

Solange Aparecida Pacheco

PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE LINFÓCITOS EM CRIANÇAS
NASCIDAS DE MÃES COM ASMA E RINITE ALÉRGICA, EM
BELO HORIZONTE.

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2003

Solange Aparecida Pacheco

PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE LINFÓCITOS EM
CRIANÇAS NASCIDAS DE MÃES COM ASMA E RINITE
ALÉRGICA, EM BELO HORIZONTE.

Dissertação apresentada ao Curso de
Pós Graduação em Medicina da
Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Medicina.

Área de concentração: Pediatria.
Orientadora: Profa. Silvana Maria Elói
Santos.
Co-Orientador: Prof. Jorge Andrade Pinto.

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina da UFMG
2003

P116p Pacheco, Solange Aparecida
Perfil imunofenotípico de linfócitos em crianças nascidas de mães
com asma e rinite alérgica, em Belo Horizonte/Solange Aparecida
Pacheco. Belo Horizonte, 2003.

81f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

Faculdade de Medicina

Área de concentração: Pediatria

Orientadora: Silvana Maria Elói Santos

Co-orientador: Jorge Andrade Pinto

1. Asma/congênito 2. Rinite/congênito 3. Transmissão vertical de doença
4. Imunofenotipagem 5. Sangue fetal/imunologia 6. Troca materno-fetal/
imunologia 7. Recém-nascido I. Título

NLM: WS 280

CDU: 616.248 -053.31

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITORA

Profa. Ana Lúcia Almeida Gazzola

VICE-REITOR

Prof. Marcos Borato Viana

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO: Profa. Maria Sueli de Oliveira Pires

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR

Prof. Geraldo Brasileiro Filho

VICE- DIRETOR

Prof. Joel Alves Lamounier

DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

CHEFE

Profa. Rocksane Carvalho Norton

COORDENADOR DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO DE PEDIATRIA.

Prof. Francisco José Penna.

COLEGIADO DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PEDIATRIA

COORDENADOR: Prof. Francisco José Penna

VICE COORDENADOR: Prof. Joel Alves Lamounier

MEMBROS

Profa. Ivani Novato Silva

Profa. Regina Lunardi Rocha

Prof. Roberto Assis Ferreira

Prof. Marco Antônio Duarte

Profa. Eleonora Moreira Lima

Prof. Eduardo Araújo Oliveira

À minha filha Ana Paula,
com amor.

“A ciência é diferente de muitos outros empreendimentos humanos evidentemente não pelo fato de seus profissionais sofrerem influência da cultura em que se criaram, nem pelo fato de ora estarem certos, ora errados, (o que é comum a toda atividade humana), mas pela sua paixão em formular hipóteses testáveis, pela sua busca de experimentos definitivos que confirmem ou neguem as idéias, pelo vigor de seu debate substantivo e pela sua disposição a abandonar as idéias que foram consideradas deficientes. Porém, se não tivéssemos consciência de nossas limitações, se não procurássemos outros dados, se recusássemos a realizar experimentos controlados, se não respeitássemos a evidência, teríamos muito pouca força em nossa busca da verdade”.

Carl Sagan, o mundo assombrado pelos demônios, 1995.

Agradecimentos:

Agradeço a todas as pessoas que, de alguma forma colaboraram para a execução deste trabalho, em suas diversas etapas. O momento cronológico que elas surgiram e quanto tempo permaneceram não importa neste instante. Importa que estiveram presentes até mesmo numa sugestão simples, numa palavra de incentivo, ou no dia-a-dia. Por participarem, de uma forma ou de outra, elas se tornaram importantes para mim.

À Professora Silvana Maria Elói Santos, mestre e amiga, pela orientação e confiança depositada em mim e em meu trabalho. Pela dedicação sincera ao magistério, pela capacidade de promoção da ciência e pela excepcional compreensão de meus limites e dificuldades.

Ao Prof. Jorge Andrade Pinto, meu co-orientador, pela seriedade, apoio e disponibilidade em discutir as inevitáveis dúvidas do aprendizado.

À Maria Elizete da Mata, pela preciosa ajuda na coleta de dados, colaboração em todas as etapas desta pesquisa, pela amizade e apoio.

À Jurema, pelo incentivo, disponibilidade em partilhar suas experiências, e pelo reaprendizado da amizade. Sem dúvida, sua visão crítica deste trabalho foi muito importante.

À Dra Maria José (Zezé), pela leitura crítica desta tese. Suas críticas pertinentes enriqueceram o conteúdo deste estudo.

À Dra Cybele Paes pelo agradável convívio no laboratório DIP, e pela preciosa ajuda durante a realização da Imunofenotipagem.

A profa. Maria Aparecida Martins, agradeço, não só pelos seus ensinamentos médicos, mas também pelos valores éticos e morais a mim transmitidos, e pelo importante incentivo no início deste trabalho.

Aos funcionários e colegas do Laboratório do Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias, DIP; Magda, Jerre, Júlio, Roberto, Eneida, Fabiana, Agdemir, Mauro, pelos inúmeros favores realizados, pelo apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários, médicos e enfermeiros da Maternidade Oto Cirne (Hospital das Clínicas UFMG), pela colaboração na execução deste trabalho.

Aos colegas, professores e alunos da pós-graduação, pela oportunidade de convívio e de aperfeiçoamento.

Aos pais das crianças que concordaram em participar deste estudo, pela contribuição à pesquisa e conhecimento médico.

À Sérgio companheiro de todos os momentos.

Aos meus pais por incentivarem sempre a minha caminhada.

Aos meus irmãos, Marcos e Hortência pela paciência, apoio e amizade.

Enfim, agradeço a Deus por, com mãos de ouro, ter colocado todas essas pessoas na minha vida.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.E TABELAS.....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Revisão da Literatura	1
1.2 – Asma	3
1.3 – Rinite	4
1.4 – Prevalência da Asma e Rinite Alérgica	6
1.5 – Etiologia e fatores de Risco	9
2.0 – Influências Maternas	20
2.2 – O Sistema Imune Fetal	21
2.3 – Desvio Imune da Resposta Th2 na Infância	24
2. OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo Geral	31
2.2 Objetivos Específicos	31
3. DETALHAMENTO METODOLÓGICO.....	33
3.1- Descrição da Metodologia Empregada	33
3.2 – Discussão e Apreciação da Metodologia Empregada	41
4. ARTIGO	46
5. CONCLUSÕES.....	65

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXOS	72
<i>Termo de Consentimento.....</i>	<i>72</i>
<i>Questionário clínico</i>	<i>74</i>
<i>Dados demográficos da população estudada</i>	<i>77</i>

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Frequência de manifestações clínicas nas gestantes do grupo caso (N=65).....	65
FIGURA 2- Frequência da reatividade aos diferentes antígenos empregados no teste cutâneo nas gestantes do grupo caso (N=65).....	66

LISTA DE TABELAS

TABELA I- Médias das percentagens das populações e subpopulações linfocitárias das mães e dos recém-nascidos	63
TABELA II- Médias dos percentuais de linfócitos de sangue de sangue periférico de gestantes expressando moléculas de ativação e isoformas CD45RA e CD45RO	64
TABELA III- Médias dos percentuais de linfócitos de sangue de cordão expressando moléculas de ativação e isoformas CD45RA e CD45RO	64

LISTA DE ABREVIATURAS:

CD:	Cluster of differentiation
HLA-DR:	Antígeno de histocompatibilidade humano classe II – DR
CSF1:	Fator estimulador de colônias 1
CBMC:	Células mononucleares de sangue de cordão umbilical
D	<i>Dermatophagoides</i>
Derf	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
Derp	<i>Dermatophagoides farinae</i>
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FL1	Fluorescência 1
FL2	Fluorescência 2
GM – CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgG 1	Imunoglobulina G1
IgG4	Imunoglobulina G4
IgM	Imunoglobulina M
IL	Interleucina
INFγ	Interferon gama
ISAAC	Internacional Study of Asthma and Alergies in Childhood

mm	Milímetros
MHC	Antígeno Maior de Histocompatibilidade
PBMC	Células mononucleares de sangue periférico
PE	Ficoeritrina
Th0	Linfócito T helper 0
Th1	Linfócito T helper 1
Th2	Linfócito T helper 2
µg	Microgramas
µl	Microlitros

RESUMO

JUSTIFICATIVA: A incidência de doenças alérgicas tem aumentado em todo o mundo, especialmente, nos países desenvolvidos. Além da característica genética da predisposição à alergia, fatores ambientais vigentes, durante a gravidez, poderiam ser importantes para o desenvolvimento da doença. Tentativas de identificar, através da celularidade do sangue de cordão, um marcador preditivo de desenvolvimento da doença, têm mostrado resultados conflitantes. Sensibilização alérgica *in utero* já foi demonstrada através de ensaios de proliferação e produção de citocinas por células mononucleares de sangue de cordão (CBMC). **OBJETIVO:** Determinar eventual alteração no perfil fenotípico de CBMC de crianças nascidas de mães alérgicas e investigar possíveis marcadores preditivos de desenvolvimento de atopia, através de estudo prospectivo longitudinal de recém-nascidos, durante doze meses. **METODOLOGIA:** A prevalência de alergia e a sensibilização alérgica foram pesquisadas em gestantes atendidas no serviço de pré-natal do Hospital das Clínicas, Belo Horizonte, Brasil (n=210), durante o período de a ., através de questionário clínico e teste cutâneo. As pacientes foram classificadas em Grupo Controle (n=64) e Grupo Caso (n=65). Células mononucleares de sangue periférico (PBMC) e CBMC de parturientes e seus respectivos recém-nascidos (Grupo Controle, n=14; Grupo Caso, n=16) foram analisadas, por citometria de fluxo. Foi realizado acompanhamento ambulatorial dos recém-nascidos por período de doze meses. **RESULTADOS:** Foi encontrada a prevalência global de 31% de alergia nas gestantes, com 29% de prevalência para rinite e 16,6% de prevalência para asma. Os alérgenos mais freqüentes foram o *Dermatophagoides pteronissinus* (95%) e *D. farinae* (70%). A freqüência de células T CD4+ expressando a isoforma CD45RO foi maior nas PBMC de parturientes alérgicas (48,4% ± 16,1 *versus* 23,5% ± 22,1), mas não observou-se qualquer diferença na ativação celular (CD19+CD5+, CD3+CD25+, CD3+HLA-DR+) e na freqüência das isoformas de CD45 (CD4+CD45RA+, CD4+CD45RO+, CD8+CD45RA+, CD8+CD45RO+) entre as CBMC entre dos dois grupos. Dentre as crianças do Grupo Caso, 25% desenvolveram quadro de atopia no primeiro ano de vida, enquanto, no Grupo Controle, nenhum caso foi detectado. **CONCLUSÃO:** Em nossa população, o estado de ativação celular de CBMC de crianças nascidas de mães alérgicas não diferiu daquele observado em crianças filhas de mães não alérgicas. Assim, a determinação desse perfil não se mostrou útil na predição do desenvolvimento de alergia no primeiro ano de vida.

