

BC/19522
IB/81074



UNICAMP

T/UNICAMP

G585_f

81024

RAQUEL RIBEIRO GOMES



FUNÇÃO ESPLÊNICA NA SÍNDROME DE DOWN

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato(a)

Raquel Ribeiro Gomes

e aprovada pela Comissão Julgadora.

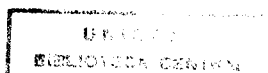
Ramalho
07/05/93

**Tese de Doutorado apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em Genética do
Instituto de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Sérgio Ramalho
Departamento de Genética Médica
Faculdade de Ciências Médicas
UNICAMP**

CAMPINAS

1993



91583

UNIDAD	IB/680
Nº	T/UNICAMP
	65854
	19522
	261/93
	X
PRE	Qd 100,000,00
DATE	07/07/93
Nº	020 2M00045990-7

Esta Tese foi realizada com Bolsa de Doutorado do CNPq.

Os exames laboratoriais foram realizados no Serviço de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP e no Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Y H U H

Ao único que é digno de receber a
glória e a honra, a força e o poder,
ao Rei eterno, imortal, invisível,
mas real.

Dedico este trabalho aos meus amados
Humberto, Sarah e Thalita.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

**Ao Prof. Dr. Antonio Sérgio Ramalho,
amigo, orientador e conselheiro.**

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Denise Y.J. Norato, do Departamento de Genética Médica e Núcleo de Informática Biomédica da FCM-UNICAMP, pela assessoria na análise estatística dos dados.

A Profa. Dra. Helena Z.W. Grotto, do Departamento de Patologia Clínica da FCM-UNICAMP, pela valiosa orientação quanto à metodologia laboratorial utilizada.

Ao Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza, do Departamento de Clínica Médica da FCM-UNICAMP e Coordenador do Hemocentro da UNICAMP, pelas sugestões apresentadas.

A Dra. Lílian M.J. Albano, pelas sugestões referentes às alterações imunológicas nas aberrações cromossômicas.

A Srta. Elza M. Kimura, do Serviço de Hematologia do LPC-HC, pela colaboração técnica.

A Sra. Elvira Correr Dantas que gentilmente procedeu os serviços de enfermagem.

As funcionárias do Serviço de Hematologia do LPC-HC, com especial atenção à Sra. Neusa Arrivabene, pelo auxílio prestado.

A Associação de Pais e Amigos de Excepcionais (APAE) - Araras.

Ao Centro de Desenvolvimento Infantil (Fundação Síndrome de Down).

A Associação de Pais e Amigos de Mongolóides de Campinas (APAM).

A Sra. Maria Cláudia Furlan Hudorovic, pelos serviços de datilografia.

INDICE

I. INTRODUÇÃO	01
I.1 - Alterações imunológicas na síndrome de Down	01
I.2 - Funções imunológicas do baço	06
I.3 - Outras funções do baço	07
I.4 - Avaliação da função esplênica	09
I.5 - Função esplênica na síndrome de Down	14
 II. OBJETIVO	 16
 III. CASUÍSTICA E MÉTODOS	 17
 IV. RESULTADOS	 24
 V. DISCUSSÃO	 34
 VI. RESUMO E CONCLUSÕES	 43
 VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 44
 VIII. ANEXO I	 54

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ALTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS NA SÍNDROME DE DOWN

Os portadores da trissomia do cromossomo 21, ou síndrome de Down, apresentam um aumento nítido de morbidade e de mortalidade, podendo esta última atingir, entre crianças brasileiras com essa aberração cromossômica, valores cinco a seis vezes maiores do que os observados no grupo controle (Oliveira et al., 1992).

O sistema imunológico dos indivíduos com a síndrome de Down tem sido exhaustivamente estudado, uma vez que os mesmos apresentam um aumento significativo da suscetibilidade a infecções, uma alta frequência de alterações autoimunes e um maior risco de desenvolver doenças malignas linfoproliferativas (Ugazio et al., 1990).

As infecções respiratórias representam uma das principais causas de mortalidade na síndrome de Down e estão apresentadas de forma inquestionável na literatura médica (Oter et al., 1964; 1975; Mikkelsen, 1981; Noble e Warren, 1988; Scliver et al., 1989, entre outros). Embora tais afecções respiratórias tenham maior incidência nos dois primeiros anos de vida, elas também são muito evidentes além dessa idade, incluindo a idade prepuberal e mesmo a adolescência (Ribeiro et al., 1987). Como ressaltam Murphy e colaboradores (1990), o aumento da suscetibilidade a infecções apresentado pelos portadores da síndrome de Down ocorre tanto frente a bactérias quanto a vírus. Assim, por exemplo, demonstrou-se que tais indivíduos também são mais sujeitos à hepatite do tipo B (Hawkes et al., 1980; Larocca et al., 1988).

O primeiro trabalho relatando uma associação entre a síndrome de Down e as leucemias foi publicado em 1955 (Bernard *et al.*, 1955) e, desde então, um aumento significativo na incidência de leucemia aguda tem sido claramente demonstrado entre portadores da trissomia do cromossomo 21. De fato, a frequência de leucemias em pacientes com a síndrome de Down tem sido estimada entre quinze a vinte vezes superior à da população geral (Fobia e Drolet, 1970; Fraumeni *et al.*, 1971; Gunz, 1974; Robinson e Neglia, 1987). São descritas ainda leucemias mielóides agudas e doenças mieloproliferativas no período neonatal (Hayashi *et al.*, 1988; Wong *et al.*, 1988). Além disso, outra evidência de que os portadores da síndrome de Down possuem uma resposta imune anormal é fornecida pelo fato de eles apresentarem uma alta frequência de auto-anticorpos, principalmente o "antitiroideano" (Burgio *et al.*, 1965; Ido e Green, 1977; Ugazio *et al.*, 1978; Kanavin *et al.*, 1988).

Revendo a ampla literatura disponível a respeito das alterações imunológicas na síndrome de Down, depara-se com um grande número de dados controversos. Tal fato pode ser decorrente de diferenças metodológicas, sobretudo quanto à idade dos indivíduos examinados e à escolha dos controles. De qualquer forma, as alterações mais frequentemente descritas são as seguintes:

- a) Alterações de linfócitos T. Os linfócitos T de portadores da síndrome de Down têm dificuldade em reconhecer e responder a antígenos específicos, o que pode ser o resultado de uma maturação anômala dessas células dentro do timo (Noble e Warren, 1987; Larocca *et al.*, 1988; Murphy *et al.*, 1990a,b; Ugazio *et al.*, 1990).

- b) Alterações no nível de imunoglobulinas séricas (Ig). Vários estudos têm demonstrado claramente um aumento nos níveis de IgG e diminuição nos níveis de IgM (Adinolfi *et al.*, 1967; Burgio *et al.*, 1975; 1983; Levin, 1987; Ugazio *et al.*, 1990). Alguns estudos indicam que os níveis séricos de IgD estão frequentemente elevados (Rundie *et al.*, 1971), enquanto que os dados referentes aos níveis séricos de IgE não controversos (Jacobs *et al.*, 1978; Whitting *et al.*, 1977).
- c) Baixos níveis de zinco sérico. A deficiência de zinco observada frequentemente na síndrome de Down deve exercer um papel importante na determinação dos distúrbios de diferenciação e função dos linfócitos T (Ugazio *et al.*, 1990). Alguns ensaios terapêuticos demonstraram que a administração de zinco melhora a resposta imunológica em pacientes com a trissomia 21 (Bjorksten *et al.*, 1980; Ribeiro *et al.*, 1987; Franceschi *et al.*, 1988; Stabile *et al.*, 1991). Norato (1987), estudando 32 pacientes brasileiros com a síndrome de Down com idade superior a 5 anos, não constatou, no entanto, alteração da sua concentração de zinco plasmático.
- d) Alteração de receptores do interferon. O gene que codifica o receptor do interferon está localizado no cromossomo 21 (Tan, 1975). Vários estudos têm demonstrado que as células trissômicas, incluindo fibroblastos, monócitos, linfócitos T e células "natural-Killer", têm uma sensibilidade aumentada ao efeito do interferon (Revel *et al.*, 1976; Cupples e Tan, 1977; Weil *et al.*, 1980; Morgensen *et al.*, 1982; Funa *et al.*, 1984; Nair e Schwartz, 1984). Segundo Ugazio *et al.* (1990), a alta sensibilidade das células T ao interferon produzido durante a resposta imune pode exercer uma função inibitória sobre a atividade proliferativa dos linfócitos T e sobre a sua capacidade de gerar respostas citotóxicas.

- e) Alteração da atividade fagocítica. Embora existam controvérsias a respeito do número de polimorfonucleares circulantes na síndrome de Down (Levin, 1987), alguns estudos demonstram uma alteração na função fagocítica, não apenas nos neutrófilos (Barking *et al.*, 1980), mas também nos monócitos (Barroeta *et al.*, 1983). Tal alteração tanto pode estar relacionada à produção reduzida de superóxido (Anne-rén e Bjorksten, 1984), quanto aos níveis mais baixos de zinco (Bjorksten *et al.*, 1980). Uma possível explicação para isso é a conversão do superóxido para peróxido de hidrogênio, pela dismutase de superóxido-1, cujo gene está localizado no cromossomo 21.
- f) Alteração de linfócitos B. O número de linfócitos B circulantes na síndrome de Down é muito controverso, sendo descrito como normal (Bower e Yokoyama, 1972), ou diminuído (Franceschi *et al.*, 1981). Não existem evidências de anormalidades fenotípicas dos linfócitos B na síndrome de Down, mas, segundo Ugazio *et al.* (1990), esse aspecto ainda merece ser melhor investigado.
- g) Resposta a mitógenos. A resposta proliferativa dos linfócitos induzida *in vitro* pela fitohemaglutinina (PHA) ou ainda pela concanavalina A (con-A) tem sido descrita como baixa em indivíduos adultos com a síndrome de Down (Molman *et al.*, 1970; Burgio *et al.*, 1975; Whitting *et al.*, 1977; Gershwin *et al.*, 1977) e normal em pacientes jovens portadores da trissomia 21 (Scheckler *et al.*, 1977; Epstein e Epstein, 1980; Philip *et al.*, 1986).
- h) Imunodeficiência associada à aneuploidia. Um número crescente de anormalidades cromossômicas associadas às imunodeficiências tem sido identificado através de técnicas modernas de biologia molecular. Entretanto, o mecanismo exato dessa associação ainda é desconhecido.

do. Tais aneuploidias geralmente apresentam imunodeficiência tanto humoral quanto celular, como é o caso das trissomias dos cromossomos 21, 18 e trissomia parcial do cromossomo 1, bem como das alterações que envolvem o cromossomo X (Albano, 1992).

A associação entre a imunodeficiência observada nas aneuploidias e o processo de envelhecimento precoce tem sido proposta recentemente. Como comenta Albano (1992), as síndromes de Down, Turner e Klinefelter são as três aneuploidias mais representativas dentre as alterações que essa autora classifica como "síndromes progeróides". Nelas existe um desvio na proporção de genes normais e, certamente, uma regulação gênica deficiente. De acordo com Martin (1979), centenas de genes estariam envolvidos no processo de envelhecimento e, provavelmente, exerceriam mais funções reguladoras do que estruturais.

Lima (1976), estudando a resposta imune no processo de envelhecimento, observou que em camundongos mais velhos a produção de IgM foi inferior a 10% da produção em animais jovens. A resposta a mitógenos específicos para as células B dos camundongos mais velhos também estava diminuída e o declínio das funções das células T precedeu a perda de eficiência das funções das células B. Este achado não pode ser explicado simplesmente por uma falência tímica. De acordo com Lima (1984), é possível que esses fatos façam parte de um fenômeno mais generalizado de perda de eficiência do sistema imune e que talvez sejam importantes para entender os fenômenos autoimunes observados no envelhecimento.

Da mesma forma, recentemente Albano (1992) observou alterações tanto na resposta imune humoral como celular em pacientes com a síndrome de Turner, sugerindo que essas alterações talvez estejam ligadas a um fenômeno mais abrangente de deficiências da resposta imune, no qual o processo de envelhecimento poderia ter alguma participação.

1.2 - FUNÇÕES IMUNOLÓGICAS DO BAÇO

Williams (1990) e colaboradores classificam o baço como um "órgão imunorreativo" extremamente eficiente. Ele capta antígenos circulantes e os concentra na polpa branca, onde a sua interação com células B e T pode levar à formação de anticorpos, principalmente IgM. Ele tem, portanto, uma importante participação no sistema de defesa do organismo. De fato, além de ser o principal local de produção de IgM (Williams *et al.*, 1983, 1990), ele ainda produz a properdina, que é um componente importante da via alternativa do complemento (Eichner, 1979). Além disso, existem evidências de que no baço também seria produzida uma imunoglobulina não específica, conhecida como globulina leucofílica. Esta globulina pertence à classe IgG e libera a tuftsin, um tetrapeptídeo opsonizador que aumenta a capacidade fagocítica dos neutrófilos frente a bactérias (Likhite, 1976). Assim sendo, após a esplenectomia, é possível verificar o decréscimo no nível de IgM sérica, a redução na mobilização de macrófagos e níveis diminuídos de opsoninas e de anticorpos citofílicos (Likhite, 1976).

