenças se mantiveram ($P = 0,03$ para IgA, $P < 0,001$ para IgG, $P < 0,001$ para IgM e $P = 0,05$ para IgE) (tab. 7). Todos os soro-reversores apresentaram níveis normais de imunoglobulinas.

Tabela 7: Níveis séricos de imunoglobulinas em crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95)

CATEGORIA		IgA	IgG	IgM	IgE
		Mg/dL	mg/dL	mg/dL	mU/mL
INFECTADOS	33	255	2.190	191	396
		(54 - 1.432)	(1.048-3.221)	(83 - 490)	(10 - 4.000)
SORO-REVERSORES	18	57	85	102	45
		(12 - 99)	(309 -1.400)	(49 - 188)	(4 - 1.225)
P (escores-z)		0,003	< 0,001	< 0,001	0,05

Tabela 5: Comparação de variáveis hematológicas entre os grupos de crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95)

GRUPO	N	Hb (g/dL)	Leucócitos /mm3	Neutrófilos/ mm3	Eosinófilos/ mm3	Monócitos/ mm3	Basófilos / mm3	Plaquetas x 10 ³ mm3
INFECTA-	33	10,5 (8,33 - 13,33)	7.000 (2.740 - 13.150)	2.927 (1.124 - 8.407)	200 (32 - 568)	730 (368 - 1.372)	53 (10 - 290)	279 (172 - 532)
DOS								
SORO-	18	12,2 (10,7 - 13,72)	10.150 (7.100 - 13.950)	3.200 (1.320 - 7.206)	368 (90 - 709)	814 (356 - 1.446)	50 (10 - 133)	334 (228 - 595)
REVERSO-								
RES								
P		<0,001	0,003	0,18	0,15	0,94	0,66	0,03

Tabela 6: Série linfocitária em crianças infectadas e soro-reversoras (valores expressos em mediana, percentis 5 e 95)

	N	LINF. TOTAIS / mm3	CD3+ / mm3	CD4+ / mm3	CD8+ / mm3	CD4+/CD8+	CD4+ (%)
INFECTADOS	3	2.815 (890 - 5.836)	1.884 (208 - 6.019)	383 (7 - 1.414)	1.281 (179 - 4.381)	0,3 (0,1 - 0,88)	15 (1 - 35)
SORO-							
REVERSOES	8	4.530 (2.490 - 7.876)	3.610 (2.247 - 6.194)	2.323 (988 - 4.003)	1.416 (1.557 - 2.744)	1,7 (0,6 - 2,86)	36 (23 - 63)
P		<0,001	0,003	<0,001	0,96	<0,001	<0,001

4.2.3. Resposta à imunização com vacina anti-hepatite B

Vinte e cinco das 33 crianças infectadas foram imunizadas com a vacina anti-hepatite B. Destas, 9 (36%) apresentaram resposta detectável de anticorpos anti-HBs após um máximo de 4 doses. Das 18 crianças do grupo soro-reversor, 13 foram imunizadas, com uma resposta de 100%. As diferenças foram estatisticamente significativas ($P < 0,001$).

4.3. COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO FAGOCITÁRIO ENTRE OS GRUPOS DE CRIANÇAS INFECTADAS, SORO-REVERSORAS E CONTROLES DE REFERÊNCIA

4.3.1. Infectados e soro-reversores

Observou-se no grupo de crianças infectadas por HIV-1 um desempenho fagocitário significativamente superior em relação à capacidade fagocitária de EA ($P = 0,03$), e inferior em relação à fagocitose de zimosan, sendo estatisticamente significativas as diferenças em relação à capacidade ($P = 0,05$) e ao índice fagocitário para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,04$) (tab. 8 e 9, fig. 3 e 4)

4.3.2. Infectados e controles de referência, menores de 5 anos

O desempenho fagocitário no grupo de crianças infectadas foi inferior, sendo estatisticamente significativas as diferenças em relação ao índice fagocitário ($P < 0,001$) e à capacidade fagocitária ($P = 0,04$) para EA, à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($P < 0,001$) e aos índices fagocitários para zimosan não opsonizado ($P = 0,01$) e opsonizado com soro normal ($P < 0,001$) (tab. 10 e 11, fig. 5 e 6).

4.3.3. Infectados e controles de referência, maiores que 5 anos

O desempenho fagocitário no grupo de crianças infectadas foi inferior, sendo estatisticamente significativa a diferença em relação ao índice fagocitário ($P < 0,001$) e à capacidade fagocitária ($P = 0,01$) para EA, às capacidades fagocitárias para zimosan não-opsonizado ($P = 0,03$) e opsonizado com soro normal ($P = 0,04$) e ao índice fagocitário para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,002$) (tab. 12 e 13, fig. 7 e 8).

4.3.4. Soro-reversores e controles de referência

O grupo de soro-reversores apresentou um desempenho inferior, com diferenças estatisticamente significativas tanto em relação à capacidade fagocitária ($P = 0,004$) como ao índice fagocitário ($P = 0,002$) para EA, às capacidades fagocitárias para zimosan não opsonizado ($P = 0,04$) e opsonizado com soro normal ($P = 0,001$), e ao índice fagocitário para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,002$) (tab. 14 e 15, fig. 9 e 10).

Tabela 8: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e soro-reversoras, semelhantes em relação à idade

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	17	9,47 (1,85 - 30,64)	59,77 (16,18 - 73,60)	60,38 (12,81 - 83,07)	35,03 (11,62 - 63,63)
SORO-REVERSORES	17	12,84 (5,89 - 28,10)	67,20 (44,30 - 81,34)	66,61 (49,95 - 87,22)	33,16 (17,84 - 67,07)
P		0,3	0,04	0,1	0,83

Tabela 9: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e soro-reversoras, semelhantes em relação à idade

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	17	130 (87 - 237)	284 (163 - 409)	265 (195 - 524)	210 (136 - 264)
SORO-REVERSORES	17	120 (100 - 167)	351 (250 - 489)	348 (232 - 485)	158 (109 - 257)
P		0,23	0,05	0,09	0,03

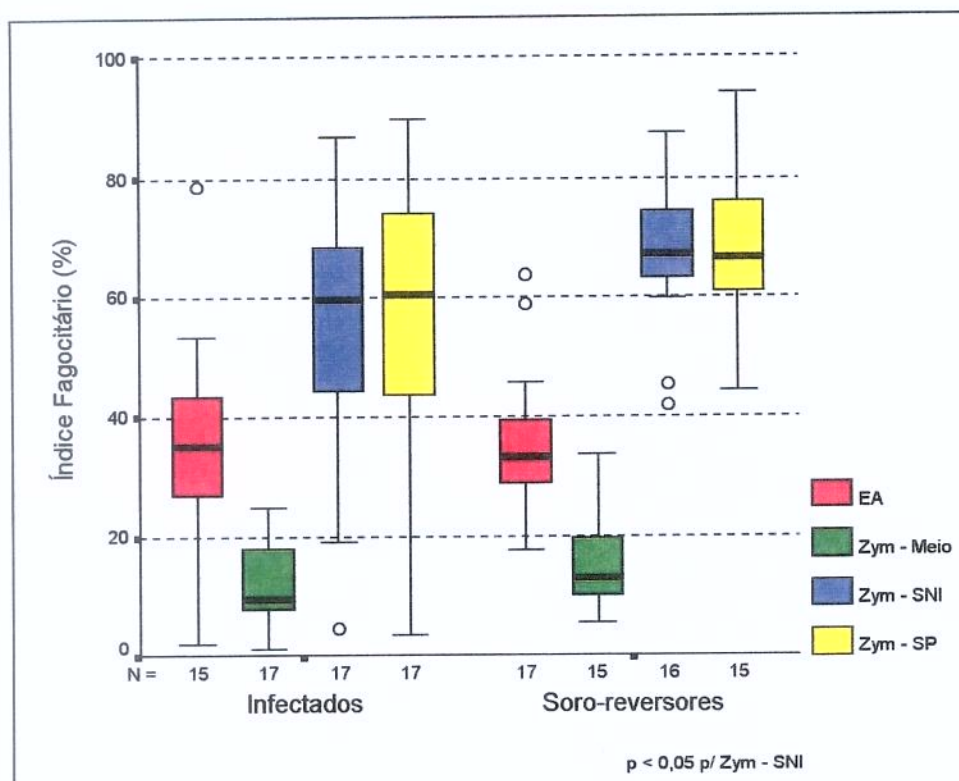


Figura 3. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas e soro-reversoras.

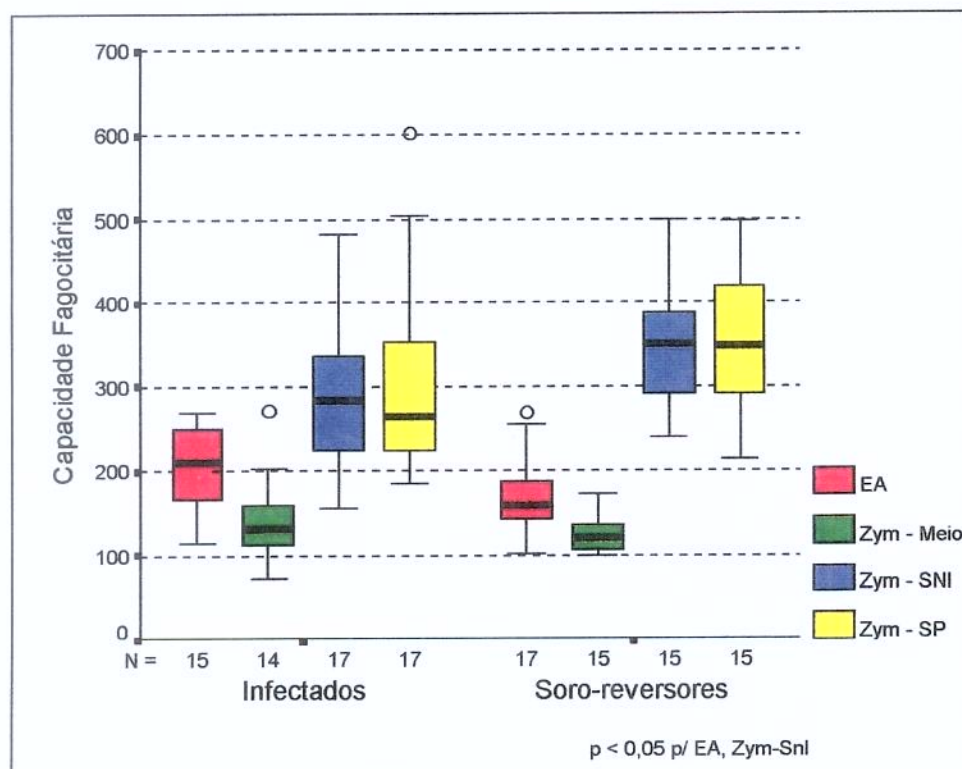


Figura 4. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas e soro-reversoras.

Tabela 10: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	21	10,21 (1,66 - 52,25)	53,39 (7,55 - 83,62)	35,03 (17,95 - 67,70)
REFERÊNCIA	10	29,56 (13,11 - 39,47)	86,18 (75,26 - 91,96)	75,35 (41,67 - 87,24)
P		0,01	< 0,001	< 0,001

Tabela 11: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	21	133 (96 - 216)	273 (158 - 464)	210 (144 - 279)
REFERÊNCIA	10	159 (138 - 222)	515 (423 - 606)	255 (185 - 319)
P		0,08	< 0,001	0,04

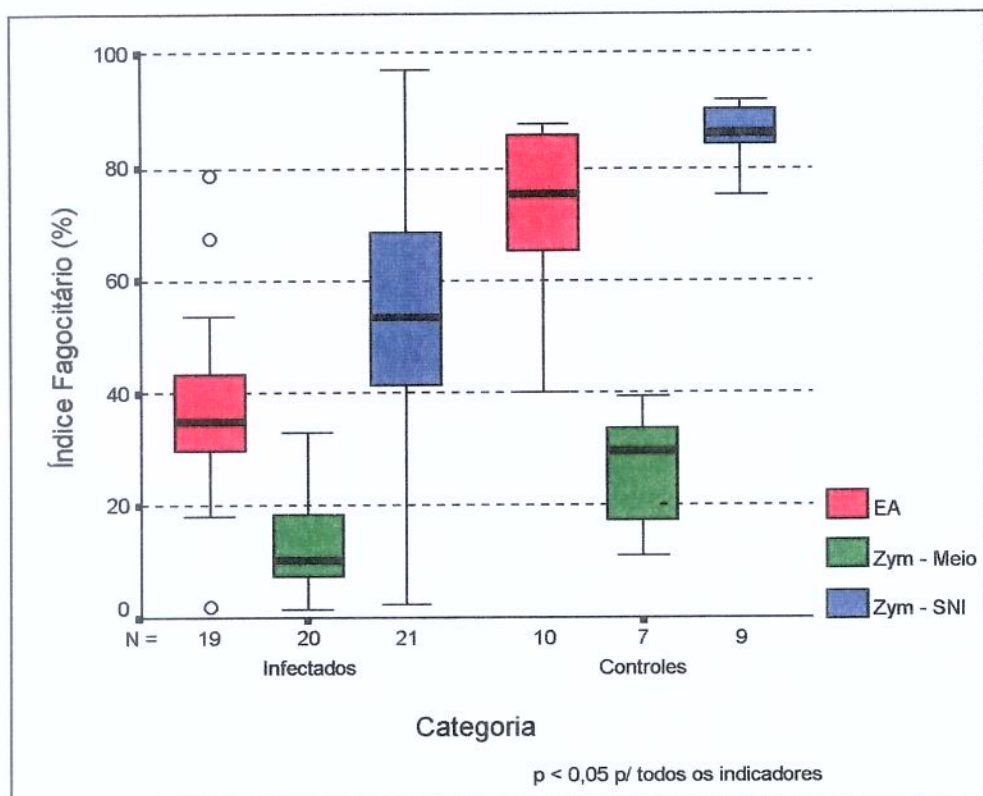


Figura 5. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.

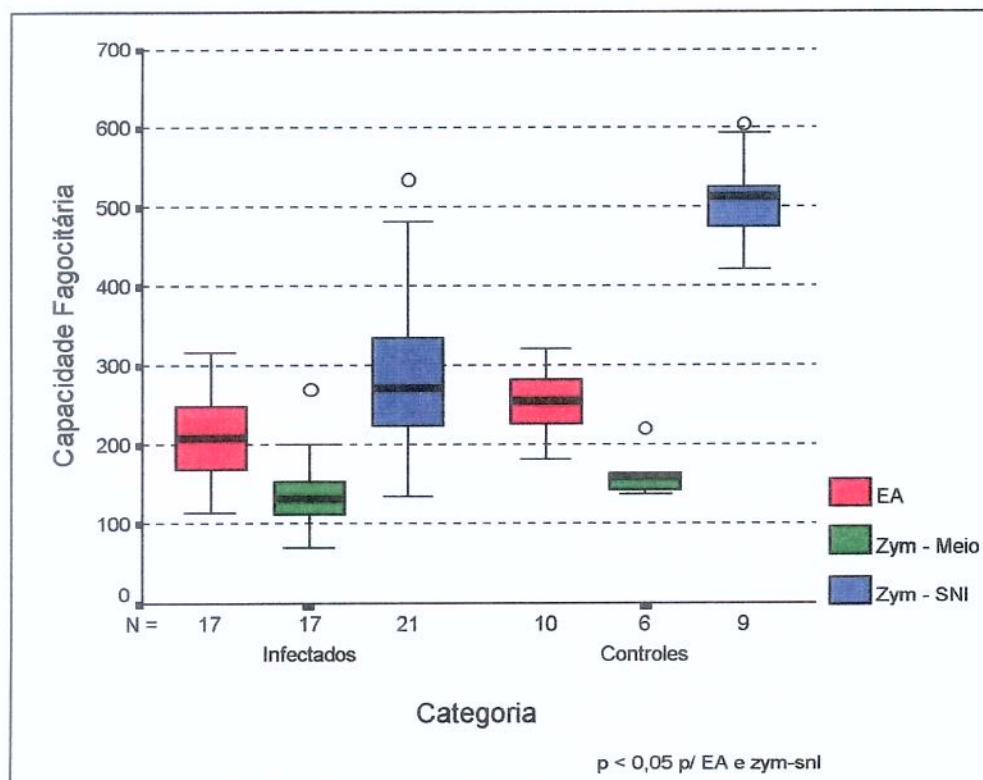


Figura 6. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças infectadas e do grupo de referência, menores que 5 anos.

Tabela 12: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	12	19,15 (3,50 - 57,92)	81,53 (41,04 - 90,38)	52,68 (12,12 - 75,49)
REFERÊNCIA	18	32,21 (19,19 - 45,91)	92,77 (76,19 - 97,10)	78,32 (62,44 - 87,69)
P		0,08	0,002	< 0,001

Tabela 13: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
INFECTADOS	12	174 (125 - 303)	407 (250 - 728)	214 (123 - 453)
REFERÊNCIA	18	199 (166 - 245)	552 (399 - 689)	300 (257 - 392)
P		0,03	0,04	0,01

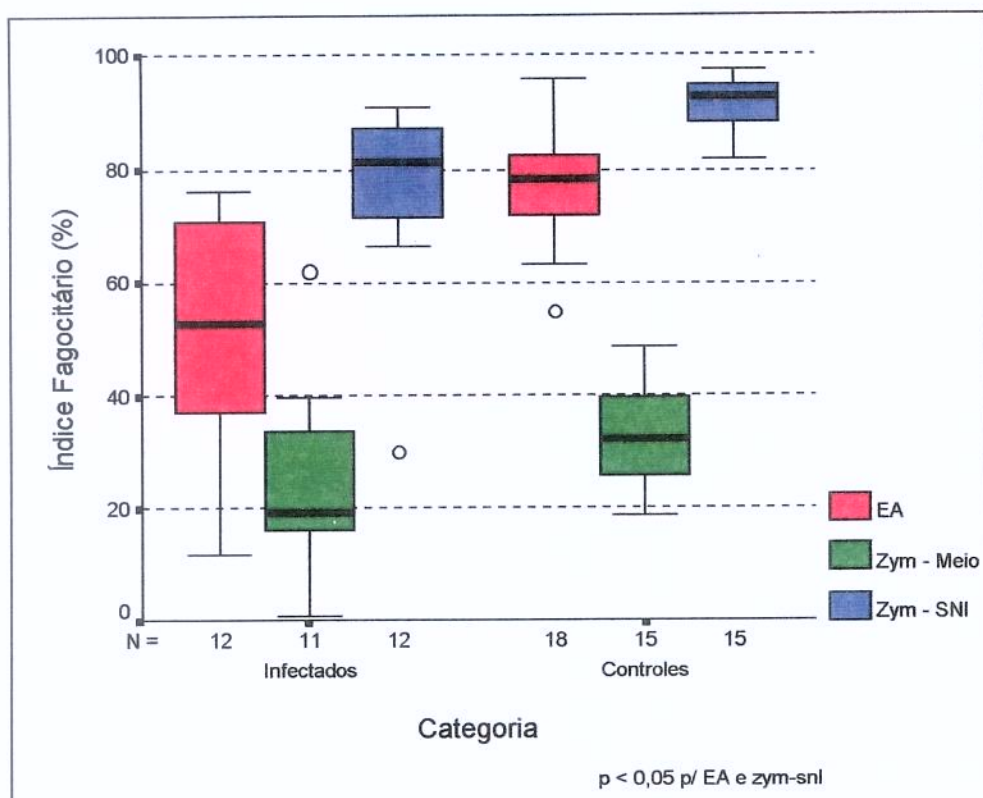


Figura 7. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.

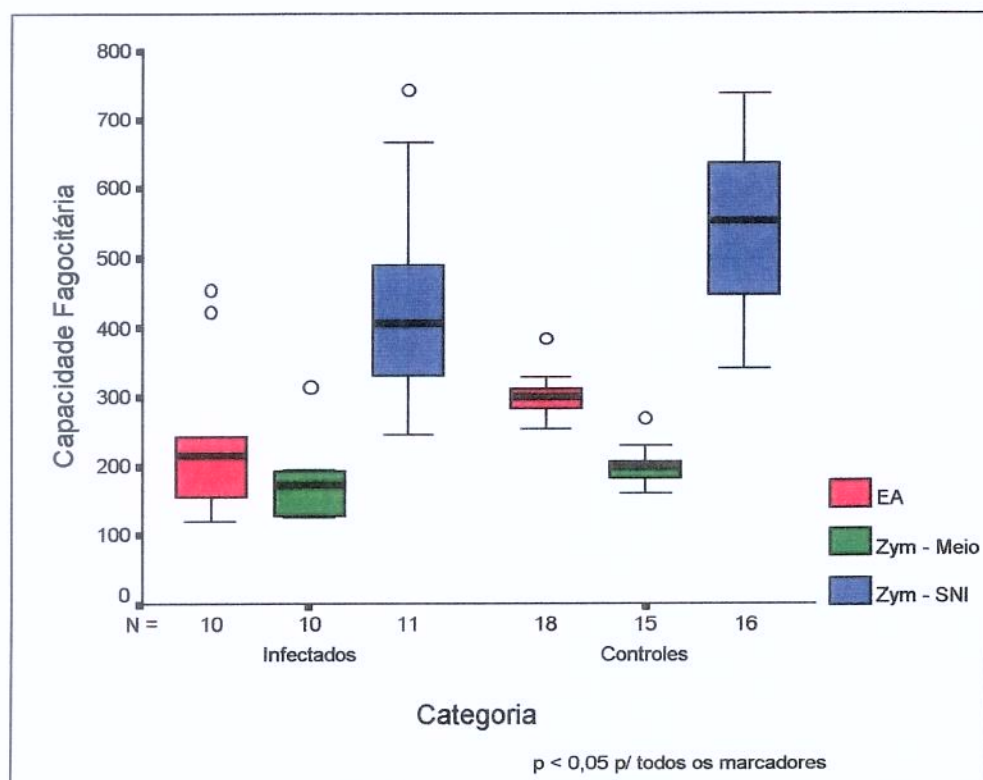


Figura 8. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças infectadas e do grupo de referência, maiores que 5 anos.

Tabela 14: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS entre crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência, semelhantes em relação à idade

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
SORO-REVERSORES	17	12,84 (5,89 - 28,10)	67,20 (44,30 - 81,34)	33,16 (17,84 - 67,07)
REFERÊNCIA	7	27,11 (11,69 - 39,47)	85,12 (75,26 - 90,99)	74,28 (40,14 - 87,40)
P		0,11	0,002	0,002

Tabela 15: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS entre crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência, semelhantes em relação à idade

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
SORO-REVERSORES	17	120 (100 - 167)	351 (250 - 489)	158 (109 - 257)
REFERÊNCIA	7	163 (138 - 222)	520 (423 - 606)	243 (182 - 323)
P		0,04	0,001	0,004

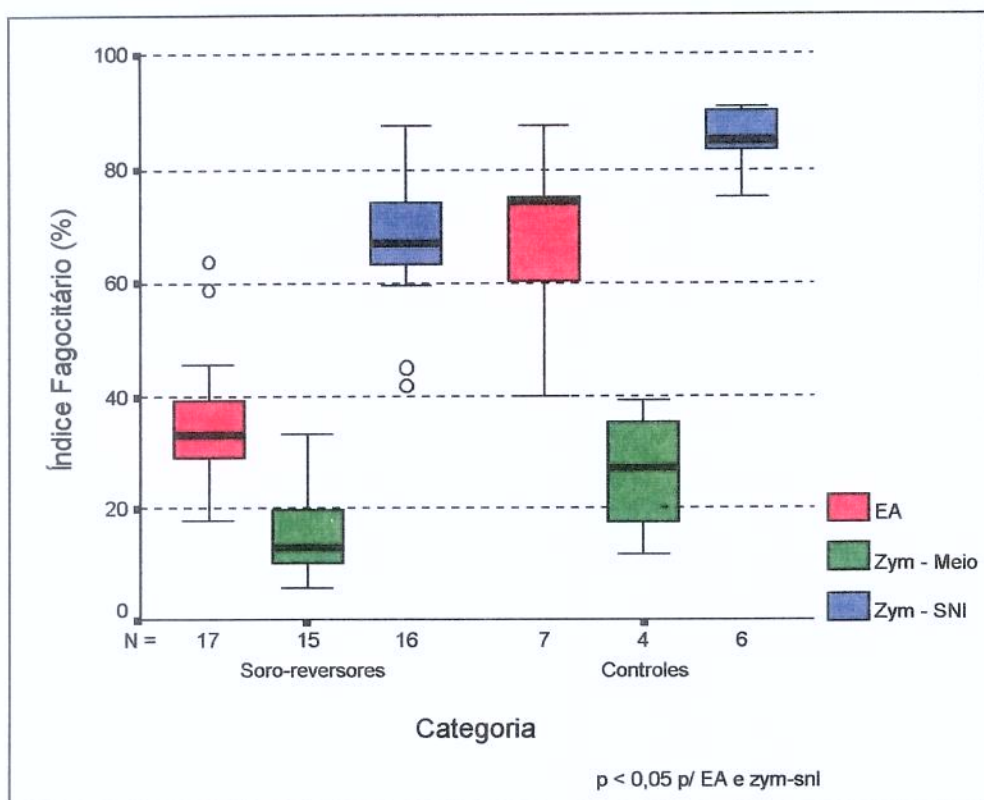


Figura 9. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência.

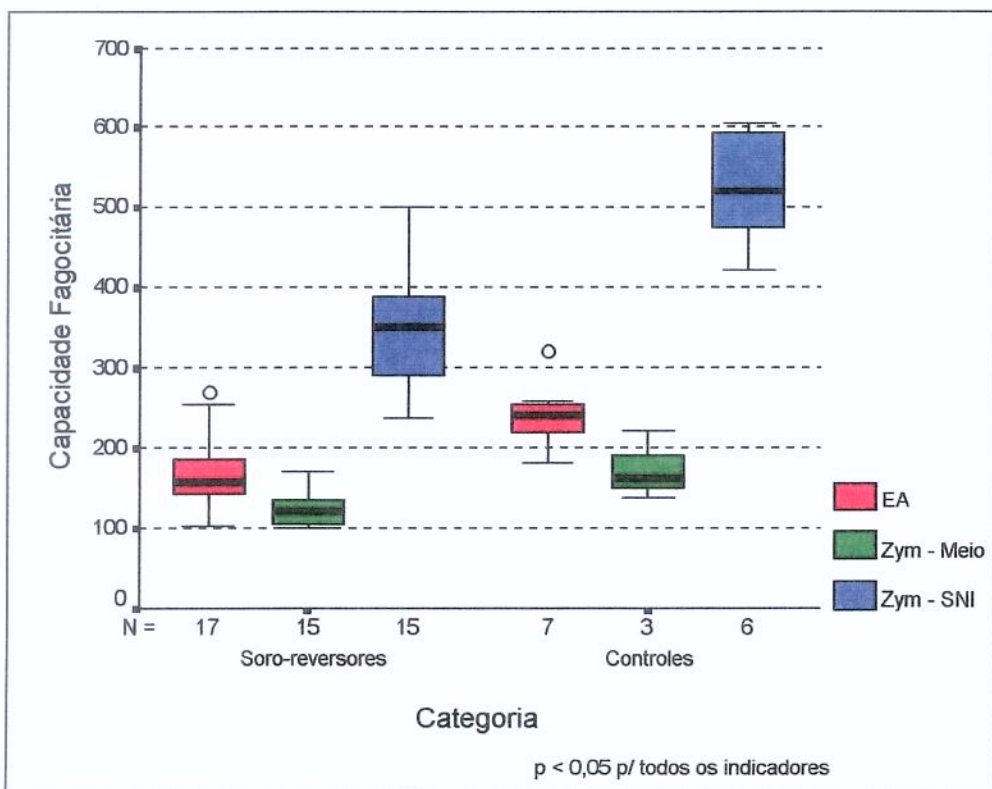


Figura 10. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS de crianças do grupo soro-reversor e do grupo de referência.

