
**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA**

ARTUR KAUTZMANN FILHO

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DA RESPOSTA IMUNE EM CRIANÇAS
COM SÍNDROME DE DOWN E CONTROLES NORMAIS**

**PORTO ALEGRE
2013**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL – PUCRS

FACULDADE DE MEDICINA

PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E SAÚDE DA CRIANÇA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DA RESPOSTA IMUNE EM CRIANÇAS
COM SÍNDROME DE DOWN E CONTROLES NORMAIS**

ARTUR KAUTZMANN FILHO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina /Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto

Porto Alegre, 2013.

DADOS DE CATALOGAÇÃO

K21a Kautzmann Filho, Artur

Avaliação do perfil da resposta imune em crianças com síndrome de Down e controles normais / Artur Kautzmann Filho. Porto Alegre: PUCRS, 2013.

49 f.: il. tab. Inclui artigo científico encaminhado para publicação.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto. Coorientadora: Profa. Dra. Bárbara Nery Porto.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança.

1. SÍNDROME DE DOWN. 2. IMUNIDADE. 3. CRIANÇA. 4. INFECÇÃO RESPIRATÓRIA. 5. ESTUDO DE CASO-CONTROLE. I. Pinto, Leonardo Araújo. II. Porto, Bárbara Nery. III. Título.

CDD 616.858842
NLM WS 107

Isabel Merlo Crespo
Bibliotecária CRB 10/1201

DEDICATÓRIA

Como já diz uma tradução de frase de letra de música da banda U2, “na ciência e no coração humano, não há limite”. Dedico este trabalho aos meus pais, Artur Kautzmann Neto e Ana Rita de Lima da Costa, que me são essencialmente importantes, aos meus avós, Aristeu Cláudio Kautzmann (in memoriam), Maria Eunice Müller Kautzmann, Aciones Ferreira da Costa (in memoriam) e Doralina de Lima da Costa (in memoriam), aos familiares que me apoiam, aos amigos inseparáveis e a todas as pessoas que se dedicarão à ciência como eu e que farão uso desta dissertação. Dedico-a, especialmente, ao meu orientador, Prof. Dr. Leonardo Araújo Pinto.

AGRADECIMENTOS

Tenho grandes recordações guardadas com carinho dentro de pastas e na memória. Algumas serão lembradas ao socializar sentimentos privados em forma de agradecimento e reconhecimento:

- “Meu filhinho Artur! Não te esqueças, sempre antes de deitar, de rezar o Santo Anjo da Guarda.” Fragmento de um cartão escrito por Artur Kautzmann Neto, meu pai, na Páscoa de 1984, quando eu tinha 7 anos de idade.

- “... tu tens a beleza interior e essa paz que te traz tanto amor!” Fragmento de um poema escrito por Maria Eunice Müller Kautzmann, minha avó, em Montenegro e em razão do meu aniversário no ano de 1993, quando eu completava 17 anos.

- “Filho, bom dia! Esta medalha foi muito merecida. Que tuas portas estejam sempre abertas para a verdade.” Fragmento de um bilhete escrito por Ana Rita de Lima da Costa, minha mãe, logo que cheguei de viagem, após uma das corridas das quais participo, anualmente, como corredor e treinador de equipe de corrida.

- “Meu querido neto Artur. Desejo a você muita saúde e sucesso em tua carreira profissional e também nas tuas conquistas íntimas.” Cartão de aniversário entregue no dia do meu aniversário de 29 anos, em 2005, pelo meu avô Costa (*in memoriam*).

- “Caro Artur! O primeiro passo, para se realizar um objetivo, é ter a convicção de que é possível alcançá-lo, não importando em quantas tentativas. Parabéns!” Escrito por Paulo Ricardo Saldoti Silveira, meu amigo e quem ajudou a me educar por 17 anos, como dedicatória do livro Nascido para Correr – a experiência de descobrir uma nova vida, de Christopher McDougall, que me foi dado de aniversário em 2010.

Além de todas essas pessoas supracitadas, gostaria de agradecer ao meu tio Ricardo Müller Kautzmann e, principalmente, àqueles que me incentivaram e me inspiraram a seguir seus passos na carreira acadêmica, Aristeu Claudio Kautzmann Filho e Rubens Müller Kautzmann.

Um agradecimento especial ao meu aluno, atleta de corrida e amigo, Guilherme Linck dos Santos, que me trouxe, por sua síndrome de Down e pela sua maneira carinhosa de lidar com as pessoas, mais estímulo para estudar a referida síndrome. Outro igualmente especial a todas as pessoas com síndrome de Down que constituíram a amostra deste estudo.

Agradeço à CAPES pela bolsa de incentivo à pesquisa.

Agradeço à biomédica Patrícia Araújo por ter ajudado nas técnicas laboratoriais.

Aos docentes deste mestrado, principalmente, ao Prof. Dr. Leonardo Pinto, dono de um saber profundo, e às Profas. Dras. Bárbara Porto e Ana Paula de Souza, muito obrigado.

"O conhecimento do conhecimento obriga. Obriga-nos a assumir uma atitude de permanente vigília contra a tentação da certeza, a reconhecer que nossas certezas não são provas da verdade, como se o mundo que cada um vê fosse o mundo e não um mundo que construímos juntamente com os outros. Ele nos obriga, porque ao saber que sabemos não podemos negar que sabemos."

*Do livro *A Árvore do Conhecimento - as bases biológicas da compreensão humana*, de Humberto R. Maturana e Francisco J. Varela.*

"Ainda nesse sentido, Monty nos ensinou que o único verdadeiro presente que podemos dar aos outros é nosso tempo, ao passo que o único e verdadeiro presente que alguém pode dar a si mesmo é sua saúde."

*Do livro *Encantadores de Vidas*, de Eduardo Moreira.*

RESUMO

Introdução: sujeitos com síndrome de Down (SD) têm uma maior suscetibilidade às infecções virais e bacterianas e a doenças autoimunes, que são as principais causas de morbimortalidade na maioria dos casos. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil da resposta imunológica (inata e adaptativa) de crianças com SD.

Métodos: este foi um estudo de caso-controle. Os pacientes com SD e os controles foram selecionados por uma amostragem de conveniência. O recrutamento foi realizado em um hospital universitário e em um Centro de Integração de Crianças Especiais (Kinder), ambos na cidade de Porto Alegre. Para avaliar a função da resposta imune, foram realizados purificação de monócitos e de neutrófilos humanos, ensaio de quimiotaxia de neutrófilos humanos e imunofenotipagem.

Resultados: neste estudo, foram incluídos 13 (10/13 fem.) pacientes com SD e 6 (2/6 fem.) controles normais, com médias de idades de 8,13 e 9,83 anos respectivamente. Quando estudamos a capacidade de migração dos neutrófilos, não foram observadas alterações significativas no grupo com SD. Por outro lado, quando analisamos as variáveis associadas à resposta imune adaptativa, observamos uma tendência a valores percentuais menores de linfócitos T CD4⁺ e maiores de CD8⁺ para o grupo com SD. Quando analisamos a relação CD4⁺/CD8⁺, foi observada diferença significativa mesmo com um pequeno número amostral.

Conclusão: esse estudo, em conjunto com a análise de estudos prévios, sugere que os pacientes com SD apresentam uma taxa CD4⁺/CD8⁺ diminuída, o que pode justificar o quadro clínico de infecções recorrentes nessas crianças.