Essas alterações, em conjunto, tornam os indivíduos esplenectomizados propensos a infecções e septicemias fulminantes (Onwu-

balili, 1983). As crianças apresentam um risco maior do que os adultos, confirmando a importância desse órgão, principalmente nos primeiros anos de vida, quando a concentração de anticorpos no plasma é reduzida e o baço tem papel primordial na captação e destruição de antígenos ainda não reconhecidos imunologicamente (King e Harris, 1952; Winkelstein, 1977).

A alteração na via alternativa de ativação do complemento, causada por deficiência de properdina, determina um sério defeito de opsonização, tornando as crianças mais suscetíveis à infecção por bactérias encapsuladas, como é o caso do pneumococo. Tal suscetibilidade é particularmente importante no período crítico situado entre os seis meses e os três anos de idade. Nesta faixa etária a criança já perdeu a proteção passiva conferida pelos anticorpos maternos e ainda não desenvolveu a imunidade ativa ou adquirida. Nesse período ainda, a ativação do complemento é feita apenas pela via alternativa, uma vez que a via clássica de ativação tem como ponto de partida a ligação antígeno-anticorpo (Serjeant, 1985).

O baço é também uma fonte importante de células supressoras T. Tais células diferenciam-se no baço a partir de seus precursores e, uma vez maduras, migram para os linfonodos (Williams *et al.*, 1990).

1.3 - OUTRAS FUNÇÕES DO BAÇO

O baço possui várias funções, algumas bem definidas e outras ainda mal conhecidas. Dentre as definidas, algumas são desempenhadas pelo baço ativamente e outras somente são exercidas em circuns-

tâncias especiais. A riquíssima vascularização do baço e o seu sistema único de circulação, em parte aberta e em parte fechada, que permite um intenso contato do sangue com as células do sistema retículo-endotelial, são fundamentais ao desempenho das suas funções.

O baço é considerado, tradicionalmente, como um órgão de "filtração" do sangue. Na verdade, trata-se de um processo ativo, promovido pelas células do sistema retículo-endotelial, que removem do sangue circulante os glóbulos vermelhos envelhecidos, lesados, deformados ou com corpúsculos de inclusão, bem como as bactérias e outras partículas estranhas.

Nos indivíduos adultos, a destruição de hemácias senescentes ocorre predominantemente na rede esplênica (Pearson, 1981). Normalmente, após os eritrócitos chegarem ao fim de sua vida média, há uma perda da atividade enzimática e redução da elasticidade da membrana, e conseqüente captação dessas hemácias pelos macrófagos esplênicos (Eichner, 1979). O baço tem também a capacidade de remover uma variedade de inclusões intraeritrocitárias sem destruir as hemácias (Crosby, 1977; Pearson, 1981). Esse mecanismo parece ocorrer durante a passagem das hemácias pelos poros das células endoteliais dos cordões esplênicos. A membrana celular é reconstituída e a hemácia liberada para os sinusóides sem as alterações existentes anteriormente. Esse processo é conhecido como "pitting" (Crosby, 1977; Pearson, 1981; Williams *et al.*, 1983, 1990; Grotto, 1987). Como será comentado com maiores detalhes no próximo item, o processo do "pitting" pode ser usado para avaliar a função esplênica a nível laboratorial.

O baço exerce também uma função de reservatório de sangue, sendo capaz de contrair-se sempre há que necessidade de aumentar

o volume circulante, como em situações de hipóxia, hemorragia, altitudes elevadas, excesso de adrenalina circulante, etc. Tal função, no entanto, é bem menos importante no homem do que em outros mamíferos, sendo preferível atribuir ao baço humano, segundo Williams e colaboradores (1990), a função de armazenamento de algumas células, como plaquetas, linfócitos e reticulócitos.

Durante a vida intra-uterina, o baço desempenha uma função hematopoiética importante, da qual persiste na vida adulta apenas a produção de linfócitos e monócitos. Ele conserva, no entanto, a função potencial do órgão hematopoiético. Tal potencialidade pode tornar-se relevante quando a atividade da medula óssea está muito prejudicada, podendo aparecer focos de formação sanguínea extra-medular no baço.

Esse órgão participa também de alguns processos metabólicos, sobretudo dos relacionados à bilirrubina e ao ferro. Em decorrência da destruição das hemácias, o baço acumula ferro, tornando-o disponível à formação de novas moléculas de hemoglobina. É plausível supor que o baço também participe indiretamente de outros processos metabólicos, uma vez que em várias doenças de depósito (Doenças de Gaucher, Nieman-Pick, etc.) a esplenomegalia infiltrativa é bastante evidente (Alexeev, 1972).

1.4 - AValiação da função esplênica

A redução ou a ausência da função esplênica podem ser reconhecidas por determinadas alterações hematológicas. Algumas dessas alterações são bastante inespecíficas, como o aumento pequeno ou mode-

rado da contagem de leucócitos e de plaquetas. Têm maior valor diagnóstico, no entanto, a presença de células em alvo e, especialmente, de hemácias com corpos de Howell-Jolly e de hemácias com irregularidades de superfície denominadas "pits" (Williams et al., 1990).

Já em 1949, Dameshek (citado por Grotto, 1987) descreveu um caso de hipoesplenismo em um paciente que apresentava alterações no esfregaço sanguíneo, compatíveis com a ausência do baço à autópsia. Na ocasião o autor observou: "O diagnóstico clínico de hipoesplenismo pode ser suspeitado na presença de duas características, que só podem ser detectadas pelo exame cuidadoso de um esfregaço de sangue bem estendido e bem corado: corpúsculos de Howell-Jolly e hemácias em alvo".

As hemácias em alvo, no entanto, são alterações hematólogicas inespecíficas, sendo observadas em grande quantidade, por exemplo, nas talassemias e nas hemoglobinopatias estruturais, sobretudo na hemoglobina C. Alguns homozigotos com a doença da hemoglobina C podem apresentar 40% a 90% de células em alvo no esfregaço sanguíneo (Ramalho, 1986). As hemácias com corpos de Howell-Jolly, que são fragmentos nucleares que deixaram de ser removidos pelo baço, estão quase sempre presentes no hipoesplenismo, mas, segundo Williams e colaboradores (1990), apenas uma em cada 100 a 1000 hemácias os apresenta. Além das células em alvo e com corpos de Howell-Jolly, também são encontrados no hipoesplenismo acantócitos, siderócitos e hemácias com irregularidade de superfície ou "pits" (Grotto, 1987), constituindo essas últimas as indicadoras mais sensíveis do hipoesplenismo (Williams et al., 1990).

A origem dos "pits" eritrocitários, que são visualizados através de microscopia com contraste de interferência, não está ainda totalmente elucidada. Eles parecem corresponder a vacúolos de baixa densidade óptica, localizados próximos da membrana, que conteriam hemoglobina degenerada ou restos de mitocôndria e membrana (Grotto, 1987). Em indivíduos com o baço íntato, a contagem de hemácias com "pits" é baixa, com valores inferiores a 2% (Pearson *et al.*, 1979; Al-Awamy *et al.*, 1984), enquanto que em pacientes esplenectomizados esse valor é significativamente elevado. Como os "pits" são removidos pelo baço, é evidente que a contagem de hemácias com essas irregularidades de superfície é inversamente proporcional à atividade esplênica.

Na figura 1 são apresentadas hemácias com irregularidades de superfície ou "pits".

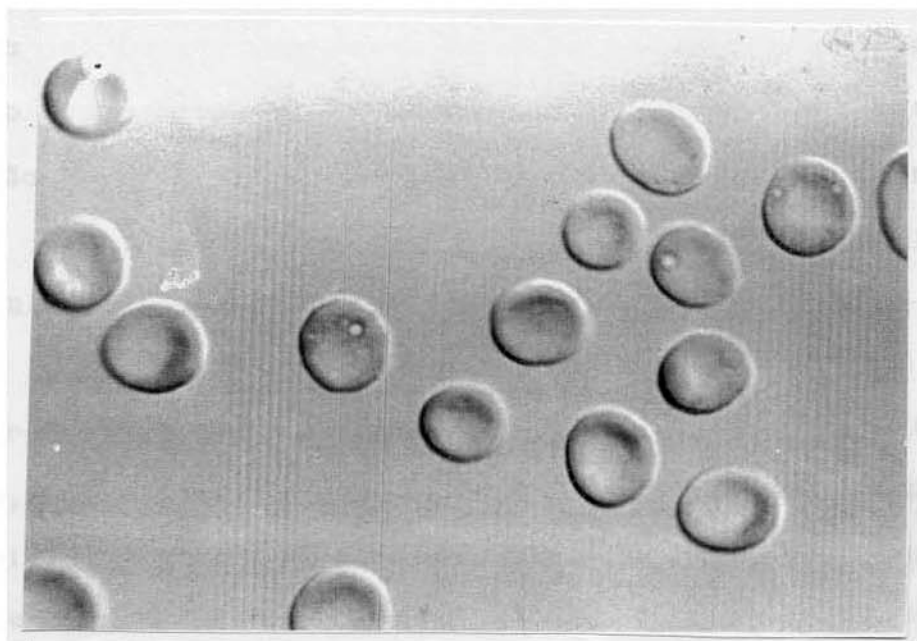


Fig. 1 - Hemácias com irregularidades de superfícies ou "pits"
(Grotto, 1987)

A contagem de hemácias com "pits" tem sido usada como um método complementar ou alternativo em relação aos métodos clássicos de avaliação laboratorial da função esplênica, que empregam isótopos radioativos.

Os métodos tradicionais de avaliação da função esplênica baseiam-se na curva de depuração, através do baço, de hemácias marcadas radioativamente. O isótopo radioativo, geralmente o cromo 51 (Cr^{51}) ou o Tecnécio 99 ($\text{Tc}^{99\text{m}}$), é incorporado a hemácias autólogas, que são posteriormente lesadas ou sensibilizadas, e administradas ao paciente. A sensibilização ou lesão das hemácias é realizada por meio da ação de anticorpos, exposição a complexos metalo-proteína ou inibidores de grupos sulfidrilos ou ainda pela lesão consequente à elevação térmica (Pettit, 1977; Grotto, 1987).

A contagem de hemácias com "pits" tem sido empregada na avaliação da função esplênica em diversas doenças, como a doença celíaca, o lupus eritematoso sistêmico, a dermatite herpetiforme, após irradiação na doença de Hodgkin, e, sobretudo, na anemia falciforme (Corazza *et al.*, 1981; Coleman *et al.*, 1982; Dillon *et al.*, 1982, Rogers *et al.*, 1982; Zago e Bottura, 1983, entre outros). Grotto (1987) empregou esse método na avaliação da função esplênica em pacientes brasileiros com a anemia falciforme, hemoglobinopatia SC e S/Beta-talassemia, bem como em pacientes com esplenomegalia não associada a hemoglobinopatia hereditária e em indivíduos esplenectomizados. Comparando a eficácia desse método com a da técnica radioisotópica de depuração de hemácias marcadas com Cr^{51} , essa autora observou a correspondência de resultados nos casos de hipoesplenia ou de asplenia, mas não nos do hiperosplenia, confirmando a limitação do método da contagem de

"pits" nos casos onde se observa hiperatividade esplênica. Ela constatou também um aumento do número de hemácias com "pits" na vigência de processos infecciosos.

Tal correlação entre as contagens elevadas de hemácias com "pits" e a captação reduzida de hemácias marcadas com isótopos radioativos pelo baço também foi demonstrada em vários outros estudos (Casper *et al.*, 1976; Corazza *et al.*, 1981; Nielson, 1982; Pearson *et al.*, 1983; Zago e Bottura, 1983; Emond *et al.*, 1984; Pearson *et al.*, 1985). Discrepâncias entre os dois métodos só foram relatadas em algumas anemias nutricionais e em homozigotos com a hemoglobina C (Zago *et al.*, 1986).

É interessante comentar, por outro lado, que a contagem de hemácias com "pits" também pode ser utilizada na avaliação da maturidade do sistema fagocitário esplênico. Crianças nascidas a termo apresentam contagens superiores às do adulto normal e essas contagens são mais elevadas em prematuros ou recém-nascidos com baixo peso, refletindo hipofunção esplênica (Hobroyde *et al.*, 1969; Preston e Shahani, 1970).