4.4. COMPARAÇÃO DE DESEMPENHO FAGOCITÁRIO NO GRUPO DE CRIANÇAS INFECTADAS

4.4.1. Variáveis clínicas

ESTÁGIO CLÍNICO SEGUNDO A CLASSIFICAÇÃO DE SIDA PEDIÁTRICA DO CDC.

A comparação dos índices e capacidades fagocitárias entre as diferentes categorias de evolução clínica não demonstrou diferenças significativas (tab. 16 e 17, fig. 11 e 12).

IDADE DE INÍCIO DOS SINTOMAS DE INFECÇÃO PELO HIV-1.

Observou-se tendência para melhor desempenho fagocitário no grupo de crianças cujos sintomas se iniciaram acima dos doze meses. Houve diferenças significativas nos índices fagocitários de zimosan não-opsonizado ($P = 0,03$) e zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,01$) (tab. 18 e 19, fig. 13 e 14)

IDADE NO MOMENTO DO ENSAIO DE FAGOCITOSE.

O grupo de crianças com idade maior que 5 anos apresentou um desempenho superior, com diferenças significativas em relação aos índices fagocitários para zimosan não opsonizado ($P = 0,02$), opsonizado com soro normal ($P < 0,001$) e soro de paciente ($P < 0,001$). Em relação ao índice fagocitário para EA e as capacidades fagocitárias para EA e zimosan, observou-se uma tendência mantida de desempenho superior no mesmo grupo, embora não significativa estatisticamente (tab.20 e 21, fig. 15 e 16).

FORMAS DE EVOLUÇÃO CLÍNICA.

Compararam-se dois grupos polares em relação à evolução clínica à época do ensaio de função fagocitária. O primeiro grupo foi composto com os pacientes com início precoce dos sintomas (abaixo de 1 ano) e menos de 5 anos de idade no momento do teste. O segundo, com os pacientes de início dos sintomas acima de 1 ano e mais de 5 anos de idade (“sobreviventes de longo prazo”). Observou-se no primeiro grupo um desempenho inferior em todos os testes de função fagocitária, sendo significativas as diferenças em relação aos índices fagocitários para zimosan não opsonizado ($P = 0,003$), opsonizado com soro normal ($P = 0,001$) ou soro de paciente ($P = 0,01$), e à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,01$) (tab. 22 e 23, fig. 17 e 18).

ASSOCIAÇÃO DE INFECÇÃO SISTÊMICA POR PATÓGENO DE SOBREVIDA INTRACELULAR.

Do grupo de crianças infectadas por HIV-1, sete apresentaram em sua evolução clínica infecção sistêmica comprovada por patógenos capazes de sobrevida intracelular. Este grupo apresentou uma tendência a desempenho fagocitário superior. Houve diferenças estatisticamente significativas em relação ao índice fagocitário para hemácias de carneiro ($P = 0,03$) (tab. 24 e 25, fig. 19 e 20).

Tabela 16: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com categorias clínicas

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
N + A	12	15,86 (1,02 - 53,06)	63,46 (2,36 - 86,76)	61,05 (5,69 - 94,46)	32,93 (11,90 - 78,80)
B	11	14,31 (0,80 - 62,24)	67,41 (30,10 - 88,99)	72,24 (37,18 - 90,04)	42,88 (17,95 - 76,23)
C	10	16,87 (2,94 - 39,86)	64,46 (4,68 - 97,08)	57,06 (3,72 - 95,44)	43,25 (2,12 - 73,76)
P		0,91	0,75	0,60	0,45

Tabela 17: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com categorias clínicas

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
N + A	12	125 (104 - 272)	278,50 (137 - 407)	300,50 (207 - 610)	201 (120 - 250)
B	11	133 (72 - 192)	363,50 (255 - 666)	307,50 (225 - 659)	215 (150 - 456)
C	10	155 (102 - 315)	301 (156 - 743)	265 (186 - 504)	229,5 (114 - 423)
P		0,42	0,20	0,51	0,63

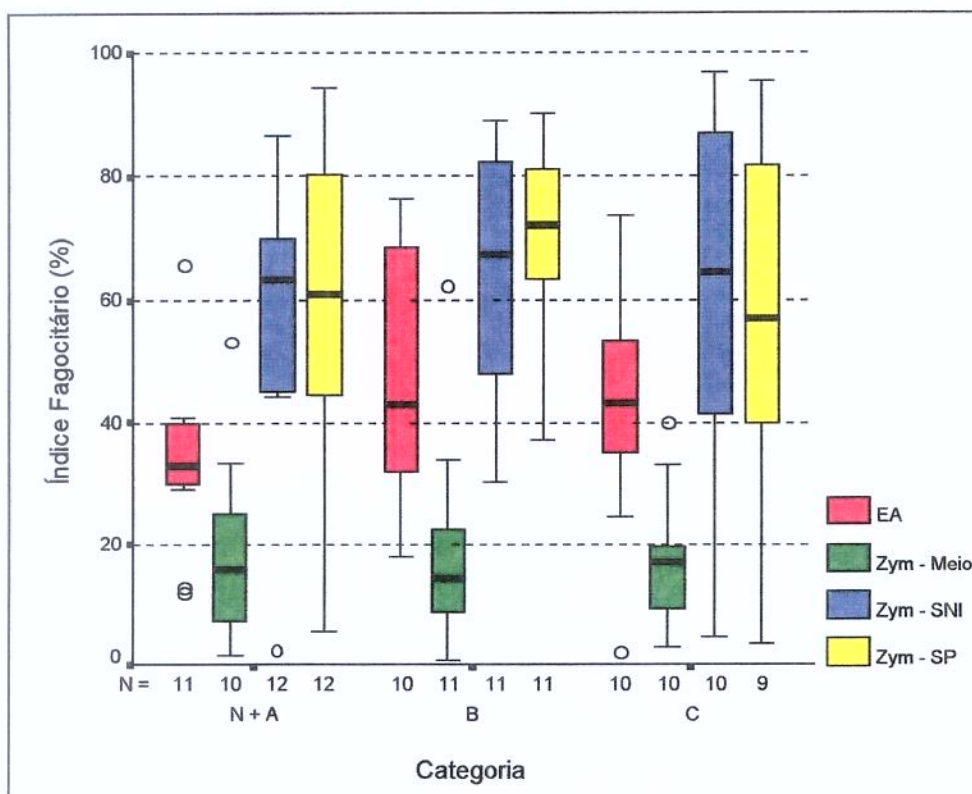


Figura 11. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com categorias clínicas.

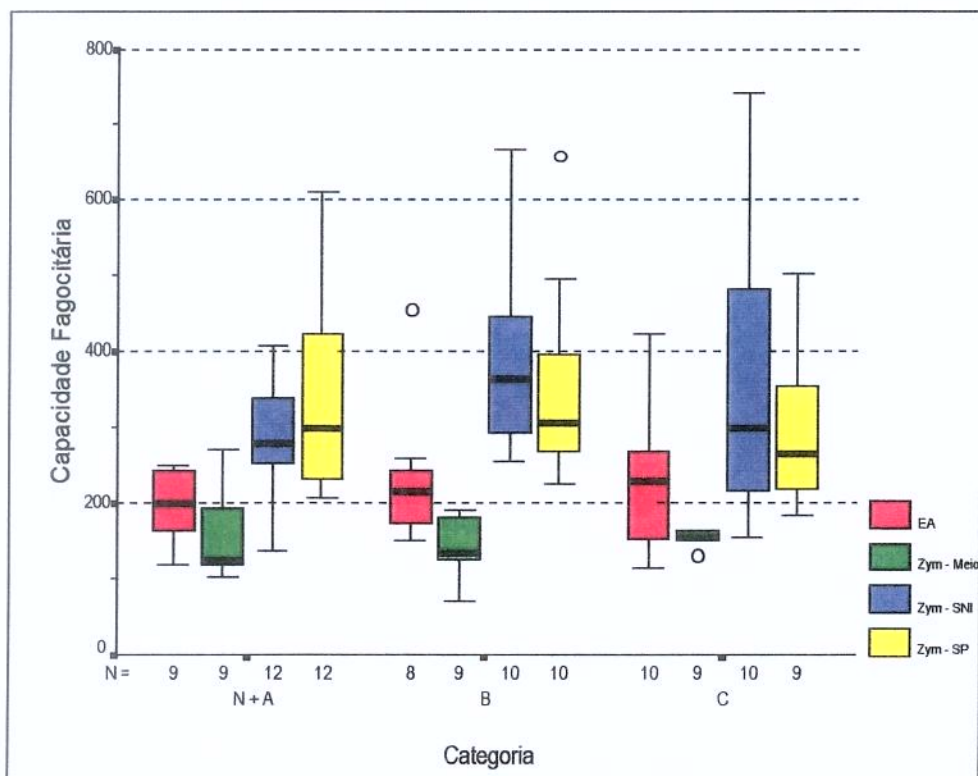


Figura 12. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com categorias clínicas.

Tabela 18: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade de início dos sintomas

IDADE DE INÍCIO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
< 12 MESES	15	09,47 (01,24 - 32,52)	47,13 (04,44 - 87,59)	59,63 (05,49 - 89,83)	36,40 (14,78 - 70,71)
> 12 MESES	18	18,99 (04,50 - 46,46)	75,54 (54,03 - 93,42)	73,49 (35,07 - 94,95)	44,88 (12,26 - 74,99)
P		0,03	0,01	0,16	0,28

Tabela 19: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade de início dos sintomas

IDADE DE INÍCIO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
< 12 MESES	15	133 (84,00 - 198,0)	273,00 (152,2 - 493,2)	290 (194,8 - 523,8)	174 (135,6 - 264,6)
> 12 MESES	18	160 (105,5 - 293,5)	346,00 (213,6 - 696,8)	341 (215,0 - 634,5)	215 (130,5 - 446,1)
P		0,26	0,08	0,35	0,38

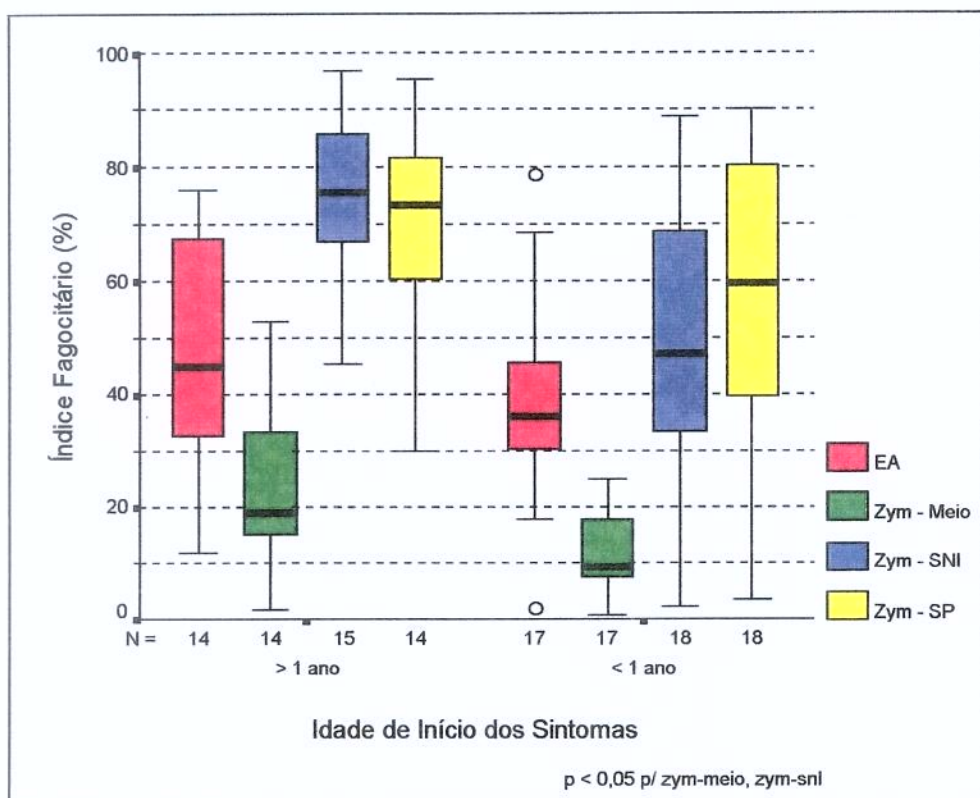


Figura 13. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade de início dos sintomas.

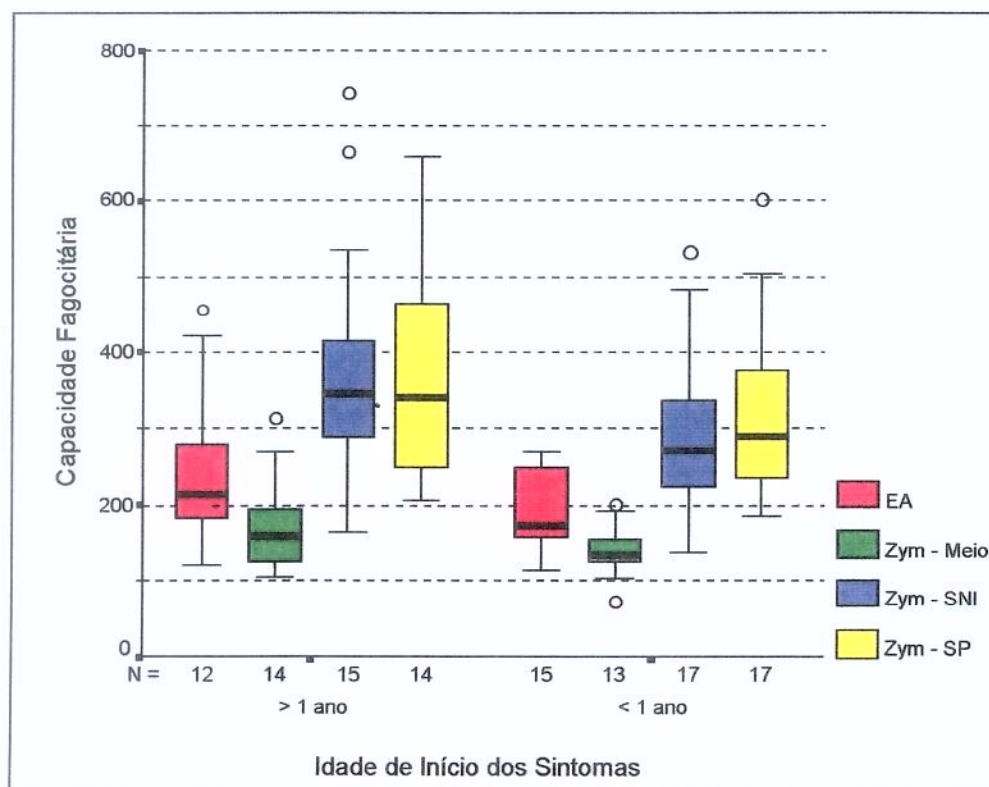


Figura 14. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade de início dos sintomas.

Tabela 20: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade no momento do

ensaio

IDADE	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
≥ 5 ANOS	12	19,15 (03,50 - 57,92)	81,53 (41,04 - 90,38)	81,47 (61,23 - 93,58)	52,68 (12,12 - 75,49)
< 5 ANOS	21	10,21 (01,65 - 32,25)	53,39 (07,55 - 83,62)	57,06 (07,57 - 88,13)	35,03 (17,95 - 67,70)
P		0,02	< 0,001	< 0,001	0,08

Tabela 21: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com idade no momento do ensaio

IDADE	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
≥ 5 ANOS	12	174 (125,2 - 303,1)	407 (250,4 - 727,6)	342 (225,6 - 642,7)	214 (123,0 - 452,7)
< 5 ANOS	21	133 (096,0 - 216,0)	273 (157,8 - 464,4)	290 (199,0 - 583,2)	210 (143,6 - 279,4)
P		0,26	0,08	0,35	0,38

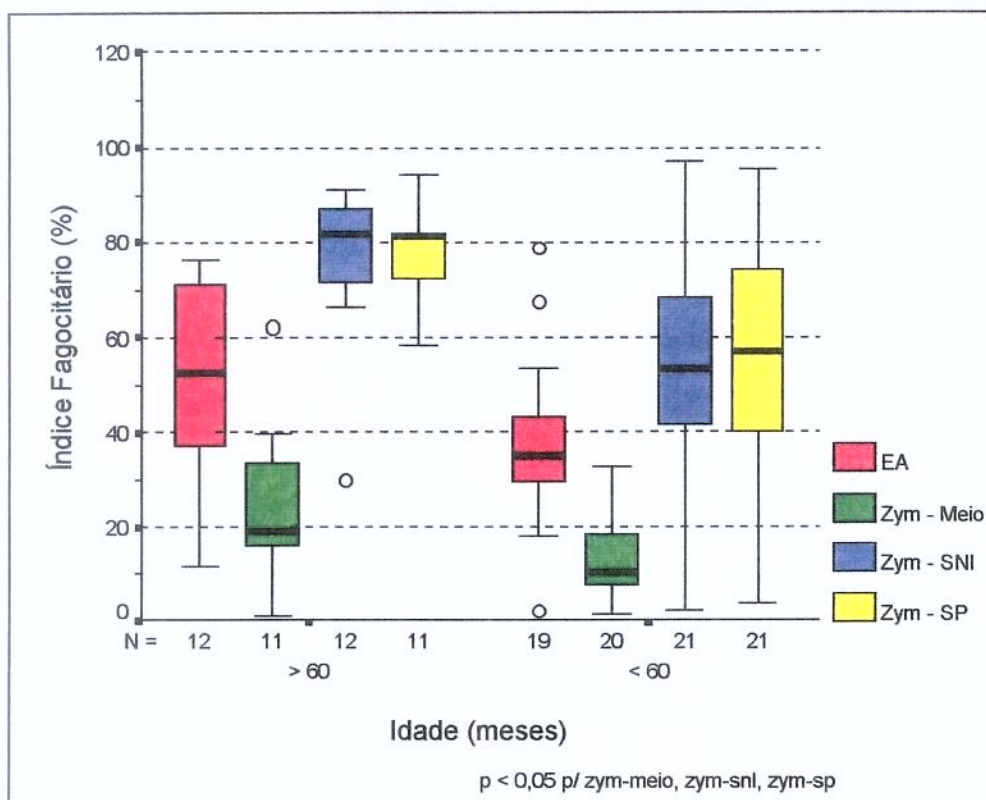


Figura 15. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade.

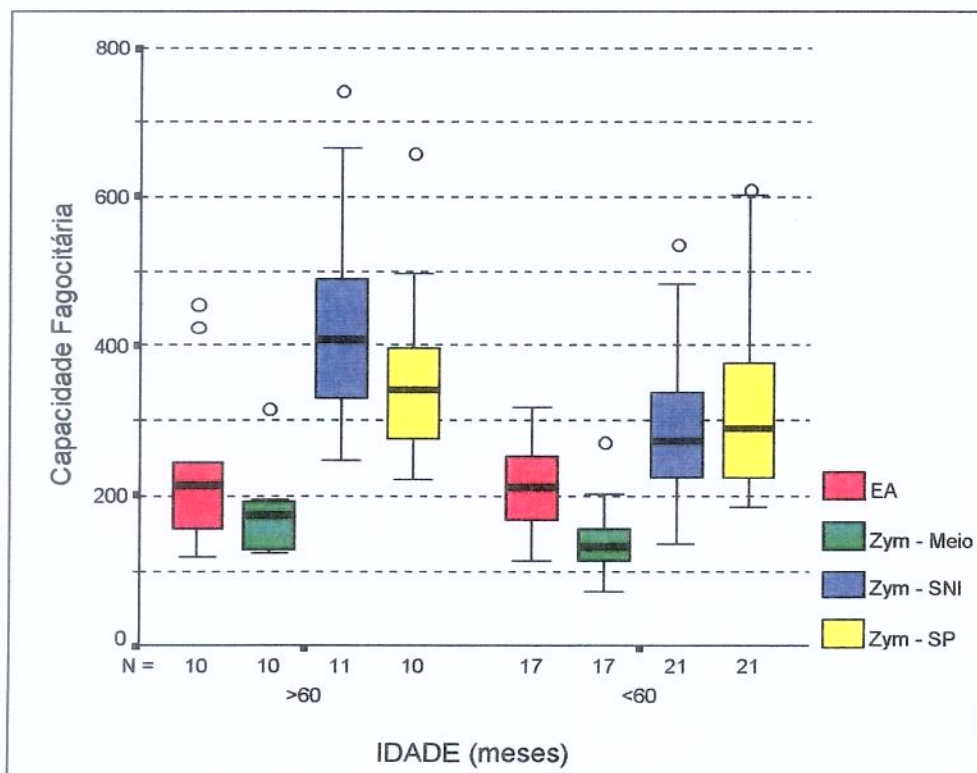


Figura 16. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com idade.

Tabela 22: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com forma de evolução clínica

EVOLUÇÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
Início < 1 ano, Idade < 5 anos	16	9,38 (1,66 - 22,35)	44,73 (3,75 - 76,94)	49,00 (4,9 - 84,76)	33,52 (10,03 - 66,16)
Início > 1 ano, Idade > 5 anos	9	22,45 (14,31 - 39,86)	77,77 (66,57 - 90,98)	80,45 (58,56 - 94,46)	54,60 (11,90 - 76,23)
P		0,003	0,001	0,01	0,13

Tabela 23: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com forma de evolução clínica

IDADE	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
Início < 1 ano, Idade < 5 anos	16	133 (78 - 194)	263 (148 - 427)	270 (193 - 544)	174 (129 - 266)
Início > 1 ano, Idade > 5 anos	9	174 (125 - 315)	359 (246 - 743)	316 (223 - 659)	214 (120 - 456)
P		0,08	0,01	0,22	0,72

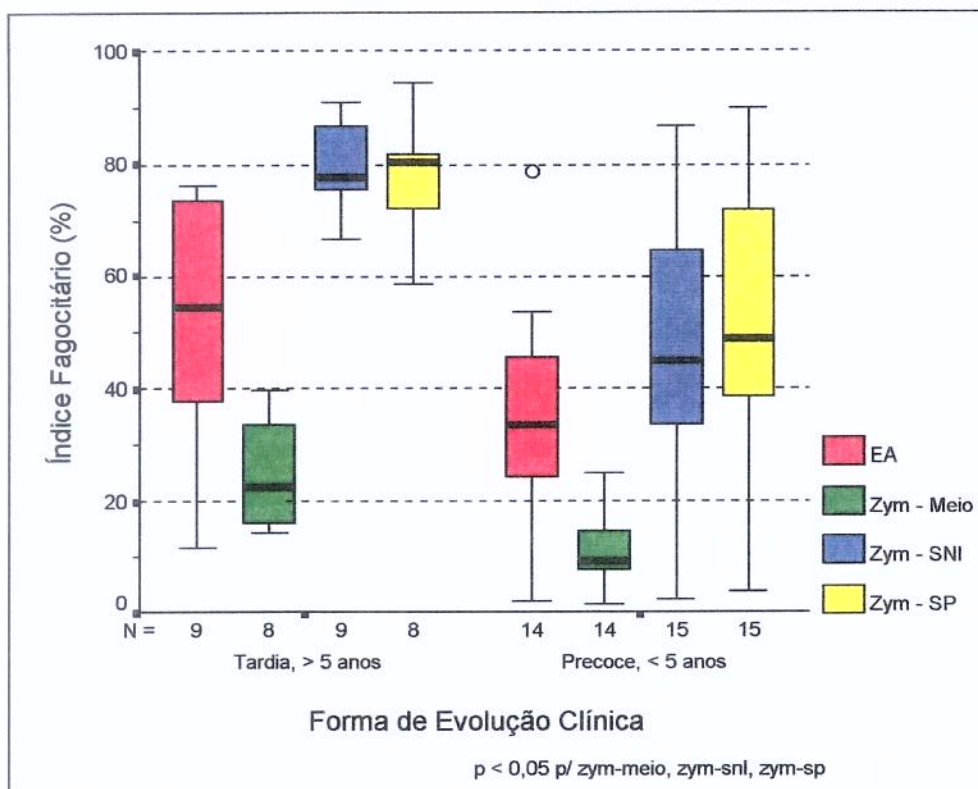


Figura 17. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com forma de evolução clínica.

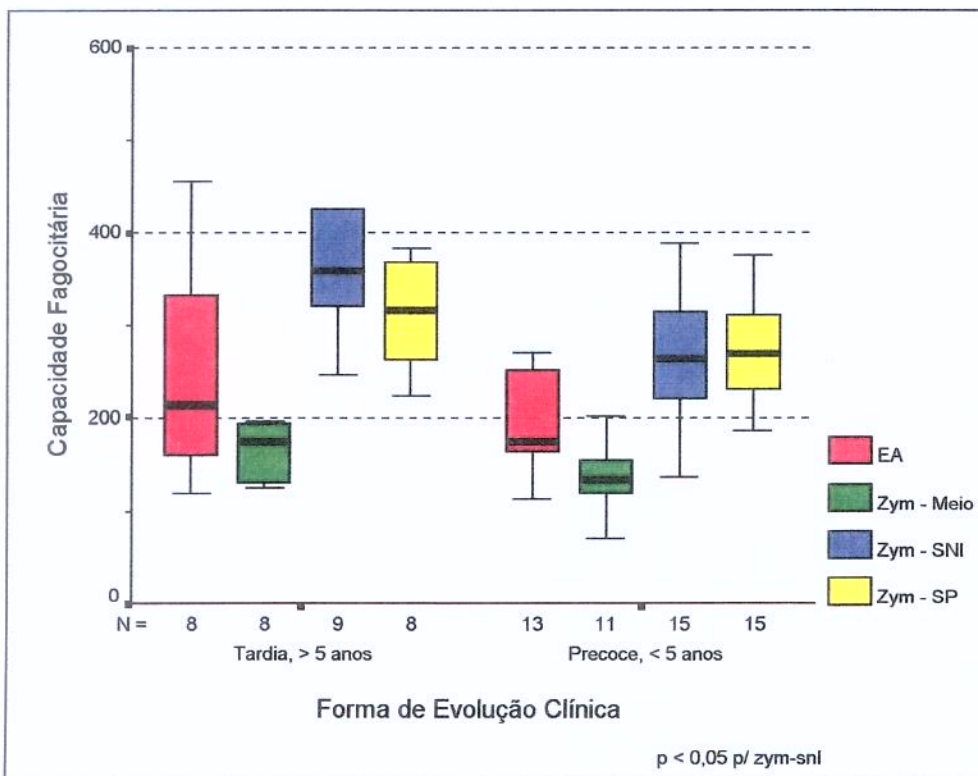


Figura 18. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com forma de evolução clínica.