Palavras-chave: síndrome de Down, imunidade, criança, infecção respiratória, estudo de caso-controle.

ABSTRACT

Introduction: subjects with Down syndrome (DS) have an increased susceptibility to bacterial and viral infections and autoimmune diseases. These conditions are a major cause of morbidity and mortality in most cases. Thus, the objective of this study was to evaluate the profile of the immune response (innate and adaptive) of children with DS.

Methods: this was a case-control study. Patients with DS and controls were selected by a convenience sampling. Recruitment was conducted in a university hospital and a Center for Integration of Children with Special Needs (Kinder), both in the city of Porto Alegre. To evaluate the immune function was performed purification of human monocytes and human neutrophils, chemotaxis assay of human neutrophils, proliferation assay and immunophenotyping.

Results: this study included 13 (10/13 fem.) patients with DS and 6 (2/6 fem.) controls, with a mean age of 8.13 and 9.83 years respectively. When we measured neutrophil migration, there were no significant changes in the DS group. Moreover, analyzing the variables associated with the adaptive immune response, we observed a trend of lower percentages for CD4+ T lymphocyte and higher for CD8+ in the group with DS. When we analyzed the CD4+/CD8+ ratio, a significant difference was observed even considering the small sample size.

Conclusion: this study, together with the analysis of previous studies, suggests that patients with DS show a decreased CD4+/CD8+ ratio, which may explain the clinical picture of recurrent infections in these children.

Keywords: Down syndrome, immunity, child, respiratory infection, case-control study.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Migração de neutrófilos em crianças com síndrome de Down e controles. 41
- Figura 2.** Frequência relativa de linfócitos CD4+ e CD8+ em crianças com síndrome de Down e controles. 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Grupo em estudo versus controles, dados descritivos da amostra..	40
Tabela 2- Grupo em estudo versus controles, comparação do número de pacientes com fator de risco (CD4+/CD8+ <1).	43

LISTA DE ABREVIATURAS e SÍMBOLOS

°C	grau(s) Celsius
CD	Cluster of Differentiation
CO ₂	Dióxido de Carbono
DS	Down syndrome
FCS	soro fetal bovino
HSL-PUCRS	Hospital São Lucas da PUCRS
IPB	Instituto de Pesquisas Biomédicas
IRA	infecções respiratórias agudas
mL	mililitro(s)
nM	nanômetro(s)
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SD	Síndrome de Down
µL	microlitro(s)
µm	micrometro(s)

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	13
1.1 APRESENTAÇÃO	12
1.2 JUSTIFICATIVA	14
1.3 OBJETIVOS	15
1.3.1 Objetivo geral.....	15
1.3.2 Objetivos específicos.....	15
1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO II.....	17
2.1 ARTIGO DE REVISÃO.....	18
CAPÍTULO III	27
3.1 ARTIGO ORIGINAL	28
CAPÍTULO IV.....	44
4.1 CONCLUSÕES	45
ANEXO.....	46
ANEXO - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	47

CAPÍTULO I

1.1 APRESENTAÇÃO

O trabalho para conquistar uma vaga no curso de mestrado trouxe muitas perguntas e todas foram respondidas devido ao propósito que trago desde longa data: o de me tornar professor universitário e poder trabalhar em conjunto com pessoas munidas de ideias que ajudem a melhorar a relação dos seres humanos com a saúde. Há anos, atuo como educador físico e como treinador de diversas pessoas que visam a caminhar por mais tempo nesta vida finita e cheia de surpresas. O que movimenta o corpo é a vontade de viver e de dar a esse instrumento carnal um prolongamento de sensações benéficas que se pode traduzir por efeitos hormonais. Com diferentes limiares de adaptação, tornamos a nos perguntar se há melhores e piores ou se há vencedores e vencidos. A melhor resposta virá quando alguém que acaba uma etapa poderá ser ao mesmo tempo vencedor e vencido. A sensação de ser vencedor é a que nos faz olhar para trás e dizer que valeu a pena ter vivido. A sensação de ter sido vencido por uma força maior que a nossa pode provocar uma aceleração dos nossos prazeres como seres humanos. Neste momento, sinto que o que foi vencido está por se tornar o principal motivo para eu estar aqui: o medo do desconhecido. O medo do desconhecido é o que nutre a relação entre a ciência e o cientista. O curso de mestrado começou em março de 2011, o que me faz trazer até este momento dois anos de intenso convívio com a ciência mais desenvolvida dentro da área da saúde: a medicina. Tive uma experiência como aluno deste curso que me trouxe ensinamentos e ideias. Com os professores, comecei a acreditar em uma união de conhecimentos que promove os que não sabem e que traz novos questionamentos aos que já sabem. Ao mesmo tempo em que as disciplinas eram concluídas, o então projeto de pesquisa aguardava uma aprovação. Foi em 2012, há aproximadamente um ano, que o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS aprovou-o. O grupo dos casos foi o das crianças e adolescentes com síndrome de Down, cujo recrutamento, além de coleta de sangue e separação e armazenamento de células de defesa, ocorreram entre abril e dezembro de 2012, com bastante ajuda do Centro Kinder, de colegas do curso de pós-graduação (mestrado e doutorado), de alunos do grupo de pesquisa orientado pelo Dr. Leonardo Araújo Pinto, de funcionários dos laboratórios 13 e 21 do IPB e da equipe de técnicas em enfermagem do ambulatório de pediatria do Hospital São Lucas. Após, com pouca viabilidade para recrutar controles, utilizamos os controles de outro estudo, o Bright (Estudo de prevalência de asma em uma amostra de crianças

brasileiras e caracterização de fenótipos clínicos, marcadores biológicos e funcionais). Entre dezembro e fevereiro, foram feitas as análises das células imunológicas com a constante ajuda da biomédica Patrícia Araújo, das coorientadoras, Dra Ana Paula de Souza e Dra Bárbara Porto, além do meu orientador Dr. Leonardo Araújo Pinto. Desde o início deste curso de mestrado, pesquisas, leituras, estudos e diálogos em ambientes formais e informais com as pessoas supracitadas e, principalmente, com meu orientador Dr. Leonardo Pinto determinaram a confecção desta dissertação que me deixa sensivelmente agradecido por esta caminhada. A dissertação sugere então que trabalhos bem delineados e com amostras mais representativas possam vir a corroborar a ideia de que as pessoas com síndrome de Down tenham diferenças imunológicas significativas (1). Estamos colocando mais uma peça importante no cenário das pesquisas com crianças e adolescentes com síndrome de Down e que tende a vir a sustentar os achados de trabalhos científicos a respeito de uma maior propensão a doenças respiratórias agudas (2). Sem contar as diferenças anatômicas e morfofuncionais das vias aéreas inferiores e superiores que acometem essa população com SD (3-4). Em nosso estudo, bem como em outros, a taxa CD4⁺/CD8⁺ indicou fator de risco para imunodeficiências em um percentual elevado da amostra com síndrome de Down. Esse achado pode estar relacionado a um estado alterado da resposta imune adaptativa de pessoas com a síndrome.