ABSTRACT

BACKGROUND: Several reports have established that allergic diseases are increasing worldwide. Despite our knowledge that heredity influences the progress of asthma in childhood, it is been claimed that fetal environmental factors occurring during pregnancy might be of importance for the development of the disease. Attempts to identify a predictive marker of disease development in the cord blood cellularity have given conflicting results. Both proliferative and cytokine responses have been detected in cord blood mononuclear cells (CBMC), suggesting *in utero* allergen priming. **OBJECTIVE:** To determine if lymphocyte profile and activation status are altered by maternal history of allergy and to investigate the relationship between lymphocyte activation status and the development of allergic disease at twelve month of age, in a longitudinal study of high-risk children. **METHODS:** Prevalence of allergy and allergen sensitization were determined in pregnant women, attending pre-natal service in Belo Horizonte, Brazil (n=210). They were classified, based on clinical history and skin test, in Case and Control groups. Determination of the CD45 isoform of T cell subsets, as well as the determination of T cells expressing IL-2 receptor (CD25) and HLA-DR were evaluated in CBMC and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) obtained from pregnant women (group Case, n = 16; group Control, n = 14). Prospective newborns clinical follow-up was performed for 1 year. **RESULTS:** The prevalence of allergic disease during pregnancy was 16,6% for asthma and 29% for rhinitis, and house mites were the most frequent allergen (in Case group, *Dermatophagoides pteronissinus*, 95%; *D. farinae*, 70%). The frequency of CD4+ T cells carrying CD45RO marker was higher in PBMC of allergic pregnant women (48,4% \pm 16,1 *versus* 23,5% \pm 22,1), but no difference in CBMC activation status profile (CD19+CD5+, CD3+CD25+, CD3+HLA-DR+, CD4+CD45RA+, CD4+CD45RO+, CD8+CD45RA+, CD8+CD45RO+) between both groups was observed. At 12 months of age, 25% Case group children but none of the Control group had developed an atopic disease. **CONCLUSION:** In our population, CBMC activation profile did not differ between the two groups, so its determination could not predict the development of atopic diseases, for the first year of life.

INTRODUÇÃO

1.1. REVISÃO DE LITERATURA

Houve aumento considerável da prevalência de crianças com asma, e outras doenças alérgicas nas últimas décadas (WARNER et al., 2000). Investigações epidemiológicas foram realizadas em países desenvolvidos e em desenvolvimento, e mostraram variações consideráveis na prevalência da asma e outras doenças alérgicas nos últimos 20 a 30 anos. observou-se um aumento de doenças alérgicas respiratórias, principalmente na população pediátrica (HOLT et al.1997). Este aumento verificado em países em desenvolvimento é atualmente motivo de intensa investigação, na tentativa de identificar possíveis razões desta ocorrência. (WEIMBERG et al., 2000).

Fatores genéticos são pouco prováveis para explicar este rápido aumento, e entre os potenciais fatores ambientais, a poluição do ar, está sendo amplamente debatida (MUTIUS et al., 1998). Apesar de alguns pesquisadores sugerirem que este aumento pode ser pelo menos em parte, devido às mudanças em critérios diagnósticos (MAGNUS & JAAKKOLA, 1997 WIERINGA et al., 2001), doenças alérgicas principalmente a asma, são importantes em termos de saúde pública não só em países desenvolvidos como em desenvolvimento.

O estilo de vida de populações ocidentais tem sido considerado o fator mais importante, e isto implica um modo de vida onde crianças são expostas a uma série de antígenos alimentares, irritantes químicos, produtos de

combustão de motores, antígenos domiciliares e extradomiciliares (WEIMBERG et al., 2000). Desde que não há evidência sugerindo que a exposição alergênica materna tem aumentado nos últimos anos, alguma mudança na sensibilização intra-útero deve ter ocorrido juntamente com outros fatores ambientais. É provável que a interação entre sensibilização para alérgenos intra-útero e fatores ambientais tenham contribuído para o recente aumento das doenças atópicas (DEVEREUX, 2000). Destes e outros estudos sobre as doenças alérgicas, podemos tirar algumas conclusões sobre a asma no mundo:

- 1) A prevalência da asma está aumentando no mundo todo.
- 2) A asma é mais comum em países ocidentais.
- 3) É mais prevalente em países que falam a língua inglesa.
- 4) A prevalência da asma está aumentando em países em desenvolvimento.
- 5) A prevalência de outras desordens alérgicas está aumentando no mundo.(BEASLEY, 2000).

Argumenta-se, que a evolução criou um grande mecanismo seletivo, para a regulação dos aspectos patológicos na resposta imune a antígenos ambientais. Este mecanismo formaria a base de um longo período de proteção contra a sensibilização aos alérgenos do ar e de alimentos. A ocasional falta deste mecanismo seria responsável pela resposta inapropriada das células T, levando à produção de IgE contra estes antígenos nos indivíduos atópicos (HOLT et al. 1997).

Acredita-se que nos estágios iniciais durante a sensibilização do processo alérgico seja essencial a diferenciação do subtipo T helper tendo as citocinas produzidas pelo subgrupo Th2 papel fundamental em desencadear os processos envolvidos nas reações alérgicas. (HOLT et al., 1999).

Atopia é um tipo de reação inflamatória de hipersensibilidade do tipo I, expressando-se, clinicamente, sob a forma de asma, eczema e/ou rinoconjuntivite (HOLGATE, 1997). Segundo ROMAGNANI (1996), o termo atopia indica uma desordem geneticamente determinada, caracterizada pela capacidade aumentada dos linfócitos B em formar anticorpos da classe IgE reativos a antígenos ambientais, que sensibilizaram o sistema imune através da inalação, ingestão ou penetração através da pele. Assim, uma das hipóteses para explicar o aumento da produção de IgE específica para alérgenos em pacientes atópicos resulta de uma regulação aberrante na produção de IL-4 ao nível de células T .

Baseando-se nestes dados, procura-se novos conhecimentos sobre a atopia, com interesse na regulação de aspectos importantes na imunidade de células T na infância. Com o objetivo de atuar na imunomodulação, houve grande aumento no número de pesquisas nesta área. HOLT et al., 1997, mostrou evidências indicando que os padrões de reatividade de células T contra antígenos ambientais, que determinam a resposta fenotípica em adultos, são em muitos casos estabelecidos durante a infância. Parece provável que as respostas das células T sejam iniciadas antes do nascimento, via transferência transplacentária de baixos níveis de alérgenos, os quais as mães foram expostas durante a gravidez.

1.2. ASMA

Asma é uma doença complexa e multifatorial, na qual, fatores alérgicos e não alérgicos interagem e resultam em obstrução brônquica e inflamação (BOUSQUET et al. 1998). Caracteriza-se pela inflamação brônquica e a sua história natural é fortemente influenciada por alergenios, irritantes, e infecções que promovem a inflamação das vias aéreas. (GERN, 2000).

A asma ocorre como uma resposta excessiva da árvore brônquica a vários estímulos, resultando em obstrução variável da via respiratória que é pelo menos parcialmente, reversível. Os sintomas de tosse episódica, sibilos e dispnéia sugerem o diagnóstico de asma. A tosse pode ser a principal manifestação da asma na lactância e infância. (SKONER 1988).

Não existe uma definição única para asma, podendo ser considerada uma doença pulmonar obstrutiva difusa com (1) hiperreatividade aérea aos estímulos, (2) alto grau de reversibilidade do processo obstrutivo, que ocorre espontaneamente ou em conseqüência ao tratamento. (MUTIUS, 1998).

A intensidade da hiperreatividade das vias aéreas varia de um paciente para outro, e pode estar aumentada durante infecções respiratórias virais, após exposição a poluentes do ar, alergenios ou substâncias químicas e após administração de antagonistas de receptores β (SLY, 1997)

1.3. RINITE :

A rinite alérgica é um distúrbio inflamatório da mucosa nasal iniciado por uma hipersensibilidade mediada pela IgE. É a doença crônica mais comum do trato respiratório, ocorrendo em aproximadamente 10% das crianças e em mais de 29% dos adolescentes e adultos jovens. (SIMONS et al., 1988).

O diagnóstico da rinite é baseado no relato subjetivo de queixas nasais na ausência de infecções respiratórias, outras doenças ou anormalidades funcionais. Os pacientes apresentam-se com irritação nasal, espirros, rinorréia e obstrução nasal, sintomas, estes, que podem ocorrer em decorrência à exposição a alérgenos (pólen, animais de estimação, ácaro na poeira doméstica etc.). (HOLGATE, 1996).