Tabela 24: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular

INFECÇÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
PRESENTE	7	18,99 (0,8 - 39,86)	77,77 (30,1 - 90,98)	75,83 (48,41 - 89,81)	53,52 (37,81 - 73,76)
AUSENTE	26	14,57 (1,8 - 43,25)	61,24 (14,74 - 87,90)	61,96 (12,26 - 91,37)	35,71 (12,26 - 78,16)
P		0,44	0,11	0,31	0,03

Tabela 25: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular

INFECÇÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
PRESENTE	7	174 (113 - 315)	349 (262 - 743)	329 (225 - 504)	235 (166 - 423)
AUSENTE	26	133 (102 - 196)	289 (162 - 534)	301 (204 - 605)	201 (126 - 308)
P		0,16	0,14	0,81	0,19

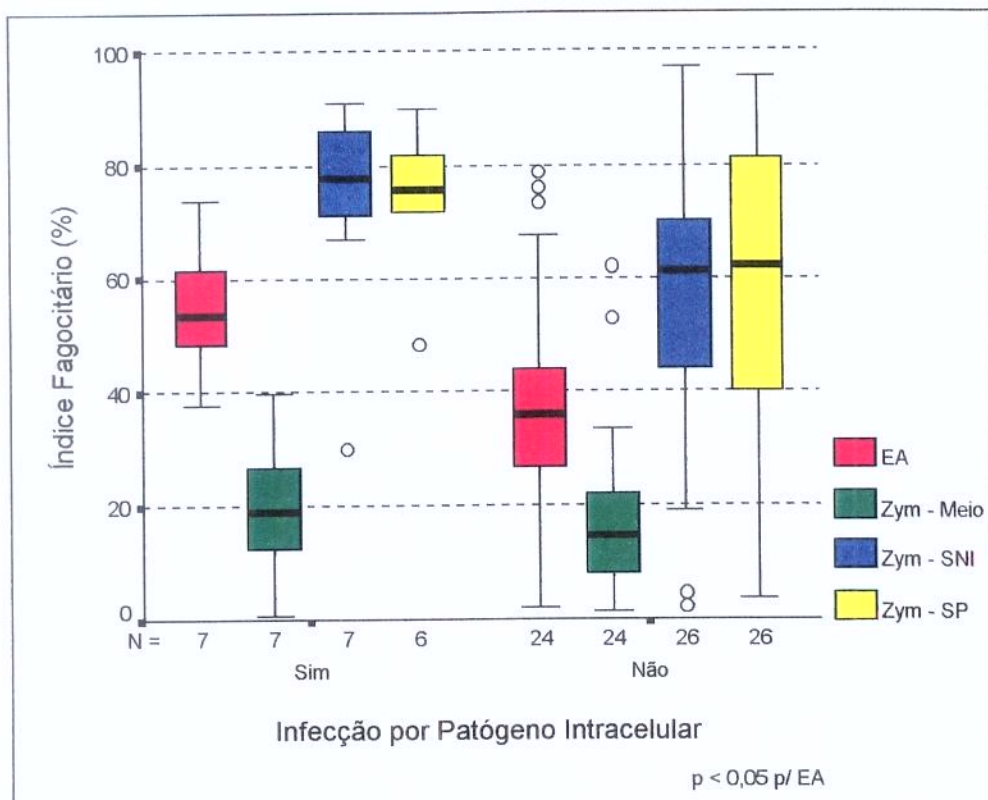


Figura 19. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS de crianças infectadas, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.

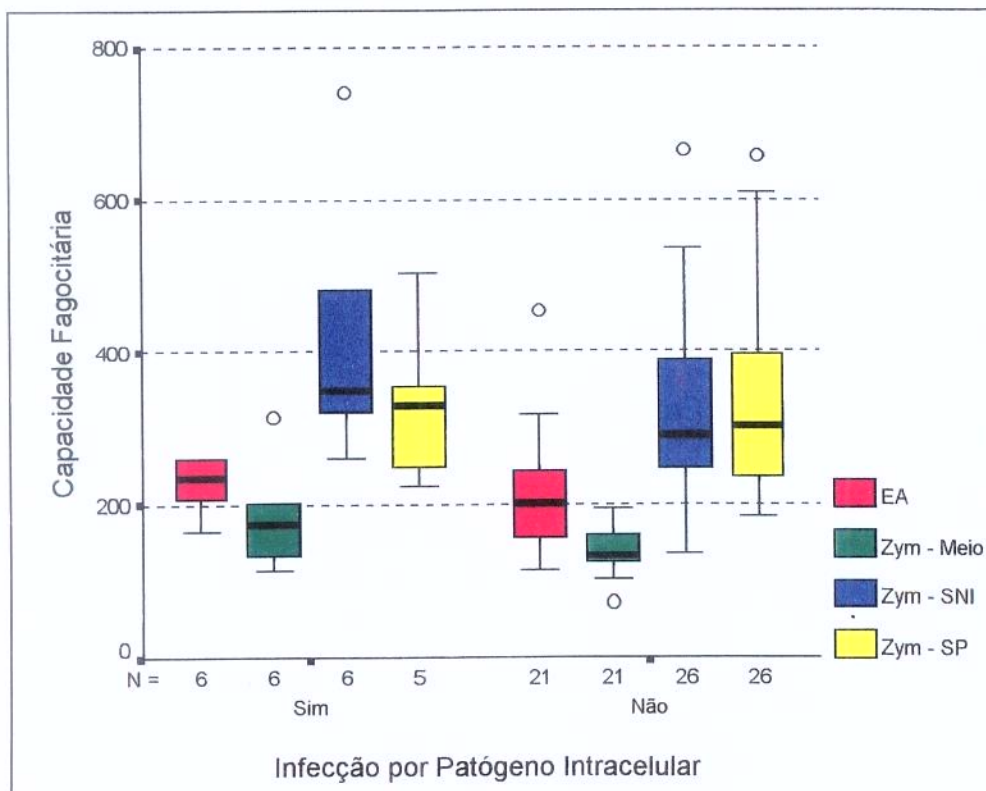


Figura 20. Comparação de CAPACIDADE FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com presença de infecção por patógeno intracelular.

4.5. VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS

SÉRIE PLAQUETÁRIA

Em relação à fagocitose de EA, não se observou qualquer correlação entre número de plaquetas e desempenho fagocitário. Em relação à fagocitose de zimosan, observou-se uma correlação inversa, estatisticamente significativa nos índices fagocitários para zimosan não-opsonizado ($r_s = -0,47$; $P = 0,007$) e opsonizado com soro normal ($r_s = -0,45$; $P = 0,008$) e soro de paciente ($r_s = -0,41$; $P = 0,02$)(tab. 26 e 27, fig. 21).

Tabela 26: Associação entre número de plaquetas e ÍNDICES FAGOCITÁRIOS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman

ZYM-MEIO	ZYM-SNI	ZYM-Sp	EA
$r_s = -0,47$	$r_s = -0,45$	$r_s = -0,41$	$r_s = 0,01$
$P = 0,007$	$P = 0,008$	$P = 0,02$	$P = 0,94$

Tabela 27: Associação entre número de plaquetas e CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman

ZYM-MEIO	ZYM-SNI	ZYM-Sp	EA
$r_s = -0,26$	$r_s = -0,32$	$r_s = -0,29$	$r_s = 0,09$
$P = 0,18$	$P = 0,08$	$P = 0,11$	$P = 0,64$

SÉRIES ERITROCITÁRIA, GRANULOCÍTICA E MONOCITÁRIA

Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre as variáveis citadas acima e os índices e capacidades fagocitários.

LINFÓCITOS TOTAIS E SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS

Observou-se associação negativa entre número absoluto de linfócitos, número total de linfócitos T e o desempenho fagocitário nas crianças infectadas. O coeficiente de correlação de Spearman mostrou diferenças estatisticamente significativas para as seguintes comparações:

número absoluto de linfócitos, índices fagocitários para zimosan não-opsonizado ($r_s = -0,53$; $P = 0,002$), opsonizado com soro normal ($r_s = -0,73$; $P < 0,001$) ou soro de paciente ($r_s = -0,70$; $P < 0,001$) e capacidades fagocitárias para zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,54$; $P = 0,001$) ou soro de paciente ($r_s = -0,38$; $P = 0,03$) (tab 28 e 29);

número total de linfócitos T, capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,59$; $P = 0,001$) e índices fagocitários para zimosan não opsonizado ($r_s = -0,51$; $P = 0,004$), opsonizado com soro normal ($r_s = -0,69$; $P < 0,001$) ou soro de paciente ($r_s = -0,59$; $P = 0,001$) (tab. 28 e 29);

O número absoluto de linfócitos T CD4+ e o desempenho fagocitário nas crianças infectadas apresentaram associação negativa. O coeficiente de correlação de Spearman mostrou diferenças estatisticamente significativas em relação aos índices fagocitários para zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,47$; $P = 0,007$) ou soro de paciente ($r_s = -0,46$; $P = 0,01$) e à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,57$; $P = 0,001$) (tab. 28 e 29, fig. 22).

A associação entre a relação CD4+/CD8+ e o desempenho fagocitário também mostrou-se negativa, porém menos intensa, sendo significativa apenas para o índice fagocitário

de EA ($r_s = -0,45$; $P = 0,01$) e a capacidade fagocitária de zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,44$; $P = 0,02$) (tab. 28 e 29).

Para uma análise por categorias, estabeleceram-se dois subgrupos de linfócitos T CD4+ no grupo de crianças infectadas: um grupo com número absoluto abaixo do percentil 5 para a idade, e outro com número absoluto acima do percentil 5 para a idade. A comparação da função fagocitária entre estas categorias mostrou um desempenho superior no grupo com número de linfócitos T CD4+ abaixo do percentil 5 para a idade. As diferenças foram estatisticamente significativas para a fagocitose de zimosan, em relação à capacidade fagocitária de zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,001$) e aos índices fagocitários de zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,03$) e soro de paciente ($P = 0,01$) (tab. 30 e 31, fig. 23 e 24).

Em relação às categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC, observou-se uma tendência a desempenho fagocitário superior em todos os índices e capacidades fagocitários no grupo de crianças situado na categoria 3 (níveis inferiores de linfócitos T CD4+). Tal diferença, no entanto, mostrou-se estatisticamente significativa apenas em relação à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,01$). (tab. 32 e 33, fig. 25 e 26)

O número absoluto de linfócitos T CD8+ e o desempenho fagocitário nas crianças infectadas apresentaram associação negativa, apenas para a fagocitose de zimosan. O coeficiente de correlação de Spearman mostrou diferenças estatisticamente significativas em relação à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($r_s = -0,44$; $P = 0,01$) e índices fagocitários para zimosan não-opsonizado ($r_s = -0,55$; $P = 0,002$), opsonizado com soro normal ($r_s = -0,62$; $P < 0,001$) ou soro de paciente ($r_s = -0,45$; $P = 0,01$) (tab. 28 e 29, fig. 31).

Tabela 28: Associação entre linfócitos totais, subpopulações e ÍNDICES FAGOCITÁRIOS, através do coeficiente de correlação de Spearman

	ZYM-MEIO	ZYM-SNI	ZYM-Sp	EA
Linfócitos totais	$r_s = -0,53$	$r_s = -0,73$	$r_s = -0,70$	$r_s = -0,39$
<i>P</i>	0,002	<0,001	<0,001	0,03
CD3+	$r_s = -0,51$	$r_s = -0,69$	$r_s = -0,59$	$r_s = -0,29$
<i>P</i>	0,004	<0,001	0,001	0,12
CD4+	$r_s = -0,21$	$r_s = -0,47$	$r_s = -0,46$	$r_s = -0,33$
<i>P</i>	0,26	0,007	0,01	0,08
Rel. CD4+/CD8+	$r_s = -0,02$	$r_s = -0,27$	$r_s = -0,26$	$r_s = -0,45$
<i>P</i>	0,90	0,15	0,17	0,01
CD8+	$r_s = -0,55$	$r_s = -0,62$	$r_s = -0,45$	$r_s = -0,09$
<i>P</i>	0,01	<0,001	0,01	0,65

Tabela 29: Associação entre linfócitos totais, subpopulações e CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS, avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman

	ZYM-MEIO	ZYM-SNI	ZYM-Sp	EA
Linfócitos totais	$r_s = -0,22$	$r_s = -0,54$	$r_s = -0,38$	$r_s = -0,22$
<i>P</i>	0,28	0,001	0,03	0,26
CD3+	$r_s = -0,37$	$r_s = -0,59$	$r_s = -0,29$	$r_s = -0,20$
<i>P</i>	0,07	0,001	0,13	0,34
CD4+	$r_s = -0,17$	$r_s = -0,57$	$r_s = -0,26$	$r_s = -0,25$
<i>P</i>	0,42	0,001	0,18	0,23
Rel. CD4+/CD8+	$r_s = 0,01$	$r_s = -0,44$	$r_s = -0,19$	$r_s = -0,34$
<i>P</i>	0,95	0,02	0,33	0,09
CD8+	$r_s = -0,33$	$r_s = -0,44$	$r_s = -0,12$	$r_s = -0,10$
<i>P</i>	0,11	0,01	0,52	0,62

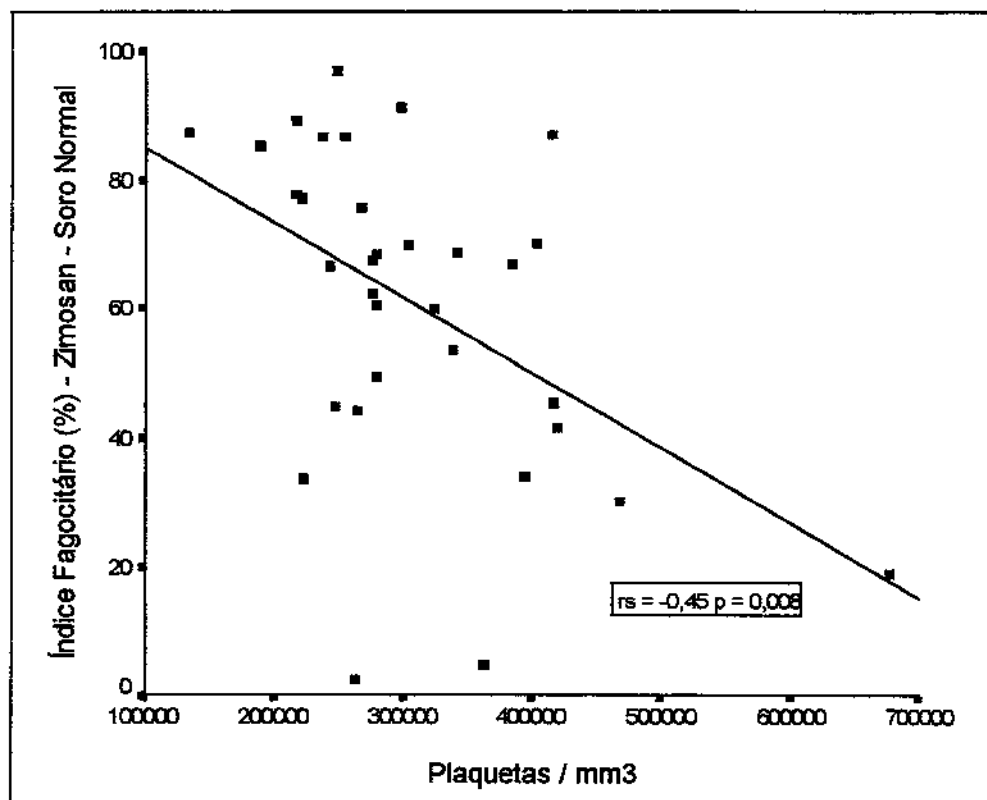


Figura 21. Associação entre número de plaquetas e índice fagocitário para Zimosan - soro normal em crianças infectadas.

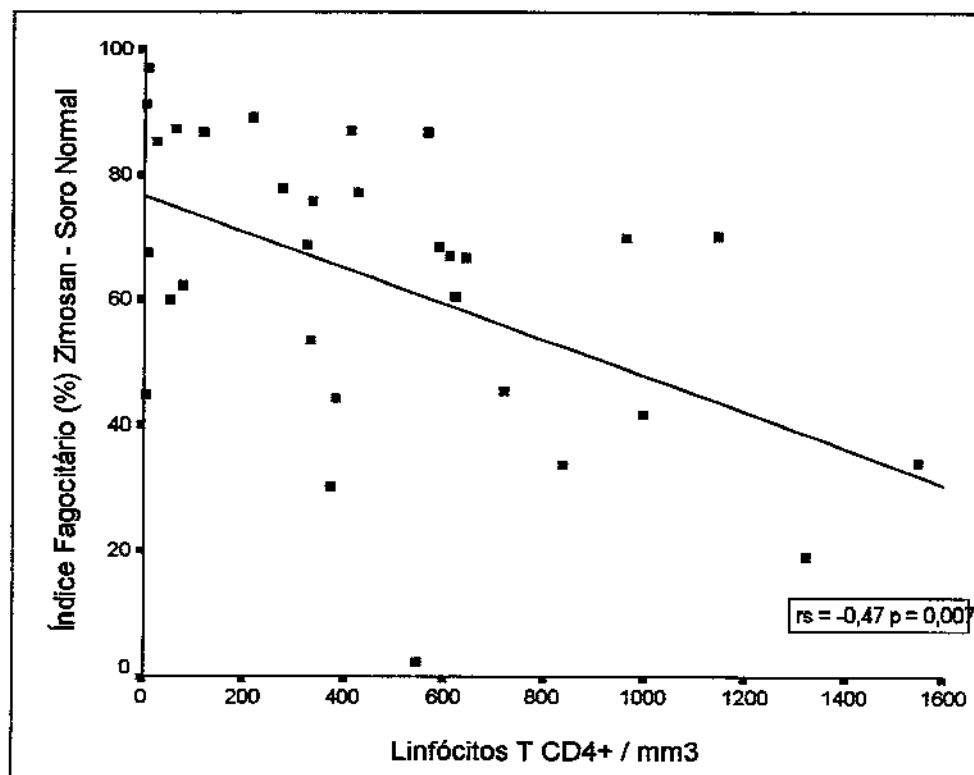


Figura 22. Associação entre número de linfócitos T CD4+ e índice fagocitário para Zimosan-soro normal em crianças infectadas.

Tabela 30: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
> percentil 5	14	15,05 (1,43 - 44,65)	63,46 (10,70 - 81,15)	53,48 (10,38 - 88,11)	38,95 (11,9 - 58,42)
< percentil 5	17	18,99 (1,74 - 44,38)	76,99 (41,36 - 92,20)	79,43 (47,41 - 91,66)	52,14 (19,93 - 77,00)
P		0,31	0,03	0,01	0,07

Tabela 31: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5

CATEGORIA	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
> percentil 5	14	125 (102 - 264)	261 (151 - 358)	294 (202 - 537)	174 (153 - 261)
< percentil 5	17	155 (91 - 247)	398 (266 - 689)	377 (231 - 625)	224 (135 - 439)
P		0,14	0,001	0,09	0,35

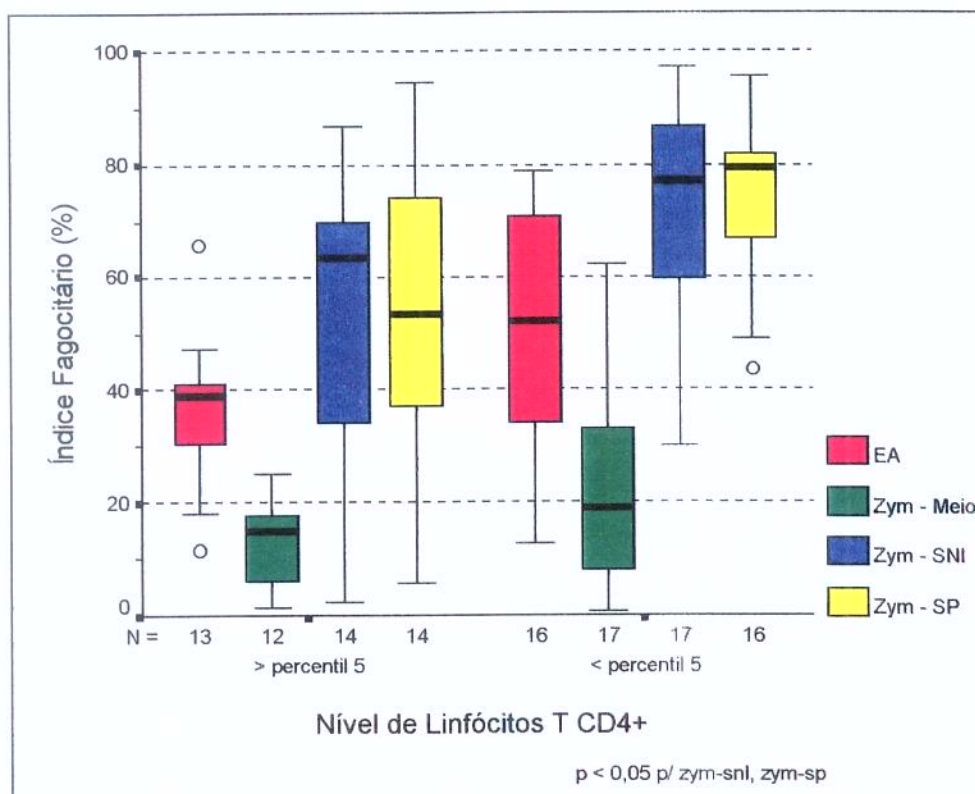


Figura 23. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5.

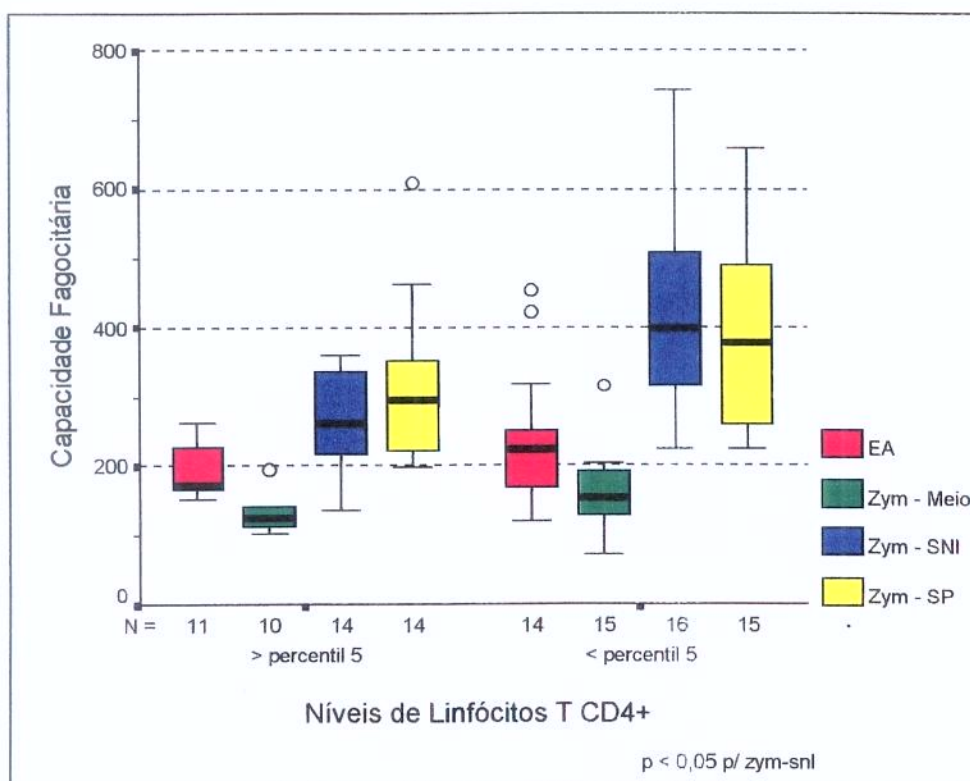


Figura 24. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com nível de linfócitos T CD4+ em relação ao percentil 5.

Tabela 32: Comparação dos NDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC

IMUNOSSUPRESSÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
LEVE	5	13,77 (1,35 - 25,04)	66,57 (34,06 - 86,76)	64,46 (39,93 - 94,46)	40,93 (11,90 - 65,84)
MODERADA	12	15,26 (0,96 - 60,56)	63,64 (7,37 - 85,62)	53,06 (8,51 - 87,47)	39,00 (15,93 - 65,87)
GRAVE	14	16,87 (4,68 - 36,45)	72,17 (44,45 - 94,03)	79,43 (45,82 - 93,19)	50,76 (26,56 - 77,77)
P		0,35	0,84	0,18	0,08

Tabela 33: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas por HIV-1, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC

IMUNOSSUPRESSÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
LEVE	5	125 (102 - 125)	268 (217 - 337)	277 (197 - 312)	164 (153 - 244)
MODERADA	12	183 (107 - 272)	262 (143 - 439)	311 (209 - 581)	215 (120 - 261)
GRAVE	14	133 (85 - 270)	374 (254 - 704)	355 (229 - 637)	227 (150 - 446)
P		0,16	0,01	0,13	0,30

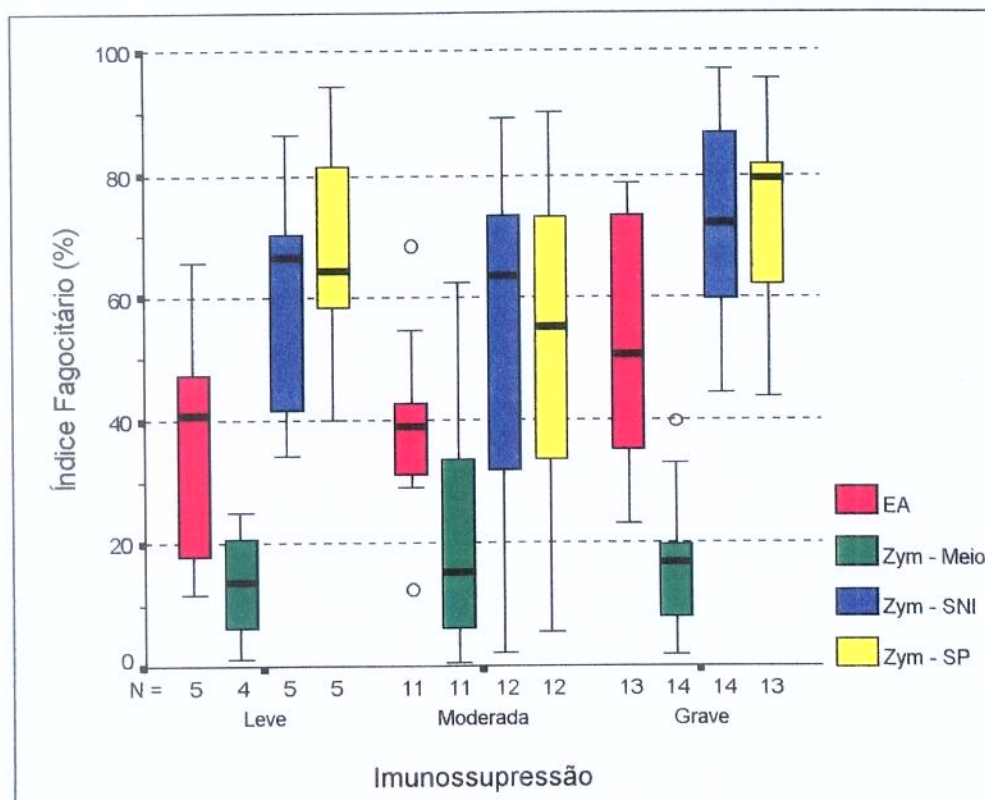


Fig 25. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS no grupo de crianças infectadas, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.