Embora primariamente relacionado ao sistema fagocitário esplênico, o método de contagem de hemácias com "pits" também está relacionado à função imunológica do baço. Como comenta Grotto (1987), o mecanismo exato da passagem do sangue dos sistemas arterial para venoso do baço não está ainda totalmente elucidado. Aparentemente, a maior parte do fluxo sanguíneo dos capilares é diretamente drenado entre as células reticulares dos cordões esplênicos e gradualmente filtrado para os seios venosos. Esse sistema, conhecido como "circulação aborta" do baço, é caracterizado pela lentidão do fluxo, permitindo que célu-

las fagocíticas esplênicas removem o material particulado do sangue. Em um segundo tipo de circulação, conhecida como "fechada", os capilares comunicam-se diretamente com o lúmen dos solos venozos. Toda essa trama vascular permite que o material particulado ou antígeno macromolecular, inicialmente localizado nos macrófagos da zona marginal, se espalhe aos fagócitos do restante da polpa vermelha e daí para os centros germinativos, onde se inicia a resposta imune, principalmente através da produção de IgM (Bloom e Fawcett, 1977; Eichner, 1979; Grotto, 1987).

1.5 - FUNÇÃO ESPLÊNICA NA SÍNDROME DE DOWN

Apesar da importante participação do baço no sistema de defesa do organismo, a função esplênica nunca foi investigada na síndrome de Down. Essa constatação, à primeira vista bastante surpreendente, talvez possa ser atribuída ao fato de os métodos clássicos de investigação da função esplênica exigirem a administração de compostos radioativos ao paciente. Assim sendo, o emprego dessas técnicas em pacientes com a trissomia 21 encontra um sério empecilho ético, agravado pela maior suscetibilidade desses indivíduos quanto à manifestação de leucemias.

Segundo os especialistas em medicina nuclear, se em lugar do Cr^{51} for usado o tecnécio-99 (Tc^{99m}), o método torna-se inócuo (Early et al., 1979). Mesmo assim, poucos pesquisadores arriscariam o seu emprego em portadores da síndrome de Down, frente à alta probabilidade de intercorrência, mesmo que casual, de um processo neoplásico.

O fato de as infecções respiratórias de repetição serem mais frequentes nos dois primeiros anos de vida dos portadores da trissomia 21 (Ribeiro *et al.*, 1987), torna a investigação da sua função esplênica particularmente interessante, tendo em vista a importante atuação desse órgão nesse período imunológico crítico da infância. Conforme já foi mencionado anteriormente, a função de defesa do organismo exercida pelo baço no período vulnerável, situado entre a perda da imunidade passiva conferida pelos anticorpos maternos e a aquisição da imunidade ativa (6 meses aos três anos), diz respeito tanto ao processo de ativação do complemento pela via alternativa, quanto à remoção direta de microorganismos da circulação sanguínea. Quanto a esse aspecto, é interessante comentar que as disfunções da fagocitose, quimiotaxia e resposta bactericida observadas na síndrome do Down (Albano, 1992) tornam pertinente questionar a função esplênica nessa aneuploidia.

A eventual constatação da existência de uma hipofunção esplênica na síndrome de Down enfatizaria, portanto, os cuidados pediátricos recomendados nessa situação, ou seja, a penicilinoterapia profilática, a vacinação anti-pneumocócica e a vacinação contra o *Haemophilus influenzae* (Williams *et al.*, 1990).

Pelas razões expostas, a contagem de hemácias com "pits", por ser um método simples, eficiente e completamente inócuo para o indivíduo examinado, oferece uma valiosa oportunidade de se avaliar a função esplênica na síndrome de Down.

II - OBJETIVO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a função esplênica em crianças e adolescentes com a síndrome de Down.

III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram estudados 66 indivíduos portadores da síndrome de Down (55 caucasóides e 11 negróides), procedentes do Ambulatório de Síndrome de Down do Hospital das Clínicas da UNICAMP (38), da Associação de Pais e Amigos de Excepcionais de Araras (10), do Centro de Desenvolvimento Infantil (Fundação Síndrome de Down) de Campinas (18) e da Associação de Pais e Amigos de Mongolóides de Campinas (1). A casuística foi composta por crianças e adolescentes, com idades variando de 15 dias a 15 anos, como disposto na tabela I.

Atendendo ao estabelecido no artigo 123 do Código de Ética Médica do Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo (CREMESP, 1988), a coleta de sangue e os exames, realizados em benefício dos pacientes, só foram efetuados após a expressa autorização dos seus responsáveis legais.

Visando a uniformização da casuística, foram incluídos na amostra apenas pacientes com a trissomia regular do cromossomo 21 (cariótipos: 47,XX,+21 ou 47,XY,+21), com diagnóstico confirmado por exame do cariótipo em cultura de linfócitos de sangue periférico, sendo excluídos os pacientes que apresentavam translocações cromossômicas ou qualquer grau de mosaicismismo cromossômico.

Foram eliminados da casuística os pacientes e controles portadores de alterações hereditárias de hemoglobina, uma vez que as mesmas podem determinar alterações hematológicas e, eventualmente, alterações esplênicas (Grotto, 1987).

Não foram incluídos na casuística também os portadores da síndrome de Down com cardiopatia congênita e em tratamento para

anemia e outras alterações hematológicas, bem como de doenças infecciosas.

Todos os pacientes foram pareados com controles normais de mesma idade, sexo, cor e nível sócio-econômico. Essa amostra-controle foi obtida entre indivíduos que realizavam hemogramas para afecções cirúrgicas não infecciosas ou neoplásicas no Serviço de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do HC-UNICAMP.

Os portadores da síndrome de Down e respectivos controles foram classificados em três subamostras, tomando-se por critério a sua fase imunológica: 0 a 6 meses (imunidade passiva), 6 meses a 3 anos (período vulnerável) e 3 anos a 15 anos (imunidade ativa). Na tabela I é apresentada a distribuição dos pacientes portadores da síndrome de Down quanto à faixa etária e ao sexo.

Tabela I - Distribuição dos pacientes portadores da Síndrome de Down quanto à faixa etária e ao sexo.

IDADE	SEXO MASCULINO	SEXO FEMININO	TOTAL
0 - 6 m	10 (15%)	15 (23%)	25 (38%)
6m - 3 a	7 (11%)	06 (9%)	13 (20%)
3 - 15 a	15 (23%)	13 (19%)	28 (42%)
TOTAL	32 (48,5%)	34 (51%)	66 (100%)

Após a realização de uma anamnese para investigação dos antecedentes infecciosos, foi colhida uma amostra de sangue venoso (5 ml) dos pacientes com a síndrome de Down e dos pacientes-controle para avaliação da função esplênica pelo método de contagem de hemácias com "pits", e realização de exames hematológicos complementares. Os dados hematimétricos, a eletroforese de hemoglobinas, a quantificação da hemoglobina A2 e a dosagem da hemoglobina fetal tiveram por objetivo diagnosticar a presença de alterações hereditárias da hemoglobina. Tais exames foram complementados pela contagem de reticulócitos.

1- Avaliação da função esplênica pelo método de contagem de hemácias com "pits" (Grotto, 1987): Uma gota de sangue colhido com anticoagulante foi adicionada a 0,5 ml de formaldeído a 3% em salina tamponada pH 7,4%. Uma gota dessa solução foi transferida para uma lâmina coberta com lamínula e a preparação observada ao microscópio de contraste de interferência (óptica de Normarski). Foram analisadas 1.000 hemácias de cada paciente e determinada a porcentagem de hemácias com irregularidades de superfície ("Pits").

A porcentagem de hemácias com "pits" é inversamente proporcional ao grau da função esplênica, uma vez que esses vacúolos são removidos pelo baço. Assim, os indivíduos com baço íntato e boa função esplênica apresentam porcentagens baixas de hemácias com

* Salina tamponada

A - $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	23,4 g/l	-	18 ml
B - NaHPO_4	-	21,3 g/l	-	82 ml

"pits", geralmente inferiores a 2%, enquanto que os pacientes es-plectomizados, apresentam taxas elevadas dessas hemácias (20-60%) segundo Grotto (1987). Alguns autores (Pearson et al., 1983, 1985; Grotto, 1987, entre outros) classificam os seus pacientes em três grupos de acordo com as contagens de hemácias com "pits":

Grupo I - Menos que 5% de hemácias com "pits", sem alteração significativa de função esplênica;

Grupo II - De 5 a 15%, grupo intermediário que, embora ainda não bem caracterizado, poderia definir redução, mas não ausência total de função esplênica (hipoesplonismo);

Grupo III - Mais que 15%, com acentuada redução ou ausência de função esplênica (asplenia).

Tendo em vista o seu valor prático, essa classificação também foi adotada no presente trabalho.

Com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade do método, a porcentagem de hemácias com "pits" foi determinada por duas pessoas distintas, com a mesma amostra de sangue de oito pacientes, comparando-se os resultados (Tabela II).

Tabela II - Porcentagens de hemácias com "pits" em 2 observações realizadas com a mesma amostra de sangue.

PACIENTES	OBSERVAÇÕES (%)		$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	COEF. DE VARIACÃO
	1	2			
1. BC	0,0	0,2	0,10	0,14	1,40
2. GRSM	0,2	0,7	0,45	0,35	0,77
3. RC	1,0	0,1	0,55	0,63	1,14
4. VKV	1,6	0,9	1,25	0,49	0,39
5. JR	2,0	1,7	1,85	0,21	0,11
6. KRC	2,2	1,5	1,85	0,49	0,26
7. EFS	1,4	1,0	1,2	0,28	0,23
8. FGN	4,2	3,4	3,8	0,56	0,14

Vide anexo

2. Hematimetria: Os valores hematimétricos - contagem de glóbulos vermelhos, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito e dos índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) - foram obtidos através do contador eletrônico Coulter Counter modelo SSr (Exame realizado no Serviço de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do HC-UNICAMP);
3. Eletroforese de hemoglobinas: As amostras de sangue foram submetidas à eletroforese de hemoglobinas, em fitas de acetato de celulose, pH alcalino, realizada a partir de uma solução de hemoglobinas a 10%. Para o preparo dessa solução, o sangue foi centrifugado durante dez minutos a 3000 rpm, aspirando-se em seguida, o plasma so-

ERRATA

Tabela II, página 21

Tabela II - Porcentagens de hemácias com "pits" em 2 observações realizadas com a mesma amostra de sangue.

PACIENTES	OBSERVAÇÕES (%)		d ($x_1 - x_2$)	d^2
	1	2		
1. BC	0,0	0,2	- 0,2	0,04
2. GRSM	0,2	0,7	- 0,5	0,25
3. RC	1,0	0,1	0,9	0,81
4. VKV	1,6	0,9	0,7	0,49
5. JR	2,0	1,7	0,3	0,09
6. KRC	2,2	1,5	0,7	0,49
7. EFS	1,4	1,0	0,4	0,16
8. FGN	4,2	3,4	0,8	0,64

$$\bar{d}=0,39\%; \quad s\bar{d}=0,18\%; \quad t_{(7)}=2,17 < t_{(c)}=2,365.$$

brenadante e o creme leucocitário, que foram desprezados. As hemácias concentradas foram então lavadas quatro vezes em solução salina a 0,9% ou até que o sobrenadante ficasse limpo, sendo posteriormente hemolisadas. Para tanto, empregou-se um volume de água destilada igual ao das hemácias concentradas e metade desse volume de clorofórmio. O hemolisado foi agitado fortemente durante cinco minutos, antes de ser centrifugado durante trinta minutos em alta rotação. A solução de hemoglobinas, separada do estroma das hemácias e do clorofórmio, foi, então, vertida para o outro tubo, ficando assim, pronta para uso. Para a realização da eletroforese de hemoglobinas em um sistema "BOSKAMP" (BOSKAMP GERATEBAU KG, Alemanha), com o emprego de fitas de acetato de celulose secas e microporosas (Sartorius Membranfilter, GMBH, Alemanha), foram utilizados os seguintes reagentes recomendados por Ramalho (1986):

a) tampão tris-glicina pH 9,1 (9,4 g de tris-hidroximetil-aminometano, e 15,067 g de glicina em um litro de água destilada); b) solução corante de amido negro; c) solução descorante de metanol e ácido acético.

4. Quantificação da hemoglobina A₂: A quantificação da HbA₂ foi feita aplicando-se 15 µl do hemolisado em uma fita de acetato de celulose e a eletroforese feita em tampão tris-glicina pH 9,1 por 50 minutos, sendo aplicada uma corrente de 220 volts. Após a separação das hemoglobinas, a fita foi cortada, separando-se a fração correspondente à HbA₂ das demais hemoglobinas. As duas frações foram eluídas por agitação contínua em água destilada: a primeira, com HbA₂ em 3 ml e a segunda, com as demais hemoglobinas em 15 ml. Depois de um período de 4 horas, foi lida a absorbância em 415 nm e calculada a porcentagem de HbA₂ (Weatherall e Clegg, 1972);

5. Dosagem de Hb Fetal pelo método da desnaturação alcalina (Pombrey et al., 1972);
4. Contagem de reticulócitos (Dacie e Lewis, 1972):

Para a contagem de reticulócitos, foram colocadas em um tubo de ensaio duas gotas de sangue e uma gota de solução de azul cresil brilhante*, incubando-se em banho-maria, a 37°C, por quinze minutos. Após esse tempo, o tubo de ensaio foi agitado, realizando-se o esfregão sanguíneo em lâmina de vidro. Com o uso da objetiva de imersão, as hemácias e os reticulócitos foram contados em aproximadamente 100 campos. Os resultados foram calculados em porcentagem e em número absoluto (Exame realizado no Serviço de Hematologia do Laboratório de Patologia Clínica do HC-UNICAMP).