1.2 JUSTIFICATIVA

As afecções respiratórias são a principal causa de morbimortalidade e internações hospitalares recorrentes em crianças, principalmente, lactentes com SD. Estudos prévios sugerem que 88% dessas crianças são hospitalizadas por doença respiratória, sendo que 16% têm internação recorrente e muitas necessitam de cuidados intensivos (intubação e ventilação mecânica). (1). Os mecanismos que levam os pacientes com SD a apresentarem infecções respiratórias e hospitalizações frequentes ainda não foram esclarecidos e podem ser decorrentes do sistema imunitário deficitário.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

- Avaliar o perfil da resposta imunológica de crianças com síndrome de Down.

1.3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o perfil da resposta imunológica inata de crianças com síndrome de Down.
 - Avaliar o perfil da resposta imunológica adaptativa de crianças com síndrome de Down.
-

1.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nespoli, L., Burgio, G.R., Ugazio, A.G. & Maccario, R. (1993) Immunological features of Down's syndrome: a review. *Journal of Intellectual Disability Research*, 37, 543
 2. Bloemers BL, Broers CJ, Bont L, Weijerman ME, Gemke RJ, van Furth AM. Increased risk of respiratory tract infections in children with Down syndrome: the consequence of an altered immune system. *Microbes Infect.* 2010 Oct;12(11):799-808
 3. Selikowitz M. Health problems and health checks in school-aged children with Down syndrome. *J. Paediatr. Child. Health*, 28 (1992), pp. 383–386
 4. Shott S.R. Down syndrome: common otolaryngologic manifestations. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, 142 (2006), pp. 131–140
-

CAPÍTULO II

2.1 ARTIGO DE REVISÃO

**BENEFÍCIOS DO TREINAMENTO FÍSICO PARA A SAÚDE DE CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN**

**HEALTH BENEFITS OF PHYSICAL TRAINING IN CHILDREN AND
ADOLESCENTS WITH DOWN SYNDROME**

Autores

Artur Kautzmann Filho (1), Leonardo Araújo Pinto (2)

1 Educador Físico, mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

2 Médico, Professor da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Currículo dos autores está disponível na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: não se aplica neste artigo de revisão.

Autor para correspondência: Leonardo A. Pinto, Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas. Cep 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: leonardo.pinto@pucls.br.

RESUMO

Objetivo: apresentar uma revisão da literatura sobre evidências de benefícios do treinamento físico para a saúde de crianças e adolescentes com síndrome de Down.

Fontes de dados: artigos originais e revisões publicados nas bases de dados PubMed, Scopus e SciELO e outras publicações on-line, nos últimos 10 anos. Foram utilizados os seguintes termos de busca: “síndrome de Down”, “atividade física” e “saúde”. A revisão foi realizada por 2 pesquisadores no período de dezembro de 2012 a janeiro de 2013.

Resultados: em um primeiro momento, foram encontrados 421 artigos. Quando incluímos a palavra “saúde” entre os termos de busca, foram encontradas 86 publicações. Após leitura e seleção dos artigos, foram incluídas 19 publicações. Estudos randomizados e controlados têm demonstrado que o treinamento pode ser eficaz. Pacientes conseguem realizar as atividades físicas orientadas com elevado índice de aprendizagem. Além disso, foi demonstrado benefícios na aquisição de força e na perda de massa de gordura corporal. Os desfechos foram medidos de 1,5 a 12 meses após a intervenção, e os benefícios em longo prazo precisam ser analisados em estudos complementares.

Conclusões: os benefícios do treinamento físico em curto prazo para a saúde de crianças com síndrome de Down foram descritos em alguns estudos recentes e bem delineados. Por outro lado, o impacto das diferentes intervenções e os resultados em longo prazo ainda necessitam ser mais estudados. A necessidade de promoção de exercícios físicos orientados a pessoas com síndrome de Down foi evidenciada, devido ao risco de desenvolverem doenças relacionadas à inatividade física.

ABSTRACT

Objectives: to present a literature review on health benefits of physical training in children and adolescents with Down syndrome (DS).

Data Sources: original articles and reviews published on PubMed, Scopus and SciELO databases and other on-line publications in the last ten years. The following search terms have been used: "Down syndrome", "physical activity" and "health." The review was conducted by two researchers from December 2012 to January 2013.

Results: at first, 421 items have been found. When the word "health" was included as a search term, 86 publications have been found. Nineteen publications have been included after reading and selecting articles. Randomized controlled trials have shown that physical training can be efficacious. Patients can perform oriented physical activities with a high rate of learning. Furthermore, other benefits as strength gain and body fat loss were demonstrated. Outcomes were measured from 1.5 to 12 months after the intervention. Long-term benefits need to be examined in further studies.

Conclusions: short-term health benefits in children with DS have been reported in some recent and well-designed studies. On the other hand, the impact of different interventions and the long-term results still need to be further studied. The need for promoting oriented physical exercise to patients with DS has been evidenced due to the risk of developing diseases related to physical inactivity.

INTRODUÇÃO

A síndrome de Down (SD) é a anomalia cromossômica mais comum entre os nascidos vivos e com uma variedade de características dismórficas e malformações congênitas. A SD está frequentemente associada com doenças cardíacas congênitas, doenças gastrointestinais, deficiências imunológicas, doenças respiratórias concomitantes e hipotonia muscular (1).

Quando comparados com a população em geral, indivíduos com deficiência intelectual apresentam taxas de morbimortalidade mais elevadas. Para a maior parte da população, os benefícios da atividade física regular estão bem estudados e estabelecidos. Entretanto, indivíduos com SD não têm sido incluídos na maior parte dos estudos epidemiológicos que revelaram os benefícios da atividade física (2). Além disso, iniciativas de saúde pública que promovem a prática de exercícios físicos frequentemente não estimulam a inclusão de crianças e adolescentes com deficiências intelectuais (3-4).

Em um estudo onde foi medido o nível de atividade física de pessoas com deficiência mental com síndrome de Down e comparou com o de pessoas deficientes mentais sem SD, a presença da síndrome determinou menor envolvimento com atividade física comparadamente ao outro grupo (5).

O objetivo do presente estudo foi apresentar uma revisão da literatura de características e benefícios do treinamento físico para a saúde de crianças e adolescentes com SD.

MÉTODOS

Foram revisados artigos originais e revisões publicados nas bases de dados PubMed e outras publicações on-line, nos últimos 10 anos. Foram utilizados os seguintes termos de busca: “síndrome de Down” e “atividade física”. A revisão foi realizada por 2 pesquisadores no período de dezembro de 2012 a janeiro de 2013.

RESULTADOS

Em um primeiro momento, foi utilizada a base de dados Medline/Pubmed. Quando utilizamos as palavras-chave “síndrome de Down” e “atividade física”, foram encontrados 421 artigos. Quando incluímos a palavra “saúde” entre os termos de busca, foram encontradas 86 publicações. Após leitura e seleção dos artigos mais adequados aos objetivos deste estudo, foram incluídas 19 publicações, que fazem parte das referências deste artigo de revisão.

Foram encontrados 7 artigos que tratassem especificamente da relação síndrome de Down, atividade física e saúde nas bases de dados pesquisadas. Em um estudo recente, no qual um acelerômetro mediu o nível de atividade física de pessoas com deficiência mental com SD e comparou com o de pessoas deficientes mentais sem a síndrome, a presença da síndrome determinou menor envolvimento com atividade física comparadamente ao outro grupo. Dessa forma, aumentar a participação em exercícios físicos orientados faz-se necessário para prevenir a obesidade e promover um aumento da expectativa de vida, uma vez que as crianças com a síndrome desenvolvem uma tendência à obesidade infantil (6-8).