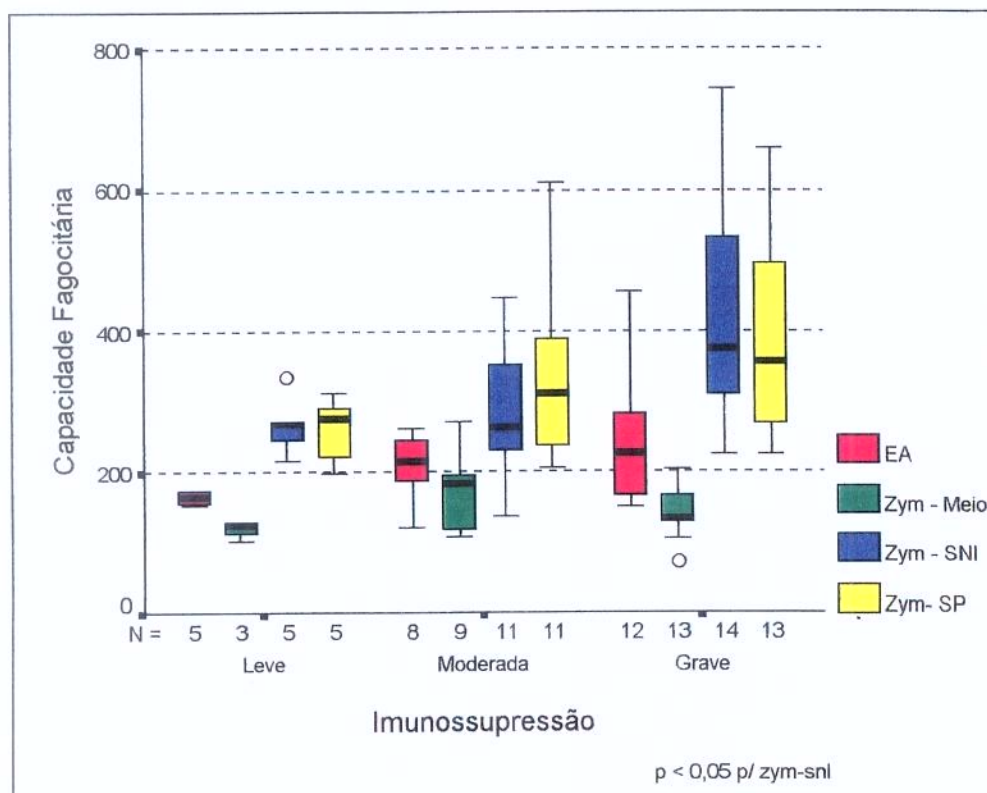


Fig 26. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS no grupo de crianças infectadas, de acordo com as categorias imunológicas da classificação de 1994 do CDC.

4.6. NÍVEIS SÉRICOS DE IMUNOGLOBULINAS

Não foi observada associação estatisticamente significativa entre as variáveis que avaliam o desempenho fagocitário de monócitos e os níveis séricos de IgA, IgM ou IgE no grupo de crianças infectadas.

Observou-se uma importante tendência a desempenho fagocitário inferior em crianças com altos níveis séricos de IgG. O subgrupo de crianças infectadas com níveis de IgG acima de 2.000 mg/100 mL apresentou desempenho fagocitário significativamente inferior para todos os indicadores de função fagocitária para zimosan ou hemácias de carneiro (tab. 34 e 35, fig. 27 e 28).

4.7. RESPOSTA À VACINAÇÃO CONTRA A HEPATITE B

O desempenho fagocitário mostrou-se inferior no grupo de crianças infectadas por HIV-1 que apresentaram viragem sorológica após um máximo de quatro doses da vacina anti-hepatite B. Tal inferioridade mostrou-se estatisticamente significativa em relação ao índice fagocitário para hemácias de carneiro ($P = 0,04$), à capacidade fagocitária para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,03$) e ao índice fagocitário para zimosan opsonizado com soro normal ($P = 0,05$) (tab. 36 e 37, fig. 29 e 30).

Tabela 34: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com níveis séricos de IgC

NÍVEL DE IgG	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
> 2.000 mg%	23	10,96 (1,40 - 30,58)	53,39 (10,43 - 83,16)	60,38 (9,45 - 81,95)	35,03 (12,04 - 72,50)
< 2.000 mg%	10	25,48 (10,04 - 61,50)	86,04 (67,09 - 96,47)	79,43 (48,41 - 95,44)	48,29 (30,09 - 75,98)
P		0,001	< 0,001	0,04	0,04

Tabela 35: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com níveis séricos de IgC

NÍVEL DE IgG	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-p90)	ZYM-SNI (mediana, p10-p90)	ZYM-Sp (mediana, p10-p90)	EA (mediana, p10-p90)
> 2.000 mg%	23	129 (96 - 186)	276 (159 - 421)	273 (200 - 571)	173 (119 - 263)
< 2.000 mg%	10	191 (114 - 311)	402 (263 - 735)	396 (225 - 659)	240 (168 - 453)
P		0,01	0,005	0,03	0,02

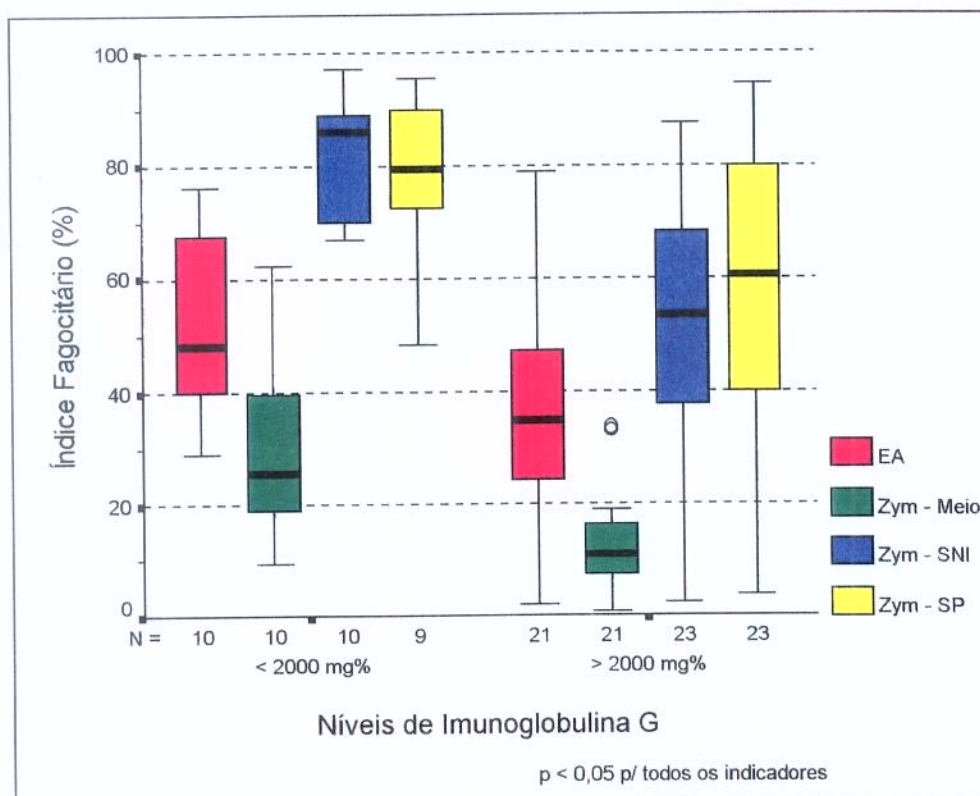


Figura 27. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com níveis séricos de IgG.

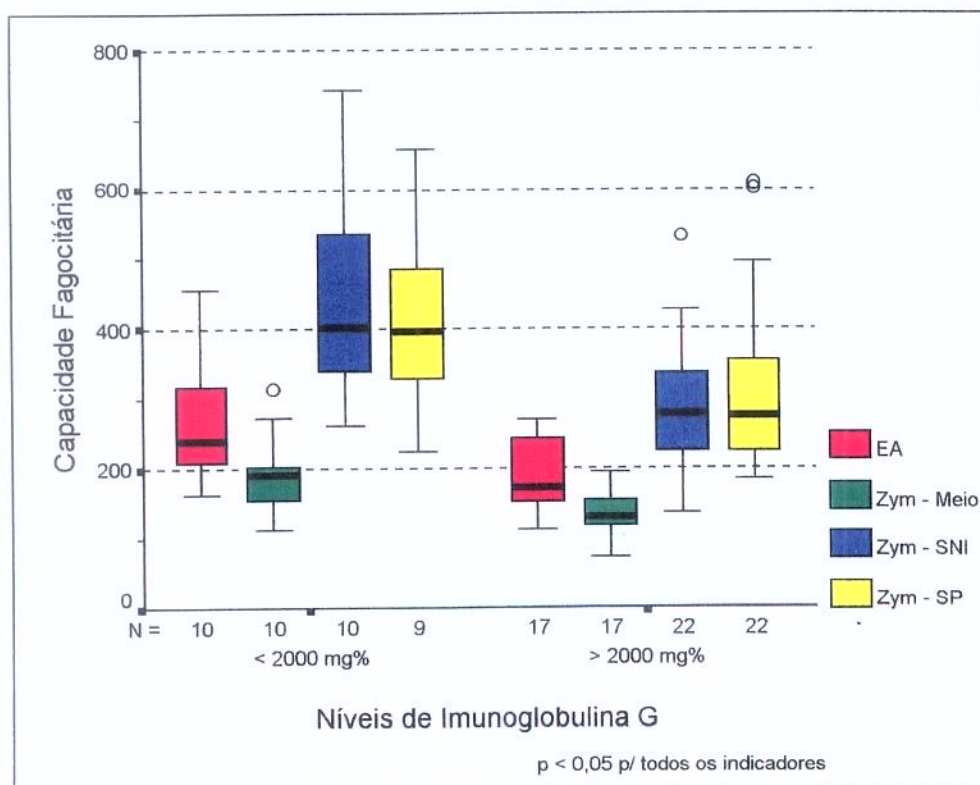


Figura 28. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com níveis séricos de IgG.

Tabela 36: Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B

SOROCONVERSÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
SIM	9	9,29 (1,35 - 25,04)	53,39 (4,68 - 70,26)	43,70 (3,72 - 81,39)	35,03 (2,12 - 40,93)
NÃO	16	16,65 (1,39 - 57,75)	69,37 (21,78 - 87,90)	72,48 (29,66 - 91,37)	46,59 (19,93 - 77,00)
P		0,17	0,05	0,10	0,04

Tabela 37: Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas pelo HIV-1, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B

SOROCONVERSÃO	N	ZYM-MEIO (mediana, p10-90)	ZYM-SNI (mediana, p10-90)	ZYM-Sp (mediana, p10-90)	EA (mediana, p10-90)
SIM	9	125 (72 - 195)	260 (156 - 358)	290 (186 - 610)	169 (114 - 261)
NÃO	16	149 (103 - 249)	339 (185 - 587)	311 (213 - 625)	220 (132 - 378)
P		0,31	0,03	0,46	0,15

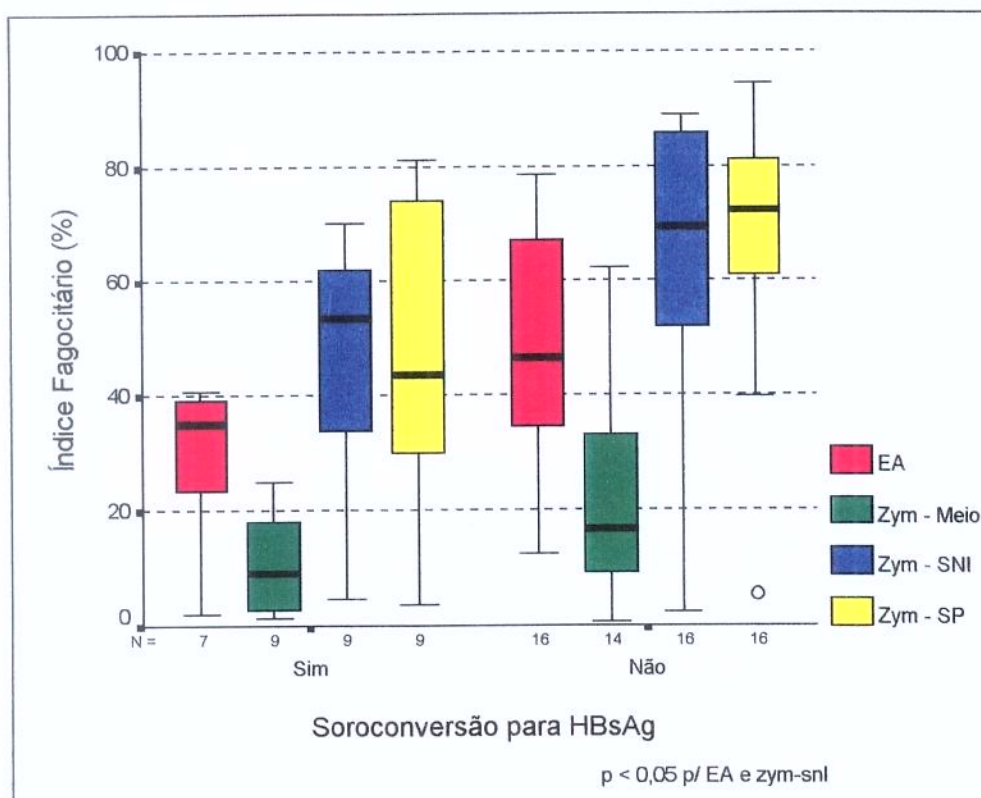


Figura 29. Comparação de ÍNDICES FAGOCITÁRIOS em crianças infectadas, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.

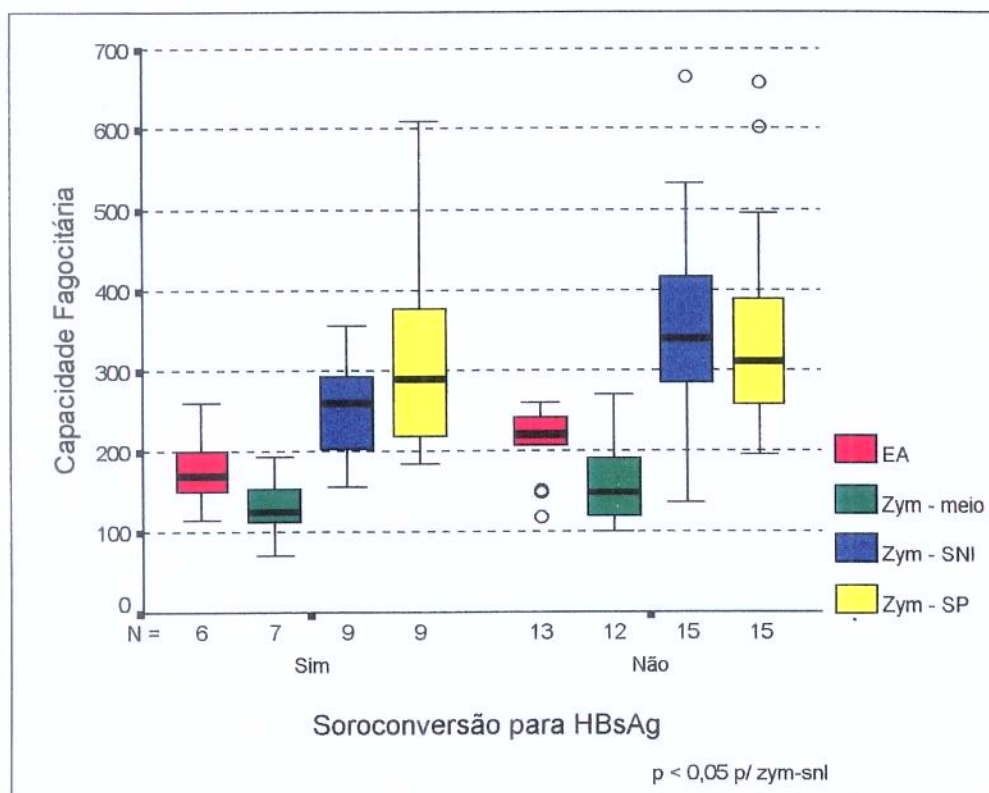


Figura 30. Comparação de CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS em crianças infectadas, de acordo com resposta à vacina anti-hepatite B.

4.8. CARGA VIRAL

Observou-se uma tendência a associação negativa entre a carga viral e a função fagocitária. O coeficiente de correlação de Spearman mostrou diferenças estatisticamente significativas em relação ao índice fagocitário para zimosan opsonizado com soro normal ($r = -0,47$; $P = 0,05$) (fig. 32).

4.9. DESEMPENHO FAGOCITÁRIO PARA ZIMOSAN, OPSONIZADO COM SORO NORMAL E SORO DE PACIENTE

O estudo das associações entre índices e capacidades fagocitários para zimosan incubado com soro normal e com soro de paciente através do teste da soma de postos de Wilcoxon mostrou ausência de diferenças significativas entre os dois grupos (tab. 38)

Tabela 38: Comparação entre ÍNDICES FAGOCITÁRIOS ou CAPACIDADES FAGOCITÁRIAS para zimosan e tipo de opsonização em crianças infectadas pelo HIV-1

OPSONIZAÇÃO	N	IF - ZYM (mediana, p5-p95)	CF - ZYM (mediana, p5 - p95)
Soro Normal	33	66,94 (3,98 - 92,81)	315 (149,35 - 692,95)
Soro de Paciente	32	68,19 (5,01 - 94,83)	303 (192,06 - 629,60)
P		0,76	0,87

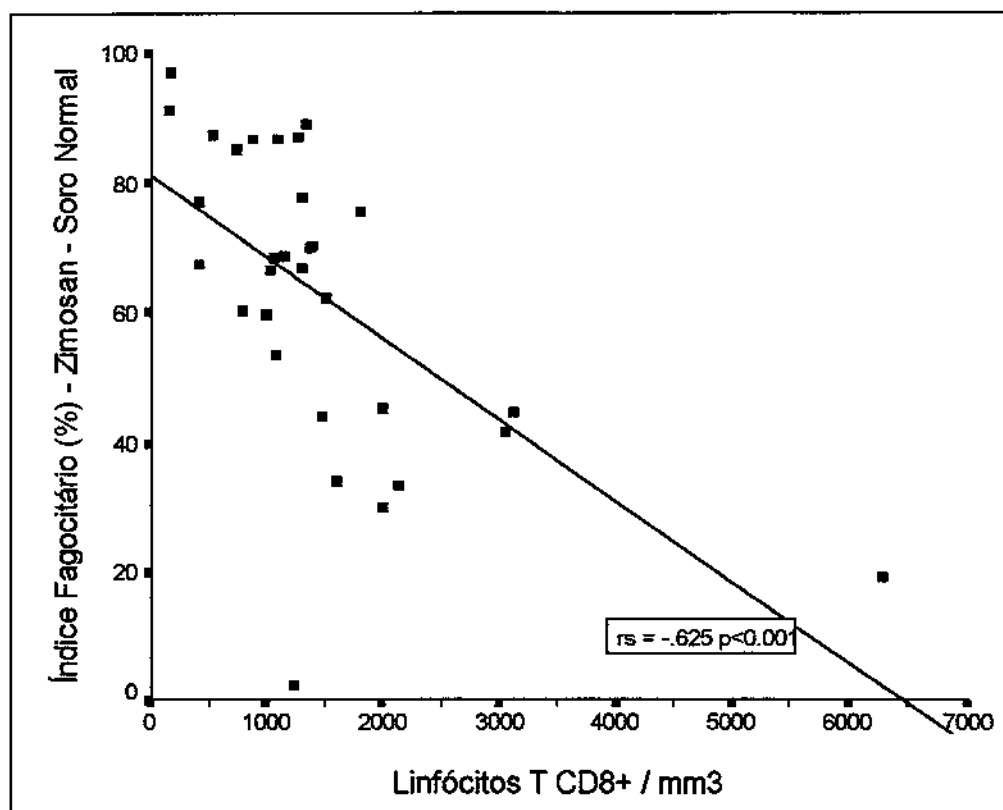


Figura 31. Associação entre número de linfócitos T CD8+ e índice fagocitário para Zimosan - soro normal em crianças infectadas

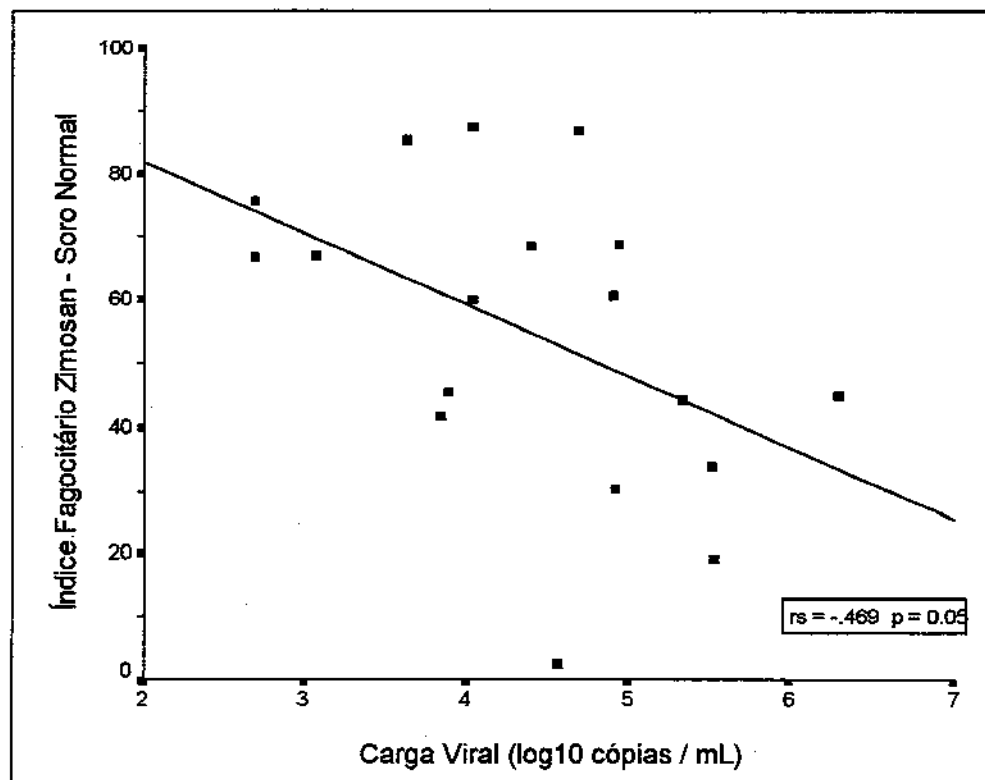


Figura 32. Associação entre carga viral livre no soro e índice fagocitário para Zimosan - soro normal em crianças infectadas.

5. DISCUSSÃO

Ao compararmos o grupo de crianças infectadas e o grupo soro-reversor com o grupo-controle de referência, observamos nos dois primeiros uma deficiência bem caracterizada na fagocitose de Zimosan opsonizado com soro proveniente de “pool” de doadores normais. Neste experimento, o Zimosan é opsonizado pelos componentes C3b, produto da ação da convertase C3b Bb da via alternativa sobre C3, e C3bi, produto da clivagem de C3b pelo Fator I. Os componentes C3b e C3bi atuam como ligantes nos receptores CR3 e CR1 da membrana do monócito. A persistência da redução da função fagocitária em condições adequadas de opsonização do Zimosan (com soro de indivíduos adultos normais) sugere uma deficiência quantitativa ou funcional em nível de receptores de membrana celular.

O desempenho inferior em todos os indicadores fagocitários de Zimosan, observado ao compararmos o grupo infectado com o grupo de referência, sugere a presença de uma disfunção na fagocitose dependente dos receptores CR1, CR3 e de colectinas, necessários para a fagocitose de Zimosan opsonizado, e de manose-fucose, mediadores da fagocitose de Zimosan não-opsonizado. Adicionalmente, o receptor CR3 também está envolvido na fagocitose de Zimosan não-opsonizado, tanto através do sítio de ligação para polissacárides, como pela ligação de C3bi secretado localmente pelo macrófago e depositado sobre o Zimosan (EZEKOWITZ *et al.*, 1985).

A disfunção fagocitária citada acima poderia se dever a dois mecanismos distintos e não excludentes. A infecção pelo HIV seria capaz de induzir uma redução na expressão dos receptores CR1 e CR3 na membrana celular, já demonstrada experimentalmente (SPEAR *et al.*, 1990; KENT *et al.*, 1994; TRIAL *et al.*, 1995). Alternativamente, a ligação dos carboidratos e glicoproteínas do vírus, opsonizados ou não, aos receptores da membrana da célula do hospedeiro, poderia modular a expressão e a estrutura molecular dos receptores de superfície dos fagócitos mononucleares (MOSSER, 1994)

Distúrbios de modulação imune secundários à infecção pelo HIV têm o potencial de alterar a atividade de receptores de complemento. Há evidências experimentais de que o tratamento de monócitos com IFN- γ , citocina frequentemente detectada em níveis elevados

em pacientes com SIDA, pode reduzir a capacidade de ligação de CR1 e CR3 (WRIGHT *et al.*, 1986).

A interação entre HIV e sistema complemento é bastante complexa, refletindo a diversidade de mecanismos utilizados por agente e hospedeiro na busca de vantagens evolucionárias (DIERICH, STOIBER, CHEN, 1996). Todas as linhagens de HIV, tanto as primariamente patogênicas como aquelas cultivadas em laboratório, ativam o complemento pela via clássica. A ativação resulta principalmente de interação direta do subcomponente C1q com a região imunodominante da glicoproteína gp41, levando à deposição de fragmentos de C3 sobre o vírus (EBENBICHLER *et al.*, 1991). Um segundo mecanismo, menos potente, consiste na ligação da glicoproteína gp120 à Lectina Ligante de Manose (MBL) e consecutivamente C1r e C1s (EZEKOWITZ *et al.*, 1989).

Células infectadas, expressando proteínas virais na membrana, são capazes de induzir a cascata do complemento tanto pela via clássica como pela via alternativa. Os processos citados acima têm o potencial de, dependendo das condições microambientais, contribuir para a eliminação de células parasitadas ou, paradoxalmente, proporcionar uma facilitação da infecção pelo HIV nas células portadoras de receptores de complemento (SOELDER *et al.*, 1989; FÜST, 1997).