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por microcomputador, utilizando-se o programa MICROSTAT. Foram empregados o teste t de Student, o teste não paramétrico de Wilcoxon para as variáveis que não apresentaram distribuição normal, o teste do qui-quadrado, o teste exato de Fisher, o teste de correlação e o teste de regressão múltipla. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

* Solução de azul cresil brilhante

azul cresil brilhante	- 1,0 g
citrato de sódio	- 0,4 g
NaCl 0,9% q.s.p.	- 100 ml

IV - RESULTADOS

Os resultados individuais das contagens de hemácias com "pits" e dos exames hematológicos complementares dos 66 pacientes com a síndrome de Down e dos indivíduos da amostra-controle são apresentados no ANEXO I (tabelas A-I a A-VI)

Função esplênica

Na tabela III são apresentadas as médias e os desvios-padrão das porcentagens de hemácias com irregularidade de superfície ("pits") observados nos pacientes com a síndrome de Down e nos indivíduos da amostra-controle.

Tabela III - Porcentagens de hemácias com irregularidade de superfície observadas nos pacientes com a síndrome de Down e nos indivíduos da amostra-controle.

	HEMACIAS COM "PITS" (%)					
	S. DE DOWN		CONTROLE			
IDADE	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	Z	P
0 - 6 m	2,20	2,04	1,09	0,95	1,79	0,07
6 m - 3 anos	2,84	1,00	1,73	0,65	2,82	$2,35 \times 10^{-3}$
3 anos - 15 anos	2,12	1,10	1,56	0,59	2,17	0,01

Como é possível observar pelos dados da tabela III, as contagens de hemácias com "pits" foram significativamente maiores nos portadores da síndrome de Down em relação aos controles normais, a partir dos seis meses de idade.

Observando-se, no entanto, os resultados individuais das porcentagens de hemácias com "pits", apresentadas no ANEXO I, é possível constatar que apenas três crianças com a síndrome de Down, com menos de seis meses de idade, apresentaram valores superiores a 5% (5,5%; 6,4% e 6,5%), indicativos de uma possível hipofunção esplênica leve. A prevalência dessa eventual hipofunção esplênica entre as crianças com menos de seis meses de idade (3/25) não diferiu significativamente da observada na amostra-controle da mesma faixa etária (0/25) (Probabilidade exata de Fisher = 0,11).

Função esplênica e antecedentes clínicos de pneumonia e broncopneumonia

Dentre os 25 pacientes com a síndrome de Down com menos de seis meses de idade, três (12%) apresentaram o antecedente clínico de um episódio de pneumonia/broncopneumonia. Dentre os treze pacientes com idades entre seis meses e três anos, nove (70%) apresentaram um ou dois episódios de pneumonia/broncopneumonia. Já dentre os 28 pacientes com mais de três anos de idade, vinte e um (75%) apresentaram de um a oito episódios de pneumonia/broncopneumonia. Os dados individuais a respeito dos antecedentes clínicos dessas infecções respiratórias também são apresentados no ANEXO I. A frequência de pelo menos um episódio de pneumonia/broncopneumonia não diferiu significativamente entre

os pacientes de seis meses a três anos e os de três anos a quinze anos de idade ($\chi^2_{(1)} = 0,15$; $p = 0,70$). Esse resultado enfatiza a importância do período imunológico vulnerável (6 m a 3 anos) na ocorrência de infecções respiratórias na síndrome de Down, embora elas continuem ocorrendo, evidentemente, até a adolescência.

Nos pacientes de seis meses a três anos de idade, observou-se correlação entre a porcentagem de hemácias com "pits" e o número de episódios de pneumonia/broncopneumonia ($r = 0,59$; $P < 0,05$). A regressão múltipla demonstrou que a porcentagem de hemácias com "pits" dependeu significativamente do número de episódios de pneumonia/broncopneumonia ($r = 0,64$; $p = 0,01$), mas não da idade dos pacientes ($r = 0,40$; $p = 0,16$).

Já nos portadores da síndrome de Down de 3 a 15 anos de idade, não foi observada correlação entre a porcentagem de hemácias com "pits" e o número de episódios de pneumonia/broncopneumonia ($r = 0,11$; $p > 0,05$) e a idade ($r = -0,12$; $p > 0,05$). O teste de regressão múltipla demonstrou que, nesse grupo de pacientes, a contagem de hemácias com "pits" não foi influenciada nem pelo número de episódios de pneumonia/broncopneumonia ($r = 0,08$; $p = 0,06$), nem pela idade dos pacientes ($r = 0,21$; $p = 0,26$).

Dados hematológicos complementares

Os exames hematológicos complementares evitaram incluir na casuística do presente trabalho dois portadores da síndrome de Down com talassemia minor e um com o traço falciforme. Dentre os controles, não foi incluída uma criança com o traço falciforme. Esses dados eram

esperados, frente à alta prevalência desses traços hemoglobínicos na população do Estado de São Paulo (Ramalho, 1986).

Nas tabelas IV, V e VI são apresentados os dados hematimétricos observados nos três grupos de portadores da síndrome de Down e respectivos controles.

Tabela IV - Dados hematimétricos observados entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles com menos de 6 meses de idade.

DADO HEMATIMÉTRICO	S. DE DOWN		CONTROLE		t	PROB.
	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$		
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	4,16	0,62	4,36	0,45	-1,29	0,20
Hemoglobina (g/dl)	11,15	1,45	11,47	0,91	-0,90	0,36
Hematócrito (%)	34,98	4,60	36,01	2,27	-0,98	0,32
VCM (μ^3)	80,57	17,17	81,32	5,80	-0,20	0,84
HCM (pg)	27,08	3,70	26,18	1,75	1,07	0,28
CHCM (%)	31,95	1,23	30,55	1,29	-0,97	0,32

Tabela V - Dados hematimétricos observados entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles entre 6 meses e 3 anos de idade.

DADO HEMATIMÉTRICO	S. DE DOWN		CONTROLE		t	PROB.
	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$		
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	4,68	0,79	4,57	0,34	0,38	0,70
Hemoglobina (g/dl)	11,46	0,73	10,81	1,52	1,16	0,26
Hematócrito (%)	36,65	2,56	35,08	3,41	1,10	0,28
VCM (μ^3)	83,00	4,70	77,82	6,20	1,94	0,05
HCM (pg)	26,56	2,38	23,60	3,32	2,20	0,05
CHCM (%)	31,10	1,44	31,11	1,70	0,25	0,80

Tabela VI - Dados hematimétricos observados entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles entre três e quinze anos de idade.

DADO HEMATIMÉTRICO	S. DE DOWN	CONTROLE	t	PROB.
Hemácias ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	$4,46 \pm 0,28$	$4,52 \pm 0,52$	-0,45	0,64
Hemoglobina (g/dl)	$12,45 \pm 1,63$	$12,33 \pm 1,34$	0,29	0,76
Hematócrito (%)	$38,70 \pm 5,20$	$38,35 \pm 4,10$	0,27	0,78
VCM (μ^3)	$92,01 \pm 3,57$	$83,06 \pm 5,80$	5,86	$8,6 \times 10^{-6}$
HCM (pg)	$29,51 \pm 1,53$	$26,76 \pm 2,11$	4,71	$3,2 \times 10^{-5}$
CHCM (%)	$32,08 \pm 0,73$	$31,69 \pm 1,52$	1,03	0,30

Como é possível observar pelos dados das tabelas IV, V e VI, apenas o volume corpuscular médio das hemácias (VCM) e a hemoglobina corpuscular média (HCM) mostraram-se significativamente maiores nos portadores da síndrome de Down, entre 3 e 15 anos de idade.

Nas tabelas VII, VIII e IX são apresentadas as porcentagens de reticulócitos, hemoglobina fetal e hemoglobina A2 observadas nos três grupos de pacientes com a síndrome de Down e respectivos controles.

Tabela VII - Porcentagens de reticulócitos, hemoglobina fetal e hemoglobina A2 observadas entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles com menos de 6 meses de idade.

DADO ANALISADO (%)	S. DE DOWN		CONTROLE		Z	PROB.
	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$		
Reticulócitos	1,33	0,76	0,92	0,36	1,55	0,12
Hb fetal	9,53	11,53	10,06	11,51	-0,44	0,33
Hb A 2	2,63	0,43	2,56	0,41	0,71	0,46

Tabela VIII - Porcentagens de reticulócitos, hemoglobina fetal e hemoglobina A2 observadas entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles, entre 6 meses e 3 anos de idade.

DADO ANALISADO (%)	S. DE DOWN		CONTROLE		Z	PROB.
	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$		
Reticulócitos	1,92	0,83	1,07	0,34	3,33	$4,32 \times 10^{-4}$
Hb fetal	0,73	0,49	0,65	0,42	-0,13	0,44
Hb A 2	2,76	0,43	2,62	0,45	0,82	0,20

Tabela IX - Porcentagens de reticulócitos, hemoglobina fetal e hemoglobina A₂ observadas entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles, entre 3 anos e 15 anos de idade.

DADO ANALISADO (%)	S. DE DOWN		CONTROLE		Z	PROB.
	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$		
Reticulócitos	1,89	0,78	1,14	0,49	3,81	$6,72 \times 10^{-5}$
Hb fetal	0,61	0,36	0,54	0,43	0,50	0,30
Hb A ₂	2,49	0,53	2,68	0,43	-1,10	0,13

Como é possível observar pelos dados das tabelas VII, VIII e IX, as porcentagens de hemoglobina fetal e A₂ não diferiram significativamente entre os pacientes e os controles. Já a porcentagem de reticulócitos mostrou-se significativamente maior nos portadores da síndrome de Down do que nos controles, a partir dos 6 meses de idade.

Segundo Dacie e Lewis (1972), considera-se "reticulocitose" quando o número absoluto de reticulócitos for superior, em crianças e adultos, a $85 \times 10^9/l$. Obedecendo a esse critério, a proporção de indivíduos com reticulocitose foi comparada entre portadores da síndrome de Down e respectivos controles entre 6 meses e 3 anos de idade (Tabela X) e entre 3 anos e 15 anos de idade (Tabela XI).

Tabela X - Proporção de indivíduos com reticulocitose entre portadores da síndrome de Down e respectivos controles, entre 6 meses e 3 anos de idade.

INDIVÍDUOS	Nº ABSOLUTO DE RETICULÓCITOS		TOTAL
	Até $85 \times 10^9/l$	$> 85 \times 10^9/l$	
S. de Down	7	6	13
Controles	13	0	13
TOTAL	20	6	26

Probabilidade exata de Fisher = $7,4 \times 10^{-3}$

Tabela XI - Proporção de indivíduos com reticulocitose entre portadores da síndrome de Down e respectivos controles, entre 3 anos e 15 anos de idade.

INDIVÍDUOS	Nº ABSOLUTO DE RETICULÓCITOS		TOTAL
	Até $85 \times 10^9/l$	$> 85 \times 10^9/l$	
S. de Down	17	11	28
Controles	25	3	28
TOTAL	42	14	56

$\chi^2_{(1)} = 6,09$; $P < 0,02$.

Como é possível observar pelos dados das tabelas X e XI, a frequência de reticulocitose foi significativamente maior nos portadores da síndrome de Down a partir dos 6 meses de idade.

Na tabela XII são apresentados os números absolutos de reticulócitos, excluídos os casos de reticulocitose, observados nos três grupos de pacientes com a síndrome de Down e respectivos controles.

Tabela XII - Números absolutos de reticulócitos, excluídos os casos de reticulocitose, observados entre os portadores da trissomia 21 e respectivos controles.

	<u>Nº ABSOLUTO DE RETICULÓCITOS × 10⁹/l</u>					
	S. DE DOWN		CONTROLE			
IDADE	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	$\bar{x}$	$s(\bar{x})$	t	Prob.
0 - 6 m	42,13	21,17	39,24	13,90	0,54	0,59
6 m - 3 anos	64,82	14,22	50,56	14,16	2,14	0,05
3 anos - 15 anos	59,94	12,10	48,35	18,02	1,71	0,08

Os dados da tabela XI mostram que o número absoluto de reticulócitos não diferiu significativamente entre os portadores da síndrome de Down e os seus controles, quando foram eliminados de ambas as amostras os casos de reticulocitose.

V - DISCUSSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam a ausência de alteração clinicamente significativa da função esplênica em crianças e adolescentes com a síndrome de Down. De fato, apesar de as contagens de hemácias com irregularidades de superfície ("pits") terem se mostrado significativamente mais elevadas nos pacientes com a síndrome de Down a partir dos seis meses de idade, em relação aos indivíduos da amostra-controle, os valores observados são compatíveis com a função esplênica normal. Assim sendo, o hipoesplenismo não deve participar da fisiopatogenia básica da imunodeficiência das crianças e adolescentes com a trissomia do cromossomo 21.