Estudos randomizados e controlados têm demonstrado que o treinamento físico pode ser eficaz (9-12). Pacientes com SD conseguem realizar as atividades físicas orientadas com elevado índice de aprendizagem. Além disso, foram demonstrados benefícios na aquisição de força e na perda de massa de gordura corporal. Os desfechos foram medidos de 1,5 a 12 meses após a intervenção, e os benefícios em longo prazo precisam ser analisados em estudos complementares (13).

DISCUSSÃO

Aumentar a participação em exercícios físicos orientados faz-se necessário para prevenir a obesidade e promover um aumento da expectativa de vida, uma vez que as crianças com a síndrome desenvolvem uma tendência à obesidade infantil (14).

Seres humanos normais estão em uma condição ideal para a promoção da saúde chamada de homeostase. A homeostase é o equilíbrio dinâmico das funções do corpo em repouso. Em longo prazo, o repouso ou a falta de atividade podem levar à condição de sedentarismo, que é reconhecidamente um fator de risco para diversas patologias. Por consequência, podem surgir as doenças crônico-degenerativas. Assim, a atividade física torna-se uma prática essencial para a saúde do ser humano. Mais especificamente, a supercompensação - que compreende a recuperação de energia e as adaptações estruturais e funcionais após cada sessão de exercício físico - é um dos determinantes que pode afastar o sujeito do limiar do surgimento de doenças.

Na população com síndrome de Down, entretanto, há uma diferença: a ausência da homeostase, ocasionada pelo comprometimento do sistema neuroimunoendócrino. É de extrema importância que a pessoa com SD tenha acompanhamento de profissionais capacitados a adaptar a atividade física sempre que for necessário. Em um estudo com crianças com síndrome de Down, cuja média de idade é de 12,5 anos, menos de 10% delas sabia pedalar em uma bicicleta de 2 rodas segundo relato dos pais (11). Desde que sejam respeitadas as limitações das pessoas com a síndrome, há um grande espaço, para que os profissionais da educação física estimulem tal aprendizado. Limitações da população com síndrome de Down como variabilidade de desenvolvimento cognitivo, hipotonia muscular e lassidão ligamentar devem ser objeto de adaptação pelo profissional da área.

Ainda existe a necessidade de o profissional de educação física agir como estimulador do esforço empregado no trabalho físico executado. No estudo supracitado, 56% do grupo em exposição aprendeu a pedalar após 75 min de treinamento individualizado por dia, durante 5 dias consecutivos. Além disso, aprender a andar de bicicleta pode aumentar ou manter o tempo gasto em exercícios de média à alta intensidade. Diminui-se, portanto, o tempo gasto em comportamentos sedentários (11).

São necessárias, no mínimo, 12 semanas, para que o músculo esquelético ganhe adaptações morfológicas com o treinamento de força em pubescentes normais. Apesar disso, há ganhos de força a nível neural que iniciam com 4 a 8 semanas de treinamento muscular esquelético. Essas adaptações neurológicas foram observadas também em pacientes com SD. Assim, um estudo recente mostrou o aumento de força e de agilidade nos membros inferiores de adolescentes com SD após um treinamento de 6 semanas comparados aos controles que não participaram do treinamento. O aumento da força

muscular está relacionado a uma melhora da saúde. A agilidade, por sua vez, é uma aptidão física mais relacionada à performance (13). Há, mais uma vez, uma vasta área a ser explorada pelos profissionais da atividade física adaptada.

Apesar disso, uma revisão sistemática considerou que ainda não existem evidências suficientes para comprovar que o treinamento aeróbico leva a uma melhora nos desfechos físicos e psicossociais. Entretanto, apenas três estudos bem delineados puderam ser incluídos nessa análise da *Cochrane*, que ainda demonstra uma escassez de dados sobre este tópico (14). Embora existam evidências de melhoras em aspectos de saúde, fisiológicos e psicológicos a partir de programas de atividade física (15-19), ainda são necessárias pesquisas bem delineadas com avaliação de desfechos em longo prazo, efeitos adversos e custos (14).

Em conclusão, o atraso ou alguma anormalidade no desenvolvimento motor e menor força muscular fazem com que se esperem níveis reduzidos de atividade física em indivíduos com síndrome de Down comparados aos sem a síndrome. De alguma maneira, este estudo visa a estimular tanto trabalhos científicos complementares e inovadores quanto a atuação mais efetiva na área da educação física e do treinamento de habilidades esportivas em pessoas com SD.

REFERÊNCIAS

1. Geelhoed EA, Bebbington A, Bower C, Deshpande A, Leonard H. Direct health care costs of children and adolescents with Down syndrome. *J Pediatr*. 2011 Oct;159(4):541-5.
 2. Phillips AC, Holland AJ. Assessment of objectively measured physical activity levels in individuals with intellectual disabilities with and without Down's syndrome. *PLoS One*. 2011;6(12):e28618.
 3. Barr M, Shields N. Identifying the barriers and facilitators to participation in physical activity for children with Down syndrome. *J Intellect Disabil Res*. 2011 Nov;55(11):1020-33.
 4. González-Agüero A, Vicente-Rodríguez G, Gómez-Cabello A, Ara I, Moreno LA, Casajús JA. A combined training intervention programme increases lean mass in youths with Down syndrome. *Res Dev Disabil*. 2011 Nov-Dec; 32(6):2383-8.
 5. Sayers Menear K. Parents' perceptions of health and physical activity needs of children with Down syndrome. *Downs Syndr Res Pract*. 2007 Jul;12(1):60-8.
 6. Phillips AC, Holland AJ. Assessment of objectively measured physical activity levels in individuals with intellectual disabilities with and without Down's syndrome. *PLoS One*. 2011;6(12):e28618
 7. Whitt-Glover MC, O'Neill KL, Stettler N. Physical activity patterns in children with and without Down syndrome. *Pediatr Rehabil*. 2006 Apr-Jun;9(2):158-64.
 8. Murray J, Ryan-Krause P. Obesity in children with Down syndrome: background and recommendations for management. *Pediatr Nurs*. 2010 Nov-Dec;36(6):314-9.
 9. Gupta S, Rao BK, S D K. Effect of strength and balance training in children with Down's syndrome: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil*. 2011 May;25(5):425-32.
 10. Shields N, Taylor NF, Fernhall B. A study protocol of a randomised controlled trial to investigate if a community based strength training programme improves work task performance in young adults with Down syndrome. *BMC Pediatr*. 2010 Mar 25;10:17.
 11. Ulrich DA, Burghardt AR, Lloyd M, Tiernan C, Hornyak JE. Physical activity benefits of learning to ride a two-wheel bicycle for children with Down syndrome: a randomized trial. *Phys Ther*. 2011 Oct;91(10):1463-77.
 12. Shields N, Taylor NF. A student-led progressive resistance training program increases lower limb muscle strength in adolescents with Down syndrome: a randomised controlled trial. *J Physiother*. 2010;56(3):187-93.
-