Os pacientes com rinite alérgica estão predispostos a apresentar uma resposta prolongada do anticorpo IgE, no tecido linfóide do trato respiratório superior após exposição a alérgenos inalados. Quando sintomáticos, apresentam aumento de mastócitos e basófilos na mucosa e secreções nasais. As moléculas de IgE fixam-se à superfície dessas células através de seus fragmentos fc. Dentro de minutos após a exposição a alérgenos inalados contidos no ar, aos quais o paciente é sensível, como o pólen, ocorre uma reação antígeno anticorpo IgE, em que o antígeno reage com a porção fab da molécula IgE. A transposição de duas ou mais moléculas de IgE ligadas à célula pelo alérgeno resulta em agregação dos receptores de IgE na superfície celular; ativação das enzimas proteolíticas associadas à membrana e desencadeamento de uma cascata de reações enzimáticas no interior das

células. Essas células são submetidas a um processo não citolítico dependente de energia, em que os grânulos intracelulares fundem-se com a membrana celular e mediadores da inflamação pré-formados, como histamina, serotonina, fatores quimiotáxicos e eosinófilos e dos neutrófilos e proteases dos mastócitos são liberados no ambiente extracelular. Mediadores lipídicos derivados da membrana e recém formados como prostaglandinas outros metabólitos do ácido aracônico, produtos de lipoxigenase, como leucotrienos, e metabólitos fosfolipídicos como o fator ativador de plaquetas também são liberados.(SIMONS, 1988).

Vários grupos que investigam a capacidade preditiva do aumento da IgE no sangue de cordão para o desenvolvimento de doença alérgica têm demonstrado que IgE específica para certos alergenos pode ser encontrada ao nascimento (BERGMANN, 1997). Esta tendência pode estar presente intra-útero, tendo sido já relatados resultados positivos ao teste radioalergossorvente (RAST) mesmo no cordão umbilical (BOUSQUET, 1980).

Outro trabalho mostrou que os níveis séricos da IgE medidos com a idade de 1 ano de idade são preditivos do desenvolvimento de sintomas tópicos na idade de 2 anos (ORGEL, 1975).

1.4 PREVALÊNCIA DA ASMA E RINITE ALÉRGICA:

Apesar dos avanços ocorridos nos critérios diagnósticos, exames complementares e atenção à saúde, os quais devem ser considerados na

análise das taxas de prevalência, estudos usando diferentes definições da doença e metodologias concluíram um aumento significativo da asma em crianças ocorrido nas últimas décadas (MUTIUS et al., 1998).

Desde meados de 1960, observou-se um surpreendente aumento nas taxas de admissão hospitalar por asma na Nova Zelândia, Inglaterra, EUA, Canadá e Austrália. (HOWARD et al., 1984). Uma mudança na susceptibilidade da população, provavelmente devido a mudanças no ambiente, poderia contribuir para o aumento na frequência da doença e o alto peso na economia, conseqüente a este aumento deve ser considerado. (Warner et al., 2000).

Durante 1990, o custo do tratamento para asma calculado foi de 6,4 bilhões de dólares nos EUA (SULLIVAN, 1993). No Reino Unido, 11% do total de custos com prescrições foram gastos com a asma. Neste mesmo ano, houve 103.000 admissões hospitalares por asma da qual metade era da faixa pediátrica.(WARNER et al., 2000).

Vários dos estudos conduzidos nas décadas de 60 e 70 foram repetidos nos últimos anos usando metodologia similar e mostraram um aumento na prevalência destas doenças na Inglaterra, Austrália, Escandinávia, Israel e Taiwan, embora a magnitude das doenças varie entre os países estudados (ASHER et al. 1998).Variações geográficas na prevalência de doenças respiratórias entre países, foi observada nos estudos da Comunidade Européia, quando analisou-se a população adulta . As prevalências mais baixas foram

encontradas na Índia, Itália, França, Bélgica e Alemanha, e as mais altas na Nova Zelândia, Austrália, (e USA e países que falam a língua inglesa), (BEASLEY et al., 2000).

Trabalho realizado pelo ISAAC (International Study of Astma and Allergies in Childhood), em 120 centros de 50 países e envolveu mais de 500.000 crianças na faixa etária de 6-7 anos e 13-14 anos, encontrou a prevalência de sibilância de 1,9% a 35,3% na idade de 13 – 14 anos em diferentes centros, e de 1,6% a 27,2% para o grupo de 6-7 anos, (BEASLEY et al., 2000).

Diferenças dentro de um país foram encontradas em Papua, Nova Guiné e Sul da África com áreas urbanas apresentando maior prevalência do que áreas rurais (DOWNSE, 1986). Embora fatores genéticos predisponham para asma, estudos em crianças cujos pais migraram de países em desenvolvimento para países desenvolvidos sugeriram um aumento no risco de asma associada com o estilo de vida e ambiente da sociedade industrializada (WAITE D. A, 1980).

Nos Estados Unidos, a prevalência da asma varia de 3,6% a 9,5%, enquanto a rinite alérgica atinge 14,2% da população, sendo esta mais prevalente na faixa etária entre 18 e 49 anos (GERGEN et. al 1988, NATHAN et. al. 1997). Em 1998, nos EUA, dados do NCHS Health E-Stats (National Center for Health Statistics e-Stats) – Division of Data Services do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimavam em 10,6 milhões (39 por

1.000) o número de pacientes com asma. Isto representa 6,8 milhões de adultos (35 por 1.000) e 3,8 milhões de crianças (53 por 1.000), tendo ocorrido mais de 2 milhões de visitas a serviços de emergência.(MUTIUS, 2000).

No Brasil, dados apresentados no estudo ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) mostrou que a prevalência da asma brônquica varia de 4,8% a 21,8%, enquanto a rinite alérgica varia de 7,9% a 21,8%, variando de acordo com as regiões estudadas (NASPITZ, 1997). Em estudo realizado em 1994 para determinar a prevalência da asma rinite e eczema em santa Maria do Itabira (MG), o ISAAC verificou a prevalência de sibilância foi 14,3% (7-8 anos) e 9,3% (13-14 anos).(WERNEK, 1999).

Em outro estudo realizado em São Paulo, o questionário foi aplicado em 3.005 crianças com idade de 6-7 anos e 3008 crianças com idade de 13-14 anos e a prevalência da asma foi de 7,3% para meninos e 4,9% para meninas no grupo de 13-14 anos. (Sole et al., 1999).

A asma incide em 0,4% a 1,3% das gestantes (MINITZ, 1976; De SWIET 1977, WEIBERG et al. 1980). A asma brônquica e a alergia são afecções comuns, sendo a asma, a doença pulmonar obstrutiva mais freqüente na gestação (GELLER, 1986). A morbidade substancial causada pelas doenças alérgicas, principalmente pela asma, traduz a necessidade de medidas preventivas urgentes para limitar o aumento na prevalência destas doenças (HOLT et al., 1997). Porém, para o desenvolvimento destas medidas, é

necessário um conhecimento mais detalhado da etiologia das doenças alérgicas.

1.5 ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO:

A etiologia destas doenças alérgicas ainda permanece pouco conhecida, apesar do grande número de pesquisas clínicas e epidemiológicas que procuram explicar porque, alguns indivíduos desenvolvem alergia e outros não. Embora fatores genéticos sejam claramente importantes para o desenvolvimento da atopia, não podem explicar o aumento da prevalência destas doenças (HOLGATE, 1997). Dieta materna e da criança, exposição a antígenos em uma fase precoce da vida pré e pós-natal, vacinação e infecções da trato respiratório e gastrointestinal (vírus, bactérias e parasitas) contribuem para o desenvolvimento do sistema imune (WEIS, 1998).

Teoria da higiene: especula-se que a melhoria nas condições sanitárias e a redução das infecções na infância, nos países desenvolvidos, são importantes no aumento observado na prevalência das doenças alérgicas. Postula-se que infecções precocemente na infância, poderiam reduzir o risco de alergia, (STRACHAN et al., 1989). Tal teoria foi reforçada por achados de que crianças que vivem em condições antroposóficadas, e em maior contato com agentes infecciosos, apresentam número menor de doenças alérgicas. (ALM.et. al, 1999).

Estudos epidemiológicos mostram uma relação inversa entre atopia e uma série de infecções bacterianas (*Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter*

pylori), viróticas (sarampo, hepatite A) e por protozoários (*Toxoplasma gondi*). (SALEN et al. 1996, MATRIACARDI et al, 2000). O mecanismo proposto para esta teoria seria que estas infecções desviassem o balanço da resposta imune em direção à resposta do tipo Th1, reduzindo assim a expressão de citocinas Th2. Crianças japonesas, com sensibilidade tardia à tuberculina, uma resposta do tipo Th1, são menos susceptíveis à alergia (SHIRAKAWA et al, 1997). Entretanto as infecções por helmintos não estão sujeitas a tal conceito, uma vez que são potentes estimuladores da produção de IgE, refletindo uma expansão da resposta Th2. A menor prevalência de doenças alérgicas na população infectada por helmintos, parece ocorrer por outros mecanismos, com o aumento policlonal de IgE, aumento da concentração de IgG4 antígeno específica e maior produção de IL-10, uma citocina anti inflamatória (VAN DEN BIGGELAR et al. 2000).

Segundo ROMANANI et al, 2000, os principais estudos epidemiológicos que sustentam a hipótese da higiene postulam:

a) o aumento no número de irmãos diminui o risco para a alergia que é mais alto no primeiro filho.

b) Há relação inversa entre risco de atopia e ocorrência de algumas infecções na criança.

c) Há redução na prevalência da asma e alergia em pacientes com esclerose múltipla, uma desordem mediada por células Th1.

d) O nível total da IgE diminui em pacientes infectados por parasitas após o tratamento para tuberculose.

e) Prevalência de atopia é baixa em crianças de famílias antroposóficas.

Apesar de ser atrativo sugerir que infecção precoce poderia estimular a resposta Th1 e então influenciar subseqüentes respostas para alergen inalados, nenhuma evidência epidemiológica detalhada para esta hipótese está disponível (PLATTS MILLS, 2000).