O fato de as infecções respiratórias incidirem com grande frequência nos portadores da síndrome de Down durante o período imunológico vulnerável situado entre os seis meses e os três anos de idade, no qual o baço desempenha importante função de defesa do organismo, não deve ser atribuído, portanto, à hipofunção esplênica. Da mesma forma, os baixos níveis de IgM que são descritos nessa aneuploidia (Adinolfi *et al.*, 1967; Burgio *et al.*, 1975, 1983; Levin, 1987; Ugazio *et al.*, 1990) não devem estar relacionados a algum defeito de captação de antígenos circulantes pelo sistema retículo-endotelial do baço e à sua concentração na polpa esplênica, onde a sua interação com as células B e T leva à formação desse anticorpo (Williams *et al.*, 1990).

As contagens ligeiramente aumentadas de hemácias com "pits" observadas em três pacientes com menos de seis meses de idade provavelmente não tem significado clínico importante. Talvez elas pos-

sam refletir algum grau de imaturidade esplênica inespecífica, hipótese essa reforçada pelo fato de a sua incidência não diferir significativamente entre os pacientes e as crianças da amostra-controle.

O achado de que as porcentagens de hemácias com "pits" são significativamente maiores entre os pacientes com a síndrome de Down em relação aos controles a partir dos seis meses de idade merece duas interpretações alternativas. A primeira, e menos provável, é a de que esse resultado reflete uma característica da função esplênica dos portadores da trissomia 21: significativamente reduzida em relação à do indivíduo cromossomicamente normal, mas insuficiente para justificar um aumento da suscetibilidade a infecções. A segunda hipótese, mais provável, atribui a esse aumento da porcentagem de hemácias com "pits" a característica de consequência, e não de causa, das infecções respiratórias frequentes na síndrome de Down. Dois resultados reforçam essa segunda hipótese: as contagens de hemácias com "pits" mostraram-se correlacionadas com os episódios de pneumonia e broncopneumonia nos pacientes entre seis meses e três anos de idade, período em que as infecções respiratórias são frequentes, e tais porcentagens de hemácias com "pits" mostraram-se particularmente aumentadas em relação aos controles nos pacientes dessa faixa etária. Por outro lado, observando-se os dados individuais dos pacientes desse grupo, especificadas no ANEXO I (Tabela A-III), é possível constatar que 77% deles (10/13) apresentavam de ^{ento} ~~seis~~ meses a um ano de idade. Uma vez que, dentre esses últimos, 70% (7/10) haviam manifestado pelo menos um episódio de pneumonia/broncopneumonia nesse curto período de apenas ^{quatro} ~~seis~~ meses, é fácil deduzir que a avaliação da sua função esplênica foi realizada após a resolução de um episódio recente de infecção respiratória.

Vale a pena comentar aqui o caso do paciente T.J.S., de três anos de idade, excluído da casuística por ser portador de cardiopatia congênita, que apresentou uma porcentagem de hemácias com "pits" de 6% e antecedentes clínicos de nove episódios de pneumonia.

Grotto (1987) observou um aumento do número de hemácias com "pits" durante um episódio de meningite pneumocócica em uma paciente com a anemia falciforme, com posterior redução desse número com a resolução do quadro infeccioso. Essa autora chamou a atenção para a necessidade de investigação a respeito da evolução esplênica durante episódios infecciosos. Assim sendo, embora no presente trabalho a função esplênica tenha sido avaliada na ausência de processo infeccioso, é plausível admitir a hipótese de que o aumento significativo da contagem de hemácias com "pits", observado nos pacientes com a síndrome de Down, seja consequência de um episódio infeccioso recente, já resolvido.

Ao discutir a avaliação da função esplênica realizada no presente trabalho é importante ressaltar também a conveniência da classificação dos pacientes e respectivos controles com menos de seis meses de idade em um grupo à parte, uma vez que diferenças significativas entre os portadores da síndrome de Down e os controles só foram verificadas após essa idade, o mesmo ocorrendo com alguns dados hematológicos. De fato, caso a amostra fosse analisada como um todo, poderiam ocorrer sérias distorções dos resultados. Assim, os dados hematológicos variam muito no período compreendido entre o nascimento e os seis meses de idade (Wintrobe, 1961; Williams *et al.*, 1990). O próprio sistema fagocitário esplênico sofre uma maturação após o nascimento (Holroyde *et al.*, 1969; Preston e Shahani, 1970), o mesmo ocorrendo

com o sistema hemoglobínico (Ramalho, 1986), devendo ocorrer uma grande variação individual nesses processos ontogênicos.

Embora esse trabalho não tivesse por objetivo estudar as alterações hematológicas da síndrome de Down, foram observadas algumas alterações que merecem ser comentadas.

O volume corpuscular médio das hemácias (VCM) e a hemoglobina corpuscular média (HCM), por exemplo, mostraram-se significativamente aumentados entre os portadores da síndrome de Down, a partir dos três anos de idade. Tais alterações também foram observadas por Ibarra e colaboradores (1990) em crianças e adolescentes com a trissomia 21.

O aumento do VCM, traduzindo uma macrocitose, também foi observado por outros autores que estudaram as alterações hematológicas na síndrome de Down (Naiman *et al.*, 1965; Easthan *et al.*, 1969; Akin, 1988; Epstein, 1989), sendo a maioria da casuística investigada nesses trabalhos constituída por adultos.

A macrocitose observada nos portadores da síndrome de Down tem sido geralmente atribuída a uma eventual alteração no metabolismo do ácido fólico e da vitamina B12 (Lejeune, 1979), porém os estudos de Akin (1988) e de Ibarra e colaboradores (1990) constataram níveis séricos normais de vitamina B12 e de folatos nesses indivíduos. No estudo de Ibarra e colaboradores (1990) não foi observada correlação entre o VCM e a HCM e os níveis séricos de vitamina B12 e folatos, mas, mesmo assim, esses autores não descartaram a hipótese de a macrocitose observada na síndrome de Down ser devida a algum distúrbio no metabolismo de folatos, conforme aventado por Lejeune (1979) e indiretamente demonstrado por Lejeune e colaboradores (1986). Nesse último

trabalho, verificou-se uma alta sensibilidade ao metotrexate, que é um inibidor da redutase de dihidrofolato, em culturas de linfócitos de portadores da síndrome de Down.

Uma vez que a associação da macrocitose do portador da síndrome de Down com os distúrbios no metabolismo do ácido fólico e da vitamina B12 ainda está mal caracterizada, outras possíveis causas para essa alteração hematológica merecem ser investigada nessa aneuploidia, tais como a disfunção hepática e tireoidiana, a hemólise sub-clínica, a mielodisplasia, etc. (Colon-Otero *et al.*, 1992).

Ibarra e colaboradores (1990) não apresentaram hipóteses explicativas para o aumento da hemoglobina corpuscular média das hemácias (HCM) que eles também observaram entre crianças e adolescentes com a síndrome de Down. Admitindo-se, no entanto, a possibilidade de um ritmo mais acelerado de maturação eritróide na síndrome de Down, da mesma forma que a ontogênese acelerada de outros sistemas é admitida nessa trissomia (Norato, 1987), é plausível supor a produção de algumas hemácias maiores e com maior conteúdo de hemoglobina que as normais. De acordo com essa nova hipótese, os indivíduos com a trissomia 21 simplesmente teriam a peculiaridade de produzir hemácias maiores e com maior conteúdo de hemoglobina que as das pessoas cromossomicamente normais.

Concordando também com o observado por Ibarra e colaboradores (1990), não foram constatadas, no presente trabalho, diferenças significativas dos níveis de hemoglobina fetal e de hemoglobina A2 entre os portadores da síndrome de Down e controles. Porcentagens aumentadas de hemoglobina fetal em portadores da trissomia 21 foram descritas, no entanto, por Rosner e colaboradores (1965). É importante

ênfatizar, entretanto, que o estudo dessas hemoglobinas tem mostrado ser de grande valia apenas em determinações sequenciais no mesmo indivíduo, realizadas em pacientes com a síndrome de Down, a partir do nascimento (Wilson *et al.*, 1968; Bunn, 1986). Nesses estudos, observa-se que a hemoglobina fetal tende a apresentar valores menores ao nascimento, diminuindo mais rapidamente do que nos controles nos primeiros meses, enquanto que a porcentagem da hemoglobina A2 aumenta mais rapidamente nesse período, evidenciando a ontogênese acelerada.

A alteração hematológica mais instigadora que se constatou no presente trabalho talvez seja, no entanto, o aumento da taxa de reticulócitos observado nos portadores da síndrome de Down em relação aos controles, a partir dos seis meses de idade. Walker e Garrison (1956), estudando 31 pacientes com a síndrome de Down, também observaram um aumento significativo da porcentagem de reticulócitos em relação ao grupo controle.

A análise dos números absolutos de reticulócitos demonstrou que a "reticulocitose" é significativamente mais frequente entre os portadores da síndrome de Down do que nos controles, a partir dos seis meses de idade. A exclusão dos casos de reticulocitose demonstrou, por outro lado, que o número de reticulócitos não difere significativamente entre os pacientes e os controles, evidenciando que o aumento de reticulócitos não pode ser considerado um processo geral na síndrome de Down. É necessário ressaltar, no entanto, que foi observada uma tendência, embora estatisticamente não significativa nesta casuística, ao aumento do número absoluto de reticulócitos na síndrome de Down, a partir dos seis meses de idade, mesmo após a exclusão dos casos de reticulocitose. Não é possível eliminar, portanto, a possibi-

lidade de tal tendência atingir valores estatisticamente significativos com o aumento da casuística.

A simples contagem do número de reticulócitos no sangue periférico, no entanto, não permite conclusão a respeito da atividade eritropoiética, devendo ser complementada por testes de hemólise e por estudos de liberação e maturação dessas células (Dacie e Lewis, 1972). Williams e colaboradores (1990) salientam que o modo variável de liberação dos reticulócitos e de sequestração esplênica dos reticulócitos imaturos, infelizmente, tornam a contagem de reticulócitos apenas uma medida semiquantitativa da taxa de produção de células vermelhas.

De qualquer forma, os resultados do presente trabalho incentivam a realização de estudos específicos sobre os reticulócitos na síndrome de Down. Tais estudos talvez tragam algum esclarecimento, por exemplo, a respeito do aumento de algumas enzimas eritrocitárias que é descrito na trissomia 21.

Várias enzimas apresentam-se aumentadas na síndrome de Down, tais como a uridiltransferase da galactose-1-fosfato, as fosfatases leucocitárias alcalina e ácida, a 5-nucleotidase leucocitária, a anidrase carbônica, a desidrogenase de 6-fosfato de glicose, a NADPH-redutase de metemoglobina, a hexoquinase e a fosfohexoquinase, a dismutase de superóxido-1, a catalase, a peroxidase de glutatíão, a transaminase glutâmico-oxalacética, a desidrogenase de 6-fosfogliconato, a deaminase de adenosina e a carboximetiltransferase (Norato, 1987; Epstein, 1989; Ibarra *et al.*, 1990).

O aumento da dismutase de superóxido-1 é compreensível, uma vez que o seu gene está localizado no cromossomo 21 (Sinet *et al.*, 1974; Ohno *et al.*, 1984). Da mesma forma, os aumentos da catalase e da

peroxidase de glutatíão podem ser entendidos como uma resposta ao aumento das peroxidases resultantes do aumento da conversão dos radicais superóxido, consequente ao excesso de dismutase de superóxido-1 (Sinet *et al.*, 1982). Já o aumento de outras enzimas é difícil de ser explicado com base no efeito da dose gênica.

Como se sabe, os reticulócitos e as hemácias jovens são mais ricos em enzimas que as hemácias mais velhas (Scriver *et al.*, 1989), o que é um fato compreensível, já que as hemácias, por não sintetizarem proteínas, precisam ter estoques de enzimas que lhes permitam permanecer metabolicamente ativas por cerca de cento e vinte dias. A reticulocitose observada na anemia falciforme, por exemplo, chega a mascarar o fenótipo deficiente de G-6-PD (fenótipo Gd-), com exames laboratoriais falsamente negativos (Serjeant, 1974, 1975). Assim sendo, é provável que o aumento significativo da taxa de reticulócitos e, eventualmente, de hemácias jovens, observado na síndrome de Down, esteja relacionado ao aumento de algumas enzimas eritrocitárias, como a desidrogenase de 6-fosfato de glicose, a anidrase carbônica, a transaminase glutâmico-oxalacética, a desidrogenase de 6-fosfogliconato, a diaminase de adenosina, a carboximetiltransferase, a NADPH-redutase de metemoglobina, etc.

Frente ao exposto, seria interessante realizar a dosagem de enzimas eritrocitárias na síndrome de Down, em amostras de sangue das quais fossem retirados os reticulócitos. Saad (1992), por exemplo, utilizando a técnica de separação de reticulócitos por centrifugação, observou uma redução significativa da atividade da desidrogenase de 6-fosfato de glicose em pacientes brasileiros com a anemia falciforme.