-
13. Lin HC, Wuang YP. Strength and agility training in adolescents with Down syndrome: a randomized controlled trial. *Res Dev Disabil.* 2012 Nov-Dec;33(6):2236-44.
 14. Andriolo RB, El Dib RP, Ramos L, Atallah AN, da Silva EM. Aerobic exercise training programmes for improving physical and psychosocial health in adults with Down syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 May 12;(5)
 15. González-Agüero A, Vicente-Rodríguez G, Moreno LA, Guerra-Balic M, Ara I, Casajús JA. Health-related physical fitness in children and adolescents with Down syndrome and response to training. *Scand J Med Sci Sports.* 2010 Oct;20(5):716-24.
 16. Lloyd M, Burghardt A, Ulrich DA, Angulo-Barroso R. Physical activity and walking onset in infants with Down syndrome. *Adapt Phys Activ Q.* 2010 Jan;27(1):1-16.
 17. Cowley PM, Ploutz-Snyder LL, Baynard T, Heffernan K, Jae SY, Hsu S, Lee M, Pitetti KH, Reiman MP, Fernhall B. Physical fitness predicts functional tasks in individuals with Down syndrome. *Med Sci Sports Exerc.* 2010 Feb;42(2):388-93.
 18. Shields N, Dodd KJ, Abblitt C. Do children with Down syndrome perform sufficient physical activity to maintain good health? A pilot study. *Adapt Phys Activ Q.* 2009 Oct;26(4):307-20.
 19. Mendonca GV, Pereira FD. Influence of long-term exercise training on submaximal and peak aerobic capacity and locomotor economy in adult males with Down's syndrome. *Med Sci Monit.* 2009 Feb;15(2):CR33-39.
-

CAPÍTULO III

3.1 ARTIGO ORIGINAL

Avaliação do Perfil da Resposta Imune em Crianças com Síndrome de Down e controles

Autores

Artur Kautzmann Filho (1), Patrícia Dias de Araújo (2), Bárbara Nery Porto (3), Ana Paula Duarte de Souza (4) e Leonardo Araújo Pinto (5)

1 Educador Físico, mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

2 Biomédica, mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

3 Bióloga, pós-doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

4 Bioquímica, pós-doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Pediatria e Saúde da Criança da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

5 Médico, Professor da Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brasil.

Currículo dos autores está disponível na Plataforma Lattes do CNPq.

Fonte financiadora: não se aplica neste artigo de revisão.

Autor para correspondência: Leonardo A. Pinto, Avenida Ipiranga, 6690, 2º andar, Instituto de Pesquisas Biomédicas. CEP 90.610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

E-mail: leonardo.pinto@puers.br.

Resumo

Introdução: sujeitos com síndrome de Down (SD) têm uma maior suscetibilidade às infecções virais e bacterianas e a doenças autoimunes, que são as principais causas de morbimortalidade na maioria dos casos. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil da resposta imunológica (inata e adaptativa) de crianças com SD.

Métodos: este foi um estudo de caso-controle. Os pacientes com SD e os controles foram selecionados por uma amostragem de conveniência. O recrutamento foi realizado em um hospital universitário e em um Centro de Integração de Crianças Especiais (Kinder), ambos na cidade de Porto Alegre. Para avaliar a função de resposta imune, foram realizados purificação de monócitos e de neutrófilos humanos, ensaio de quimiotaxia de neutrófilos humanos, e imunofenotipagem.

Resultados: neste estudo, foram incluídos 13 (10/13 fem.) pacientes com SD e 6 (2/6 fem.) controles normais, com médias de idades de 8,13 e 9,83 anos respectivamente. Quando estudamos a capacidade de migração dos neutrófilos, não foram observadas alterações significativas no grupo com SD. Por outro lado, quando analisamos as variáveis associadas à resposta imune adaptativa, observamos uma tendência a valores percentuais menores de linfócitos T CD4+ e maiores de CD8+ para o grupo com SD. Quando analisamos a relação CD4+/CD8+, foi observada diferença significativa mesmo com um pequeno número amostral.

Conclusão: esse estudo, em conjunto com a análise de estudos prévios, sugere que os pacientes com SD apresentam uma taxa CD4+/CD8+ diminuída, o que pode justificar o quadro clínico de infecções recorrentes nessas crianças.

Palavras-chave: síndrome de Down, imunidade, criança, infecção respiratória, estudo de caso-controle.

Abstract

Introduction: subjects with Down syndrome (DS) have an increased susceptibility to bacterial and viral infections and autoimmune diseases. These conditions are a major cause of morbidity and mortality in most cases. Thus, the objective of this study was to evaluate the profile of the immune response (innate and adaptive) of children with DS.

Methods: this was a case-control study. Patients with DS and controls were selected by a convenience sampling. Recruitment was conducted in a university hospital and a Center for Integration of Children with Special Needs (Kinder), both in the city of Porto Alegre. To evaluate the immune function was performed purification of human monocytes and human neutrophils, chemotaxis assay of human neutrophils, proliferation assay and immunophenotyping.

Results: this study included 13 (10/13 fem.) patients with DS and 6 (2/6 fem.) controls, with a mean age of 8.13 and 9.83 years respectively. When we measured neutrophil migration, there were no significant changes in the DS group. Moreover, analyzing the variables associated with the adaptive immune response, we observed a trend of lower percentages for T lymphocyte CD4+ and higher for CD8+ in the group with DS. When we analyzed the CD4+/CD8+ ratio, a significant difference was observed even considering the small sample size.

Conclusion: this study, together with the analysis of previous studies, suggests that patients with DS show decreased CD4+/CD8+ ratio, which may explain the clinical picture of recurrent infections in these children.

Keywords: Down syndrome, immunity, child, respiratory infection, case-control study.

Introdução

A Síndrome de Down (SD) é a anomalia cromossômica mais comum entre os nascidos vivos e com uma variedade de características dismórficas e malformações congênitas, associadas frequentemente com doença cardíaca congênita, doenças gastrointestinais, deficiências imunológicas e doença respiratória concomitante. A incidência é de um a cada 600 a 800 nascimentos, em todos os grupos étnicos. (1) Em relação à fisiologia respiratória, está comprovado por estudos prévios post-mortem que existem alterações morfológicas do pulmão em pessoas com SD. Os alvéolos aparecem em pouca quantidade e seu tamanho são maiores do que o normal. Os ductos alveolares são espaçosos e distendidos, o que sugere inadequada alveolarização das unidades pulmonares distais dos bronquíolos respiratórios. (2-4)

As infecções respiratórias por exposição viral são a causa mais comum de internação hospitalar em lactentes e crianças menores. Os fatores de risco principais incluem: prematuridade, doença cardíaca e SD. A SD é um fator independente de hospitalização por infecções por vírus respiratórios, sendo que sua manifestação é mais grave nessa população. (1) Isso pode ser explicado devido a crianças portadoras de SD apresentarem função pulmonar anormal ou hiperresponsividade aérea associada à maturação imunológica anormal. (5)

Sujeitos com SD têm uma maior suscetibilidade às infecções virais e bacterianas, doenças malignas e doenças autoimunes e essas situações são a principal causa de mortalidade e morbidade na maioria dos casos (8,9). A imunidade inata é muito importante na primeira linha de defesa contra microrganismos. Os neutrófilos são as primeiras células a chegar ao sítio de infecção e, uma vez ativadas, são capazes de fagocitar microrganismos e produzir espécies reativas de oxigênio, que são moléculas com atividade microbicida. Foi demonstrado que neutrófilos de pessoas com SD possuem menor capacidade migratória (10), mas não há confirmação por evidências consistentes e não se conhece os mecanismos envolvidos nessa alteração. Há controvérsia também com relação à capacidade fagocítica e de produção de espécies reativas de oxigênio por essas células. Alguns autores mostraram que os neutrófilos de sujeitos com SD têm uma capacidade fagocítica menor em comparação aos controles (11), enquanto outros sugeriram que não há diferença entre

neutrófilos de sujeitos com SD e de sujeitos-controle (12,13). Esses estudos mostraram resultados conflitantes com relação às funções efetoras de neutrófilos. Desse modo, é essencial estudarmos a biologia e a capacidade efetora dessas células em crianças portadoras de SD.