Outro fator solúvel com poder opsonizante, a Lectina Ligante de Manose (MBL), pertencente à família das colectinas, tem sido reconhecida como agente auxiliador da fagocitose para vários gêneros de fungos e bactérias, que expressam em suas paredes celulares polissacarídes complexos com seqüências contendo este carboidrato. Um pequeno número de vírus, como o HIV ou o vírus influenza, também possui estruturas manosiladas em seus envelopes. Presume-se que esta atividade opsônica direta seja mediada por receptores específicos na membrana dos fagócitos, ainda não caracterizados precisamente. Além do efeito opsônico resultante de sua ligação aos carboidratos, a MBL tem a capacidade de ativar o complemento pela via clássica, devido a sua analogia estrutural e funcional com o subcomponente C1q. Tal ativação requer a interação entre a MBL e os complexos C1r2-C1s2 (TURNER, 1996).

Uma eventual deficiência na síntese ou na atividade da MBL em pacientes infectados poderia contribuir para a deficiência de fagocitose de Zimosan opsonizado, observada na população de estudo. Relatos recentes sugerem a possibilidade de uma associação entre a atividade da MBL e a interação HIV-hospedeiro. GARRED *et al.* (1997) demonstraram em indivíduos com baixos níveis séricos de MBL, portadores homozigóticos de alelos variantes, maior risco de infecção após exposição ao HIV. Estes alelos também se mostraram associados a menor sobrevivência em pacientes infectados. No entanto, não há evidências até o momento que a infecção induza uma queda nas concentrações de MBL (NIELSEN *et al.*, 1995).

Não observamos diferenças significativas, tanto no grupo das crianças infectadas como no grupo soro-reversor, entre os indicadores de fagocitose de Zimosan opsonizado com soro proveniente de “pool” de doadores normais e com soro do próprio paciente. Tal resultado reforça a hipótese de disfunção celular, não responsiva à adição de fatores opsonizantes solúveis.

Não foi possível com nossa metodologia determinar se o soro de crianças infectadas poderia causar alterações no desempenho fagocitário para Zimosan em células de indivíduos saudáveis. Tal procedimento poderia fornecer evidências indiretas da atividade do sistema complemento nestes pacientes. As similaridades entre a glicoproteína gp 120 e os componentes do complemento properdina, C4bp e C1q determinam a síntese de anticorpos que reagem de forma cruzada com as proteínas humanas. Este fenômeno tem o potencial de reduzir a ação do complemento (STOIBER *et al.*, 1995; 1996). Evidências indiretas de disfunção do complemento são sugeridas pela alta concentração de imunocomplexos em soro de crianças e adultos infectados pelo HIV, sugerindo bloqueio de C1q por autoanticorpos (CARINI *et al.*, 1987; ELLAURIE, CALVELLI, RUBINSTEIN, 1990; JARVIS, TAYLOR, IOBIDZE, 1994).

A possibilidade de que fatores solúveis presentes no soro de indivíduos infectados tenham o potencial de modular outras funções fagocitárias foi avaliada por PIERI & ORSILLES, em 1994. Estes autores trataram neutrófilos de doadores saudáveis com o soro de adultos infectados. O soro de pacientes assintomáticos induziu um aumento na produção

de ânion superóxido, enquanto o soro de pacientes com SIDA levou a uma inibição. Foi proposta a hipótese que uma produção anormal de citocinas ou outros produtos inflamatórios, capaz de afetar a função ou a expressão de receptores opsônicos, poderia ser a causa das alterações fagocitárias. GABRILOVICH *et al.* (1992), ao tratarem neutrófilos de doadores saudáveis com sobrenadantes de culturas de monócitos de adultos infectados, observaram uma intensificação na quimiotaxia e na quimioluminescência das células tratadas em relação às células-controle. O efeito estimulante foi mais intenso com o sobrenadante de monócitos de pacientes assintomáticos. ROILIDES *et al.* (1993) observaram inibição da atividade antifúngica contra *Aspergillus* em neutrófilos de doadores saudáveis tratados com soro de crianças infectadas.

O ensaio de fagocitose de Zimosan não-opsonizado permite avaliar a função do receptor CR3 e também do receptor de manose-fucose, expressos de forma variável por monócitos e macrófagos (SHEPHERD, LANE, ABDOLRASULNIA, 1997). O resultado de nosso experimento, que demonstra uma diminuição da fagocitose de Zimosan não opsonizado no grupo de crianças infectadas em relação ao grupo de referência, sugere a possibilidade de uma redução na expressão ou um bloqueio funcional de tais receptores neste grupo de crianças. Tal redução poderia ser resultante das alterações de modulação imune induzidas pelo HIV. Evidências experimentais demonstram um efeito regulador negativo do IFN- γ sobre a expressão dos receptores de manose-fucose em macrófagos (HAUSCHILDT & KLEINE, 1995). Tal citocina é frequentemente detectada em nível elevado em pacientes com SIDA. Estudos “in vitro” e “in vivo” com a administração de IFN- γ a culturas de células ou a pacientes infectados demonstram, no entanto, que a redução na expressão de receptores é acompanhada de um aumento da capacidade de geração de radicais oxidativos e de lise microbiana intracelular (DELEMARRE *et al.*, 1993; MARÓDI *et al.*, 1993).

A menor amplitude das diferenças na fagocitose de Zimosan não-opsonizado em relação àquela encontrada no ensaio de fagocitose de Zimosan opsonizado pode se dever ao fato de que a expressão constitutiva dos receptores de manose em monócitos é baixa mesmo em hospedeiros imunocompetentes, sendo mais intensa em macrófagos (MARÓDI, KORCHAK, JOHNSTON, 1991).

Ao avaliarmos a função dos receptores Fc, principalmente FcγRI, através da fagocitose de EA, a comparação entre o grupo de crianças infectadas e o grupo de referência demonstrou índices fagocitários inferiores no primeiro grupo. Este resultado sugere disfunção ou redução na expressão de receptores Fc, secundárias à infecção por HIV. Alguns estudos em adultos demonstram alterações na expressão destes receptores. Os resultados mais heterogêneos são observados quando se estudam monócitos ou macrófagos provenientes de pacientes infectados, em que se observam redução (SPEAR *et al.*, 1990; TRIAL *et al.*, 1995) ou aumento na expressão de tais moléculas na membrana (MANN *et al.*, 1990; CAPSONI *et al.*, 1992, 1994; AGOSTINI & SEMENZATO, 1996; GILBODY *et al.*, 1997). Os resultados dos estudos de macrófagos experimentalmente infectados, em cultura, também são contraditórios, observando-se expressão reduzida (KENT *et al.*, 1994) ou conservada (NOTTET *et al.*, 1993), tanto de receptores de imunoglobulinas como de complemento.

Boa parte da heterogeneidade observada no estudo de células provenientes de pacientes infectados pode resultar do efeito de co-infecções, principalmente por patógenos de vida intracelular. Estudos experimentais demonstram que a co-infecção HIV-*Mycobacterium avium* ou HIV-*Mycobacterium-Toxoplasma* em macrófagos leva a redução na produção de IL-1 pelas células infectadas e inibição da fusão fagolisossômica em células estimuladas por citocinas pró-inflamatórias (BLACK *et al.*, 1990; KÄLLENIUS *et al.*, 1992).

Um resultado paradoxal foi encontrado ao compararmos a capacidade fagocitária de EA no grupo infectado em relação ao grupo de referência, não se demonstrando diferenças significativas. Também inesperada foi a superioridade de desempenho do grupo infectado em relação ao soro-reversor para este indicador. Estes dados sugerem que, apesar do índice fagocitário inferior (indicando um número reduzido de células com o fenótipo adequado para esta função), as células dos pacientes infectados que mantiveram a função fagocitária apresentaram capacidade de ingestão preservada ou mesmo intensificada.

Uma hipótese para explicar tal heterogeneidade poderia ser formulada com base na possibilidade da infecção por HIV induzir mudanças fenotípicas nas populações de monócitos e macrófagos. Variações fenotípicas têm sido descritas em pacientes infectados (TRIAL *et al.*, 1995). No entanto, não estão precisamente esclarecidas até o momento as

características funcionais dos principais fenótipos (ZIEGLER-HEITBROCK *et al.*, 1991; TURPIN & LOPEZ-BERESTEIN, 1993).

Como a proporção de monócitos parasitados pelo HIV é baixa em relação ao “pool” circulante total, sugerimos que a disfunção celular observada no grupo infectado não se deva a efeito citopático direto, mas principalmente a distúrbios de imunomodulação. Os resultados de estudos em fagócitos mononucleares em cultura dão suporte a esta afirmação (CROWE *et al.*, 1995).

O conjunto dos indicadores de função fagocitária demonstra uma deficiência funcional dos monócitos circulantes de crianças infectadas pelo HIV-1 em relação a crianças não infectadas, sejam elas, ou não, filhas de mães soropositivas. É plausível inferir que esta disfunção tenha implicações na evolução clínica das crianças com SIDA. A consequência clínica mais relevante de tal disfunção seria o aumento na incidência de infecções por patógenos intracelulares, cuja eliminação depende de uma função monocitária e macrofágica adequada, como as causadas por fungos, protozoários e micobactérias. Em relação a determinados fungos patogênicos, como *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, dados experimentais demonstram que a capacidade de ingestão e lise intracelular é maior em monócitos do que em neutrófilos (SCHUIT, 1979), destacando o papel crítico desta população celular.

A importância clínica da disfunção do macrófago na SIDA em pediatria tem sido insuficientemente avaliada. O único estudo pediátrico sobre fagocitose de fungos por macrófagos demonstrou deficiência de fagocitose e lise intracelular de *Aspergillus fumigatus* (ROILIDES *et al.*, 1993). Em adultos, há uma série de estudos demonstrando redução no desempenho fagocitário em relação a fungos e protozoários (ESTEVEZ *et al.*, 1986; EALES, MOSHTAEL, PINCHING, 1987; ROILIDES *et al.*, 1993; DELEMARRE *et al.*, 1993; CHATURVEDI, FRAME, NEWMAN, 1995; REARDON *et al.*, 1996).

Monócitos e macrófagos desempenham também importante papel no controle de infecções bacterianas. Vários estudos em adultos infectados citam alterações fagocitárias em relação a patógenos bacterianos com capacidade de sobrevivência intracelular, como o

Staphylococcus aureus (MUSHER *et al.*, 1990; SZKARADKIEWICZ, 1992; POS *et al.*, 1992; TRIAL *et al.*, 1995). Em relação à imunidade para *Streptococcus pneumoniae*, o agente mais freqüente de infecções bacterêmicas em crianças com SIDA, a maioria dos estudos concentra-se na produção e atividade funcional de anticorpos específicos, havendo apenas um estudo sobre o papel de células efetoras. Neste estudo, ABADI *et al.* (1997) não encontraram diferenças na distribuição de genótipos para a expressão de FcγRIIa em crianças infectadas com história de infecção pneumocócica invasiva.

O déficit de função dos fagócitos mononucleares também pode estar associado a alterações de resposta imune celular e humoral causadas por falhas dos macrófagos teciduais no processamento e apresentação de antígenos (MEYAARD, SCHUITMAKER, MIEDEMA, 1993). Tais funções são representativas do papel de elo de ligação entre as respostas imunes inata e adaptativa, desempenhado pelo sistema fagocitário mononuclear.

O desempenho fagocitário do grupo de crianças soro-reversoras, em relação ao grupo-controle de referência, mostrou-se inferior para todos os indicadores testados. Tal resultado pode inicialmente parecer paradoxal, pois grupos de crianças soro-reversoras são freqüentemente utilizados como controles normais para vários estudos clínicos e laboratoriais na área de SIDA em pediatria. No entanto, são freqüentes na literatura considerações sobre a falta de evidências demonstrando que as crianças soro-reversoras sejam idênticas do ponto-de-vista imunológico às nascidas de mães não-infectadas (EUROPEAN COLLABORATIVE STUDY, 1992).

Em estudo já citado sobre anormalidades de fusão fagolisossômica de monócitos, mensurada pela captação de acridina laranja em crianças infectadas, PITTIS *et al.* (1997), não encontraram diferenças estatisticamente significativas no desempenho do grupo soro-reversor, em relação a um grupo-controle de crianças nascidas de mães HIV-negativas. A distribuição dos dados no grupo soro-reversor, no entanto, apresentou uma variância bem maior do que no grupo-controle, cujas crianças não tiveram nenhum contato com o HIV.

Na avaliação da imunidade humoral no grupo-controle soro-reversor, observamos em todas as crianças níveis séricos normais de classes de imunoglobulinas.

As crianças soro-reversoras também mostraram desempenho normal na avaliação da resposta à vacina contra a hepatite B, composta por um imunógeno timo-dependente, antígeno de superfície do vírus da hepatite B obtido por recombinação de DNA. Porém, não dispomos do título de anticorpos anti-HBs, para avaliar a magnitude desta resposta, e de dados de crianças filhas de mães soronegativas para comparação. Interpretamos este resultado como uma demonstração da competência dos sistemas T e B para este antígeno nestes pacientes.

Contudo, em relação às subpopulações linfocitárias, observamos no grupo soro-reversor diferenças discretas na contagem de células do sistema T em relação aos padrões de normalidade (COMANS-BITTER *et al.*, 1997). Nas 13 crianças soro-reversoras avaliadas, os níveis absolutos de linfócitos T CD4⁺ situaram-se na faixa normal, porém três delas apresentaram relação CD4/CD8 menor que 1, e cinco apresentaram uma porcentagem de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 30%. Na avaliação da linhagem T-supressora, 12 crianças apresentaram contagens de linfócitos TCD8⁺ superiores ao valor da mediana do padrão de referência. Entretanto, o número de crianças avaliadas foi pequeno, não permitindo conclusões sobre o significado epidemiológico de tais resultados.

Anormalidades significativas em subpopulações linfocitárias, relatadas por GESNER *et al.* (1994), foram observadas em 7% de 146 soro-reversores em um grupo de crianças norte-americanas. Comparadas a crianças filhas de mães soronegativas, as crianças soro-reversoras apresentaram medianas de linfócitos T CD4⁺ persistentemente inferiores.

Na população de nosso estudo, havia diferenças significativas de idade entre o grupo soro-reversor e o grupo-controle de referência. Porém, a deficiência de desempenho fagocitário permaneceu, mesmo na comparação de grupos semelhantes em relação à idade.

Nosso estudo não avaliou a possibilidade de diferenças sócio-econômicas e ambientais entre os dois grupos-controle, e seu possível impacto sobre a função fagocitária. A probabilidade que as crianças soro-reversoras vivam num ambiente com exposição intensa e precoce a diversos patógenos, devido às condições sócio-econômicas e de saúde de seus familiares, merece consideração. Em um estudo sobre a incidência de infecções invasivas por *Streptococcus pneumoniae* em crianças filhas de mães infectadas, FARLEY *et al.* (1994) identificaram no grupo de crianças soro-reversoras uma incidência bastante inferior à observada nas crianças infectadas, porém, superior àquela observada na população pediátrica geral.

O papel de fatores do ambiente e da exposição a antígenos imunopatogênicos tem sido avaliado, indiretamente, por alguns pesquisadores. Estudos em adultos citam disfunção fagocitária em indivíduos soronegativos, que apresentam os mesmos comportamentos de risco de indivíduos infectados (ESTEVEZ *et al.*, 1986; GAMBA *et al.*, 1987).

GESNER *et al.*, comentam, em artigo publicado em 1994, a necessidade de se valorizarem as evidências sugestivas de que a exposição ao HIV deixe “marcas” no sistema imune de crianças soro-reversoras. Este grupo de crianças é exposto, desde a vida intra-uterina, a altas concentrações de anticorpos integrantes da resposta humoral materna, que podem interagir com receptores em linfócitos e fagócitos (KOWALSKI, 1989; KARPATKIN, NARDI, KHOURI, 1992). Alguns estudos demonstram a presença em crianças soro-reversoras de marcadores de ativação de resposta humoral e celular anti-HIV, sugerindo contato com antígenos virais, ou mesmo infecção viral com resolução pelo hospedeiro (CHEYNIER *et al.*, 1992; ROWLAND-JONES *et al.*, 1993; ROQUES *et al.*, 1995).

Nossos resultados e os relatos citados acima sugerem a necessidade de uma avaliação mais precisa e abrangente do sistema imune de crianças soro-reversoras, e do eventual significado clínico das alterações encontradas.

Ao avaliarmos a associação entre as variáveis da evolução clínica e indicadores de função fagocitária em crianças infectadas, observamos diferenças significativas para a fagocitose de Zimosan. Tais diferenças se observaram em relação às características de evolução temporal da infecção (idade de início dos sintomas e idade no momento da realização do ensaio) e não entre as diferentes categorias clínicas da classificação de 1994 do CDC. O melhor desempenho fagocitário foi identificado no grupo de crianças classificadas como “sobreviventes de longo prazo” e naquele cujo início dos sintomas se deu mais tardiamente (acima de 1 ano).

Uma comparação mais detalhada entre crianças com mais de 5 anos e início tardio versus crianças menores de 5 anos e início precoce mostrou uma acentuação destas diferenças. As crianças mais novas no momento do ensaio apresentavam também idades de início dos sintomas significativamente inferiores às mais velhas (medianas de 27 e 5 meses versus 95 e 57 meses, respectivamente, $P < 0,001$). O grupo mais novo apresentou um desempenho fagocitário significativamente inferior. Cumpre destacar que não houve associação destes fatores com as categorias clínicas da classificação do CDC.

Nossos resultados contrastam com os observados por PITTIS *et al.* (1997), que detectaram redução no índice fusão fagolisossômica de monócitos, diretamente proporcional ao aumento de gravidade nas categorias clínicas e à idade no momento do ensaio. No entanto, aparentemente, neste estudo, não foi avaliada a influência da idade do início dos sintomas, podendo ser este um fator de confundimento.

A realização de estudos multicêntricos longitudinais europeus e norte-americanos, com o acompanhamento de coortes de crianças nascidas desde 1982, permitiu estabelecer, a partir do início dos anos 90, a história natural da infecção pelo HIV por meio de transmissão vertical. O panorama resultante da análise dos diferentes estudos é relativamente homogêneo, compondo-se um padrão de evolução bimodal, com o estabelecimento do diagnóstico de SIDA em 70% dos casos abaixo dos dois anos. Após o período de lactente, a curva de distribuição da idade ao diagnóstico é bem mais suave, sendo 10 a 20% dos casos diagnosticados depois dos 4 anos. Os principais fatores associados a uma evolução clínica de maior gravidade foram: detecção de antígenos virais no sangue na

primeira semana de vida (indicando infecção intra-uterina); infecção por linhagens de HIV com poder de replicação rápida e capacidade de indução de sincícios; presença de níveis elevados de carga viral sérica no primeiro ano de vida; início dos sintomas clínicos nos primeiros 6 meses; depleção precoce de linfócitos T CD4+; níveis precocemente elevados de linfócitos T CD8+; intensidade de elevação dos níveis séricos de imunoglobulinas; predomínio de resposta de linfócitos T do tipo “helper 2” (DeMARTINO *et al.*, 1991; TOVO *et al.*, 1992; TURNER *et al.*, 1993; ITALIAN REGISTER FOR HIV INFECTION IN CHILDREN, 1994; VIGANÓ *et al.*, 1995; ENGLUND *et al.*, 1996; MOFENSON *et al.*, 1997; MUÑOZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 1997; SHEARER *et al.*, 1997).

Em nosso estudo, o grupo de crianças “sobreviventes de longo prazo” e com início tardio de doença pode ter sido relativamente “poupado” de uma agressão mais intensa pelo HIV durante o primeiro ano de vida, um período crítico para a ontogenia do sistema imune. Em contraste, o grupo de crianças mais novas e com início mais precoce teria acumulado fatores clínicos e imunológicos relacionados a um quadro infeccioso mais agressivo (WILFERT *et al.*, 1994; ITALIAN REGISTER FOR HIV INFECTION IN CHILDREN, 1994). O protocolo utilizado em nossa pesquisa, contudo, não permitiu avaliar quais fatores estariam, de fato, associados aos dois padrões de evolução.

Não são citados estudos na literatura sobre a associação entre carga viral livre no soro e desempenho fagocitário. Observamos, em nosso ensaio, uma associação inversamente proporcional entre a carga viral e a fagocitose de Zimosan opsonizado com soro normal.

A determinação da carga viral tem sido utilizada como o indicador mais fidedigno da intensidade da replicação viral disponível até o momento. O paralelismo entre a carga viral sérica ou plasmática e a intensidade da infecção nos órgãos linfóides, já estabelecido, permite inferir que a manutenção de altas cargas virais esteja associada a uma deterioração progressiva do sistema imune (MELLORS *et al.*, 1997; MOFENSON *et al.*, 1997). As últimas diretrizes de tratamento antiviral, tanto em crianças como em adultos, recomendam a utilização deste exame para orientar as decisões terapêuticas (CARPENTER *et al.*, 1997; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1998).

Dois mecanismos podem ser levados em consideração no entendimento da associação entre carga viral e fagocitose de Zimosan, observada neste estudo. Uma alta carga de vírus livre torna disponível uma grande concentração de proteínas específicas do HIV no soro. Estas proteínas, notadamente as moléculas gp41 e gp120 do envelope viral, são capazes de ativar o complemento e, recobertas por C3, ocupar sítios de ligação nos receptores CR1 e CR3 (EBENBICHLER *et al.*, 1991). Desta forma, ocorreria uma diminuição do número de sítios de ligação disponíveis para as partículas de Zimosan opsonizadas. Este fenômeno poderia ser especificamente importante na patogenia do deficit fagocitário, pois os receptores de membrana dos fagócitos, ao terem seus sítios de ligação ocupados por ligantes específicos, sofrem mudanças de conformação estrutural que alteram a sinalização em membrana, transdução intracelular dos sinais e interações funcionais entre diferentes classes de moléculas (MOSSER, 1994). Uma outra possibilidade de explicação seria a ação de um excesso de antígenos virais alterando a imunomodulação e conseqüentemente a expressão destes receptores (KENT *et al.*, 1994). PITTIS *et al.* (1993), ao estudarem a fusão fagolisossômica de monócitos de adultos infectados, observaram uma inibição significativa desta função ao incubarem as células com concentrações crescentes da glicoproteína gp120 recombinante.

Pode-se supor, também, que a proporção de monócitos infectados em relação ao “pool” circulante total seja maior em indivíduos com carga viral elevada, tendo como conseqüência um deficit fagocitário mais acentuado. Uma série de relatos em literatura sugere que as alterações fenotípicas e funcionais de fagócitos mononucleares são mais intensas, embora não exclusivas, naqueles parasitados pelo HIV (NEWMAN *et al.*, 1993; CAMERON *et al.*, 1994).

No grupo de pacientes infectados, observamos uma tendência a cargas virais mais elevadas nas crianças mais novas e com início mais precoce dos sintomas, quando comparadas às mais velhas e de início mais tardio (medianas de 1.545.000 cópias / mL versus 2.450 cópias / mL, $P = 0,04$). A associação entre idade e carga viral na infecção pediátrica pelo HIV já se encontra bem estabelecida. Caracteristicamente, em crianças infectadas por transmissão vertical, os níveis de carga viral são bastante elevados nos primeiros dois anos de vida, correlacionando-se com a gravidade da evolução clínica. Gradativamente, após esta

idade, em todos os níveis de imunossupressão, ocorre um controle parcial da replicação viral, com o estabelecimento de valores semelhantes aos de pacientes adultos em torno dos 5 anos de idade (McINTOSH *et al.*, 1996; ROUZIOUX *et al.*, 1997; PAEDIATRIC EUROPEAN NETWORK FOR TREATMENT OF AIDS, 1998). A infecção pelo HIV por transmissão vertical, por determinar altas taxas de replicação viral, características da infecção aguda por este retrovírus, em uma fase precoce do desenvolvimento do sistema imune, tem o potencial de afetar sua ontogenia, resultando em deficits funcionais secundários a distúrbios de maturação. Tais distúrbios são mais severos em recém-nascidos infectados por linhagens capazes de causar disfunção tímica, associadas aos padrões mais graves de evolução clínica (WILFERT *et al.*, 1994; NAHMIAS *et al.*, 1998).

Entre os fatores capazes de alterar o microambiente celular e influenciar a função dos fagócitos encontram-se os medicamentos utilizados no tratamento de crianças com SIDA, principalmente os antiretrovirais e os agentes quimioprolifáticos. Destaca-se o fato de, pelas próprias características de seu mecanismo de ação, a maioria destas drogas apresentar penetração intracelular. Os principais medicamentos em uso nos pacientes da população de estudo foram a zidovudina, em 29, e o co-trimoxazol, em 24.

O intervalo de 12 horas sem uso de medicamentos, previamente à coleta de sangue para o ensaio laboratorial, diminuiu as chances de que houvesse concentrações intracelulares significativas de ambas as drogas, uma vez que a meia-vida intracelular da zidovudina é de 4 horas, e do co-trimoxazol, de 8 horas (STRETCHER *et al.*, 1994; MOSBY'S GenRx, 1998). No entanto, devido à possibilidade de alterações farmacocinéticas pelo uso prolongado ou por interações com outros medicamentos em uso, eventualmente alguns pacientes poderiam apresentar níveis intracelulares de medicamentos com o potencial de afetar a função fagocitária.

Os dados na literatura a respeito da interação entre a zidovudina e a função de fagócitos mononucleares são controversos. DeSIMONE *et al.* (1996) relatam redução da função fagocitária de monócitos humanos normais tratados com zidovudina sob diferentes concentrações. No entanto, POS *et al.* (1992), ao incubarem monócitos de indivíduos saudáveis com zidovudina em concentrações de 0,1, 1 ou 10 µg/mL, não encontraram

nenhum prejuízo em relação à fagocitose ou lise intracelular de *S. aureus*. FLØ *et al.* (1994), relatam que o tratamento com zidovudina não alterou a quimiotaxia ou a produção de quimioluminescência por monócitos ou neutrófilos de indivíduos saudáveis. BALDWIN. (1990), em um modelo de infecção experimental de macrófagos humanos normais em cultura, demonstraram que o tratamento com zidovudina, 6 dias após a infecção, foi capaz de prevenir a deficiência de lise intracelular de *Candida pseudotropicalis*, observada em células não tratadas. Outros pesquisadores relatam a existência de atividade antibacteriana intrínseca pela zidovudina, principalmente contra bactérias gram-negativas (HERRMAN & LAGRANGE, 1992). A análise dos trabalhos acima citados sugere que eventuais prejuízos de função fagocitária secundários à ação direta da zidovudina, de relevância ainda não estabelecida, seriam compensados pelos benefícios de um tratamento antiretroviral eficaz.

Em relação aos efeitos do co-trimoxazol sobre a função fagocitária também há controvérsias, apesar deste fármaco ter sido introduzido na prática clínica quase duas décadas antes da zidovudina. Encontram-se estudos na literatura relatando aumento da quimiotaxia, e redução ou aumento do metabolismo oxidativo e da lise microbiana. No entanto, os estudos disponíveis abordando efeitos sobre a ingestão microbiana, foco principal de nosso ensaio laboratorial, não demonstram influência do co-trimoxazol sobre esta função (ZANUSSI & CAPSONI, 1987; POS *et al.*, 1992).