Vários trabalhos são realizados abordando fatores de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas. Investiga-se a relação de diversos fatores de risco, com o desenvolvimento da asma: exposição aos alergenos, exposição ao tabaco, presença de doenças respiratórias, sexo e outras doenças atópicas associadas (WEISS, 1998).

a) Predisposição genética: Uma predisposição genética combinada a fatores ambientais explica a maioria dos casos de asma infantil (SLY et. al, 1988). Estudos genéticos tem identificado múltiplas regiões dos cromossomos que contêm genes que contribuem para asma, atopia ou ambos. Evidência para o controle da produção de IgE foram identificados nos cromossomos 5q, 11q, e 12 q, (HOWARD, 2000).

b) O fumo: o fumo materno é outro fator de risco claramente demonstrado para o desenvolvimento da asma. O efeito predominante do fumo seria ainda intra-útero, induzindo a diminuição da função pulmonar ao nascer. Discute-se se o fumo materno pode também alterar a resposta a alergenos, uma vez que tem sido associado ao aumento no sangue periférico de

eosinófilos, nível sérico de IgE e reatividade ao teste cutâneo. Porém, ainda não é claro o seu papel no desenvolvimento da atopia. Sabe-se que a exposição ao fumo materno está associado com a ocorrência de infecções do trato respiratório em crianças e como potenciador do efeito das infecções viróticas, no desenvolvimento da asma (WEISS, 1998).

MARTINEZ (1992) estudou crianças até 5 anos de idade, e posteriormente várias vezes durante a infância até a idade de 11 anos. Observou que entre as crianças que não apresentaram asma até os cinco anos e cujas mães tinham 12 anos ou menos de educação, a incidência de novos casos de asma era de 2,5 vezes maior se a mãe fumava 10 cigarros ou mais do que se a mãe não fumava. Os mecanismos pelos quais o ambiente com fumaça de cigarro pode causar asma não estão bem compreendidos (DOULL et. al. 1997). A fumaça de cigarro ambiental também pode exacerbar a responsividade brônquica, sendo esse efeito aparentemente independente daquele do tabagismo passivo sobre a sensibilização alérgica (MARTINEZ et al., 1988).

- b) Peso de nascimento: crianças com baixo peso ao nascer apresentam maior probabilidade de ter asma do que aquelas com pesos maiores ao nascer, e esta relação não parece ser explicada por raça ou situação sócio econômica. É possível que as condições intra-uterinas predisponham ao baixo peso e a prematuridade também possam afetar o desenvolvimento pulmonar e aumentar a hiperresponsividade brônquica.(MARTINEZ et al. 1988).

d) IVAS (infecções de vias aéreas respiratórias): Aproximadamente 80% das exacerbações de asma em crianças na idade de 9 a 11 anos na Inglaterra são associadas a infecções respiratórias viróticas (JOHNSTON, 1995). Sabe-se que crianças com alguma predisposição genética para asma e atopia, quando expostas ao vírus sincicial respiratório, ao desenvolver infecção do trato respiratório, produzem IgE e apresentam processo inflamatório e asma. O mecanismo preciso para que isto aconteça ainda é desconhecido (WEISS, 1998). Asma e bronquiolite são causas muito comuns de morbidez nos Estados Unidos, sendo responsáveis por 450.000 e 100.000 internações/ano, respectivamente (SKONER, 1988). As infecções virais são responsáveis por até 40% dos episódios de sibilos em crianças pequenas, durante o outono e o inverno (HOLFMAN, 1973).

e) Sexo: A incidência da doença até a puberdade é maior nos meninos que meninas, na proporção 2:1, respectivamente. Na puberdade, estas taxas se igualam (HENDERSON, 1979). Após a puberdade, a incidência é maior em mulheres, o que indica possível influência de fatores hormonais (WEISS, 1998). A maioria dos estudos acerca da asma em crianças dos países ocidentais tem observado maior prevalência nos meninos do que nas meninas, com uma proporção de aproximadamente 2:1. As causas desta diferença ainda não são bem compreendidas. Há consenso sobre o fato de que os níveis séricos totais de IgE são maiores nos meninos do que nas meninas (MORGAN & MARTINEZ 1988).

f) Associação com dermatite atópica: A presença de rinite alérgica e/ ou dermatite atópica em conjunto com asma é associada à pior prognóstico. A gravidade das condições atópicas são também fatores preditivos, isto é, quanto mais grave a dermatite atópica e rinite associadas, mais grave será a asma e com menor tendência a remissões.(MORGAN & MARTINEZ, 1988).

g) Fatores relacionados com a gravidez: A asma durante a gravidez pode resultar em aumento da letalidade materna pré-natal, prematuridade e retardo do crescimento intra-uterino, com baixo peso do recém nascido. Pacientes com asma sem tratamento conveniente apresentam elevada mortalidade e maior incidência de hiperemese gravídica, toxemia, hipertensão arterial e hemorragia vaginal espontânea (NAFSTAD et al.,). Este estudo relatou ainda que complicações relacionadas ao útero, durante a gravidez, como hemorragia antes do parto, contrações prematuras, insuficiência placentária e crescimento uterino retardado aumentam o risco de obstrução brônquica.

h) Idade materna: Crianças de mães mais jovens, com menos de 20 anos de idade, apresentam probabilidade 2 vezes maior de apresentarem asma do que aquelas de mães mais velhas. Não há uma explicação clara para este achado (MARTINEZ, 1988).

Os mecanismos pelos quais estes fatores aumentam o risco de asma são desconhecidos, embora tenha sido sugerido que o estresse durante o

período neonatal tenha o potencial de aumentar o risco de desenvolvimento de alergia (BJORKSTEN, 1990).

i) Fatores ambientais:

Segundo Warner, (1994), a exposição a alérgenos ambientais, após o nascimento, é fator determinante no aparecimento da sintomatologia alérgica, em um bebê com predisposição genética. A exposição ao pólen de árvore ou capim nas primeiras semanas de vida parece sustentar o achado de maior prevalência de rinite em crianças nascidas na primavera e verão; no entanto, a rinite não atópica é também mais comum naqueles nascidos na primavera ou verão, indicando que outros fatores além dos polens ambientais são responsáveis por esta relação (HOLGATE, 1996).

Em estudo realizado com o objetivo de analisar a relação entre exposição a alérgenos e o risco de desenvolver asma, SPORIK, (1990) descreveu o seguimento, por 11 anos, de 67 crianças filhas de pais atópicos. Aproximadamente metade deles foram considerados atópicos através de teste cutâneo positivo para aeroalérgenos comuns. Dezesete crianças desenvolveram asma, sendo que 16 destas eram do grupo atópico e eram sensibilizadas à poeira doméstica. Das crianças que foram expostas a 10 μ g de poeira doméstica no primeiro ano de vida, todas, exceto uma, desenvolveram asma até a idade de 11 anos.

j) O papel dos alérgenos:

Os alérgenos foram descritos como causadores da “asma do feno” desde 1873 por Charles Blackley. O estabelecimento de que os alérgenos são uma causa importante de asma implica a demonstração da sensibilização específica e a demonstração de que a exposição continuada leva aos sintomas da asma ou à hipereatividade brônquica (DUFF, 1988). A exposição precoce a alérgenos pode ser o ponto crítico para a sensibilização primária. A redução na exposição pode oferecer uma mudança real para a prevenção primária e sensibilização, mas é essencial a implementação de medidas que possam alcançar e manter o baixo nível de alérgeno no ambiente. (CUSTOVIC, 2000).

PLATTS MILLS et al, em 2000, descrevem a importância da exposição aos alérgenos para o desenvolvimento da asma. Devido a produção realizada por plantas e animais, enzimas e outras proteínas, é inevitável que nós sejamos expostos a esta extensa quantidade de proteínas imunogênicas. Para muitos consiste em inalar pequenas quantidades e a resposta para esta exposição é a hipersensibilidade imediata (por anticorpos). Os alérgenos são em geral proteínas ou glicoproteínas que são capazes de induzir a formação de anticorpo IgE humano (sensibilização) quando inalados, ingeridos ou injetados. A frequência e a magnitude da sensibilização aos alérgenos refletem a interação de muitas variáveis, incluindo a estrutura do alérgeno, os níveis de exposição, e os múltiplos fatores que regulam a resposta da IgE humana. (YUNGINGER, 1988).

Os ácaros da poeira são provavelmente os alérgenos domiciliares mais bem estudados e comumente sensibilizadores. Os ácaros desenvolvem-se em

ambientes úmidos o que parece ser o fator limitante decisivo para o seu crescimento. (DUFF & PLATTS MILLS 1988).

Os gatos domésticos são a principal fonte de alergen na casa. Aproximadamente 3% da população em geral são alérgicos a gato. O principal alergeno do gato Fel d I. Este alergeno é encontrado na saliva e pêlo do animal. (DUFF, 1988).

Os restos de barata são uma fonte comum de alergen domiciliares sendo três espécies predominantes nos Estados Unidos: *Periplaneta americana*, *Blattella germanica* e *Blattella orientalis*. Os alergen definidos são: Bla g I, Bla g II, e Per a I. (CHAPMAN, 1993).

O alergeno do cão Can f I, que foi recentemente purificado é tido como um importante agente sensibilizante, e tem as mesmas propriedades aerodinâmicas.(PLATTS MILLS et al.,1997).

Os mofo (fungos) são encontrados são encontrados em ambientes intra e extra domiciliares, sendo os mais comumente identificados no domicílio: *Aspergillus*, *Penicilium*, e *Rhizopus*.(DUFF, 1988).