é interessante investigar, por outro lado, as relações existentes entre o aumento da taxa de reticulócitos observada na síndrome de Down e o aumento do volume corpuscular médio das hemácias e da hemoglobina corpuscular média. Nesse sentido, a hipótese da maturação eritróide acelerada ("turnover" acelerado) apresentada linhas atrás torna-se particularmente interessante, embora outras causas para o aumento da taxa de reticulócitos tenham que ser investigadas, tais como a hemólise sub-clínica, anticorpos anti-hemácia, etc. Os resultados do presente trabalho apontam, portanto, a necessidade de estudos específicos sobre as alterações hematológicas na síndrome de Down.

VI - RESUMO E CONCLUSÕES

A função esplênica foi avaliada em uma amostra de 66 crianças e adolescentes com a síndrome de Down, pareados com controles normais de mesma idade, sexo, cor e nível sócio-econômico. A metodologia empregada foi a contagem de hemácias com irregularidade de superfície ("pits"), tendo o exame sido realizado na ausência de processo infeccioso.

Apesar de as contagens de hemácias com "pits" terem se mostrado significativamente mais elevadas nos pacientes com a síndrome de Down a partir dos seis meses de idade, em relação aos indivíduos da amostra-controle, os valores observados foram compatíveis com a função esplênica normal. O hipoesplenismo não deve participar, portanto, da fisiopatogenia básica da imunodeficiência de crianças e adolescentes com a trissomia do cromossomo 21.

Os exames hematológicos complementares revelaram aumento do volume corpuscular médio das hemácias (VCM), da hemoglobina corpuscular média (HCM) e da frequência de reticulocitose entre os pacientes com a síndrome de Down, a partir dos seis meses de idade. Esses resultados apontam a necessidade de estudos específicos sobre as alterações hematológicas na síndrome de Down.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIN, K.: Macrocytosis and leukopenia in Down's syndrome. JAMA, 259: 842, 1988.
- AL-AWAMY, B.; WILSON, W.A.; PERSON, H.A.: Splenic function in sickle cell disease in the Eastern Province of Saudi Arabia. J. Pediatr., 104:714-717, 1984.
- ALBANO, L.M.J. - Avaliação clínica e estudo imunológico "in vitro" de pacientes com síndrome de Turner. Tese de Mestrado, Escola Paulista de Medicina, 1992.
- ALEXEEV, G.I.K. - Clinical Haematology. Moscou, Mir Publishers, 1972.
- ANNÉRÉN, G. and BJORKSTEN, B.: Low superoxide levels in blood phagocytic cells in Down's syndrome. Acta Pediatr. Scand., 73:345-348, 1984.
- BARKING, R.M.; WESTON, W.L.; HUMBERT, J.R.; MAIRE, F.: Phagocytic function in Down's syndrome: I - chemotaxis; II - bactericidal activity and phagocytosis. J. Ment. Defic. Res., 24:243-256, 1980
- BARROETA, O.; NUNGARAY, M. et al.: Defective monocyte chemotaxis in children with Down syndrome. Pediatr. Res., 17:292-5, 1983.
- BERNARD, J.; MATHE, G.; DELORME, J.C.; BARNOND, O.: Les leucoses des très jeunes enfants. Arch. Fr. Pédiatr., 12:470,, 1955.
- BOWER, L.A. and YOKOYAMA, M.: Lymphocyte antigens in patients with Down's syndrome. Vox. Sang., 22:539, 1972.
- BJORKSTEN,, B.; BACK, O.; GUSTAVSON, H.; HALLMANS, G.; HAGGLOF, B.; TARNVICK, A.: Zinc and immune function in Down's syndrome. Acta Paediatr. Scand., 69:183-187, .
- BLOOM, W.; FAWCETT, D.W.: Tratado de Histologia. 10a. edição, Editora Interamericana Ltda., Rio de Janeiro, 1977.

- BUNN, H.F.: Hemoglobins A2, F and A1c and other human hemoglobin components. In: BUNN, H.F.; FORGET, B.G: Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. 2nd, Philadelphia, W.B.; Saunders Company, 1986.
- BURGIO, G.R.; SEVERI, F.; ROSSONI, R., VACCARO, R.: Mongolism and thyroid autoimmunity. Lancet, 1:166-167, 1965.
- BURGIO, G.R.; UGAZIO, A.G.; NESPOLI, L. et al.: Derangements of immunoglobulin levels, phytohemagglutinin responsiveness and T and B cell markers in Down's syndrome at different ages. Eur. J. Immunol., 5:600-603, 1975.
- BURGIO, G.R.; UGAZIO, A.G.; NESPOLI, L.; MACCARIO, R.: Down syndrome: a model of immunodeficiency. Birth Defects: Original Article series, 19:325-327, 1983.
- CASPER, J.T.; KOETHE, S.; RODEY, G.E.; THATCHER, G.: A new method for studying splenic reticuloendothelial dysfunction in sickle cell disease patients and its clinical application: a brief report. Blood, 47:1813-188, 1976.
- COLEMAN, N.; Mc DOUGALL, R.; DAILEY, M.D.; AGER, P.; BUSH, S.; KAPLAN, H.S.: Functional hyposplenism after splenic irradiation for Hodgkin's disease. Ann. Intern. Med., 96:44-47, 1982.
- COLON-OTERO, G.; MENKE, D. and HOOK, C. - A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient with macrocytic anemia. Medical Clinics of North America, 76:581-597, 1992.
- CORAZZA, G.R.; BULLEN, A.W.; HALL, R.; ROBINSON, P.J.; LOSOWSKY, M.S.: Simple method of assessing splenic function in coeliac disease. Clin. Sci., 60:1092-113, 1981.

- CREMESP - Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo: Código de ética Médica, São Paulo, 1988.
- CUPPLES, C.G.; TAN, Y.H.: Effect of human interferon preparations on lymphoblastogenesis in Down's syndrome. Nature, 267:165-167, 1977.
- DACIE S.J.V. and LEWIS, S.M. - Practical Haematology. 6th ed., Churchill Livingstone, 1984.
- DILLON, A.M.; STEIN, H.B.; ENGLISH, R.A.: Spleen atrophy in systemic lupus erithematosus. Ann. Intern. Med., 96:40-43, 1982.
- EARLY, P.J.; MUHAMMAD, A.R. and Sodee, D.B.: Textbook of Nuclear Medicine Technology. Ed. St. Louis, 1979.
- EASTHAM, R.D.; JUNCAR, J.: Macrocytosis in Down's syndrome. Lancet, i:895, 1969.
- EICHNER, E.R.: Splenic function: normal too much and too little. Am. J. Med., 66:311-320, 1979.
- EMOND, A.M.; VENUGOPAL, S.; MORAIS, P.; CARPENTER, R.J.; SERJEANT, G.R.: Role of splenectomy in homozygous sickle cell disease in childhood. Lancet, ii:88-91, 1984.
- EPSTEIN, C.J.: Down syndrome. In: SCRIVER, C.R.; BEAUDIT, A.L.; SLY, W.S.; VALLE, D.: The Metabolic Basis of Inherited Disease, vol. I, 6th, New York, McGraw Hill, 1989.
- FOBIA, J. and DROLETTER, M.: Malformations and leukemia in children with Down's syndrome. Pediatr., 45:00, 1970.
- FRANCHESCHI, C.; CHIRICOLO, M.; LICASTRO, F.; ZANNOTTI, M.M.; MOCCHEGIANI, E.; FABRIS, N.: Oral zinc supplementation in Down's syndrome: restoration of thymic endocrine activity and of some immune defects. J. Ment. Defic. Res., 32:169-181, 1990.

- FRAUMENI, J.F.; MANNING, M.D.; MITUS, W.J.: Acute childhood leukemia: Epidemiological study by all type in 1263 cases at the children's Cancer Research Foundation in Boston. J. Natl. Cancer Inst. 46:461, 1947-1965.
- FUNA, K.; ANNÉRÉN, G.; ALM, G.V.; BJORKSTEN, B.: Abnormal interferon production and NK cell responses to interferon in children with Down's syndrome. Clin. Exp. Immunol. 56:493-500, 1984.
- GROTTO, H.Z.W.: Aspectos da função esplênica nas doenças falciformes. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, 1987.
- GUNZ, F.W.: Genetics of human leukemia. Ser. Haematol. 7:164, 1974.
- HAYASHI, Y.; EGUCHI, M.; SUGITA, K.; NAKAZAWA, S.; SATO, T.; KOJIMOS, BESSHO, F.; KONISHI; INABA, T.; HANADA, R.; YAMAMOTO, K.: Cytogenetics findings and clinical features of acute leukemia and transient myeloproliferative disorder in Down's syndrome. Blood 72:15-23, 1988.
- HAWKES, R.A.; BOUGHTON, C.R.; SCHOETER, D.R.; DECKER, R.H.; OBERBY, L.R.: Hepatitis B infection in institutionalized Down's syndrome inmates: A longitudinal study with five hepatitis B virus markers. Clin. Exp. Immunol. 40:478-486, 1980.
- HOLROYDE, M.B.; OSKI, F.A.; GARDNER, F.H.: The "pocked" erythrocytes red cell surface alterations in reticuloendothelial immaturity of the neonate. N. Engl. J. Med. 281:516-520, 1969.
- IDO, Y.; GREEN, P.: Down's syndrome and autoimmunity. Am. J. Med. Sci. 273(1):95-99, 1977.
- JACOBS, P.F.; BURDASH, N.M.; MANOS, J.P.; DUNCAN, R.C.: Immunological parameters in Down's syndrome. Ann. Clin. Lab. Sci. 8:17, 1978.

- KANAVIN, O.; SCOTT, H.; FAUSA, O.; EK, J.; GAARDER, P.I.; BRANDTZAEG, P.: Immunological studies of patients with Down's syndrome. Acta Med. Scand., 244:473-477, 1988.
- KING, H.; HARRIS, H.B.: Splenic studies. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. Ann. Surg., 136:239-242, 1952.
- LAROCCA, L.M.; PIANTELLI, M.; VALITUTTI, S.; CASTELLINO, F.; MAGGIANO, N.; MUSIANI, P.: Alterations in thymocyte subpopulations in Down's syndrome (trisomy 21). Clin. Immunol. Immunopathol., 49:175-186, 1988.
- LEJEUNE, L.: Investigations biochimiques et trisomie 21. Ann. Génét., 22:67, 1979.
- LEJEUNE, J.; RETHORÉ, M.O.; BLOIS, M.C.; MAUNOURYBURROLA, C.; MIR, M.; NICOLLE, L.; BOROWY, F.; BORGHI, E.; RECAN, D.: Métabolisme des monocarbones et trisomie 21: sensibilité au methotrexate. Ann. Génét., 29:16, 1986.
- LEVIN, S.: The immune system and susceptibility to infections in Down syndrome. In: McCOY, E., EPSTEIN, C. (eds.), Oncology and Immunology of Down syndrome. New York: Alan R. Liss, pp. 143-162, 1987.
- LIKHTE, V.V.: Immunological impairment and susceptibility to infection after splenectomy. JAMA, 236:1376-1377, 1976.
- LIMA, M.G.: Alterações imunitárias no envelhecimento. Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina, 1976.
- MARTIN, G.M.: Genetic and evolutionary aspects of aging. Fed. Proc., 38:1962-1967, 1979.

- MIKKELSEN, M.: Epidemiology of trisomy 21: Population over and antenatal data. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag, pp. 211-226, 1981.
- MORGENSEN, K.E.; VIGNAX, F.; GRESSER, I.: Enhanced expression of cellular receptors for human interferon alpha on peripheral lymphocytes from patients with Down's syndrome. FEBS, 1004:285-287, 1982.
- MURPHY, M.; LEMPERT, M.J.; EPSTEIN, L.B.: Decrease level of T cell receptor expression by Down syndrome (trisomy 21) thymocytes. Am. J. Med. Genet. Suppl. 7:234-237, 1990.
- MURPHY, M. and EPSTEIN, L.B.: Down syndrome (Trisomy 21) thymuses have a decrease proportion of cells expressing high levels of TCR , and CD3. Clin. Immunol. Immunopathol., 55:453-467, 1990.
- NAIMAN, J.L.; OSKY, F.A.; MELLAMAN, W.J.: Phosphorinase activity of erythrocytes in mongolism. Lancet, 1:821, 1965.
- NAIR, M.P.N. and SCHWARTZ, S.A.: Association of decreased T cell mediated natural cytotoxicity and interferon production in Down's syndrome. J. Clin. Immunol. Immunopathol., 33:412-424, 1984.
- NIELSEN, J.L.: Influence of residual splenic tissue on the presence of vacuolated erythrocytes in splenectomized patients. Scand. J. Haematol., 28:451-455, 1982.
- NOBLE, R.L. and WARREN, R.P.: Altered T-cell subsets and defective T-cell function in young children with Down syndrome (trisomy 21). Immunol. Invest., 16(5):371-382, 1987.
- NOBLE, R.L.; WARREN, R.P.: Analysis of blood cell populations, plasma zinc and natural killer cell activity in young children with Down's syndrome. J. Ment. Defic. Res., 32:193-201, 1988.