O comprometimento do sistema T é o aspecto central na patogênese da SIDA. Uma queda profunda e transitória dos níveis de células CD4⁺ ocorre nas primeiras semanas após a infecção, seguida de estabilização em patamares abaixo dos níveis pré-infecção. Estes níveis permanecem estáveis ou em lento declínio por um período de tempo variável, em geral mais curto na criança que no adulto, em que se estabelece um equilíbrio entre a replicação viral, a lise celular e a capacidade de geração de novas células. Com o progressivo esgotamento da capacidade de regeneração do “pool” de linfócitos T CD4⁺, a infecção evolui para o estágio de imunossupressão grave (AMADORI, ZAMARCHI, CHIECO-BIANCHI, 1996). No recém-nascido e no lactente jovem saudáveis, as contagens absolutas de linfócitos T CD4⁺ são cerca de três vezes superiores às do adulto, atingindo níveis

semelhantes a este, após os 5 anos. No entanto, a relação CD4:CD8 e a porcentagem de linfócitos T CD4+ são equivalentes às observadas no adulto (HANNET et al., 1992).

A elevação da contagem de linfócitos T CD8+ costuma ser mais intensa nas fases iniciais da infecção, relacionando-se com a resposta imune celular do hospedeiro. Evolutivamente, os níveis se mantêm elevados como parte do mecanismo de homeostase das células T, proposto por MARGOLICK *et al.* (1995). Em estágios clínicos mais avançados, a contagem de células T CD8+ cai a níveis similares aos observados em indivíduos não infectados.

A associação inversa que observamos entre os indicadores da fagocitose de EA e Zimosan e a contagem de linfócitos T CD4+ nos leva a retomar o aspecto particular da relação entre idade, padrão de evolução clínica e função fagocitária na população do estudo. O subgrupo de pacientes infectados com idade superior a 5 anos e início de sintomas após o 1º ano de vida, que apresentou valores superiores de desempenho fagocitário em relação ao grupo de crianças menores que 5 anos e início precoce dos sintomas, apresentava também, na data de realização do ensaio laboratorial, uma depleção mais intensa na subpopulação de linfócitos T CD4+. Tal depleção é previsível considerando as diferenças de idade entre os dois grupos (medianas de 94,9 meses versus 27,0 meses, $P < 0,001$), e o início tardio do tratamento antiviral no grupo de crianças “sobreviventes de longo prazo”. Estas crianças, no entanto, por terem apresentado o início dos sintomas da infecção por HIV em uma idade com maior maturidade imunológica, podem ter modulado a infecção de modo a preservar a função fagocitária. Cumpre lembrar que mesmo este grupo, apesar de apresentar um desempenho comparativamente melhor em relação ao grupo de crianças mais novas e de idade mais precoce ao início dos sintomas, apresenta índices e capacidades fagocitários inferiores ao grupo de referência.

Nossos resultados contrastam com o estudo de PITTIS *et al.* (1997), que, ao analisar a fusão fagolisossômica de monócitos em crianças infectadas, observaram uma associação direta entre índice de fusão fagolisossômica e contagem de linfócitos T CD4+. No entanto, não dispomos de dados sobre as características de distribuição etária e de evolução clínica da população deste estudo, para uma comparação mais precisa.

Não encontramos na literatura estudos que explorassem a relação entre números absolutos de linfócitos T CD8+ e indicadores de função fagocitária. A associação inversa, observada em nossa população de estudo, principalmente em relação à fagocitose de Zimosan, reflete provavelmente as conseqüências da evolução temporal da infecção pelo HIV por transmissão vertical sobre as células do sistema T. Observamos entre as crianças infectadas uma contagem de linfócitos T CD8+ significativamente mais elevada no grupo mais jovem e de menor idade ao início dos sintomas, cujos indicadores de função fagocitária se mostraram inferiores (medianas de 1.495 células / mm³ versus 892 células / mm³, $P = 0,003$). Adicionalmente, níveis mais elevados de linfócitos T CD8+ refletem ativação persistente do sistema T, que pode estar associada a distúrbios de imunomodulação, que, por sua vez, podem estar implicados na patogênese da disfunção fagocitária (GIORGI, 1996).

A associação negativa entre níveis séricos de IgG e competência fagocitária em crianças com SIDA, observada em nosso estudo, não foi relatada anteriormente na literatura.

A hipergamaglobulinemia é uma das anormalidades imunológicas mais consistentes e precocemente observadas em lactentes infectados por transmissão vertical (FALOON *et al.*, 1989; DaSILVA *et al.*, 1996). Resulta inicialmente de uma resposta humoral vigorosa, restrita pelo sistema MHC classe II, e de um efeito direto de ativação policlonal de linfócitos B pelo HIV. A resposta humoral é dirigida principalmente a epítopos de proteínas do envelope viral, embora todas as proteínas estruturais ou reguladoras apresentem sítios imunogênicos (BJÖRLING & NORRBY, 1996). Devido à persistência do agente infeccioso e à sua intensa variabilidade genética, o estímulo para a ativação do sistema B é mantido durante a evolução da infecção. Progressivamente, a resposta humoral contribui para a seleção de linhagens resistentes à vigilância imunológica do hospedeiro. Em estudos de história natural em crianças infectadas por transmissão vertical, observa-se, após uma resposta inicial exuberante, uma modulação da síntese de anticorpos (DeMARTINO *et al.*, 1991). Evolutivamente, a manutenção de níveis elevados de imunoglobulinas sugere controle inadequado da infecção, estando associada também a altos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α), ativação linfocitária e retroalimentação positiva da replicação viral (RAUTONEN *et al.*, 1991). Observa-se homologia entre proteínas do HIV e moléculas

reguladoras do sistema imune, como as proteínas do sistema MHC classe II. Devido à persistente sobrevivência do patógeno no curso da infecção, o estímulo à síntese de anticorpos é mantido, incluindo-se a formação de anticorpos anti-idiotípicos. Tais características da interação entre agente e hospedeiro estabelecem as condições para a gênese de fenômenos auto-imunes, contribuindo para a patogenia da SIDA (VIA & SARWARI, 1996).

A ativação crônica da síntese de imunoglobulinas está acompanhada da disfunção na formação de anticorpos específicos. Esta disfunção apresenta associação com as alterações quantitativas e funcionais das células T CD4+. Este fenômeno pode ser demonstrado na população de nosso estudo, em que se observou uma associação positiva entre o número de linfócitos T CD4+ e a capacidade de resposta à vacina contra a hepatite B. Outros relatos apresentam resultados semelhantes em relação à resposta a este e outros imunógenos (DIAMANT *et al.*, 1993).

O efeito da hipergamaglobulinemia sobre a função fagocitária pode ser exercido pela ocupação direta de sítios de ligação, como os receptores Fc, tornando-os indisponíveis para a ligação de anticorpos. Tal fenômeno é bem conhecido e pode apresentar importância clínica, como atesta o efeito imunomodulatório do uso de imunoglobulina intravenosa em doenças auto-imunes (BLANCHETTE, KIRBY, TURNER, 1992). Alternativamente, há evidências que doses excessivas de imunoglobulina intravenosa, possam causar disfunção fagocitária em recém-nascidos (FUJIWARA *et al.*, 1997).

A formação de imunocomplexos é freqüentemente relatada no contexto da ativação imune persistente associada à SIDA e à redução da capacidade de seu clareamento com a evolução da infecção (BENDER *et al.*, 1988). Tais complexos têm a capacidade de fixar complemento, podendo resultar na ocupação de receptores CR1 e CR3 de fagócitos. A menor disponibilidade do receptor CR3 pode estar também associada à redução da fagocitose de EA pelos receptores Fc, pois este receptor está funcionalmente associado à organização celular para a ingestão de partículas opsonizadas com IgG (BROWN, 1991). TRIAL *et al.* (1995), ao expor experimentalmente amostras de sangue de doadores normais a imunocomplexos, observaram uma redução significativa na fagocitose de *Staphylococcus*

aureus por monócitos. A intensidade desta redução foi inversamente associada à capacidade de produção de radicais oxidativos e diretamente associada à expressão do receptor CR3 na superfície das células.

A possibilidade da ocupação de receptores celulares por ligantes, resultantes da intensa resposta humoral associada à infecção por HIV, é sugestiva de que a hipergamaglobulinemia funcione como um marcador da gravidade das alterações de modulação do sistema imune. É interessante ressaltar que, em nossa população de estudo, os níveis de IgG apresentaram uma associação direta com outros marcadores relacionados à disfunção fagocitária, como a carga viral ($r_s = 0,42$, $P = 0,08$) e o número de linfócitos T CD8+ ($r_s = 0,41$, $P = 0,02$). Sob esta abordagem, a disfunção fagocitária mais acentuada em pacientes com hipergamaglobulinemia poderia ser interpretada no contexto dos distúrbios de imunorregulação próprios da infecção retroviral crônica. Tais distúrbios poderiam estar associados à redução na expressão quantitativa ou a um bloqueio funcional dos receptores Fc e de complemento da membrana celular, à semelhança do que já foi demonstrado experimentalmente por outros autores (KENT et al., 1994).

O Vírus da Imunodeficiência Humana interage com o *Homo sapiens* como um patógeno pertencente a uma linhagem de antiga convivência com os primatas, selecionado e adaptado, integrado ao genoma de células com papel central na organização da resposta imune humana, tanto inata como adaptativa. Este conjunto de fatores torna plausíveis as alterações encontradas no presente trabalho. A complexidade das interações entre patógeno e sistema imune, no entanto, determina intensas dificuldades no delineamento dos mecanismos que mediam tais alterações.

Nosso estudo, ao avaliar a capacidade de ingestão de partículas por monócitos de crianças infectadas pelo HIV, permitiu demonstrar a existência de uma deficiência funcional nesta população celular. Foi possível, também, identificar alguns marcadores clínicos e laboratoriais relacionados à intensidade de tal disfunção. A análise da literatura demonstrou, apesar da diversidade de relatos, evidências de que outras funções dos fagócitos mononucleares, como quimiotaxia, lise microbiana intracelular e capacidade de apresentação

de antígenos, também se encontram prejudicadas em consequência direta ou indireta do parasitismo intracelular persistente deste retrovírus.

Os mecanismos determinantes deste conjunto de disfunções celulares estão parcialmente delineados, tornando possíveis especulações sobre a viabilidade de intervenções terapêuticas dirigidas especificamente à população de fagócitos mononucleares. As características do parasitismo exercido pelo HIV sobre o fagócito mononuclear, notadamente a prolongada sobrevivência intracelular do patógeno, dão suporte ao estudo de perspectivas terapêuticas inovadoras. Experimentos com o uso de análogos de nucleosídeos no interior de lipossomos conjugados a anticorpos, objetivando a utilização dos receptores Fc para a internalização dos medicamentos, mostram, *in vitro*, intensificação da ação antiretroviral. A eliminação seletiva de células infectadas pode ser tentada com o uso de citotoxinas específicas para receptores de interleucinas com expressão aumentada nestes grupos celulares (WAHL, ORENSTEIN, SMITH, 1996).

No entanto, as características fragmentárias e a abordagem reducionista da maioria dos estudos experimentais não fornecem subsídios para que os mecanismos da interação entre HIV e fagócito sejam compreendidos com maior abrangência. Encontramos, nos artigos que relatam estudos experimentais, a predominância de raciocínios lineares, inadequados para a compreensão de fenômenos envolvendo o sistema imune, caracterizado por um grande número de interrelações entre seus componentes, muitas delas não previsíveis através dos métodos de investigação mais utilizados (TADA, 1997).

Não existe ainda uma clara compreensão do significado da disfunção fagocitária em relação à evolução clínica da SIDA em adultos ou crianças. Os estudos pediátricos são escassos, sendo todos os relatados até o momento (incluindo-se nosso ensaio) com metodologia de corte transversal e pequenas amostras. Estudos longitudinais com o seguimento de um maior número de crianças seriam necessários para uma melhor definição dos marcadores clínicos e laboratoriais associados à presença de disfunção fagocitária, caracterização de sua relevância e delineamento de medidas terapêuticas. A ampliação do número de pacientes exigiria a realização de estudos multicêntricos adequadamente

coordenados, nos quais poderiam ser destacados subgrupos representativos para análises imunológicas mais detalhadas.

Temos o firme propósito de que nosso estudo se inclua no conjunto de esforços de pesquisadores e pediatras brasileiros para a melhor compreensão da patogenia da infecção pelo HIV em crianças.

6. CONCLUSÃO

1. Identificou-se no grupo de crianças expostas ao HIV-1 uma deficiência da função de monócitos, caracterizada por:

- diminuição da fagocitose mediada por receptores Fc , CR1 e CR3 no grupo de crianças infectadas, em relação às crianças não expostas;
- diminuição da fagocitose mediada por receptores CR1 e CR3 no grupo de crianças infectadas, em relação às soro-reversoras;
- diminuição da fagocitose mediada por receptores Fc, CR1 e CR3 no grupo de crianças soro-reversoras, em relação às não-expostas.

2. No grupo de crianças infectadas, a maior gravidade da disfunção fagocitária esteve associada aos seguintes fatores:

- idade menor que 5 anos;
- início dos sintomas abaixo de 1 ano;
- contagens mais elevadas de linfócitos T CD4+;
- contagens mais elevadas de linfócitos T CD8+;
- níveis mais elevados de carga viral livre no soro;
- níveis séricos de IgG acima de 2.000 mg / 100 mL.

3. A disfunção na fagocitose mediada pelos receptores CR1 e CR3 não é reversível pela opsonização do ligante (Zimosan) com soro de indivíduos não-infectados.

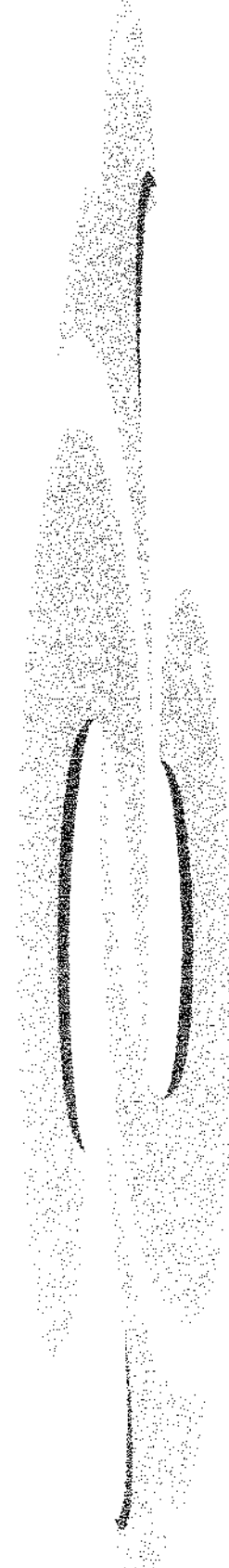
7. SUMMARY

The uptake of human immunodeficiency virus (HIV) by the CD4 monocyte receptor may result in deficiencies of monocyte effector and regulatory functions. Even non-infected cells may be affected by immunomodulatory abnormalities associated with HIV infection. These mechanisms may be associated with some clinical features of pediatric AIDS, such as the high prevalence of intracellular pathogen infections.

Monocyte function was evaluated in 33 HIV-1-infected and 18 exposed seroreverter children with an assay of peripheral blood monocyte phagocytosis for Zymosan (ZYM) and sheep red blood cells (EA), mediated by the CR1, CR3 and Fc receptors, respectively. The ZYM assay was conducted with non-opsonized ZYM and opsonized ZYM with patient serum or serum from a normal blood donor pool. The phagocytic index (percentage of cells having phagocytosis on a slide) and the phagocytic capacity (number of phagocytized particles in 100 cells) were determined. Simultaneously with the collection of blood for the phagocytic assay, blood was collected for complete blood count, lymphocyte subsets determination (CD3+, CD4+, CD8+) and immunoglobulin levels (IgA, IgG, IgM). The response to Hepatitis B vaccine was also studied in infected children. The phagocytic indices and capacities of exposed children were compared to values from a healthy reference group.

The results of the phagocytic assay showed an impairment in CR1 and CR3-mediated phagocytosis between infected and seroreverter children, and in CR1, CR3 and Fc-mediated phagocytosis between infected and reference groups. Compared to the reference group, seroreverter children had an impairment in CR1, CR3 and Fc-mediated phagocytosis. In the group of infected children, the factors positively associated with the severity of phagocyte dysfunction were: age less than 5 year-old; beginning of symptoms in the first year of life; higher levels of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes; higher serum viral load; IgG levels higher than 2,000 mg / 100 mL. In the assay for CR1 and CR3-mediated phagocytosis, opsonization of the ligand (ZYM) with pooled serum from healthy adults did not improve phagocyte function.

The detection of phagocyte dysfunction in HIV-1-infected children, warrants the need for a better understanding of the immunopathogenetical, clinical and therapeutical outcomes of HIV-monocyte / macrophage interactions in the pediatric population. The consequences of exposure to HIV-1 on the immune function of seroreverter children deserve more detailed studies.



8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABADI, J.; ZHONG, Z.; DOBROSZYCKI, J.; PIROFSKI, L. - FcγRIIa polymorphism in human immunodeficiency virus-infected children with invasive pneumococcal disease. **Pediatr. Res.**, 42:259-262, 1997.
- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. - General properties of immune responses. In: **Cellular and Molecular Immunology**. 3ed. Philadelphia, Saunders, 1997. p.3-14.
- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. - The complement system. In: **Cellular and Molecular Immunology**. 3ed. Philadelphia, Saunders, 1997. p.315-338.
- AGOSTINI, C. & SEMENZATO, G. - Pulmonary complications of HIV infection. Immunologic effects of HIV in the lung. **Clin. Chest Medicine**, 17:633-645, 1994.
- ALLEN, J.B.; WONG, H.L.; GUYRE, P.M. - Association of circulating receptor Fc gamma rIII-positive monocytes in AIDS patients with elevated levels of transforming growth factor-β. **J. Clin. Invest.**, 87:1773-1779, 1991.
- ALONSO, K.; PONTIGGIA, P.; MEDENICA, R.; RIZZO, S. - Cytokine patterns in adults with AIDS. **Immunol. Invest.**, 26:341-350, 1997.
- ALTMAN, D.G. - **Practical statistics for medical research**. London, Chapman & Hall, 1991. 543 p.
- AMADORI, A.; ZAMARCHI, R.; CHIECO-BIANCHI, L. - CD4:CD8 ratio and HIV infection: the 'tap and drain' hypothesis. **Immunol. Today**, 17:414-417, 1996.
- BAKKER, L.J.; NOTTET, H.S.L.M.; DeVOS, N.M.; DeGRAAF, L.; VanSTRIJP, J.A.G.; VISSER, M.R.; VERHOEF, J. - Antibodies and complement enhance binding and uptake of HIV-1 by human monocytes. **AIDS**, 6:35-41, 1992.
- BALDWIN, G.C.; FLEISCHMANN, J.; CHUNG, Y.; KOYANAGI, Y.; CHEN, I.S.Y.; GOLDE, D.W. - Human Immunodeficiency Virus causes mononuclear phagocyte dysfunction. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 87:3933-3937, 1990.

- BARTLETT, J.G. & MOORE, R.D. - Improving HIV Therapy. **Scientific American**, 7:64-68, 1998
- BANDRES, J.C.; TRIAL, J.; MUSER, D.M.; ROSSEN, R.D. - Increased phagocytosis and generation of reactive oxygen products by neutrophils and monocytes of men with stage 1 human immunodeficiency virus infection. - **J. Infect. Dis.**, 168:75-83, 1993.
- BENDER, B.S.; DAVIDSON, B.L.; KLINE, R.; BROWN, C.; QUINN, T.C.; - Role of the mononuclear phagocyte system in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. **Rev. Infect. Dis.**, 10:1142-1154, 1988.
- BIGGS, B.; HEWISH, M.; KENT, S.; HAYES, K. CROWE, S.M. - HIV-1 infection of human macrophages impairs phagocytosis of *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.**, 154:6132-6139, 1995.
- BJÖRLING, E. & NORRBY, E. - B-cell sites in the HIV glycoproteins. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.57-78.
- BLACK, C.M.; BERMUDEZ, L.E.M.; YOUNG, L.S.; REMINGTON, J.S. - Co-infection of macrophages modulates interferon γ and tumor necrosis factor-induced activation against intracellular pathogens. **J. Exp. Med.**, 172:977-980, 1990.
- BLANCHETTE, V.S.; KIRBY, M.A.; TURNER, C. - Role of intravenous immunoglobulin G in autoimmune hematologic disorders. **Sem. Hematol.**, 29:72-82, 1992 [Suppl.].
- BRAVO-CUELLAR, A.; NOWACKI, W.; VUILLIER, F.; DeSAINT-MARTIN, J.; ORBACH-ARBOUYS, S. - The bactericidal capacity of peripheral blood monocytes from HIV positive patients may collapse very soon after the infection. - **Immunol. Lett.**, 31:297-300, 1992.
- BROWN, E. J. - Complement receptors and phagocytosis. **Curr. Opin. Immunol.**, 3:76-82, 1991.

- CAMERON, M.L.; GRANGER, D.L.; MATTHEWS, T.J.; WEINBERG, J.B. - Human immunodeficiency virus (HIV)-infected human blood monocytes and peritoneal macrophages have reduced anticryptococcal activity whereas HIV-infected alveolar macrophages retain normal activity. - **J. Infect. Dis.**, 170:60-67, 1994.
- CAPSONI, F.; MINONZIO, F.; ONGARI, A.M.; BONARA, P.; PINTO, G.; CARBONELLI, V.; LAZZARIN, A.; ZANUSSI, C. - Fc receptors expression and function in mononuclear phagocytes from AIDS patients: modulation by IFN-gamma. **Scand. J. Immunol.**, 39:45-50, 1994.
- CAPSONI, F.; MINONZIO, F.; ONGARI, A.M.; COLOMBO, G.; RIZZARDI, G.P.; BONARA, P.; D'ARMINIO-MONFORTE, A.; ZANUSSI, C. - Increased expression of IgG Fc receptor type I on neutrophils and monocytes from HIV-infected subjects. **Clin. Exp. Immunol.**, 90:175-180, 1992.
- CAPSONI, F.; MINONZIO, F.; ONGARI, A.M.; RIZZARDI, G.P.; LAZZARIN, A.; ZANUSSI, C. - Monocyte-derived macrophage function in HIV-infected subjects: in vitro modulation by rIFN- γ and rGM-CSF. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 62:176-182, 1992.
- CARINI, C.; MEZZAROMA, I.; SCANO, G.; D'AMELIO, R.; MATRICARDI, P.; AIUTI, F. - Characterization of specific immune complexes in HIV-related disorders. **Scand. J. Immunol.**, 26:21-28, 1987.
- CARPENTER, C.C.J.; FISCHL, M.A.; HAMMER, S.M.; HIRSCH, M.S.; JACOBSEN, D.M.; KATZENSTEIN, D.A.; MONTANER, J.S.G.; RICHMAN, D.D.; SAAG, M.S.; SCHOOLEY, R.T.; THOMPSON, M.A.; VELLA, S.; YENI, P.G.; VOLBERDING, P.A. - Antiretroviral therapy for HIV infection in 1997. Updated recommendations of the International AIDS Society-USA panel. **JAMA**, 277:1962-1969, 1997.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL. - Agent Summary Statement for Human Immunodeficiency Viruses (HIVs) Including HTLV-III, LAV, HIV-1, and HIV-2. **MMWR**, 37(S-4):1-21, 1988.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. - 1994 revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. **MMWR**, 43(RR-12):1-10, 1994.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. - Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric human immunodeficiency virus infection. **MMWR**, 47(RR-04):1-31, 1998.

CHASE, M.J. & KLEBANOFF, S.J. - Viricidal effect of stimulated human mononuclear phagocytes on human immunodeficiency virus type 1. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 89:5582-5585, 1992.

CHATURVEDI, S.; FRAME, P.; NEWMAN, S.L. - Macrophages from human immunodeficiency virus-positive persons are defective in host defense against *Histoplasma capsulatum*. **J. Infect. Dis.**, 171:320-327, 1995.

CHEN, T.P.; ROBERTS, R.L; WU, K.G.; ANK, B.J.; STIEHM, R. - Decreased superoxide anion and hydrogen peroxide production by neutrophils and monocytes in human immunodeficiency virus-infected children and adults. - **Pediatr. Res.**, 34:544-550, 1993.

CHEYNIER, R.; LANGLADE-DEMOYEN, P.; MARESCOT, M.; BLANCHE, S.; BLONDIN, G.; WAIN-HOBSON, S.; GRISCELLI, C.; VILMER, E.; PLATA, F. - Cytotoxic T lymphocyte responses in the peripheral blood of children born to human immunodeficiency virus-1-infected mothers. **Eur. J. Immunol.**, 22:2211-2217, 1992.

CLEMENT, A.; SARDET, A.; CHADELAT, K.; GRIMFELD, A.; TOURNIER, G. - Activation of alveolar macrophages from children with the acquired immunodeficiency syndrome-related complex. **Pediatr. Pulmonol.**, 5:192-197, 1988.

CLERICI, M. & SHEARER, G.M. - A Th1-Th2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. **Immunol. Today**, 14:107-111, 1993.

- COMANS-BITTER, W.M.; DeGROOT, R.; VanDenBEEMD, R.; NEIJENS, H.J.; HOP, W.C.J.; GROENEVELD, K.; HOOIJKAAS, H.; VanDONGEN, J.J.M. - Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. **J. Pediatr.**, 130:388-393, 1997.
- CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. **Resolução nº 01/88**. Brasília, p.43-61, 1988.
- CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. **Resolução nº 196/96**. Brasília, 1996. 24 p.
- CROWE, S.M. - Role of macrophages in the pathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Aust. N.Z. J. Med.**, 25:777-783, 1995.
- CROWE, S.M.; VARDAXIS, N.J.; KENT, S.J.; MAERZ, A.L.; HEWISH, M.J.; McGRATH, M.S.; MILLS, J. - HIV infection of monocyte-derived macrophagen in vitro reduces phagocytosis of *Candida albicans*. **J. Leukoc. Biol.**, 56:318-327, 1994.
- DAMIAN, R.T. - Parasite immune evasion and exploitation: reflections and projections. **Parasitology**, 115:S169-S175, 1997.
- DaSILVA, M.T.N.; LEITÃO, M.F.; BORTOLAIA, E.; SABIONI, P.M.; SPAGNOL, A.E.; BARROS, P.S.M.; VILELA, M.M.S. - IgA sérica total como marcador sorológico precoce de infecção por HIV no lactente. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECTOLOGIA PEDIÁTRICA, 10, Belém, 1996. **Anais**. Belém, 1996. p.38.
- DELEMARRE, F.G.A.; STEVENHAGEN, A.; KROON, F.P.; VanEER, M.Y.; MEENHORST, P.L.; VanFURTH, R. - Reduced toxoplasmatatic activity of monocytes and monocyte-derived macrophages from AIDS patients is mediated via prostaglandin E2. **AIDS**, 9:441-445, 1995.
- DELEMARRE, F.G.A.; STEVENHAGEN, A.; SNIJERS, F.; KROON, F.P.; VanEER, M.Y.; REISS, P.; VanFURTH, R. - Restoration of the toxoplasmatatic activity of monocytes from AIDS patients during in vivo treatment with interferon-gamma. **J. Infect. Dis.**, 168:516-518, 1993.