A medida dos alergen na poeira doméstica tornou-se possível quando os alergen foram purificados e quantificados através do uso de anticorpos monoclonais. Estudo realizado comparando antígenos dentro de casas na Austrália, Inglaterra e Alemanha, e entre zonas climáticas diferentes, na França

mostrou que em comunidades onde a média de alergenos é 2 μ g/g de poeira, a sensibilização para poeira doméstica é comum e seria significativamente associada com asma (PLATTS MILLS, 2000). Os estudos realizados nos primeiros anos de vida sugerem que a exposição no primeiro ano de vida pode influenciar a resposta. PLATTS MILLS(2000), mostrou em estudo realizado nos 2 primeiros anos de vida, que medidas de alergenos no quarto de dormir prediz a sensibilização.

k) A influência do ambiente intra-uterino:

Muitos trabalhos realizados fundamentam-se no estudo da doença alérgica após a instalação do processo. Pouco se sabe, e é investigado, sobre as condições preexistentes do hospedeiro. Os fatores congênitos, relacionados com as interações materno fetal observadas no período gestacional, são elementos que sabidamente influenciam a resposta imune do indivíduo (HOLT et al. 1997). OLSON & LESLIE 1981; WILKER et al. 1980, postularam sobre redes imunorreguladoras que são responsáveis por algumas interações maternas fetais. Estas redes consistem de anticorpos ou células imunes maternas, que presentes durante a gestação e ou durante o período neonatal, seriam capazes de alterar permanentemente a expressão de repertório imune do recém nascido. Dependendo do tipo de conexões existentes, diferentes padrões de respostas seriam favorecidos em determinados indivíduos. Isto explicaria porque indivíduos diferentes reagem de formas distintas e utilizam um repertório idiotípico também distinto quando confrontados com um mesmo antígeno.

Vários estudos experimentais e em humanos, com mães portadoras de doenças infecciosas, apresentam evidências sobre a influência materna nos padrões de resposta imune e graus de sensibilização imunológica. GILL et al, (1983), imunizaram mulheres grávidas com toxóide tetânico e constataram sensibilização dos recém nascidos ao tétano. Em recém nascidos de mães não imunizadas esta resposta não foi observada. Concluíram, portanto que, a imunização transplacentária ocorre em humanos .

2 - INFLUÊNCIAS MATERNAS:

Até recentemente, no campo da alergia, a possibilidade da resposta imune fetal ser influenciada pela mãe durante a gravidez não era reconhecida, e o ambiente uterino, era considerado o local onde as respostas governadas pela experiência genética predominavam sobre as influencias ambientais (WARNER 1998).

2.1 A UNIDADE FETO PLACENTÁRIA:

Na gravidez vivípara o contato entre a mãe e o feto se realiza ao nível da placenta, através do trofoblasto, na sua face fetal e da decídua, componente do endométrio uterino, que por sua vez encontra-se invadida pelo trofoblasto. Nas placentas humanas, do tipo hemocorial, o trofoblasto invade o endométrio provocando erosão dos vasos uterinos e destruindo a parede dos mesmos. Desta forma, a superfície das células que compõe o trofoblasto encontram-se em contato direto com o sangue materno (BERNIRSCHE & KAUFMANN, 1990). Células fetais migram para dentro da mãe e a análise da célula fetal no sangue materno tem sido proposta como um método de diagnóstico pré -natal (BONNEY 1998).

A gravidez do ponto de vista imunológico, constitui uma situação singular: O feto e a placenta possuem antígenos de origem paterna, e a gestante imunocompetente normalmente não rejeita o feto. Assim uma gestação não sensibiliza o organismo materno para gestações subsequentes, as quais continuam sendo bem toleradas. A observação que o desenvolvimento fetal não é prejudicado, embora antígenos fetais sejam reconhecidos como estranhos pela mãe, é comumente referida como o paradoxo imunológico da gravidez (ROMAGNANI 1995).

Está claramente demonstrado que há uma interação entre o sistema imune materno e o sistema reprodutivo durante a gravidez. Então o sistema imune materno pode aumentar ou inibir o desenvolvimento da unidade feto-placentária e a unidade feto placentária por sua vez, pode redirecionar o caminho da imunidade materna (ROMAGNANI 1994).

2.2 - O SISTEMA IMUNE FETAL:

O sistema imune humano surge no embrião a partir de tecido associado ao intestino. Surgem em primeiro lugar as células pluripotenciais hematopoiéticas no saco vitelino com 2,5 a 3 semanas de gestação. Estas células migram para o fígado fetal com 5 semanas e mais tarde, passam a residir na medula óssea onde permanecerão por toda a vida do indivíduo (BUCKLEY 1997). O estabelecimento do repertório das células começa com 8- 10 semanas de gestação (BECKLEY 1997). Quando os timócitos corticais imaturos começam a expressar os TCR, o repertório será

modificado ou moldado por dois processos de seleção relacionados: à seleção positiva, processo no qual o repertório de linfócito torna-se restrito ao MHC próprio, e a seleção negativa elimina ou inativa clones potencialmente auto reativos, assegurando que os linfócito T maduros sejam auto tolerantes (ABBAS 1995). Deve ser lembrado que o desenvolvimento do receptor dos linfócitos T tem lugar cedo na vida fetal, por esta razão a aquisição inteira dos repertórios de receptores dos linfócitos T e a eliminação dos receptores antipróprio anti- self), ocorre independente da exposição aos antígenos estranhos (HOLGATE 1996).

Observa-se que células T podem ser isoladas do timo fetal, com resposta proliferativa a fitohemaglutinina com 10 semanas de gestação (WARNER 1994).

Existe ainda, considerável controvérsia em relação à influencia do ambiente uterino no desenvolvimento da alergia. Segundo WARNER (1994), a exposição a alergenios ambientais após o nascimento seria considerada como fator determinante ao aparecimento de sintomatologia alérgica, em um bebê com predisposição genética. Demonstrou-se que bebês de mães alérgicas são mais prováveis para desenvolver alergia do que bebês de pais alérgicos, causando interesse no conceito de “primagem” intra-útero. Sugere-se que as respostas geradas pela mãe, exposta aos fatores desencadeantes de doença, durante a gravidez, também afetariam a resposta do feto aos mesmos fatores (WARNER, 1998). Os trabalhos neste campo focalizavam o estudo da patogênese destas doenças em adultos (HOLT et al., 1997). Porém doenças alérgicas são importantes doenças pediátricas, e isto levou à investigação de

quando e como a sensibilização a alérgenos se inicia. Vários grupos dentre eles, HOLT et al., 1997 mostraram que células mononucleares isoladas de cordão umbilical de recém nascidos proliferam e produzem citocinas em resposta à estimulação com diferentes antígenos. Estes resultados poderiam ser interpretados como evidência de que a sensibilização ocorre já no útero. Sugerindo que a sensibilização inicial poderia ocorrer como resultado de transferência transplacentária de antígenos importantes particularmente durante o último trimestre (WARNER, 1996).

Há indícios que este processo de sensibilização possa ocorrer em maior número nas crianças com história familiar positiva para atopia, podendo ser via transferência transplacentária de anticorpos da subclasse IgG antígenos específicos maternos(Holt et al., 1997).

Entretanto em alguns outros estudos, não se detectou uma forte associação entre a resposta proliferativa aos alérgenos e subsequente desenvolvimento de doenças alérgicas, (MILLER et al., 2001), sugerindo que esta proliferação não está relacionada necessariamente ao desenvolvimento da sensibilização alérgica.

DEVEREUX et al., 2001, verificaram que CBMC proliferam quando estimuladas com alérgenos, porém SMILES et al., 2001, não evidenciaram qualquer efeito secundário à exposição intra-útero a alérgenos da poeira doméstica, utilizando-se de ensaios de proliferação. SZEPPFALUSI et al, 2000, apresentaram importantes dados de proliferação celular em CBMC de recém

nascidos a termo e pré-termo, onde foi sugerido que a sensibilização ocorreria precocemente em torno de 20 semanas de gestação, uma vez que a resposta proliferativa para alérgenos inalantes é comparável para RN a termo e pré-termo. Estes resultados levantaram possibilidades de se identificar em qual estágio da gravidez a sensibilização transplacentária ocorre para estes antígenos, como também investigar a relação entre resposta no sangue de cordão e exposição materna a antígenos.(PLATTS MILLS et al., 2000).

Estudos em sangue de cordão de recém nascidos de mães alérgicas têm revelado também dados conflitantes, em relação ao percentual de células empresando as isoformas CD45RA e CD45RO, utilizados como marcadores de células não sensibilizadas, virgens ou sensibilizadas(de memória) respectivamente.(PRESCOTT et al., 2000). Inicialmente em crianças australianas, foi observada uma menor proporção de células T helper expressando o fenótipo de CD45RO+ e inversamente, uma maior proporção de células CD45RA+, o que foi considerado, pelos autores, como uma forma de inibição da ativação das células T, ou mesmo, uma ausência de sensibilização na população de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas (MILLES et al., 1994). Posteriormente HANGEDORENS et al., 2000, não observaram diferenças significativas nas populações de células CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, e CD45RO, CD45RA entre crianças belgas com e sem predisposição genética para o desenvolvimento de atopia. Recentemente VAN DEL VELDEN e colaboradores, (2001), na Holanda, observaram, em sangue de cordão de recém nascidos que desenvolvem atopia ao longo do primeiro ano de vida, um aumento na percentagem de células CD4+CD45RO. Em trabalho realizado em

1996, NASERT et al., avaliou a distribuição das células CD45RA e CD45RO em pacientes atópicos e mais detalhadamente avaliou o papel funcional destas células na imunopatogênese das doenças alérgicas e produção de Imunoglobulinas. Células T CD4+ podem ser subdivididas em duas subpopulações baseado na expressão de isoformas CD45 em sua superfície. Esta expressão correlaciona com o estado da função celular. Uma distribuição relativa das células CD45 RA é dependente da idade, com uma frequência mais alta ao nascimento e diminui com o passar do tempo. Há relativamente poucas células CD45RO em neonatos, comparados com adultos, como mostrado por DEVEREUX 2000 & BOFILL1994), consistente com a expectativa que neonatos possuem um grande repertório de células T inativo.