- NORATO, D.Y.J.: A anidrase carbônica eritrocitária na síndrome de Down. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 1987.
- OHNO, H.; IIZUCA, S.; KONDO, T.; YAMAMURA, K.; SEKIYA, C. and TANIGUCHI, N.: The levels of superoxide dismutase, catalase and carbonic anhydrase in erythrocytes of patients with Down's syndrome. Klin. Wschr., 61:287-288, 1984.
- OLIVEIRA, A.M.C.; BOROVNIK, C.L.; BRUNONI, D.; HIRONAKA, C.H. e CHEDICK, E.S.: Síndrome de Down: incidência, indicadores de morbidade e mortalidade em uma amostra de nativos. Rev. Bras. Genet., 15(Supl.):120, 1992.
- ONWUBALILI, J.K.: Sick cell disease and infection. J. Infect., 7:2-20, 1983.
- OTER, J.; MIKKELSEN, M.; NIELSEN, A.: Mortality and life table in Down's syndrome. Acta Paediatr. Scand., 64:322-326, 1975.
- OTER, J.; MIKKELSEN, M.; NIELSEN, A.: The mortality and causes of death in patients with Down's syndrome (mongolism). Proc. Int. Copenhagen Congr. Sci. Study Ment. Retard., 1964.
- PEARSON, H.A.; Mc INTOSH, S.; RITCHEY, A.K.; JEFFREY, S.L.; ROOKS, Y.; JOHNSTON, D.: Developmental aspects of splenic function in sickle cell diseases. Blood, 53: , 1979.
- PEARSON, H.A.: The spleen and disturbances of spleen function. In: NATHAN e OSKI. Hematology of infancy and childhood, 21a. ed. Philadelphia, London, Toronto, W.B., 1981.
- PEARSON, H.A.; CHILCOTE, R.; SULLIVAN, E.; GALLAGER, D.; AL-AWAMY, B.; WILSON, W.A.: Sick cell anemia in America and Saudi Arabia - Cross ethnic correlates. Pediatr. Res., 17: , 1983.

- PEARSON, H.A.; GALLAGER, D.; CHILCOTE, R.; SULLIVAN, E.; WILIMAS, J.; ESPELAND, M.; RITCHEY, A.K. and the cooperative study of sickle cell disease: Developmental pattern of splenic dysfunction in sickle cell disorders. Pediatrics, 76:392-397, 1985.
- PETTIT, J.E.: Spleen function. Clin. Haematol., 6:639-656, 1977.
- PRESTON, F.E. and SHAHANI, R.T.: Surface ultramicroscopy of neonatal erythrocytes. Lancet, 1:1177-1178, 1970.
- RAMALHO, A.S.: As hemoglobinopatias hereditárias. Um problema de Saúde Pública no Brasil. Ribeirão Preto, Ed. Soc. Bras. Genética, 1986.
- REVEL, M.; BASH, D.; RUDDLE, F.H.: Antibodies to cell surface component coded by human chromosome 21 inhibit action of interferon. Nature, 260:139-141, 1976.
- RIBEIRO, A.G.; FIALHO, J.; FADUL, I.; CAMBRAIA, H.B: Zinco e imunodeficiência na síndrome de Down. O Médico, 1859:527-530, 117, Porto-Portugal, 1987.
- ROBINSON, L.; NEGLIA, J.P.: Epidemiology of Down syndrome and childhood acute leukemia. In: Mc Coy, E.; Epstein, C. (eds.): Oncology and Immunology of Down syndrome. New York, Alan R. Liss:19-22, 1987.
- ROGERS, D.W.; SERJEANT, B.E.; SERJEANT, G.R.: Early rise in "pitted" red cell count as a guide to susceptibility to infection in childhood sickle cell anemia. Arch. Dis. Child., 57:338-342, 1982.
- RUNDLE, A.T.; CLOTHIER, B.; SUDELL, B.: Serum IgD levels and infections in Down's syndrome. Clin. Chim. Acta, 35:389, 1971.
- SAAD, S.T.O. and COSTA, F.F.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle cell disease in Brazil. Human Hered., 42:125-128, 1992.

- SCRIVER, R.S.; BEAUDET, A.L.; SLY, W.S., VALLE, D.: The metabolic basis of inherited disease. 6th ed., N. York, McGraw-Hill, 1989.
- SERJEANT, G.R.: The clinical features of sickle cell disease. Amsterdam, North-Holland, 1974.
- SERJEANT, G.R.: Sickle cell disease. Oxford Medical Publications, 1985.
- SINET, P.M.; ALLARD, D.; LEJEUNE, J. e J  ROME, H.: Augmentation d'activité de la superoxyde dismutase erythrocytaire dans la trissomie pour le chromosome 21. C.R. Acad. Sci. Paris, 270:3267-70, 1974.
- SINET, P.M. - Metabolism of oxygen derivatives in Down's syndrome. Ann. N.Y. Acad. Sci., 396:83-94, 1982.
- STABILE, A.; PESARESI, A.; STABILE, M.; PASTORE, M.; SOPO, M.S.; RICCI, R.; CELESTINI, E.; SEGNI, G.: Immunodeficiency and plasma zinc levels in children with Down's syndrome: a long-term follow-up of oral zinc supplementation. Clin. Immunol. Immunopathol., 58:207-216, 1991.
- TAN, Y.H.: Chromosome 21 dosage effect on inducibility of anti-viral genes. Nature, 253:280-282, 1975.
- UGAZIO, A.G.; JAYAKAR, S.; MARCIONI, A.F.; DUSE, M.; MONAFO, V.; PASQUALI, F.; BURGIO, G.R.: Immunodeficiency in Down's syndrome. Relation ship between presence of human thyroglobulin antibodies and HBs Ag carrier status. Eur. J. Pediatr., 126:139-46, 1978.
- UGAZIO, A.G.; MACCARIO, R., NOTARANGELO, L.D.; BURGIO, G.R.: Immunology of Down syndrome: a review. Am. J. Med. Genet. Suppl., 2:204-12, 1990.
- WAEKER, A. and GARRISON, M.: The reticulocyte count in mongols. Am. J. Ment. Defic., 70:509-511, 1956.

- WEIL, J.; EPSTEIN, L.B.; EPSTEIN, C.J.: Synthesis of Interferon induced polypeptides in normal and chromosome 21 aneuploid human fibroblast: relationship to relative sensitivities in antiviral assays. J. Interferon Res., 1:111, 1980.
- WILLIAMS, W.J.; BEUTLER, R.; ERSLEV, A.J.; LICHTMAN, M.A.: Hematology. 3rd., McGraw-Hill Book Comp., USA, 1983.
- WILLIAMS, W.J.; BEUTLER, R.; ERSLEV, A.J.; LICHTMAN, M.A.: Hematology. 4rd., N. York, McGraw-Hill, 1990.
- WILSON, M.G.; SCHROEDER, W.A. and GRAVES, D.A.: Postnatal changes of hemoglobin F and A2 in infants with Down's syndrome (G trisomy). Pediatrics, 42:349-353, 1968.
- WINKELSTEIN, J.A.: Pneumococcal infections in sickle cell disease. J. Pediatr., 91:521-522, 1977.
- WINTROBE, M.M.: Clinical Hematology. 5a. ed., Philadelphia, Lea e Febiger, 1961.
- WONG, K.Y.; JONES, M.M.; STRIVASTAVA, A.K.; GRUPPO, R.A.: Transient myeloproliferative disorder and acute non lymphoblastic leukemia in Down syndrome. J. Pediatr., 112:18-22, 1988.
- ZAGO, M.A. and BOTTURA, C.: Splenic function in sickle cell disease. Clin. Sci., 65:297-302, 1983.
- ZAGO, M.A.; COSTA, F.F.; FIGUEIREDO, M.S.; BOTTURA, C.: Discrepancy between pit counting and spleen function in nutritional anemias and hemoglobinopathy C. Nouv. Rev. Fr. Hematol., 28:81-84, 1986.

A N E X O I

TABELA A 1 - Dados hematológicos, contagens de "pits" e episódios de pneumonia dos portadores da síndrome de Down com menos de seis meses de idade.

Nº	NOME	SEXO	IDADE (meses)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9/l$)	EPISÓDIOS DE PNEUMONIA (nº)	
1	MRE	F	0,5	4,91	15,1	48,2	98,1	30,7	31,3	3,0	43,0	4,1	0,5	24,55	-
2	HMF	M	1	2,74	9,9	30,6	111,8	36,0	32,2	2,8	36,0	0,1	1,3	35,62	-
3	ELC	F	2	3,23	9,6	30,8	95,1	29,5	31,1	2,1	19,0	2,0	2,1	67,83	-
4	GRSM	F	3	3,24	10,8	31,9	98,3	33,3	33,8	2,8	19,0	0,2	0,7	22,68	-
5	VKS	F	3	4,05	11,9	36,8	90,8	29,3	32,3	2,3	21,6	5,5	2,4	97,20	-
6	CAM	F	3	3,98	11,8	38,0	89,0	28,0	32,0	2,8	12,0	2,0	0,7	27,86	1
7	SRL	F	3	3,88	10,6	35,1	90,3	27,4	30,3	3,1	10,7	0,8	0,9	34,92	-
8	CLN	M	4	4,04	10,1	31,1	76,9	25,1	32,7	2,5	17,0	0,1	1,6	64,64	1
9	ERC	F	4	4,24	12,1	36,9	87,0	28,4	32,6	2,2	7,1	2,1	0,9	38,16	-
10	EJO	M	4	3,92	9,6	29,8	75,8	24,4	32,2	2,6	12,0	1,8	1,3	50,96	-
11	HCM	M	4	4,32	12,8	37,3	86,2	29,8	34,5	1,9	9,5	0,8	0,3	12,96	-
12	VBAM	F	5	3,51	10,6	32,8	93,5	30,3	32,4	3,0	7,0	6,4	2,2	77,22	-
13	RPM	M	5	4,32	11,6	35,7	82,6	26,8	32,5	2,2	0,9	6,5	3,1	133,92	-
14	FAS	F	5	3,78	10,8	31,8	84,1	28,6	34,0	3,1	2,8	1,4	1,9	71,82	-
15	GRS	F	5	4,52	10,3	32,3	71,4	22,9	32,0	1,8	1,5	1,1	0,8	36,16	-
16	BAS	F	5	4,02	9,9	33,9	84,4	24,6	29,1	2,1	0,9	1,2	0,9	36,18	-
17	VFS	M	5	5,36	11,4	37,8	70,6	21,3	30,2	3,0	1,0	4,8	2,0	107,20	-
18	FC	M	6	4,26	11,2	35,2	82,6	26,4	32,0	3,2	0,9	2,2	0,5	21,30	-
19	NBM	M	6	4,48	11,3	34,1	76,1	25,2	32,2	2,9	1,5	5,0	1,8	80,64	-
20	AS	M	6	4,97	10,2	33,5	67,4	20,5	30,4	2,8	0,9	0,9	0,3	14,91	-
21	BC	F	6	5,30	12,1	39,2	73,9	22,8	30,8	3,2	1,2	0,0	1,7	90,10	-
22	DRB	M	6	4,11	8,4	27,1	66,0	20,4	30,9	2,5	1,4	0,7	0,8	32,88	-
23	KCR	F	6	4,10	11,6	37,0	90,4	28,3	31,3	2,5	0,8	3,0	1,2	49,20	1
24	DAS	F	6	5,38	13,9	44,4	82,5	25,8	31,3	2,5	1,0	4,5	2,3	123,74	-
25	RC	F	6	4,55	11,6	36,2	79,6	25,5	32,0	3,3	1,0	1,0	2,1	95,55	-

Tabela A II - Dados hematológicos e contagem de "pits" dos indivíduos da subamostra controle com menos de seis meses de idade.