- DeMARTINO, M.; TOVO, P.; GALLI, L.; GABIANO, C.; COZZANI, S.; GOTTA, C.; SCARLATTI, G.; FIOCCHI, A.; COCCHI, P.; MARCHISIO, P.; CANINO, R.; MAUTONE, A.; CHIAPPE, F.; CAMPELLI, A.; CONSOLINI, R.; IZZI, G.; LAVERDA, A.; ALBERTI, S.; TOZZI, A.E.; DUSE, M. - Prognostic significance of immunologic changes in 675 infants perinatally exposed to human immunodeficiency virus. **J. Pediatr.**, 119:702-709, 1991.
- DeSIMONE, C.; MAFFIONE, A.B. CALVELLO, R. - In vitro effects of 3'-azido-3'-deoxitidine (AZT) on normal human polymorphonuclear cell and monocyte/macrophage functional capacities. **Immunopharmacol. Immunotoxicol.**, 18:161-167, 1996.
- DIAMANT, E.P.; SCHECHTER, C.; HODES, D.S.; PETERS, V.B. - Immunogenicity of hepatitis B vaccine in human immunodeficiency-infected children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 12:877-878, 1993.
- DIERICH, M.P.; STOIBER, H.; CHEN, Y. - HIV and complement. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.365-376.
- DUKES, C.S.; MATTHEWS, T.J.; WEINBERG, J.B. - human immunodeficiency virus type 1 infection of human monocytes and macrophages does not alter their ability to generate an oxidative burst. - **J. Infect. Dis.**, 168:459-462, 1993.
- EALES, L.; MOSHTAEL, O.; PINCHING, A.J. - Microbicidal activity of monocyte derived macrophages in AIDS and related disorders. - **Clin. Exp. Immunol.**, 67:227-235, 1987.
- EBENBICHLER, C.F.; THIELENS, N.M.; VORNHAGEN, R.; MARSCHANG, P.; ARLAUD, G.J.; DIERICH, M.P. - human immunodeficiency virus type 1 activates the classical pathway of complement by direct C1 binding through specific sites in the transmembrane glycoprotein gp41. **J. Exp. Med.**, 174:1417-1424, 1991.
- ELLAURIE, M.; CALVELLI, T.; RUBINSTEIN, A. - Immune complexes in pediatric human immunodeficiency virus infection. **A.J.D.C.**, 144:1207-1209, 1990.

- ENGLUND, J.A.; BAKER, C.J.; RASKINO, C.; MCKINNEY, R.E.; LIFSCHITZ, M.H.; PETRIE, B.; FOWLER, M.G.; CONNOR, J.D.; MENDEZ, H.; O'DONNELL, K.; WARA, D.W. - Clinical and laboratory characteristics of a large cohort of symptomatic, human immunodeficiency virus-infected infants and children. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 15:1025-1036, 1996.
- ESSER, R.; VonBRIESEN, H.; BRUGGER, W.; CESKA, M.; GLIENKE, W.; MÜLLER, S.; REHM, A.; RÜBSAMEN-WAIGMANN, H.; ANDREESSEN, R. - Secretory repertoire of HIV-infected human monocytes/macrophages. **Pathobiology**, 59:219-222, 1991.
- ESTEVEZ, M.E.; BALLART, I.J.; DIEZ, R.A.; PLANES, N.; SCAGLIONE, C.; SEN, L. - Early defect of phagocytic cell function in subjects at risk for acquired immunodeficiency syndrome. - **Scand. J. Immunol.**, 24:215-221, 1986.
- EUROPEAN COLLABORATIVE STUDY. - Age-related standards for T-lymphocyte subsets based on uninfected children born to human immunodeficiency virus 1-infected women. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 11:1018-1026, 1992.
- EZEKOWITZ, R.A.B.; KUHLMAN, M.; GROOPMAN, J.E.; BYRN, R.A. - A human serum mannose-binding protein inhibits in vitro infection by the human immunodeficiency virus. **J. Exp. Med.**, 169:185-196, 1989.
- EZEKOWITZ, R.A.B.; SIM, R.B.; MacPHERSON, G.G.; GORDON, S. - Interaction of human monocytes, macrophages, and polymorphonuclear leukocytes with zymosan in vitro. **J. Clin. Invest.**, 76:2368-2375, 1985.
- FALOON, J.; EDDY, J.; WIENER, L.; PIZZO, P. - human immunodeficiency virus infection in children. **J. Pediatr.** 114:1-30, 1989.
- FARLEY, J.J.; KING, J.C.; NAIR, P.; HINES, S.E.; TRESSLER, R.L.; VINK, P.E. - Invasive pneumococcal disease among infected and uninfected children of mothers with human immunodeficiency virus infection. **J. Pediatr.**, 124:853-858, 1994.

- FLØ, R.W.; NAESS, A.; ALBREKTSEN, G.; SOLBERG, C.O. - Isoprinosine stimulates granulocyte chemiluminescence and inhibits monocyte chemiluminescence in vitro. **APMIS**, 102:249-254, 1994.
- FLØ, R.W.; NAESS, A.; NILSEN, A.; HARTHUG, S.; SOLBERG, C.O. - A longitudinal study of phagocyte function in HIV-infected patients. **AIDS**, 8:771-777, 1994.
- FUJIWARA, T.; TANIUCHI, S.; HATTORI, K.; KOBAYASHI, T.; KINOSHITA, Y.; KOBAYASHI, Y. - Effect of immunoglobulin therapy on phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes in whole blood of neonates. **Clin. Exp. Immunol.**, 107:435-439, 1997.
- FÜST, G. - Enhancing antibodies in HIV infection. **Parasitology**, 115:S127-S140, 1997.
- GABRILOVICH, D.I.; SHEPELEVA, G.K.; SEREBROVSKAYA, L.V.; AVDEEVA, L.A.; SUVOROVA, Z.K.; ROSLY, I.M.; OGANEZOV, V.K.; SAIDOV, M.Z.; PANYUTICH, A.V.; POKROVSKY, V.V. - Mononuclear cells from HIV-infected patients produce factors which enhance functional activity of polymorphonuclear neutrophils from healthy subjects. **Clin. Exp. Immunol.**, 89:362-368, 1992.
- GAMBA, G.; MAZZONE, A.; RICEVUTI, G.; LONGONI, P.; CASGONE, G.; ASCARI, E.; RIZZO, S.C. - Functional defects of phagocytes in hemophilic patients at risk of AIDS. **Adv. Biosc.**, 66:625-630, 1987.
- GARRED, P.; MADSEN, H.O.; BALSLEV, U.; HOFMANN, V.; PEDERSEN, C.; GERSTOFT, J.; SVEJGAARD, A. - Susceptibility to HIV infection and progression to AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. **Lancet**, 349:236-240, 1997.
- GENDELMAN, H.E.; BACA, L.M.; TURPIN, J.; KALTER, D.C.; HANSEN, B.; ORENSTEIN, J.M.; DIEFFENBACH, C.W.; FRIEDMAN, R.M.; MELTZER, M.S. - Regulation of HIV replication in infected monocytes by $\text{ifn-}\alpha$. Mechanisms for viral restriction. **J. Immunol.**, 145:2669-2676, 1990.

- GESNER, M.; PAPADEVANGELOU, V.; KIM, M.; CHEN, S.; MOORE, T.; KRASINSKI, K.; BORKOWSKY, W. - Alteration in the proportion of CD4 T lymphocytes in a subgroup of human immunodeficiency virus-exposed-uninfected children. **Pediatrics**, 93:624-630, 1994.
- GILBODY, J.; LIPMAN, M.C.I.; JOHNSON, M.A.; ATKINS, M.; POULTER, L.W. - Progression of HIV disease is associated with increased expression of Fc α RI and CR1 on alveolar macrophages. **Clin. Exp. Immunol.**, 107:31-36, 1997.
- GIORGI, J.V. - Phenotype and function of T cells in HIV disease. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.181-199.
- HAMILTON, T.H.; OHMORI, Y.; NARUMI, S.; TANNENBAUM, C.S. - Regulation of diversity of macrophage activation. In: LOPEZ-BERESTEIN, G.L. & KLOSTERGAARD, J. (ed.) - **Mononuclear phagocytes in cell biology**. Boca Raton, CRC press, 1993. p.47-70.
- HANNET, I.; ERKELER-YUKSEL, F.; LYDYARD, P.; DENEYS, V.; DeBRUYÈRE, M. - Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. **Immunol. Today**, 13:215-218, 1992.
- HAUSCHILDT, S. & KLEINE, B. - Bacterial stimulators of macrophages. **Intl. Rev. Cytol.** 161:263-331, 1995.
- HERBEIN, G.; KESHAV, S.; COLLIN, M.; MONTANER, L.J.; GORDON, S. - HIV-1 induces tumour necrosis factor and IL-1 gene expression in primary human macrophages independent of productive infection. **Clin. Exp. Immunol.**, 95:442-449, 1994.
- HERRMANN, J.L. & LAGRANGE, P.H. - Intracellular activity of zidovudine (3'-azido-3'-deoxythymidine, AZT) against *Salmonella typhimurium* in the macrophage cell line J774-2. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 36:1081-1085, 1992.

- ITALIAN REGISTER FOR HIV INFECTION IN CHILDREN. - Features of children perinatally infected with HIV-1 surviving longer than 5 years. **Lancet**, 343:191-195, 1994.
- JARVIS, J.N.; TAYLOR, H.; IOBIDZE, M. - complement activation and immune complexes in early congenital HIV infection. **J. Acq. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, 8:480-485, 1995.
- KÄLLENIOUS, G.; KOIVULA, T.; RYDGARD, K.J.; HOFFNER, S.E.; VALENTIN, A.; ASJO, B.; LJUNGH, C.; SHARMA, U.; SVENSON, S.B. - Human immunodeficiency virus type 1 enhances intracellular growth of *Mycobacterium avium* in human macrophages. - **Infect. Immun.**, 60:2453-2438, 1992.
- KARPATKIN, S.; NARDI, M.A.; KOURI, Y. - Internal-image anti-idiotypic HIV-1gp120 antibody in human immunodeficiency virus 1 (HIV-1)-seropositive individuals with thrombocytopenia. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 89:1487-1491, 1992.
- KENT, S.J.; STENT, G.; SONZA, S.; HUNTER, S.D.; CROWE, S.M. - HIV-1 infection of monocyte-derived macrophages reduces Fc and complement receptor expression. **Clin. Exp. Immunol.**, 95:450-454, 1994.
- KORNBLUTH, R.S.; OH, P.S.; MUNIS, J.R.; CLEVELAND, P.H.; RICHMAN, D.D. - The role of interferons in the control of HIV replication in macrophages. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 54:200-219, 1990.
- KOWALSKI, M.; ARDMAN, B.; BASIRIPOUR, L.; LU, Y.; BLOHM, D.; HASELTINE, W.; SODROSKI, J. - Antibodies to CD4 in individuals infected with human immunodeficiency virus type 1. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 86:3346-3350, 1989.
- LIPMAN, M.C.I.; JOHNSON, M.A.; POULTER, L.W. - Functionally relevant changes occur in HIV-infected individuals' alveolar macrophages prior to the onset of respiratory disease. **AIDS**, 11:765-772, 1997.

- MANN, D.L.; GARTNER, S.; LeSANE, F.; BLATTNER, W.A.; POPOVIC, M. - Cell surface antigens and function of monocytes and a monocyte-like cell line before and after infection with HIV. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, 54:174-183, 1990.
- MARGOLICK, J.B.; MUÑOZ, A.; DONNENBERG, A.D.; PARK, L.P.; GALAI, N.; GIORGI, J.V.; O'GORMAN, M.R.G.; FERBAS, J. - Failure of T-cell homeostasis preceding AIDS in HIV-1 infection. **Nature Med.**, 1:674-680, 1995.
- MARÓDI, L.; KORCHAK, H.M.; JOHNSTON Jr, R.B. - Mechanisms of host defense against *Candida* species. I. Phagocytosis by monocytes and monocyte-derived macrophages. **J. Immunol.**, 146:2783-2789, 1991.
- MARÓDI, L.; SCHREIBER, S.; ANDERSON, D.C.; MacDERMOTT, R.P.; KORCHAK, H.M.; JOHNSTON, R.B.Jr. - Enhancement of macrophage candidacidal activity by interferon-gamma. Increased phagocytosis, killing, and calcium signal mediated by a decreased number of mannose receptors. **J. Clin. Invest.**, 6:2596-2601, 1993.
- MASUDA, A. - **Avaliação do sistema fagocitário mononuclear na hanseníase**. São Paulo, 1977. (Tese de Doutorado - Escola Paulista de Medicina).
- McINTOSH, K.; SHEVITZ, A.; ZAKNUN, D.; KORNEGAY, J.; CHATIS, P.; KARTHAS, N.; BURCHETT, S.K. - Age- and time-related changes in extracellular viral load in children vertically infected by human immunodeficiency virus. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 15:1087-1091, 1996.
- MELLORS, J.W.; MUÑOZ, A.; GIORGI, J.V.; MARGOLICK, J.B.; TASSONI, C.J.; GUPTA, P.; KINGSLEY, L.A.; TODD, J.A.; SAAH, A.J.; DETELS, R.; PHAIR, J.P.; RINALDO, C.R. - Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. **Ann. Intern. Med.**, 126:946-954, 1997.
- MELTZER, M.S.; BACA, L.; TURPIN, J.A.; KALTER, D.C.; DIEFFENBACH, C.; FRIEDMAN, R.M.; GENDELMAN, H.E. - Regulation of cytokine and viral gene expression in monocytes infected with the human immunodeficiency virus. **Pathobiology**, 59:209-213, 1991.

- MELTZER, M.S.; HOOVER, D.L.; FINBLOOM, D.S.; TURPIN, J.A.; KALTER, D.C.; FRIEDMAN, R.M.; MOYER, M.P.; NARA, P.; GENDELMAN, H.G. - Mononuclear phagocytes in the pathogenesis of human immunodeficiency virus disease. In: LOPEZ-BERESTEIN, G.L. & KLOSTERGAARD, J. (ed.) - **Mononuclear phagocytes in cell biology**. Boca Raton, CRC press, 1993. p.147-175.
- MEYAARD, L.; SCHUITMAKER, H.; MIEDEMA, F. - T-cell dysfunction in HIV infection: anergy due to defective antigen-presenting cell function? **Immunol. Today**, 14:161-164, 1993.
- MOFENSON, L.M.; KORELITZ, J.; MEYER III, W.A.; BETHEL, J.; RICH, K.; PAHVWA, S.; MOYE, J.; NUGENT, R.; READ, J. - The relationship between serum human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA level, CD4 lymphocyte percent, and long-term mortality risk in HIV-1-infected children. **J. Infect. Dis.**, 175:1029-1038, 1997.
- MOLINA, J.; SCHINDLER, R.; FERRIANI, R.; SAKAGUCHI, M.; VANNIER, E.; DINARELLO, C.A.; GROOPMAN, J.E. - Production of cytokines by peripheral blood monocytes/macrophages infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). **J. Infect. Dis.**, 161:888-893, 1990.
- MOSBY'S GenRx. - **Sulfamethoxazol-Thrimethoprim** (002289). Philadelphia, Mosby-Yearbook, 1998. 8th ed.
- MOSSER, D.M. - Receptors on phagocytic cells involved in microbial recognition. **Immunol. Ser.**, 60:99-114, 1994.
- MÜLLER, F.; ROLLAG, H.; FROLAND, S.S. - Reduced oxidative burst responses in monocytes and monocyte-derived macrophages from HIV-infected subjects. **Clin. Exp. Immunol.**, 82:10-15, 1990.
- MUÑOZ-FERNÁNDEZ, M.A.; NAVARRO, J/ OBREGÓN, E.; ARIAS, R.A.; GURBINDO, M.D.; SAMPELAYO, T.H.; FERNÁNDEZ-CRUZ, E. - Immunological and virological markers of disease progression in HIV-infected children. **Acta Paediatr. Scand.**, Suppl 421:46-51, 1997.

- MURRAY, H.W.; HILLMAN, J.K.; RUBIN, B.Y.; KELLY, C.D.; JACOBS, J.L.; TYLER, L.W.; DONELLY, D.M.; CARRIERO, B.S.; GOLDBOLD, J.H.; ROBERTS, R.B. Patients at risk for aids-related opportunistic infections. Clinical manifestations and impaired gamma interferon production. **N. Engl. J. Med.**, 313:1504-1510, 1985.
- MUSHER, D.M.; WATSON, D.A.; NICKESON, M.D.; GYORKEY, M.D.; LAHART, C.; ROSSEN, R.D. - The effect of HIV infection on phagocytosis and killing of *Staphylococcus aureus* by human pulmonary alveolar macrophages. **Am. J. Med. Sci.**, 299:158-163, 1990.
- NAHMIAS, A.J.; LEE, F.K.; KOURTIS, A.; IBEGBU, C. - Immunology of HIV infection in the fetus and newborn. **Immunol. Allergy Clin. N.A.**, 18:401-419, 1998.
- NEWMAN, G.W.; KELLEY, T.G.; GAN, H.; KANDIL, O.; NEWMAN, M.J.; PINKSTON, P.; ROSE, R.M.; REMOLD, H.G. - Concurrent infection of human macrophages with HIV-1 and *Mycobacterium avium* results in decreased cell viability, increased *M. avium* multiplication and altered cytokine production. **J. Immunol.**, 151:2261-2272, 1993.
- NIELSEN, H.; KHARAZMI, A.; FABER, V. - Blood monocyte and neutrophil functions in the acquired immune deficiency syndrome. **Scand. J. Immunol.**, 24:291-296, 1986.
- NIELSEN, S.L.; ANDERSEN, P.L.; KOCH, C.; JENSENIUS, J.C.; THIEL, S. - The level of serum opsonin, mannan-binding protein in HIV-1 antibody-positive patients. **Clin. Exp. Immunol.**, 100:219-222, 1995.
- NOTTET, H.S.L.M.; DeGRAAF, L.; DeVOS, N.M.; BAKKER, L.J.; VanSTRIJP, J.A.G.; VISSER, M.R.; VERHOEF, J. - Phagocytic function of monocyte-derived macrophages is not affected by human immunodeficiency virus type 1 infection. **J. Infect. Dis.**, 168:84-91, 1993.
- NOTTET, H.S.L.M.; GENDELMAN, H.E. - Unraveling the neuroimmune mechanisms for the HIV-1-associated cognitive/motor complex. **Immunol. Today**, 16:441-448, 1995.

- OLIVEIRA LIMA, A. & DIAS DA SILVA, M. - Apêndice. In: **Imunologia, Imunopatologia, Alergia - Métodos**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1970. 617 p.
- PAEDIATRIC EUROPEAN NETWORK FOR TREATMENT OF AIDS (PENTA). - HIV-1 viral load and CD4 cell count in untreated children with vertically acquired asymptomatic or mild disease. **AIDS**, 12:F1-F8, 1998.
- PESCE, A.J.; FRINGS, C.S.; GAULDIE, J. - Spectral Techniques. In: KAPLAN, L.A. & PESCE, A.J. (ed). **Clinical Chemistry: theory, analysis, correlation**. St. Louis, Mosby, 1996. p. 83-105.
- PILLEMER, L.; BLUM, L.; LEPOW, I.H.; WURTZ, L.; TODD, E.W. - The properdin system and immunity. III - The zymosan assay of properdin. **J. Exp. Med.**, 103:1, 1956.
- PITTIS, M.G.; PRADA, F.; MANGANO, A.; PÉREZ, L.; STERNIK, G.; REDONDO, J.; BOLOGNA, R.; SEN, L. - Monocyte phagolysosomal fusion in children born to human immunodeficiency virus-infected mothers. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 16:24-28, 1997.
- PITTIS, M.G.; STERNIK, G.; SEN, L.; DIEZ, R.A.; PLANES, N.; PIROLA, D.; ESTEVEZ, M.E. - Impaired phagolysosomal fusion of peripheral blood monocytes from HIV-infected subjects. **Scand. J. Immunol.**, 38:423-427, 1993.
- POLI, G.; BOTTAZZI, B.; ACERO, R.; BERSANI, L.; ROSSI, V.; INTRONA, M.; LAZZARIN, A.; GALLI, M.; MANTOVANI, A. - Monocyte function in intravenous drug abusers with lymphadenopathy syndrome and in patients with acquired immunodeficiency syndrome: selective impairment of chemotaxis. **Clin. Exp. Immunol.**, 62:136-142, 1985.
- POS, O.; STEVENHAGEN, A.; MEENHORST, P.L.; KROON, F.P.; VanFURTH, R. - Impaired phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by granulocytes and monocytes of AIDS patients. **Clin. Exp. Immunol.**, 88:23-28, 1992.
- RAGHAVAN, M. & BJORKMAN, P. J. - Fc receptors and their interactions with immunoglobulins. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, 12:181-220, 1996.

- RAUTONEN, J.; RAUTONEN, N.; MARTIN, N.L.; PHILIP, R.; WARA, D.W. - Serum interleukin-6 concentrations are elevated and associated with elevated tumor necrosis factor-alpha and immunoglobulin G and A concentrations in children with HIV infection. **AIDS**, 5:1319-1325, 1991.
- REARDON, C.C.; KIM, S.J.; WAGNER, R.P.; KOZIEL, H.; KIRNFELD, H. - Phagocytosis and growth inhibition of *Cryptococcus neoformans* by human alveolar macrophages: effects of HIV-1 infection. - **AIDS**, 10:613-618, 1996.
- RICEVUTI, G. - Host tissue damage by phagocytes. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 832:426-448, 1997.
- RIZZO, S.C.; ROSSINI, S.; MAZZONE, A.; RICEVUTI, G. - Skin window test in AIDS related complex and in patients at risk for AIDS. **Adv. Biosc.**, 66:539-543, 1987.
- ROGERS, M.F.; SCHOCHETMAN, G.; HOFF, R. - Advances in diagnosis of HIV infection in infants. In: PIZZO, P.A. & WILFERT, C.M. (ed.) - **Pediatric AIDS**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1994, 2nd. p.219-238.
- ROILIDES, E.; HOLMES, A.; BLAKE, C.; PIZZO, P.A.; WALSH, T.J. - Defective antifungal activity of monocyte-derived macrophages from human immunodeficiency virus-infected children against *Aspergillus fumigatus*. **J. Infect. Dis.**, 168:1562-1565, 1993.
- ROILIDES, E.; HOLMES, A.; BLAKE, C.; PIZZO, P.A.; WALSH, T.J. - Impairment of neutrophil antifungal activity against hyphae of *Aspergillus fumigatus* in children infected with human immunodeficiency virus. **J. Infect. Dis.**, 167:905-911, 1993.
- ROMANO, J.W.; VanGEMEN, B.; KIEVITS, T. - A novel, isothermal detection technology for qualitative and quantitative HIV-1 RNA measurement. **Clin. Lab. Med.**, 16:89-103, 1996.

- ROQUES, P.A.; GRAS, G.; PARNET-MATHIEU, F.; MABONDZO, A.; DOLLFUS, C.; NARWA, R.; MARCÉ, D.; TRANCHOT-DIALLO, J.; HERVÉ, F.; LASFARGUES, G.; COURPOTIN, C.; DORMONT, D. - Clearance of HIV infection in 12 perinatally infected children: clinical, virological and immunological data. **AIDS**, 9:F-19-F26, 1995.
- ROSS, G.D. - Complement and complement receptors. **Curr. Opin. Immunol.**, 2:50-62, 1989.
- ROUZIOUX, C.; BURGARD, M.; CHAIX, M.; DELAMARE, C.; IVANOFF, S.; BOUILLER, B.; CATELOY, S.; ALLEMON, M.; BROYART, C.; CIRARU, N.; FLOCH, C.; LELORIER, P.; LACHASSINE, E.; MAZY, F.; NARCY, P.; SAILLANT, J.; SALOMON, J.L.; SEAUME, H.; TALON, P.; MAYAUX, M.; BLANCHE, S. and THE FRENCH PEDIATRIC COHORT STUDY GROUP. - human immunodeficiency virus-1 infection in neonates: correlation of plasma and cellular viremia and clinical outcome. **Acta Paediatr. Scand. Suppl.** 421:17-21, 1997.
- ROWLAND-JONES, S.R.; NIXON, D.F.; ALDHOUS, M.C.; GOTCH, F.; ARIYOSHI, K.; HALLAM, N.; KROLL, J.S.; FROEBEL, K.; McMICHAEL, A. - HIV-specific cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant. **Lancet**, 341:860-861, 1993.
- RUSSO-MARIE, F. - VIH et macrophage. **Path. Biol.**, 45:137-145, 1997.
- SCHUIT, K.E. - Phagocytosis and intracellular killing of pathogenic yeasts by human monocytes and neutrophils. **Infect. Immun.**, 24:3932-3938, 1979.
- SCHUITTEMAKER, H.; KOOT, M.; KOOTSTRA, N.A.; DERCKSEN, M.W.; DeGOEDE, R.E.Y.; VanTEENWIJK, R.P.; LANGE, J.M.A.; SCHATTENKERK, J.K.M.E.; MIEDEMA, F.; TERSMETTE, M. - Biological phenotype of human immunodeficiency virus type 1 clones at different stages of infection: progression of disease is associated with a shift from monocytoprotic to T-cell-tropic virus populations. **J. Virol.**, 66:1354-1360, 1992.

- SHEARER, G.M. & CLERICI, M. - Type 1 and type 2 responses in HIV infection and exposure. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.229-242.
- SHEARER, W.T.; QUINN, T.C.; LaRUSSA, P.; LEW, J.F.; MOFENSON, L.; ALMY, S.; RICH, K.; HANDELSMAN, E.; DIAZ, C.; PAGANO, M.; SMERIGLIO, V.; KALISH, L. - Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. **N. Engl. J. Med.**, 336:1337-1342, 1997.
- SHEPHERD, V.L.; LANE, K.B.; ABDOLRASULNIA, R. - Ingestion of *Candida albicans* down-regulates mannose receptor expression on rat macrophages. **Arch. Biochem. Biophys.**, 344:350-356, 1997
- SIERRA-MADERO, J.F.; TOOSSI, Z.; HOM, D.L.; FINEGAN, C.K.; HOENIG, E.; RICH, E.A. - Relationship between load of virus in alveolar macrophages from human immunodeficiency virus typ-1 infected persons, production of cytokines, and clinical status. **J. Infect. Dis.**, 169:18-27, 1994.
- SMITH, P.D.; OHURA, K.; MASUR, H.; LANE, H.C.; FAUCI, A.S.; WAHL, S.M. - Monocyte function in the acquired immunodeficiency syndrome. Defective chemotaxis. **J. Clin. Invest.**, 74:2121-2128, 1984.
- SOELDER, B.M.; REISINGER, E.C.; KOEFLER, D.; BITTERLICH, G.; WACHTER, H.; DIERICH, M.P. - Complement receptors: another port of entry for HIV. **Lancet**, 2:271-272, 1989. [Letter]
- SPEAR, G.T.; OU, C.Y.; KESSLER, H.A.; MOORE, J.L.; SCHOCHETMAN, G.; LANDAY, A.L. - Analysis of lymphocytes, monocytes, and neutrophils from human immunodeficiency virus (HIV)-infected persons for HIV-DNA. **J. Infect. Dis.**, 162:1239-1244, 1990.
- STAHL, P. D. & GORDON, S. - Expression of a mannosyl-fucosyl receptor for endocytosis on cultured primary macrophages and their hybrids. **J. Cell Biol.**, 93:49-56, 1982.