Como observado por PRESCOTT(2001) a expressão de CD45RA e CD45RO, são geralmente consideradas como não sensibilizadas e sensibilizadas. Investigações tem mostrado que a percentagem de CD45RO está dramaticamente diminuída na circulação no período neonatal, compreendendo 10%. Em adultos correspondem a 50% (Prescott 2001).

Tem-se difundido que a sensibilização do sistema imune fetal pelos alérgenos é fator determinante em estabelecer o desvio imunológico em direção a alergia. Em estudo realizado por Devereux (2000), procurou-se determinar se a sensibilização alérgica específica pode ocorrer in útero, pela determinação da isoforma CD45 de células mononucleares em proliferação. Houve uma tendência $p=0,08$, para a resposta proliferativa mediada por células Th que haviam sido primadas in útero por ser mais alta do que aquelas células Th não estimuladas. No homem, todos os leucócitos expressam uma

glicoproteína de peso molecular de aproximadamente 200kd, denominada CD45, que existe em diferentes isoformas(DEVEREUX 2000). Determinações mais precisas do peso molecular desta glicoproteína demonstraram que ela existe em várias formas, podendo ser divididas em CD45RA e CD45RO, sendo o primeiro um antígeno de peso molecular de 200Kd, e o segundo, de 180Kd. Estas formas foram identificadas através de anticorpos monoclonais específicos. Células de memória podem atualmente ser caracterizadas através de marcadores específicos. Estes já são conhecidos tanto para o homem como para animais comumente utilizados em laboratórios de pesquisa.

ROMAGNANI (1996), em um estudo feito em células do cordão umbilical de recém nascidos, onde pelo menos um dos pais era atópico, analisou a produção de citocinas (IL-4, IL-5, $INF\gamma$) por clones de células T. Encontrou um aumento na capacidade de produzir citocinas Th2 (IL-4, IL-5), nas amostras colhidas de recém nascidos filhos de pais atópicos quando comparado com amostras de recém nascidos filhos de pais não atópicos. Os clones de células T de recém nascidos de pais atópicos, estimulados com fitohemaglutinina e *Dermatophagoides pteronyssinus*, aumentaram a capacidade de produzir citocinas Th2 (IL-4) e (IL-5), comparado com clones de pacientes de pais não atópicos. Observou-se que o aumento na produção de IL-4e IL-5 não somente parece estar relacionado com o estado dos pais, mas com o subsequente desenvolvimento de atopia nas crianças.

Em outro estudo, WARNER (1994) observou que a produção de INF- γ foi menor em filhos de pais atópicos.

MARTINEZ (1995) avaliou a capacidade de células de sangue periférico e cordão umbilical produzir interferon gama e interleucina 2 (IL-2), ao nascimento e aos nove meses de idade. A produção destas citocinas aos nove meses de idade foi inversamente relacionada à reatividade cutânea, por testes com sete alérgenos comuns regionais. Entretanto, nenhuma relação foi evidente entre o nível total sérico de IgE e a produção destas citocinas com 9 meses de idade. As proporções de linfócitos circulantes e células CD4⁺ e CD8⁺ também não foram relacionadas com a reatividade do teste com a idade de 6 anos.

Estes dados sugerem que mecanismos reguladores da reatividade à alérgenos inalados podem envolver produção deficiente de interferon gama e IL-2, durante e ou precedendo o tempo de sensibilização inicial, e que mecanismos adicionais estão envolvidos na regulação do nível sérico de IgE.

Um dos mais importantes trabalhos sobre este tema foi desenvolvido por PRESCOTT e colaboradores, em 1999. Em um estudo prospectivo, os autores mensuraram, semestralmente, a resposta de proliferação e a produção de citocinas de células mononucleares de crianças atópicas e não atópicas desde o nascimento até os dois anos de idade. Observou-se que ao nascimento, a produção de interferon γ foi baixa em ambos os grupos de crianças. A resposta Th2 neonatal foi, inclusive, menor no grupo atópico do que no não atópico.

Entretanto observou-se uma rápida supressão da resposta Th2 durante o primeiro ano de vida nas crianças não atópicas, e a manutenção da produção inferior de IFN γ nas crianças atópicas.

Contudo estudos posteriores não reproduziram esses resultados, tendo alguns (GABRIELSON et al, 2001) e outros preconizando que os perfis de citocinas não podem prever o desenvolvimento de doenças alérgicas (HANGENDORENS et al, 2000, YANG et al, 2000, WARNER et al, 2000 e SPINOZZI et al, 2001).

2.3 DESVIO IMUNE DA RESPOSTA TH2 :

Reverendo 2 fases na história da descoberta da patogênese das doenças alérgicas, (ROMANANI 2000), relata que a primeira fase iniciou em 1879 quando Erlich descreveu mastócitos e eosinófilos, incluindo a descoberta de reaginas por Prausnitz e Kustner em 1921, e em fins de 1967 com a identificação da IgE. A segunda fase iniciou em 1986 com a descoberta das citocinas derivadas das células T e que regulam a produção de IgE pelas células B, realizado por COFFMAN e CARTY em camundongos e DEE PREET et.al, em humanos, incluindo a descrição das células T helper por MOSMAN et.al, em camundongos e PRETE et.al, em humanos, sendo até hoje reconhecidos.

A reação alérgica parece ser o resultado da resposta da célula th2 (Romanani 2000). Como observado em vários trabalhos, o sistema imune de animais ao nascer está intrinsecamente desviado para o fenótipo TH2 e

sugere-se que esta polarização seja mantida por um período significativo durante a infância.(HOLT, 1997). Os dados relatados para humanos são menos claros, mas é evidente que a capacidade de produzir a principal citocina Th1, INF_{γ} , está baixa durante a infância, como resultado de deficiências em ambos compartimentos: célula apresentadora de e células T(HOLT, 1997). Citocinas Th2 predominam em frequência e quantidade absoluta, talvez como consequência da produção de citocinas durante a gravidez, onde podem Ter importante papel na modulação da tolerância materna ao feto(WEIGMANN et al., 1993).

Macaúbas em 2000 ao discutir sobre alergia, relata que a alergia e as doenças alérgicas precisam ser interpretadas mais amplamente que uma simples dicotomia Th1 *versus* Th2. A associação entre deficiência na produção de ambos os tipos de citocinas no período neonatal e aparecimento de sintomas alérgicos sugere que o estabelecimento de uma resposta alérgica necessita de ambos os tipos de citocinas.

Dados os muitos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de uma resposta imune, ainda sabemos muito pouco sobre como estes mecanismos estão exatamente envolvidos na determinação de uma resposta alérgica ou tolerante.

Informações sobre estes eventos tornam-se cada vez mais importantes para o desenvolvimento de projetos estratégicos, objetivando atuar não no

tratamento de doenças alérgicas, mas na sua prevenção e melhor entendimento de sua fisiopatologia.

OBJETIVOS

2.0 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral:

Como objetivo principal, este estudo visa avançar estudos no entendimento das relações imunes materno fetais através da verificação do perfil fenotípico e funcional de linfócitos de sangue de cordão umbilical de recém nascidos filhos de mães atópicas e correlacionar os achados imunológicos com o desenvolvimento de sintomatologia específica no primeiro ano de vida.

2.2 – Objetivos específicos

Para tanto, propôs-se como objetivos específicos:

1. Determinar a prevalência de manifestações alérgicas respiratórias (asma brônquica e/ou rinite alérgica) em gestantes atendidas no Serviço de Pré Natal do Hospital das Clínicas da UFMG.
2. Determinar a prevalência de sensibilização a aeroalergenos em gestantes com manifestações alérgicas respiratórias e controles, em uma amostra de população, atendida no Serviço de Pré Natal do Hospital das Clínicas.
3. Analisar o perfil fenotípico das populações (linfócitos T, linfócitos B) e subpopulações (linfócitos T "helper", T supressor / citotóxico e linfócitos B CD5+) de linfócitos fetais e maternos circulantes.

4. Analisar o estado de ativação de linfócitos circulantes, através da expressão de HLA-DR e receptores de IL-2 (CD25) na circulação materna e fetal.

5. Analisar a população de linfócitos de memória (CD45RO+) na circulação fetal.

6. Acompanhar, clinicamente, as crianças no Ambulatório de Imunologia Pediátrica e verificar a ocorrência de sintomas alérgicos.

7. Correlacionar os achados imunológicos com o desenvolvimento de sintomatologia específica.

METODOLOGIA

3.1 – DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA EMPREGADA

Modelo do experimento:

Estudo caso controle não pareado, com amostragem por conveniência, com estudo de coorte, para complementação de dados.

Aspectos éticos:

O projeto foi, previamente, aprovado pelo comitê de Ética Médica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. A inclusão dos pacientes no estudo, todos voluntários, foi realizada, somente, após esclarecimento sobre seus objetivos, procedimentos e riscos, seguido da assinatura de termo de consentimento livre, pelos pais da criança ou pela gestante. Participaram, deste estudo, somente as crianças, cujas gestantes, estavam de acordo e assinaram o termo de consentimento (Anexo 1).

Todas as informações, obtidas de prontuários médicos, entrevistas e exames laboratoriais, foram mantidas em cadastro, de acesso exclusivo dos pesquisadores e resguardados sob os princípios da confidencialidade e privacidade.

Local de estudo:

A seleção de pacientes foi realizada no serviço de pré-natal do Ambulatório Carlos Chagas e Maternidade Oto Cirne do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UFMG. O acompanhamento das crianças foi realizado no Serviço de Alergia Pediátrica do ambulatório São Vicente da Faculdade de Medicina da UFMG.

População Estudada:

A partir da população rotineiramente atendida no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Ambulatório Carlos Chagas e na Maternidade Oto Cirne do Hospital das Clínicas, no período de julho de 1997 a abril de 1999, foram selecionadas 210 pacientes grávidas, com idade de 15 a 41 anos. Dentre estas pacientes, 65 eram casos, 74 eram controles e 71 foram classificadas como discordantes (história clínica e teste cutâneo para aeroalergenos).