Muitos grupos têm descrito que as anormalidades nas células T presentes em crianças portadoras de SD podem ser explicadas por uma disfunção no timo e sugerem que esta alteração pode ser consequência de uma senescência precoce do sistema imune. Os números de células T, B e NK circulantes estão reduzidos em pessoas com SD e sua resposta a mitógenos é fraca. Além disso, esses pacientes podem apresentar níveis diminuídos de linfócitos T CD4+ e níveis elevados de linfócitos T CD8+ comparados com indivíduos saudáveis, apresentando alteração na taxa CD4+/CD8+ (14).

As afecções respiratórias são a principal causa de morbimortalidade e internações hospitalares recorrentes em crianças, principalmente, lactentes com SD. Estudos prévios sugerem que 88% dessas crianças são hospitalizadas por doença respiratória, sendo que 16% têm internação recorrente e muitas necessitam de cuidados intensivos (intubação e ventilação mecânica). (1). Os mecanismos que levam os pacientes com SD a apresentarem infecções respiratórias e hospitalizações frequentes ainda não foram esclarecidos e podem ser decorrentes do sistema imunitário deficitário. Crianças com síndrome de Down podem apresentar alterações de resposta imune, que contribuem para suscetibilidade e gravidade das infecções respiratórias por vírus. Nossa hipótese principal é que essa população pode apresentar alguma alteração imunológica com impacto na saúde dessas crianças. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o perfil da resposta imunológica (inata e adaptativa) de crianças com SD.

Metodologia

Delineamento do estudo

Este estudo é de caso-controle.

População e amostra

A amostra do estudo foi selecionada por conveniência, por meio de convite aos responsáveis legais das crianças com SD. As crianças com idades entre 2 e 18 anos foram recrutadas junto aos ambulatórios de pediatria e de otorrinolaringologia do Hospital São Lucas da PUCRS, além da Kinder – Centro de Integração da Criança Especial. O projeto foi desenvolvido no laboratório de imunologia molecular, localizado no Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) – HSL-PUCRS. Foram incluídos os pacientes que preencheram todos os critérios de inclusão durante o período de recrutamento (de janeiro a dezembro de 2012). Para controle (cerca de um controle para cada 2 casos), foram incluídas crianças de outro estudo em andamento neste instituto (Estudo de prevalência de asma em uma amostra de crianças brasileiras e caracterização de fenótipos clínicos, marcadores biológicos e funcionais). Foram selecionados controles com maior volume de células armazenadas em criotubos. Não houve pareamento específico por sexo e idade, porém as médias de idade foram comparadas e incluídas na análise, para evitar influência dessa variável.

Critérios de Inclusão

Foram incluídas crianças com SD (Trissomia do 21, Translocação Robertsoniana ou Mosaico). Para controles, foram selecionadas crianças sem SD e sem doença respiratória (cerca de um controle para cada caso) considerando idade e sexo semelhantes para evitar possíveis vieses a partir dessas variáveis.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

A assinatura do termo de consentimento foi obtida junto ao responsável legal da criança, sujeito da pesquisa. O responsável autorizou a participação do paciente antes de qualquer procedimento (termo em anexo).

Procedimentos

A coleta (com seringas heparinizadas) de sangue periférico venoso (3-10 mL) dos pacientes foi realizada no ambulatório de pediatria do Hospital São Lucas ou no laboratório de Fisiologia Respiratória do IPB.

Análise da Resposta Imune

Purificação de monócitos e neutrófilos humanos: Os monócitos e os neutrófilos foram isolados do sangue periférico dos pacientes com SD e das crianças-controle, utilizando gradientes de Histopaque-1077 e Histopaque-1119, respectivamente. As células foram contadas em microscópio óptico, para análise da pureza e viabilidade.

Ensaio de quimiotaxia de neutrófilos humanos: Para avaliar a capacidade dos neutrófilos dos sujeitos com SD de responder a um estímulo quimiotático, essas células foram estimuladas a migrar em direção às moléculas quimiotáticas clássicas para neutrófilos. Para isso, os ensaios de quimiotaxia foram feitos em sistema Transwell (Corning), usando uma membrana de policarbonato de 5 µm. Os indutores da quimiotaxia de neutrófilos, IL-8 (1nM), foram adicionados nos poços inferiores da placa em meio RPMI 1640, na presença de 1% de soro fetal bovino (FCS), em um volume de 600 µL. Os neutrófilos suspensos em meio RPMI 1640 foram adicionados nos poços superiores da placa (2×10^5 células/100µL) e incubados por duas horas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C. Após a incubação, os neutrófilos que migraram para os poços inferiores foram coletados e contados em câmara de Neubauer. A migração dos neutrófilos dos pacientes com SD foi comparada com a migração dos neutrófilos dos sujeitos-controle.

Imunofenotipagem: As células mononucleares foram marcadas na concentração de 5×10^6 /mL com anticorpos anti-CD8 FITC, anti-CD4 PE, anti-CD3 APC (BD bioscience) por 30 minutos a 4°C e em seguida foram lavadas com tampão de citometria. As células foram avaliadas no citômetro de fluxo FACS Canto II (BD Bioscience) e os dados adquiridos serão analisados utilizando o programa FlowJo (TreeStar).

Análise Estatística

A amostra do estudo foi constituída de todas as crianças com SD cujos pais autorizaram a participação no estudo e de um grupo-controle. A análise foi descritiva utilizando testes de proporções, descrições em média (desvio padrão) e mediana (intervalo interquartil), conforme distribuição das variáveis. Associação entre as variáveis categóricas e desfechos dicotômicos foram analisadas pelo teste do qui-quadrado. Associações entre variáveis categóricas e desfechos contínuos foram analisadas pelo teste t de Student e Mann-whitney. As análises foram realizadas com os programas SPSS e GraphPad Prism. Todos os testes foram bidirecionais e as diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0.05$.

Resultados

Neste estudo, foram incluídos 13 pacientes com SD e 6 controles. Os pacientes com SD e os controles apresentavam média de idade de 8,13 e 9,83 anos, respectivamente. Essa diferença na idade entre os grupos não foi significativa. Da mesma forma, não observamos uma diferença significativa nas variáveis sexo e etnia. A maior parte dos pacientes com SD incluídos nesse estudo tinha confirmação citogenética (tabela 1).

Quando estudamos a capacidade de migração dos neutrófilos, também não foram observadas alterações significativas no grupo com SD (figura 1). Por outro lado, quando analisamos as variáveis associadas à resposta imune adaptativa, observamos uma tendência de valores percentuais menores de linfócitos CD4+ e maiores de CD8+ para o grupo com SD.

Mesmo que essas diferenças numéricas, isoladamente, não tenham apresentado diferenças significativas estatisticamente (figura 2), quando analisamos a relação CD4+/CD8+, foi observada diferença significativa mesmo com um pequeno número amostral (tabela 2).