- STOIBER, H.; EBENBICHLER, C.; SCHNEIDER, R.; JANATOVA, J.; DIERICH, M.P. - Interaction of several complement proteins with gp120 and gp41, the two envelope glycoproteins of HIV-1. **AIDS**, 9:19-26, 1995.
- STOIBER, H.; PINTÉR, C.; SICCARDI, A.G.; CLIVIO, A.; DIERICH, M.P. - Efficient destruction of human immunodeficiency virus in human serum by inhibiting the protective action of complement factor H and decay accelerating factor (DAF, CD55). **J. Exp. Med.**, 183:307-310, 1996.
- STRETCHER, B.N.; PESCE, A.J.; FRAME, P.T.; STEIN, D.S. - Pharmacokinetics of zidovudine phosphorylation in peripheral blood mononuclear cells from patients infected with human immunodeficiency virus. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 38:1541-1547, 1994.
- SUNG, S.J.; NELSON, R.S.; SILVERSTEIN, S.C. - Yeast mannans inhibit binding and phagocytosis of zymosan by mouse peritoneal macrophages. **J. Cell Biol.** 96:160-166.
- SZELC, C.M.; MITCHELTREE, C.; ROBERTS, R.L.; STIEHM, E.R. - Deficient polymorphonuclear cell and mononuclear cell antibody-dependent cellular cytotoxicity in pediatric and adult human immunodeficiency virus infection. **J. Infect. Dis.**, 166:486-493, 1992.
- SZKARADKIEWICZ, A. - Phagocytosis and microbicidal capacity of human monocytes in the course of HIV infection. **Immunol. Lett.**, 33:145-150, 1992.
- TADA, T. - The immune system as a supersystem. **Annu. Rev. Immunol.**, 15:1-13, 1997.
- TAS, M. DREXHAGE, H.A.; GOUDSMIT, J. - A monocyte chemotaxis inhibiting factor in serum of HIV-infected men shares epitopes with the transmembrane protein gp41. **Clin. Exp. Immunol.**, 71:13-17, 1988.
- TERRITO, M.C. & CLINE, M.J. - Monocyte function in man. **J. Immunol.**, 118:1303-1309, 1976.

- THAN, S.; HU, R. OYAIZY, N.; ROMANO, J.; WANG, X.; SHEIKH, S.; PAHWA, S. - Cytokine pattern in relation to disease progression in human immunodeficiency virus-infected children. **J. Infect. Dis.**, 175:47-56, 1997.
- THOMPSON, S.G. - Principles for competitive-binding assays. In: KAPLAN, L.A. & PESCE, A.J. (ed). **Clinical Chemistry: theory, analysis, correlation**. St. Louis, Mosby, 1996. p. 250-269.
- TOVO, P.; DeMARTINO, M.; GABIANO, C.; CAPPELLO, N.; D'ELIA, R.; LOY, A.; PLEBANI, A.; ZUCCOTTI, G.V.; DALLACASA, P.; FERRARIS, G.; CASELLI, D.; FUNDARO', C.; D'ARGENIO, P.; GALLI, L.; PRINCIPI, N.; STEGAGNO, M.; RUGA, E.; PALOMBA, E; ITALIAN REGISTER FOR HIV INFECTION IN CHILDREN. - Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV-1 infection. **Lancet**, 339:1249-1253, 1992.
- TRIAL, J.; BIRDSALL, H.H.; HALLUM, J.A.; CRANE, M.L.; RODRIGUEZ-BARRADAS, M.C.; DeJONG, A.L.; KRISHNAN, B.; LACKE, C.E.; FIGDOR, C.G.; ROSSEN, R.D. - Phenotypic and functional changes in peripheral blood monocytes during progression of human immunodeficiency virus infection. **J. Clin. Invest.** 95:1690-1701, 1995.
- TURNER, B.J.; DENISON, M.; EPPES, S.C.; HOUCHENS, R.; FANNING, T.; MARKSON, L. - Survival experience of 789 children with the acquired immunodeficiency syndrome. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, 12:310-320, 1993.
- TURNER, M.W. - Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. **Immunol. Today**, 17:532-540, 1996.
- TURPIN, J.A. & LOPEZ-BERESTEIN, G. - Differentiation, maturation, and activation of monocytes and macrophages: functional activity is controlled by a continuum of maturation. In: LOPEZ-BERESTEIN, G.L. & KLOSTERGAARD, J. (ed.) - **Mononuclear phagocytes in cell biology**. Boca Raton, CRC press, 1993. p.71-99.

- VanFURTH, R.; VanZWET, T. L.; LEIJ, P.C.J. - In vitro determinations of phagocytosis and intracellular killing, by polymorphonuclear and mononuclear phagocytes. In: WEIR, D.M., (ed.) **Handbook of experimental immunology**. 3rd. ed. Oxford Blackwell Scientific Publications, 1978. p. 32.
- VIA, C.S. & SARWARI, A.R. - Autoimmunity in HIV. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.277-284.
- VIGANÓ, A.; PRINCIPI, N. VILLA, M.L.; RIVA, C.; CRUPI, L.; TRABATTONI, D.; SHEARER, G.M.; CLERICI, M. - Immunologic characterization of children vertically infected with human immunodeficiency virus, with slow or rapid disease progression. - **J. Pediatr.**, 126:368-374, 1995.
- VILELA, M. M. S. - **Fagocitose em crianças com doença falciforme**. Campinas, 1985. (Tese - Doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- VILELA, M.M.S.; SAMPAIO, M.M.C.; COSTA, F.F.; BRANDALISE, S.R. - Reduced phagocytic activity mediated by C3b and monocyte receptors from children with sickle-cell disease. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 22:725-728, 1989.
- WAHL, S.M.; ALLEN, J.B.; GARTNER, S.; ORENSTEIN, J.M.; POPOVIC, M.; CHENOWETH, D.E.; ARTHUR, L.O.; FARRAR, W.L.; WAHL, L.M. - Human immunodeficiency virus-1 and its envelope glycoprotein down-regulate chemotactic ligand receptors and chemotactic function of peripheral blood monocytes. **J. Immunol.**, 142:3553-3558, 1989.
- WAHL, S.M.; ORENSTEIN, J.M.; SMITH, P.D. - Macrophage functions in HIV-1 infection. In: GUPTA, S. (ed). - **Immunology of HIV infection**. New York, Plenum Medical, 1996. p.311-336.
- WASHBURN, R.G.; TUAZON, C.U.; BENNETT, J.E. - Phagocytic and fungicidal activity of monocytes from patients with acquired immunodeficiency syndrome. **J. Infect. Dis.**, 151:565, 1985. [Letter]

- WILFERT, C.M.; WILSON, C.; LUZURIAGA, K.; EPSTEIN, L. - Pathogenesis of pediatric human immunodeficiency virus type 1 infection. **J. Infect. Dis.**, 170:286-292, 1994.
- WRIGHT, S.D.; DETMERS, P.A.; JONG, M.T.C.; MEYER, B.C. - Interferon- γ depresses binding of ligand by C3b and C3bi receptors on cultured human monocytes, an effect reversed by fibronectin. **J. Exp. Med.**, 163:1245-1259, 1986.
- ZANUSSI, C. & CAPSONI, F. - Pharmacological modulation of phagocyte function. **Adv. Biosci.**, 66:345-355, 1987.
- ZERLAUTH, G.; MAIER, E.; CHEHADEH, H.; ZIMMERMANN, K.; EIBL, M.M.; MANHALTER, J.W. - Interaction with human immunodeficiency virus type 1 modulates innate effector functions of human monocytes. **J. Infect. Dis.**, 172:1598-1601.
- ZIEGLER-HEITBROCK, H.W.L.; STRÖBEL, M.; FINGERLE, G.; SCHLUNCK, T.; PFORTE, A.; BLUMENSTEIN, M.; HAAS, J.G. - Small (CD14+/CD16+) monocytes and regular monocytes in human blood. **Pathobiology**, 59:127-130, 1991.

9. ANEXOS

PROTOCOLO CLÍNICO

FUNÇÃO DE FAGÓCITOS MONONUCLEARES EM CRIANÇAS INFECTADAS PELO VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

NOME: _____ Nº: _____
 HC: _____ DATA NASC: _____ SEXO: _____
 DATA DO EXAME: _____ DATA DE INÍCIO DOS SINTOMAS: _____

DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS:

DIAGNÓSTICO	DATA

CLASSIFICAÇÃO:

MS / 1988: _____ CDC / 1994: _____

AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA:

HEMOGRAMA:

DATA	HEM	HB	HT	LEUC	NEU	LI	MO	EO	BA	PLAQ

IMUNOGLOBULINAS:

DATA: _____	IgA: _____	IgG: _____	IgM: _____	IgE: _____
DATA: _____	IgA: _____	IgG: _____	IgM: _____	IgE: _____

SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS:

DATA: _____	CD3: _____	CD4: _____	CD8: _____	REL: _____
-------------	------------	------------	------------	------------

DATA:	CD3:	CD4:	CD8:	REL:
-------	------	------	------	------

TESTES CUTÂNEOS:

DATA:		
PPD:		

MEDICAMENTOS EM USO:

NOME	INDICAÇÃO	DATA DE INÍCIO	DOSE

EM USO DE GAMA EV ? _____ DATA DA ÚLTIMA DOSE: _____
HEMODERIVADOS (ÚLTIMA DOSE E TIPO): _____

AVALIAÇÃO DA FAGOCITOSE:

NÚMERO DE MONONUCLEARES: _____

	ÍNDICE FAGOCITÁRIO	CAPACIDADE FAGOCITÁRIA
ZYM / MEIO		
ZYM / SORO NORMAL		
ZYM / SORO PAC.		
HEM. CARNEIRO		

PRODUÇÃO DE SUPERÓXIDO:

	PACIENTE	CONTROLE
MONO / ZIMOSAN		
MONO / PMA		
MONO / ESPONTÂNEA		
PMN / ZIMOSAN		
PMN / PMA		
PMN / ESPONTÂNEA		

Dados gerais - grupo de crianças infectadas pelo HIV-1.

CÓDIGO	SEXO	CAT. CLÍNICA	CAT. IMUNOL	IDADE (M)
2	M	C	3	127.60
48	M	C	3	97.47
20	F	B	3	110.63
53	F	C	3	91.63
26	M	B	2	79.27
29	F	A	1	101.37
18	F	A	1	73.53
01	M	A	2	91.80
14	F	B	3	94.97
27	F	B	2	147.47
11	F	B	2	85.40
37	M	B	3	122.90
5	F	C	3	59.30
25	M	A	2	41.47
6	F	A	2	30.30
23	F	A	2	41.13
15	F	A	2	50.73
21	F	A	3	45.53
7	F	C	3	14.70
36	F	B	2	44.87
49	F	A	1	15.27
4	M	C	.	28.67
52	M	B	2	56.90
24	M	A	3	13.47
22	F	C	.	19.53
44	F	B	1	12.77
16	M	C	2	10.53
13	M	B	3	34.87
3	F	C	3	19.50
50	M	C	1	27.03
17	M	A	2	51.70
28	M	B	3	37.43
19	M	A	3	39.77
33	33	33	31	33

Carga viral - grupo de crianças infectadas pelo HIV-1

CÓDIGO	IDADE (M)	INÍCIO DOS SINTOMAS (M)	CARGA VIRAL (cóp. / mL)	CARGA VIRAL (LOG)
2	127.60	103.57	.	.
48	97.47	55.47	4400	3.64
20	110.63	12.43	.	.
53	91.63	74.27	500	2.70
26	79.27	58.93	.	.
29	101.37	92.50	500	2.70
18	73.53	23.97	50000	4.70
01	91.80	57.30	.	.
14	94.97	15.90	.	.
27	147.47	9.27	.	.
11	85.40	3.00	84000	4.92
37	122.90	7.73	11000	4.04
5	59.30	40.93	.	.
25	41.47	39.80	25000	4.40
6	30.30	15.80	.	.
23	41.13	19.63	82000	4.91
15	50.73	38.33	7800	3.89
21	45.53	23.27	11000	4.04
7	14.70	3.27	.	.
36	44.87	3.40	1200	3.08
49	15.27	5.77	.	.
4	28.67	7.73	.	.
52	56.90	7.27	330000	5.52
24	13.47	8.97	2000000	6.30
22	19.53	2.30	.	.
44	12.77	6.13	.	.
16	10.53	4.03	340000	5.53
13	34.87	3.93	.	.
3	19.50	5.13	.	.
50	27.03	7.13	6900	3.84
17	51.70	5.17	37000	4.57
28	37.43	5.53	89000	4.95
19	39.77	5.70	220000	5.34
33	33	33	18	18

Dados gerais - grupo soro-reversor

CÓDIGO	SEXO	IDADE
55	M	39.30
57	M	31.27
33	M	48.23
47	F	15.40
56	F	63.18
54	M	22.07
58	M	41.20
41	F	25.20
39	F	9.90
42	M	16.93
40	F	7.90
38	F	24.67
31	M	18.87
34	F	26.50
43	F	31.10
35	F	7.80
32	M	37.10
30	M	17.20
18	18	18

Dados gerais - grupo de referência

CÓDIGO	SEXO	IDADE
71	F	21.00
64	M	32.00
74	F	27.00
81	F	18.00
69	F	48.00
63	M	42.00
66	M	60.00
61	M	60.00
82	F	54.00
76	M	48.00
60	M	108.00
73	M	144.00
65	M	72.00
87	M	90.00
75	F	108.00
72	M	120.00
67	F	81.00
62	F	96.00
86	F	75.00
80	M	117.00
78	F	156.00
70	M	132.00
83	M	108.00
68	F	84.00
85	M	108.00
84	M	96.00
79	F	110.00
77	F	120.00
28	28	28

Variáveis Hematológicas - grupo de crianças infectadas pelo HIV-1

CÓDIGO	HEM. / mm3	Hb - g/dL	Ht - %	Leu / mm3	Neu / mm3	Linf / mm3	Mono / mm3	Eosino / mm3	Baso / mm3	Plaq / mm3
2	3500000	10.8	32	8900	4806	3028	1088	18	53	288000
48	3250000	11.2	33	4930	2584	1183	591	345	0	189000
20	4120000	11.0	35	5800	3434	1670	632	41	17	255000
53	3110000	11.9	34	8630	4430	2990	935	191	82	268000
26	3228000	8.6	27	5700	2970	1824	697	85	51	217000
29	4828000	12.0	36	6720	3280	2410	777	191	60	243000
18	4150000	13.41	39	3400	1394	1564	340	68	34	238000
01	3916000	11.81	34	5300	3016	1272	413	562	37	221000
14	4606000	10.2	34	2600	1126	923	380	138	29	277000
27	3678000	11.5	34	5080	2860	1670	391	100	41	217000
11	4328000	10.1	32	7900	2851	3350	1035	545	126	469000
37	3328000	10.3	30	5300	3520	1080	440	180	10	134000
5	3448000	7.7	25	2800	1120	812	868	0	0	249000
25	4678000	9.7	33	5500	2083	2565	498	381	67	279000
6	4038000	11.5	36	7100	2376	3734	781	142	64	304000
23	4378000	12.2	37	7200	3118	2585	828	576	72	280000
16	4738000	12.6	39	8200	2927	3977	820	435	41	418000
21	3678000	10.5	33	4600	1817	1964	442	317	55	325000
7	4528000	11.6	36	10500	6888	2089	882	535	94	416000
36	4658000	10.4	33	17000	11951	2448	1105	289	17	386000
49	4208000	11.3	35	7900	3200	3730	730	230	10	405000
4	-	10.4	32	6700	1809	3953	623	107	107	279000
52	4538000	13.0	38	10800	4770	4470	1030	452	54	223000
24	4568000	10.1	30	10800	3402	5173	1588	356	281	248000
22	4508000	10.1	33	7700	1840	4843	577	200	131	364000
44	6408000	10.4	34	11500	3330	6620	1280	300	10	398000
16	3668000	9.5	31	7000	1505	4368	987	140	0	678000
13	3658000	9.2	29	5900	2342	2755	543	206	47	277000
3	3128000	10.4	32	8400	2291	3059	691	58	300	339000
50	3298000	9.4	29	8700	2800	5500	400	0	0	421800
17	4248000	13.3	39	10500	6436	3034	798	178	42	283000
28	3458000	10.4	32	5200	1180	3063	816	125	16	342000
19	4138000	10.9	32	7200	3348	2815	540	425	72	265000
33	32	33	33	33	33	33	33	31	29	33

Variáveis hematológicas - grupo de crianças soro-reversoras

CÓDIGO	HEMACIAS / mm3	HB - g/dL	HT - %	Leu / mm3	Neu / mm3	Linfo / mm3	Mono / mm3	Eosino / mm3	Baso / mm3	Plaq / mm3
55	4550000	11.6	35	7250	3190	3233	579	128	122	289000
57	4700000	11.9	36	10900	6690	2490	1070	590	74	270000
33	4020000	10.9	32	8100	3200	4160	590	170	20	418000
47	4850000	11.0	33	10000	1930	7090	800	160	0	319000
56	4930000	12.9	39	7280	2340	4040	438	407	60	269000
54	4550000	11.9	35	8300	3380	3740	850	330	10	296000
58	4620000	12.5	37	7240	1320	4530	774	528	90	228000
41	4850000	11.5	34	12900	3710	7570	1180	440	10	817000
39	4860000	10.7	33	13600	3950	7870	1550	270	0	547000
42	5490000	13.9	40	11800	5300	4750	814	778	130	313000
40	4620000	12.6	37	11900	2740	7540	1420	200	40	361000
38	5070000	13.6	37	10300	-	-	-	-	-	570000
31	4870000	11.1	34	10600	2710	6430	840	620	10	348000
34	5670000	12.8	38	14400	9270	4040	980	90	0	464000
43	4920000	13.6	39	7100	1530	4430	440	680	10	321000
35	4320000	11.7	33	10000	1700	7900	400	0	0	405000
32	5570000	13.7	40	13900	5030	7110	1320	264	135	383000
30	4500000	12.7	37	8900	3471	4450	356	623	0	291000
18	18	18	18	18	17	17	17	16	12	18

Variáveis imunológicas - grupo de crianças infectadas pelo HIV-1

CÓDIGO	IgA - mg/dL	IgG - mg/dL	IgM - mg/dL	IgE - UI/mL	CD3 / mm3	CD4 / mm3	CD8 / mm3
2	1030	1530	121	110	206	7	170
48	609	1530	210	4000	819	28	742
20	230	1980	296	-	1279	119	1102
53	233	2190	295	19	2282	337	1807
26	1530	3340	379	768	1636	277	1311
29	55	2550	115	14	2037	644	1044
18	70	2150	118	178	1500	570	892
01	277	2070	260	1604	910	428	421
14	475	2110	287	17	622	10	423
27	272	1770	265	37	1868	220	1346
11	1380	3170	290	49	2472	372	2011
37	805	2880	281	-	676	65	544
5	115	579	162	-	210	11	185
25	106	1640	146	1337	1813	591	1081
6	186	1960	184	-	2495	967	1385
23	159	2040	96	-	1594	623	798
15	170	2230	224	4000	2865	723	1997
21	558	2400	435	-	1157	54	1012
7	451	1510	222	-	1884	412	1281
36	356	1500	178	4000	2529	611	1313
49	53	1250	54	6	2843	1145	1403
4	475	2720	366	-	-	-	-
52	203	2920	167	631	3370	841	2134
24	1070	2790	216	-	3580	7	3114
22	148	2190	191	-	-	-	-
44	56	2600	208	23	3282	1550	1616
16	152	2650	124	-	7983	1323	6282
13	201	2120	102	1895	2024	78	1515
3	951	2450	618	9	1680	334	1089
50	251	2200	123	458	4710	998	3048
17	0	3080	164	1843	2304	546	1247
28	260	2060	166	396	1863	324	1168
19	281	2470	142	-	2004	383	1495
33	32	33	33	21	31	31	31

Desempenho fagocitário - grupo de crianças infectadas pelo HIV-1

CÓDIGO	CFAGOEAE	CFAGOZM	CFAGOZSN	CFAGOZSP	IFAGOEAE	IFAGOZM	IFAGOZSN	IFAGOZSP
2	423	315	743	-	73.76	39.86	90.98	-
48	208	165	339	329	50.76	18.99	85.30	79.43
20	456	191	666	659	76.23	25.92	86.78	72.72
53	188	133	359	355	37.81	15.68	75.54	81.77
26	220	183	321	249	54.60	33.94	77.77	71.93
29	155	125	268	223	11.90	16.46	66.57	58.56
18	244	-	246	277	65.84	-	86.76	94.46
01	120	196	407	384	12.63	33.44	76.99	81.47
14	-	128	427	303	73.45	14.31	67.41	81.78
27	229	192	447	396	39.95	62.44	88.99	90.04
11	-	-	-	-	68.69	.80	30.10	72.24
37	150	127	534	496	36.40	19.15	87.43	82.06
5	317	155	535	485	67.70	33.05	97.08	95.44
25	201	195	358	465	29.11	15.26	68.44	74.26
6	210	272	346	353	38.95	53.06	69.95	61.72
23	-	119	165	207	-	19.00	60.35	40.15
15	-	107	260	610	39.00	1.62	45.44	30.00
21	244	104	309	224	32.93	7.38	59.77	60.38
7	251	202	483	504	53.52	19.66	86.96	89.81
36	261	113	262	225	45.82	9.47	66.94	48.41
49	164	125	273	290	40.93	25.04	70.26	81.39
4	270	160	263	265	24.55	8.24	49.53	57.06
52	173	141	255	299	32.02	14.84	33.59	37.18
24	168	128	284	244	31.82	7.78	44.73	49.00
22	114	155	156	186	2.12	9.29	4.68	3.72
44	174	-	337	312	17.95	1.35	34.06	64.46
16	261	-	204	219	39.13	2.94	19.05	15.08
13	-	72	295	377	-	8.27	62.14	80.44
3	151	155	225	236	35.03	18.07	53.39	43.70
50	153	102	217	197	47.37	11.08	41.46	39.93
17	-	-	137	311	30.53	.00	2.36	5.69
28	210	133	390	270	23.06	10.96	68.80	62.21
19	250	-	333	603	78.80	1.98	44.18	79.43
33	27	27	32	31	31	31	33	32

Desempenho fagocitário - grupo de crianças soro-reversoras.

CÓDIGO	CFAGOEAE	CFAGOZM	CFAGOZSN	CFAGOZSP	IFAGOEAE	IFAGOZM	IFAGOZSN	IFAGOZSP
55	153	138	407	310	32.91	23.37	78.73	82.72
57	270	100	500	497	79.92	10.20	87.44	93.96
33	103	111	356	214	59.03	10.08	64.05	53.83
47	110	121	361	258	63.86	7.01	73.07	66.58
56	171	111	406	354	40.10	20.36	85.55	83.72
54	142	163	420	332	21.51	33.55	78.67	74.99
58	179	134	481	439	38.87	24.46	68.63	61.03
41	136	129	308	364	17.71	11.78	69.77	77.76
39	149	120	-	450	17.87	13.04	62.40	77.51
42	189	172	370	477	27.40	13.94	66.16	73.70
40	171	-	324	348	28.96	-	66.01	65.62
38	158	118	290	351	30.20	6.00	75.64	67.54
31	197	153	351	400	30.80	24.01	67.84	66.61
34	254	109	258	271	33.16	16.37	59.66	61.11
43	148	100	292	313	34.89	11.33	66.56	60.88
35	139	100	239	-	36.93	12.84	45.38	-
32	188	102	278	244	39.23	5.72	41.88	44.12
30	168	-	-	-	45.80	-	-	-
18	18	16	16	16	18	16	17	16

Desempenho fagocitário – grupo-controle de referência

CÓDIGO	CFAGOEAE	CFAGOZM	CFAGOZSN	IFAGOEAE	IFAGOZM	IFAGOZSN
71	243	163	526	40.14	31.25	84.06
64	227	.	.	55.44	.	.
74	252	.	475	65.26	.	90.19
81	259	.	423	74.28	22.98	75.26
69	182	.	606	74.39	.	90.99
63	211	138	515	76.31	11.69	83.60
66	283	165	523	80.65	36.01	91.96
61	284	144	431	85.75	11.11	85.75
82	259	156	508	85.78	29.56	86.75
76	323	222	595	87.40	39.47	86.18
60	264	170	454	54.92	28.78	93.73
73	313	203	474	63.28	44.05	85.89
65	297	211	426	67.88	24.28	90.34
87	319	196	423	68.05	18.67	81.99
75	308	.	621	72.00	.	.
72	308	229	.	76.74	39.71	.
67	271	.	.	77.27	.	91.92
62	301	195	603	77.40	29.78	97.47
86	383	199	737	77.94	35.32	94.51
80	327	162	442	78.70	27.15	67.48
78	319	269	342	79.96	48.71	.
70	283	168	669	80.10	19.54	92.77
83	254	200	546	82.56	39.48	96.86
68	293	220	638	82.68	32.21	92.36
85	299	179	559	83.36	36.71	93.18
84	257	203	634	84.10	43.29	94.86
79	299	185	476	86.80	21.83	84.47
77	313	.	652	95.73	.	96.56
28	28	21	25	28	22	24

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Projeto de pesquisa: Função de Fagócitos Mononucleares em Crianças Infectadas pelo HIV.

Responsáveis pelo estudo:

Profa. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela

Dr. Marcos Tadeu Nolasco da Silva

Declaro estar ciente que este serviço está fazendo acompanhamento de crianças com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, com idades de 0 a 14 anos, com coleta de exames laboratoriais da criança para avaliar o porquê destas crianças apresentarem mais infecções do que crianças normais.

Estou ciente de que será coletada uma amostra de 20 ml de sangue de veia periférica e de que terei de levar meu (minha) filho(a) ao hospital para exames médicos e laboratoriais (coleta de sangue).

Fui alertado(a) que o estudo não implicará em nenhum gasto monetário, que todas as informações são sigilosas e também que poderei ser informado(a) sobre os resultados no momento que eu desejar.

Sei ainda que o meu consentimento não é obrigatório e que a qualquer momento esta autorização poderá ser suspensa.

Profa. Dra. Maria Marluce dos Santos Vilela

Dr. Marcos Tadeu Nolasco da Silva

Responsável pelo paciente

Paciente:

HC:

Endereço:

Responsável:

RG:

Data:

Em caso de dúvida, ligar:

Comissão de Ética Médica: 289-7910

Profa. Dra. Marluce: 289-8155