Definição e seleção dos Casos:

Definiram-se como casos, as pacientes com história clínica positiva e teste cutâneo positivo. Foram selecionadas 62 gestantes, todas procedentes do Serviço de pré-natal do Hospital das Clínicas. Todas as gestantes eram portadoras de sinais e sintomas de rinite alérgica e/ou asma, sendo classificadas após questionário abordando a história clínica e teste cutâneo alérgico (Anexo 2).

O diagnóstico de asma brônquica foi estabelecido, considerando-se a presença de episódios de dispnéia e sibilância, alguma vez na vida, em pacientes com história pessoal e/ou familiar positivas para doenças atópicas (ISAAC MANUAL 1992).

O diagnóstico clínico de rinite alérgica foi estabelecido pela presença de manifestações de espirros em salva, rinorréia e/ou obstrução nasal intermitentes, relacionadas à exposição a alergenos inalantes e à história pessoal e/ou familiar positivas para doenças atópicas (NORMAN 1985).

Definição e seleção dos Controles:

Definiu-se como controles, as pacientes com história clínica negativa e teste cutâneo negativo. Foram selecionadas 74 pacientes clinicamente desprovidas de sinais e sintomas de doenças alérgicas que também possuíam história pessoal e familiar negativas para doenças atópicas, com boas condições de saúde e apresentando teste cutâneo, por punctura, para alergenos, negativo.

Critérios de exclusão:

1. Pacientes com história de Diabetes Mellitus.
2. Pacientes com hipertensão arterial crônica ou com diagnóstico de hipertensão arterial durante o período gestacional.
3. Pacientes com doenças auto-imunes, distúrbios da glândula tireóide, ou outros problemas endócrinos.
4. Pacientes com doenças infecto-parasitárias (doença de Chagas, esquistossomose, malária, toxoplasmose, dengue etc.), devendo apresentar exame parasitológico negativo durante o período gestacional.
5. Pacientes com patologia renal, doenças sexualmente transmissíveis, história de abortos seguidos ou outros problemas ginecológicos (tumores, disfunção hormonal).
6. Pacientes com doenças dermatológicas (impedindo a aplicação de testes cutâneos).
7. Uso de determinados medicamentos por via oral, venosa, intra-muscular ou tópica conforme a droga usada e período de uso:

8. Uso de anti-histamínicos (deveriam estar suspensos 3 dias antes do teste cutâneo).
9. Uso de outras medicações (anti-hipertensivo, antidepressivos, antibióticos, corticosteróides).
10. Recusa em participar do estudo.

Métodos:

a) Anamnese:

Após consulta com o médico ginecologista assistente, as pacientes submetiam-se à anamnese, para confirmação dos dados do prontuário, e a questionário padronizado (Anexo II). O questionário enfoca sinais e sintomas de doenças atópicas, história de tabagismo, situação sócio-econômica, condições de habitação, presença de cuidados ambientais, história familiar de atopia. Através do prontuário, foram conferidos dados clínicos, do exame físico realizados pelo médico assistente.

b) Teste cutâneo:

Após a realização da entrevista, realizou-se o teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (teste cutâneo por punctura). No total, foram analisadas 210 pacientes.

As soluções antigênicas (MERCK®) - poeira doméstica, *Dermatophagoides pteronyssimus*, *Dermatophagoides farinae*, Fungos I, Fungos II, epitélio de Cão, epitélio de gato - juntamente com o controle histamínico (positivo) na concentração de 1: 1000 e controle negativo (solução fisiológica) excipiente, foram colocadas sobre superfície volar do antebraço direito, com a

observação de uma distância mínima, entre elas, de 3 cm. A ponta de uma agulha descartável (agulhas descartáveis 13 x 3, Becton & Dickson Indústrias Cirúrgicas S.A) foi introduzida na pele e levemente tracionada para permitir a introdução de quantidade mínima do material nas camadas superficiais da pele. A área de medida de resposta ao teste cutâneo foi demarcada com caneta hidrográfica azul e o resultado copiado com fita adesiva transparente, que foi afixada no questionário da paciente.

A disposição dos extratos seguiu uma ordem constante e, em todos os testes cutâneos, as pacientes foram submetidas a um total de 09 puncturas. As leituras foram feitas 15 minutos após a aplicação dos extratos.

Os extratos alergenos utilizados foram mantidos a temperatura de 2 a 8 graus centígrados e utilizados dentro do prazo de validade.

A medida dos testes foi realizada utilizando-se uma régua especial (Greer Laboratories, Inc. Lenoir, NC USA). Optou-se pela medição do tamanho da pápula, já que um eritema com 10 mm de diâmetro tem a mesma sensibilidade que uma pápula de 3 mm (ADINOFF et al., 1990). Um teste foi considerado positivo quando a pápula em questão foi, no mínimo, 3 mm maior que a pápula produzida pelo controle negativo. O controle histamínico na concentração de 1 mg/ml foi utilizado em todos os pacientes para que pudéssemos detectar supressão histamínica.

c) Imunofenotipagem:

Estudos de imunofenotipagem celular foram realizados, utilizando-se da técnica de imunofluorescência direta por citometria de fluxo. A

imunofenotipagem consiste na identificação de populações de células pelos seus marcadores de superfície.

A citometria de fluxo é um método moderno que possibilita a contagem de milhares de células e análise quantitativa de uma multiplicidade de propriedades (físicas e biológicas). Neste sistema, a corrente de fluido que contém as células, ou as partículas em estudo, passa por um fluxo linear de maneira que uma por uma das células passa através de um feixe laser dispersando a luz em todas as direções. A luz dispersa para frente (FOWARD SCATTER) mede o tamanho da célula e a luz dispersa a 90° (SIDE SCATTER) mede a organização interna dos grânulos citoplasmáticos, densidade e configuração nuclear.

Utilizou-se anticorpos monoclonais específicos (Becton Dickinson @). ligados a compostos químicos fluorescentes, denominados fluorocromos, a fluoresceína (FITC) e ficoeritrina (PE) referidas no citômetro, como FL1 (fluorescência 1) e FL2 (fluorescência 2), respectivamente.

Os diferentes anticorpos utilizados estão listados na tabela abaixo.

Reagente	Marcação
IgG1	FITC, PE
Anti CD4	FITC, PE
Anti CD8	FITC, PE
Anti CD3	FITC
Anti CD19	FITC
Anti CD5	PE
Anti HLA DR	PE

Anti CD25	PE
Anti CD 28	PE
Anti CD45RA	PE
Anti CD45RO	PE

FITC= Isotiocianato de fluoresceína PE=Ficoeritrina

A coleta do material (sangue periférico das gestantes) foi realizada em tubos contendo heparina, tamanho 16 x 100mm (Becton Dickinson @) e o sangue de cordão em tubos Falcon @ de 50 ml, contendo 0,25 ml de heparina, estéreis e com tampa de rosca.

Para a marcação celular por anticorpos monoclonais, procedeu-se à seguinte técnica de preparo: 100µl de sangue periférico ou de cordão umbilical foram incubados com 5 µl de anticorpo monoclonal conjugado e incubados ao abrigo da luz por 30 minutos, a temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi processado no equipamento Multi-Q-Prep (Coulter @), para hemólise e fixação.

A leitura da fluorescência se deu em citômetro de fluxo Epics XL (Coulter@), onde a identificação de populações de interesse, bem como a determinação do valor percentual destas populações e subpopulações, foram feitas através de um sistema "software" específico, acoplado ao citômetro. Este software fornece um perfil de distribuição das células de acordo com o tamanho e granulosidade. A análise levou em consideração a população de células selecionadas, avaliando o perfil fenotípico por emissão de fluorescência, utilizando-se de gráficos de fluorescência 1 versus 2 (Figura 1).

Estudo estatístico

Análises comparativas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis e, quando indicado, pelo teste de Wilcoxon, para amostras pareadas (parturiente/RN).

3.2 - DISCUSSÃO E APRECIÇÃO DA METODOLOGIA EMPREGADA

Este trabalho foi realizado com base em um modelo de pesquisa observacional, não pareado, com amostragem por conveniência. O ponto de partida foi a identificação de indivíduos (pacientes grávidas) que apresentavam sintomas alérgicos respiratórios e testes cutâneos positivos (casos), que foram comparados a indivíduos sem sintomas e com testes cutâneos negativos (controles), com características semelhantes.

Na análise, objetivou-se quantificar a frequência com que a alergia esteve presente nos dois grupos, através do questionário e teste cutâneo de leitura imediata.

Os testes cutâneos com alergen visam revelar a formação de anticorpos nos indivíduos atópicos, através da formação de reações de placa urticada e eritema locais (SLY *et al.*, 1988). Na verdade, uma variedade de outros marcadores tem sido utilizada nos estudos feitos em crianças com asma, principalmente, em estudos epidemiológicos. A medida do nível sérico de IgE e o teste de punctura com alergen permanecem os métodos mais comuns de avaliar a resposta alérgica. Ambos são capazes de medir a sensibilização e exposição a alergen ambientais (WEISS *et al.*, 1998).

A reatividade do teste cutâneo depende de 3 fatores: a) um sistema imune intacto; b) a presença de um complexo basófilo/mastócito que pode combinar-se com a IgE e liberar mediadores quando expostos ao antígeno; e c) pele em condições adequadas de responder à histamina, com o

desenvolvimento de resposta inflamatória local, incluindo eritema e induração (WEISS *et al.*, 1998).

Os testes alérgicos não diagnosticam doença alérgica; apenas determinam a presença ou ausência de anticorpos IgE alérgicos específicos. Apesar dos anticorpos IgE alérgico-específicos serem um componente necessário na patogenia da doença alérgica, é da incumbência do médico decidir se os sinais e sintomas do paciente são compatíveis com a doença alérgica (OWNBY *et al.*, 1992). O teste cutâneo, da forma como é realizado em situações clínicas, em geral, é realizado para identificar indivíduos sensibilizados ao alérgeno em questão (YUNGINGER *et al.*, 1988) e constituem o método de escolha no diagnóstico das doenças alérgicas, por sua alta sensibilidade, rapidez dos resultados, baixo custo e facilidade de execução (OWNBY, 1988).