Discussão

Estudos prévios demonstram que crianças com SD parecem apresentar um risco aumentado para infecções do trato respiratório. A partir dos resultados do presente estudo, pode-se considerar que o maior número de infecções observadas em crianças com SD não estaria relacionado com a resposta imune inata. Essas alterações possivelmente seriam causadas por modificações na resposta imune adaptativa, ou ainda por diferenças morfofuncionais no sistema respiratório desses pacientes (15).

As infecções respiratórias agudas (IRA) representam um grande espectro de patologias como rinofaringites, sinusites, otites ou pneumonias. As causas dessas enfermidades podem ser diferentes agentes etiológicos, principalmente vírus e bactérias. Dados mostram que crianças com SD apresentam IRA significativamente mais frequentes que crianças saudáveis (16).

Alguns fatores não-imunológicos, incluindo alterações anatômicas também podem contribuir para suscetibilidade dos pacientes com SD, especialmente para infecções das vias aéreas superiores (17).

Além disso, está comprovado por estudos post-mortem que existem alterações morfológicas da via aérea inferior e do parênquima pulmonar em pessoas com SD. Os alvéolos aparecem em pouca quantidade e seu tamanho são maiores do que o normal (4). Essas alterações também podem contribuir para a suscetibilidade acima descrita. Entretanto, ainda existe um baixo índice de sucesso ao se utilizar os instrumentos de avaliação da função pulmonar em crianças com SD. Isso dificulta o entendimento e o esclarecimento do papel dessas alterações morfofuncionais. Por outro lado, muitos estudos têm sugerido uma importante interferência dos fatores imunológicos.

Estudos que avaliaram a função neutrofílica apresentam resultados conflitantes. Nosso estudo não demonstrou diferença na função neutrofílica entre crianças e adolescentes com SD e controles. Esse resultado parece não ter sido influenciado pelo pequeno número amostral, já que a quantidade absoluta de neutrófilos com função quimiotática preservada foi superior nos pacientes com SD (15).

Outro importante componente da função imunológica nesses pacientes é a função dos linfócitos B e os níveis de imunoglobulinas. Cetiner *et al* avaliou os níveis de

imunoglobulinas em 32 pacientes com SD e 32 controles e não foram observadas diferenças significativas (18).

Esse mesmo autor avaliou número e função dos linfócitos T CD4+ e CD8+. O estudo descreve um aumento significativo no percentual de linfócitos CD8+. Esse achado é compatível com nossos resultados (figura 2), que demonstram uma tendência para um número mais elevado de linfócitos CD8+ em crianças com SD, quando comparadas aos controles saudáveis. Esse achado não foi estatisticamente significativo ($p = 0,073$), o que pode ser decorrente do pequeno número amostral no presente estudo.

Por outro lado, quando se avalia o chamado “fator de risco” para imunodeficiências ($CD4+/CD8+ < 1$), 66% dos pacientes com SD tinham a relação $CD4+/CD8+ < 1$, enquanto nenhum dos pacientes do grupo-controle analisado apresentava essa alteração. Essa diferença foi estatisticamente significativa e pode, em parte, contribuir para o número mais elevado de IRA observado em crianças com SD.

Esse achado, em conjunto com a análise de estudos prévios (18), sugere que os pacientes com SD apresentam uma taxa de linfócitos $CD4+/CD8+$ reduzida, o que pode justificar o quadro clínico de infecções recorrentes nessas crianças.

Referências Bibliográficas

1. Bloemers BL, van Furth AM, Weijerman ME, Gemke RJ, Broers CJ, van den Ende K, et al. Down syndrome: a novel risk factor for respiratory syncytial virus bronchiolitis--a prospective birth-cohort study. *Pediatrics*. 2007 Oct;120(4):e1076-81.
 2. Soares JA, Barbosa, Marcelo AI, Croti, Ulisses A, Foss, Marcos HDA, Moscardini, Airton C Distúrbios Respiratórios em crianças com síndrome de Down. *Arq Ciência e Saúde* 2004;11(4):230-3.
 3. Respiratory disorders in Down's syndrome: overview with diagnostic and treatment options. Down's Syndrome Medical Interest Group. 2001.
 4. McDowell KMMaC, Daniel I. MD. Pulmonary Complications of Down Syndrome during Childhood. *The Journal of Pediatrics*. 2011;158:319-25.
 5. Bloemers BL, van Furth AM, Weijerman ME, Gemke RJ, Broers CJ, Kimpen JL, et al. High incidence of recurrent wheeze in children with down syndrome with and without previous respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Jan;29(1):39-42.
 6. Respiratory disorders in Down's syndrome: overview with diagnostic and treatment options. Forum on Learning Disability and The Down's Syndrome Medical Interest Group; Royal Society of Medicine 2001.
 7. Silva VZ. Avaliação da função pulmonar e força muscular respiratória em indivíduos com retardo mental, portadores e não portadores da trissomia do 21 no Distrito Federal. Brasília: Universidade de Brasília; 2008.
 8. Park, E., Alberti, J., Mehta, P., Dalton, A., Sersen, E. & Schuller-Levis, G. (2000) Partial impairment of immune functions in peripheral blood leukocytes from aged men with Down's syndrome. *Clinical Immunology*, 2000, 95.
 9. De Hingh, Y.C., Van der Vossen, P.W., Gemen, E.F., Mulder, A.B., Hop, W.C., Brus, F. & de Vires, E. (2005) Intrinsic abnormalities of lymphocyte counts in children with Down syndrome. *The Journal of Pediatrics*, 147, 723.
 10. A.J. Khan, H.E. Evans, L. Glass, Y.H. Skin, D. Almonte, Defective neutrophil chemotaxis in patients with Down syndrome. *J. Pediatr*. 87 (1975): 87-89
 11. F. Rosner, P.J. Kozinn, Leucocyte function in Down's syndrome. *Lancet* 2 (1972): 283-284.
 12. E. Novo, M.I. Garcia, J. Lavergne, Nonspecific immunity in Down syndrome: a study of chemotaxis, phagocytosis, oxidative metabolism, and cell surface marker expression of polymorphonuclear cells. *Am. J. Med. Genet*. 46 (1993): 384-391.
-

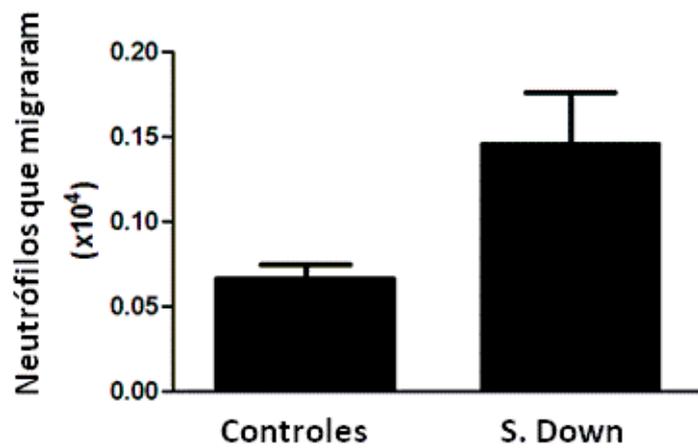
-
13. J. Forslid, B. Bjorksten, K. Hagersten, J. Hed, Erythrocyte-mediated scavenging of reactive oxygen metabolites generated by human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis: comparison between normal and Down's syndrome blood cells. *Inflammation* 13 (1989): 543-551.
 14. Nespoli, L., Burgio, G.R., Ugazio, A.G. & Maccario, R. (1993) Immunological features of Down's syndrome: a review. *Journal of Intellectual Disability Research*, 37, 543.
 15. Bloemers BL, Broers CJ, Bont L, Weijerman ME, Gemke RJ, van Furth AM. Increased risk of respiratory tract infections in children with Down syndrome: the consequence of an altered immune system. *Microbes Infect.* 2010 Oct;12(11):799-808.
 16. Selikowitz M. Health problems and health checks in school-aged children with Down syndrome. *J. Paediatr. Child. Health*, 28 (1992), pp. 383–386
 17. Shott S.R. Down syndrome: common otolaryngologic manifestations. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, 142 (2006), pp. 131-140
 18. Cetiner S, Demirhan O, Inal TC, Tastemir D, Sertdemir Y. Analysis of peripheral blood T-cell subsets, natural killer cells and serum levels of cytokines in children with Down syndrome. *Int J Immunogenet.* 2010 Aug;37(4):233-7.
-