Nº	SEXO	IDADE (meses)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9/l$)
1	F	0,5	4,58	13,4	39,7	92,0	29,8	33,0	2,8	41,5	3,0	0,7
2	M	1	3,966	11,8	37,1	82,0	25,0	29,0	2,1	40,0	0,1	0,5
3	F	2	3,52	9,6	32,0	89,0	27,4	30,2	1,9	23,0	0,2	1,0
4	F	2	4,36	11,5	36,9	92,0	26,9	32,1	1,9	22,0	0,3	1,0
5	M	3	4,44	11,4	37,8	81,2	29,5	31,5	3,0	11,5	1,6	1,2
6	F	3	4,02	10,8	37,3	82,0	25,8	31,6	2,5	11,5	1,4	1,0
7	F	3	4,01	11,2	36,8	89,0	25,4	29,4	2,6	11,1	1,4	0,7
8	M	3	3,96	10,2	35,9	78,2	23,9	29,3	3,5	15,0	0,0	0,9
9	F	4	3,92	10,7	34,1	75,8	24,4	32,2	3,0	11,8	1,8	1,1
10	M	4	4,02	10,1	30,7	78,0	25,6	28,8	1,8	10,5	1,6	0,7
11	M	4	5,01	12,7	35,0	79,0	25,0	32,0	2,2	7,0	0,3	0,5
12	F	4	3,98	10,4	34,0	91,0	27,8	31,4	2,8	11,5	1,8	1,7
13	M	5	5,10	11,4	37,0	81,0	27,4	30,2	2,4	4,0	2,6	0,5
14	F	5	4,42	11,5	36,0	81,5	26,0	31,9	3,0	7,9	1,4	1,2
15	F	5	4,90	12,0	36,0	77,0	24,0	30,0	2,3	2,4	0,5	0,5
16	F	5	5,01	11,2	37,2	78,0	25,6	31,2	2,9	1,7	0,6	0,5
17	M	5	4,01	10,8	36,6	78,0	25,3	28,3	2,8	5,7	3,0	1,8
18	M	6	3,74	11,7	36,9	81,0	27,5	29,1	3,0	1,0	1,2	0,9
19	M	6	4,24	10,9	35,0	78,0	27,0	29,0	2,4	1,1	0,3	0,9
20	M	6	4,34	11,7	31,0	72,0	23,0	32,0	2,5	1,0	0,7	1,0
21	F	6	4,84	11,7	37,1	77,0	25,0	28,9	2,6	1,5	0,1	0,7
22	M	6	5,04	13,1	37,0	78,0	25,0	29,0	2,5	2,0	0,0	0,5
23	F	6	4,75	12,1	39,1	80,1	27,0	31,0	2,4	0,7	2,1	1,2
24	F	6	4,34	12,1	37,8	87,0	28,5	29,4	2,8	1,0	2,9	1,3
25	F	6	4,32	12,1	37,0	72,0	27,0	32,0	2,5	0,7	0,4	1,0

Tabela A III - Dados hematológicos, contagem de "pits" e episódios de pneumonia dos portadores da síndrome de Down com idades entre seis meses e três anos.

Nº	NOME	SEXO	IDADE (anos)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9 / l$)	EPISÓDIOS DE PNEUMONIA (nº)
1	PHS	M	0,66	4,25	8,1	27,0	63,6	27,0	29,9	3,4	0,0	4,0	1,2	51,10
2	DGS	M	0,66	4,42	11,8	34,3	77,5	26,7	34,5	3,0	1,4	3,0	1,8	79,56
3	FFA	F	0,66	4,46	11,2	36,3	81,5	25,1	30,8	3,0	1,0	4,3	1,4	62,44
4	JSP	M	0,75	4,65	12,3	39,0	84,0	26,4	31,5	2,5	0,2	2,0	1,9	88,35
5	MRM	F	0,83	6,70	10,8	34,7	83,9	26,1	31,1	3,1	1,8	1,9	0,9	60,30
6	CRG	F	0,83	3,94	9,4	30,6	77,8	29,0	30,7	3,0	0,5	4,6	2,4	94,56
7	MAL	M	1	4,25	10,5	35,2	82,5	24,7	29,9	1,9	0,8	2,8	2,0	85,00
8	FAM	F	1	4,24	10,7	33,2	82,3	25,2	32,2	2,9	0,9	3,6	2,5	106,00
9	JZ	F	1	4,18	8,0	27,6	79,0	26,0	29,1	2,7	0,2	2,8	1,1	45,98
10	JR	F	1	4,24	9,8	32,8	77,2	23,1	29,9	2,4	0,9	2,0	2,3	97,52
11	VKV	M	2	3,65	11,6	30,3	82,9	31,7	38,2	2,8	1,0	1,6	1,9	69,35
12	JMN	M	2	4,49	11,3	37,3	83,0	25,2	30,3	2,2	0,4	2,6	2,0	89,80
13	PR	M	3	4,03	12,4	39,1	97,2	30,7	31,6	3,4	0,8	1,8	4,2	169,26

Tabela A IV - Dados hematológicos e contagem de "pits" dos indivíduos da subamostra controle com idades entre seis meses e três anos.

Nº	SEXO	IDADE (anos)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9 / l$)
1	M	0,66	4,81	11,5	36,0	78,4	25,2	29,7	2,9	0,0	1,1	0,9
2	M	0,66	5,15	10,6	34,9	67,6	20,6	30,5	2,7	1,5	2,8	1,1
3	F	0,66	4,86	9,8	32,7	67,2	20,2	30,0	3,1	0,8	1,7	1,2
4	M	0,75	4,56	11,8	37,3	86,0	21,3	30,3	2,8	0,3	2,1	1,2
5	F	0,83	4,36	9,4	32,4	78,0	22,0	29,2	1,5	0,9	1,2	1,0
6	F	0,83	4,40	12,1	31,2	80,4	23,9	29,4	2,8	1,0	2,0	0,9
7	M	1	3,92	8,5	28,6	73,1	21,0	29,5	2,2	0,5	0,9	2,0
8	F	1	4,40	10,8	37,6	82,6	27,7	33,3	2,1	0,5	2,1	1,2
9	F	1	3,92	10,6	31,4	75,6	24,4	30,2	2,9	0,3	1,2	0,7
10	F	1	4,31	12,1	31,7	85,0	28,1	31,2	2,9	1,0	1,8	0,7
11	M	2	5,48	12,1	40,4	73,7	22,2	30,1	3,0	0,5	1,5	1,1
12	M	2	4,64	11,7	37,0	79,7	25,2	31,6	2,3	0,8	2,9	1,0
13	M	3	4,69	11,0	35,4	75,3	18,8	31,3	2,5	1,0	1,2	1,4

Tabela A V - Dados hematológicos, contagem de "pits" e episódios de pneumonia dos portadores da síndrome de Down com idades entre 3 e 15 anos.

Nº	NOME	SEXO	IDADE (anos)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9/l$)	EPISÓDIOS DE PNEUMONIA (nº)	
1	LSR	M	3,5	4,32	12,1	38,6	89,4	28,1	31,5	1,9	0,9	0,8	2,5	108,00	5
2	RMB	M	3,5	3,77	12,0	36,2	96,2	32,0	33,2	2,3	0,5	4,0	3,1	116,87	7
3	BZA	M	4	4,36	11,6	37,9	86,8	26,6	30,6	1,7	0,5	1,8	2,6	113,36	2
4	TAS	M	4	4,86	13,2	42,4	87,2	27,2	31,2	2,0	1,0	2,4	2,9	140,94	-
5	HCP	M	5	4,35	12,9	39,6	91,2	29,8	32,6	2,9	0,5	0,4	2,8	121,80	5
6	TPP	F	6	3,92	11,0	34,3	87,4	28,0	32,0	2,8	1,0	2,4	3,4	133,80	-
7	EFS	F	6	2,40	8,2	22,9	95,5	34,5	36,1	2,9	0,9	4,0	1,7	40,80	-
8	LFO	M	7	4,48	13,7	41,0	91,5	30,5	33,3	2,3	0,5	3,2	1,7	70,16	3
9	FGN	M	7	4,43	13,2	41,1	92,9	29,8	32,0	1,6	0,4	4,2	1,0	44,30	8
10	ENS	M	7	4,90	14,2	44,1	90,0	28,9	32,1	2,6	0,9	2,5	1,2	58,80	2
11	VBC	F	7	2,64	7,7	24,3	92,0	29,3	31,9	3,1	1,0	1,6	1,5	39,60	-
12	RSP	F	7	5,20	15,5	48,3	93,0	29,9	32,2	2,4	0,2	2,8	1,8	93,60	2
13	LCS	F	7	4,51	13,7	42,9	95,2	30,4	32,0	2,1	0,1	1,0	1,3	58,60	1
14	JSS	F	8	4,36	11,7	36,9	84,6	26,9	31,7	1,8	0,5	2,4	2,7	117,72	8
15	EFS	M	8	4,41	12,9	40,1	91,0	29,4	32,3	2,8	0,8	1,4	1,0	44,10	2
16	MPS	F	9	4,05	13,0	39,9	98,5	32,2	32,7	3,0	1,2	3,4	1,5	60,75	-
17	KRC	F	9	4,46	13,7	43,0	96,5	30,7	31,8	1,7	0,7	2,2	1,3	57,98	-
18	ACM	F	9	4,19	13,1	40,5	96,6	31,3	32,4	2,1	0,1	1,6	1,5	62,85	1
19	EAR	M	10	3,91	11,4	36,6	93,7	29,3	32,1	3,0	0,5	2,8	1,3	50,83	1
20	TSS	M	10	4,41	12,4	39,8	90,1	28,1	31,2	2,0	0,0	2,0	1,4	61,74	1
21	ASI	M	11	3,83	11,0	34,8	90,8	28,8	31,7	2,9	0,0	1,0	1,7	65,11	4
22	APS	F	11	4,65	14,4	42,8	94,0	31,7	33,9	3,3	1,3	0,6	3,7	172,05	-
23	VCZ	F	11	3,83	12,2	37,8	98,6	31,3	32,2	3,5	1,0	1,0	1,6	61,28	8
24	RMS	F	11	4,11	11,9	37,6	91,5	29,0	31,7	2,1	0,5	3,1	1,8	73,98	1
25	VAA	M	12	3,92	12,7	37,8	96,5	32,5	33,6	2,8	0,6	3,4	2,0	78,40	6
26	KMB	F	12	4,45	13,0	40,4	90,9	29,3	32,3	2,8	0,5	1,4	2,0	89,00	2
27	AC	M	13	4,31	13,4	41,6	96,5	31,1	32,2	2,5	0,9	1,3	0,9	38,79	1
28	FEC	M	14	4,36	13,0	40,5	92,9	29,8	32,1	3,0	0,1	0,8	2,3	100,28	1

Tabela A VI - Dados hematológicos e contagem de "pits" dos indivíduos da subamostra controle com idades entre 3 e 15 anos.

Nº	SEXO	IDADE (anos)	GV ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	HT (%)	VCM (μ^3)	HCM (pg)	CHCM (%)	Hb A (%)	Hb F (%)	"PITS" (%)	RETICULÓCITOS (%) ($\times 10^9/l$)
1	M	3,5	4,56	10,8	32,6	73,0	23,9	33,5	2,1	1,0	1,0	0,9
2	M	3,5	4,63	12,8	38,7	83,6	27,6	33,0	3,0	0,5	2,3	1,4
3	M	4	4,71	12,8	39,3	83,4	27,3	32,7	2,0	0,3	2,5	1,0
4	M	4	4,79	12,0	38,1	85,0	25,3	29,4	2,7	0,7	2,4	2,9
5	M	5	3,16	8,8	27,6	87,3	27,8	31,9	3,1	0,5	1,1	0,8
6	F	6	4,14	11,2	33,4	80,7	27,1	33,5	3,0	0,9	2,2	1,0
7	F	6	5,09	14,2	43,1	85,0	26,9	36,1	2,8	0,5	1,2	0,5
8	M	7	3,99	11,3	34,3	88,0	28,4	33,2	2,8	0,5	1,7	0,9
9	M	7	3,99	10,6	32,9	82,3	26,5	32,3	1,9	0,7	2,0	1,5
10	M	7	4,90	11,7	36,0	76,0	24,1	32,8	1,9	0,2	0,9	0,7
11	F	7	5,01	13,8	42,0	86,5	27,2	32,2	3,0	0,0	1,0	1,0
12	F	7	4,31	11,9	37,1	78,0	25,0	30,1	2,3	0,7	1,8	1,0
13	F	7	4,73	11,4	36,6	77,3	24,1	31,3	2,7	0,7	1,1	0,7
14	F	8	4,21	12,4	37,5	89,0	29,3	33,0	2,9	1,4	1,0	1,4
15	M	8	5,51	13,8	43,0	89,0	28,3	32,8	3,0	0,0	1,0	0,7
16	F	9	4,25	11,9	39,1	75,3	25,7	28,3	2,7	0,5	2,2	0,7
17	F	9	5,36	13,4	42,0	80,4	28,1	29,5	2,3	0,9	2,0	0,8
18	F	9	5,00	12,8	39,0	78,0	25,7	32,5	2,7	0,0	0,6	1,7
19	M	10	4,49	13,7	43,0	98,0	30,7	32,1	2,0	0,0	1,3	1,5
20	M	10	5,02	12,1	38,5	76,7	24,0	31,3	2,8	0,0	2,2	0,5
21	M	11	5,00	15,6	49,0	90,7	28,7	31,7	2,7	0,1	1,1	1,7
22	F	11	4,25	12,6	38,4	90,2	29,6	32,8	2,8	0,9	1,0	2,0
23	F	11	4,03	12,6	37,5	95,0	31,4	33,8	3,0	0,6	1,2	1,0
24	F	11	4,33	11,8	36,6	84,6	27,3	32,3	3,4	0,7	1,7	2,1
25	M	12	4,52	13,1	39,1	89,0	29,3	33,9	2,9	0,3	2,4	1,1
26	F	12	4,33	10,9	33,2	79,0	25,5	33,3	3,3	0,7	1,9	2,3
27	M	13	4,51	12,0	38,0	86,0	27,9	31,7	3,1	1,7	1,4	1,2
28	M	14	4,54	13,2	41,1	96,0	29,7	32,3	2,8	0,0	1,2	1,0