Tabelas/Figuras

Tabela 1- Grupo em estudo versus controles, dados descritivos da amostra.

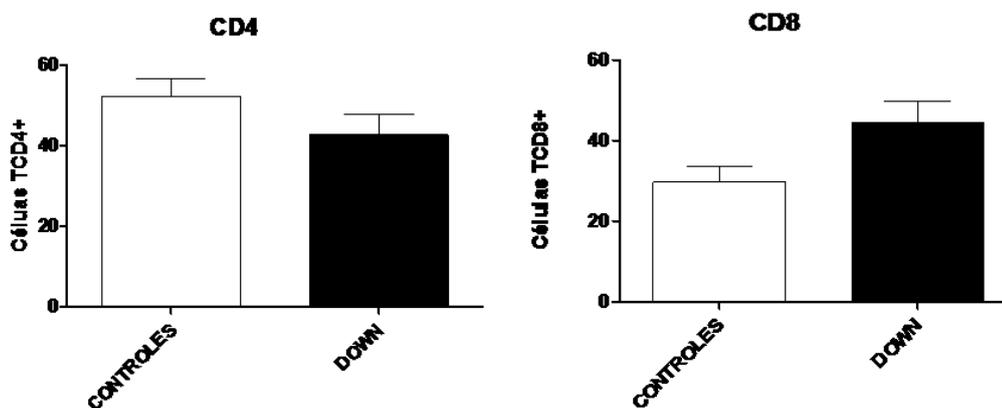
	S. de Down (N =13)	Controles (N =6)	Significância (valor de p)
Idade em anos, média \pm d.p.	8,13 \pm 1,99	9,83 \pm 1,17	0,070
Sexo feminino, N (%)	10/13 (76,9)	2/6 (33,3)	0,067
Etnia caucasiana, N (%)	8/12 (66,7)	5/6 (83,3)	0,764
Cariótipo 47XXX, N (%)	9/12 (75)	-	-

Figura 1. Migração de neutrófilos em crianças com síndrome de Down e controles.



Legenda: resultados da comparação de migração de neutrófilos entre pacientes com síndrome de Down e controles normais; $p = 0,070$.

Figura 2. Frequência relativa de linfócitos CD4+ e CD8+ em crianças com síndrome de Down e controles.



Legenda: resultados da comparação do número percentual (%) de linfócitos CD4+ e CD8+ entre pacientes com síndrome de Down e controles normais; CD4 $p = 0,268$; CD8 $p = 0,073$

Tabela 2- Grupo em estudo versus controles, comparação do número de pacientes com fator de risco positivo (CD4+/CD8+ <1).

	S. de Down (N =6)	Controles (N =4)	Significância (valor de p)
Pacientes com fator de risco (CD4+/CD8+ <1), N (%)	4/6 (66,7)	0/4 (0,0)	0,035

CAPÍTULO IV

4.1 CONCLUSÕES

No presente estudo, quando avaliado o chamado “fator de risco” para imunodeficiências ($CD4+/CD8+ < 1$), 66% dos pacientes com SD tinham a relação $CD4+/CD8+ < 1$, enquanto nenhum dos pacientes do grupo-controle analisado apresentava essa alteração. Essa diferença foi estatisticamente significativa e pode, em parte, contribuir para o número mais elevado de infecções observado em crianças com síndrome de Down.

Esse achado, em conjunto com a análise de estudos prévios, sugere que os pacientes com SD apresentam uma taxa de linfócitos $CD4+/CD8+$ reduzida, o que pode justificar o quadro clínico de infecções recorrentes nessas crianças.

ANEXO

ANEXO - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Seu filho(a) está sendo convidado a participar de um estudo sobre as defesas do organismo. Esse estudo é muito importante, pois vamos conhecer como o corpo se defende contra as doenças das crianças com síndrome de Down. Isso ajudará muitos médicos a tratarem dessas doenças. Portanto, a participação do seu filho(a) é muito importante. O procedimento consiste em coleta de sangue e será conduzido por pesquisador experiente.

Modo de coleta: serão coletados de 3 a 10 mL de sangue através de punção com agulha. Riscos e desconforto: a coleta de sangue oferece riscos mínimos podendo causar desconforto, dor local ou hematoma e, ocasionalmente, mal-estar e tontura. Somente pessoas treinadas serão responsáveis pela coleta. Banco de dados: com a sua permissão, o sangue coletado será analisado no Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) e enviado ao CTN Diagnósticos para pesquisa de cariótipo, caso seu filho(a) ainda não o tenha.

Gostaríamos de pedir que você concorde, assinando este documento, para que seu filho (a) participe desse estudo. Garantimos a total confidencialidade dos dados, ou seja, seu filho(a) não poderá ser identificado direta ou indiretamente por ninguém que seja estranho ao estudo. Você não vai gastar nada, mas também não há qualquer ganho financeiro para participação no estudo. Todo o material que cada criança utilizará será limpo e esterilizado. As crianças resfriadas ou com qualquer tipo de doença contagiosa não serão testadas. A qualquer momento você pode desistir de participar, sem nenhum prejuízo para você ou para seu filho(a).

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos médicos responsáveis pela pesquisa. O Dr. Leonardo Araújo Pinto, do Hospital São Lucas, de Porto Alegre, médico Pneumologista Pediátrico, pode ser encontrado nos seguintes telefones: (51) 3320-3000 ramal 2221 ou 9993-0528 (24h), para quaisquer esclarecimentos. Se você tiver qualquer dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-PUCRS) no telefone (51) 3320-3345.

Acredito ter entendido, suficientemente, as informações que li descrevendo o estudo "Avaliação do Perfil da Resposta Imune em Crianças Portadoras de Síndrome de Down". Estou convencido de que ninguém vai ter acesso às informações do meu filho(a) e que os exames oferecem risco mínimo. Também entendi que posso falar com o Dr. Leonardo A. Pinto ou com a comissão de ética em pesquisa, sempre que ficar com dúvidas. Ficou claro, também, que minha participação não vai me prejudicar financeiramente e que, a qualquer momento, posso desistir de participar, sem prejuízo.

_____/_____/_____
Nome do responsável Assinatura do responsável Data

_____/_____/_____
Pesquisador principal Assinatura do pesquisador Data