Como a confiabilidade e interpretação dos testes de punctura estão na dependência da habilidade técnica do aplicador, padronização, composição, potência e procedência dos extratos utilizados (BASOMBA *et al.*, 1985), todos estes fatores foram considerados, no decorrer do estudo.

Com relação à interpretação apropriada dos testes alérgicos, é sabido que controles positivo e negativo devem ser sempre usados, por causa da variabilidade cutânea. O controle negativo deve ser constituído do mesmo diluente usado nos extratos antigênicos. Sua utilização é importante para que se possa verificar a presença de reatividade não específica, como dermatografismo ou reatividade traumática induzida pelo instrumento utilizado para punctura (GLEICH *et al.*, 1974). Os padrões de medição e interpretação dos resultados dos testes cutâneos variam muito. O método mais aceito para

mensuração da resposta cutânea ao teste é a soma da medida do diâmetro mais longo (D) e do diâmetro perpendicular a este(s), dividido por 2 (BOUSQUET, *et al.*, 1988). A maioria dos pesquisadores considera um teste por punctura positivo quando a pápula do alérgeno em questão for, no mínimo, 2 ou 3 mm maior que a pápula produzida pelo controle negativo (OWNBY *et al.*, 1996). No estudo, considerou-se este parâmetro.

Em alguns casos não se constatou correlação entre a história clínica e o teste cutâneo. Nos casos de pacientes com teste positivo e história negativa, as possíveis explicações encontradas na literatura são:

a) Indivíduo destituído de traços hereditários de atopia que se sensibilizou por exposição a altas concentrações antigênicas e que ainda não desenvolveu sintomas (KUEHR *et al.*, 1994);

b) Pacientes portadores de IgE alérgeno-específica que não respondem clinicamente à provocação alérgica, sugerindo que um teste cutâneo positivo não significa necessariamente alergia clínica (BERNSTEIN & STORMS, 1995)

c) Indivíduo não sensibilizado no qual o teste cutâneo resultou positivo pela presença de impurezas, contaminantes ou ativação local através do reflexo axônico disparado por uma reação vizinha fortemente positiva, e a presença de dermatografismo.

Já nos casos de história positiva e teste negativo, as possibilidades citadas são:

a) Utilização de fármacos pelo paciente que possam interferir com a resposta cutânea (BOUSQUET *et al.*, 1988);

- b) Utilização de extratos pouco potentes, de procedência não confiável ou com validade vencida (BOUSQUET *et al.*, 1988);
- c) Presença de doenças no paciente que possam interferir na reatividade cutânea como dermatite atópica (BOUSQUET *et al.*, 1988);

Nos nossos casos, as três primeiras possibilidades foram cuidadosamente afastadas. Todos as pacientes foram submetidas ao teste cutâneo após anamnese, certificando-se de que não usaram as drogas especificadas em Metodologia, pelo período previsto. A técnica utilizada, foi a de punctura (PEPYS *et al.*, 1975); a disposição dos extratos foi uniforme em todos os testes e os extratos foram mantidos à temperatura de 2° a 8 graus, sendo utilizados dentro do prazo de validade. A medida da pápula foi realizada com régua especial para medição de testes alérgicos.

Em relação aos questionários (Anexo II), sua aplicação foi realizada por dois entrevistadores que desconheciam a condição do pacientes (presença ou não de manifestações alérgicas), o que reduziu a possibilidade de viés de suspeição diagnóstica.

O controle da evolução das gestações das pacientes foi realizado através das consultas de pré-natal, com a realização de nova entrevista no último retorno, de maneira a evitar a interferência de situações clínicas intercorrentes.

A avaliação imunológica realizada consistiu em estudos de imunofenotipagem por citometria de fluxo de células mononucleares de sangue de cordão umbilical. Esta é a técnica mais indicada para fins de estudos de populações e subpopulações celulares, uma vez que apresenta

grande versatilidade, precisão e especificidade, permitindo a detecção de diversos parâmetros em nível celular individual e rápida análise de um grande número de células, tornando, assim, as mensurações significativas. A sensibilidade foi garantida através da obtenção de pelo menos 5.000 eventos selecionados (“gated”) de cada amostra.

A análise estatística utilizou o teste de Kruskal-Wallis, quando se comparou os grupos de recém-nascidos e os grupos de parturientes, uma vez que tal teste tem como objetivo comparar duas ou mais amostras independentes em relação à uma variável de interesse. Além disso, trata-se de um teste não paramétrico, isto é, não se baseia na média e desvio-padrão e nem na mediana e, sim, nas posições (“rank”) das medidas das variáveis de cada grupo estudado.

Quando se comparou o resultado entre os recém-nascidos e as parturientes, utilizou-se o teste de Wilcoxon para amostras pareadas, que, também, trata-se de um teste não paramétrico, e tem como objetivo comparar medidas realizadas na mesma unidade amostral.

**ARTIGO A SER
SUBMETIDO**

**A ANÁLISE DO PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE LINFÓCITOS FETAIS NÃO É
CAPAZ DE PREDIZER O SURGIMENTO DE MANIFESTAÇÕES ALÉRGICAS
NO PRIMEIRO ANO DE VIDA**

Solange Aparecida Pacheco¹

Jorge Andrade-Pinto¹

Maria Elizete da Mata²

Dirceu Bartolomeu Greco³

Silvana Maria Eloi-Santos²

¹ Departamento de Pediatria, FM-UFMG

² Departamento de Propedêutica Complementar, FM-UFMG

³ Departamento de Clínica Médica, FM-UFMG

Unitermos:

Alergia, sensibilização pré-natal, sangue de cordão, memória imunológica, citometria de fluxo.

INTRODUÇÃO

A identificação precoce de grupos de pacientes de alto risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas seria de grande valia para tomada de medidas preventivas eficazes. Idealmente, tal identificação deveria ser possível ainda no período neonatal, uma vez que as doenças atópicas acometem pacientes ainda muito jovens.

A influência genética é de sabida importância nas doenças alérgicas como revisto recentemente por . Entretanto, o aumento na prevalência de alergia,

verificada nas últimas décadas, não pode ser explicado apenas pelos genéticos, e sugere que fatores ambientais devam desempenhar papel importante na gênese do perfil atópico.

Existem evidências de que alguns aspectos particulares do perfil imunológico alérgico estejam presentes já ao nascimento. Linfócitos de sangue de cordão são capazes de reconhecer e proliferar em resposta a certos alérgenos como a proteína do leite e também a aeroalérgenos, como a poeira doméstica e pólen, indicando a sensibilização intra-uterina a antígenos ambientais. Especula-se que tal sensibilização seja secundária à transferência trans-placentária de baixas concentrações de alérgenos aos quais as mães são expostas durante a gravidez, especialmente, durante o último trimestre (Holt 1996).

Vários métodos são empregados para estimar a intensidade da exposição intra uterina a alérgenos ambientais. Dentre os mais citados na literatura, encontram-se a determinação do nível de IgE sérica no sangue de cordão, a verificação da capacidade proliferativa de linfócitos de sangue de cordão induzida por estímulo antigênico específico e a determinação da subpopulação de linfócitos neonatais considerados como linfócitos de memória (Holgate e Doull, 1997). Tais linfócitos apresentam, em sua superfície, expressão da isoforma CD45RO, em contraste com aqueles descritos como linfócitos virgens (ou *naive*), nos quais predomina a isoforma CD45RA. Está estabelecido que, no sangue de cordão, há um predomínio absoluto de linfócitos virgens, enquanto, no sangue periférico de indivíduos adultos, os linfócitos de memória são os mais freqüentes, sugerindo, assim, que a quantidade de linfócitos de memória circulante é proporcional à exposição antigênica vivenciada pelo sistema imune.

Os achados da literatura relativos aos percentuais de linfócitos de memória e linfócitos virgens em sangue de cordão de recém-nascidos filhos de mães atópicas ainda são conflitantes. Inicialmente, Warner e colaboradores relataram uma diminuição do percentual de células de memória em sangue de cordão de crianças filhas de mães alérgicas, quando comparadas a crianças nascidas de mães não alérgicas. Posteriormente, outro estudo não detectou diferença significativa (Hagendorens *et al.*, 2000) e, mais recentemente, outro estudo relatou aumento nas células expressando a isoforma CD45RO no sangue de cordão de crianças nascidas de mães alérgicas (van der Velten *et al.*, 2001).

Sem dados relativos a populações de países em desenvolvimento, onde a presença de outros fatores ambientais, como por exemplo, infecções mais freqüentes, decidimos desenvolver o presente estudo, onde, numa primeira fase, avaliáramos a freqüência de alergia na população de gestantes atendidas em um hospital público de Belo Horizonte, Brasil, e posteriormente, avaliáramos o perfil linfocitário de sangue cordão de recém-nascidos filhos de mães alérgicas, verificando a distribuição das populações e subpopulações linfocitárias e seu estado de ativação celular e de expressão das isoformas CD45RA e CD45RO. Complementado, verificaríamos a ocorrência de manifestações alérgicas durante o primeiro ano de vida.

MATERIAL E MÉTODOS:

Modelo do experimento: Estudo caso-controle não pareado.

Aspectos éticos: O projeto foi previamente aprovado pelo comitê de Ética Médica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais. A inclusão dos pacientes no estudo, todos voluntários, foi realizada somente após esclarecimento sobre seus objetivos, procedimentos e riscos, seguido da assinatura de termo de consentimento livre pelos pais da criança ou pela gestante. Participaram deste estudo, somente as crianças cujas gestantes estavam de acordo e assinaram o termo de consentimento.

População Estudada: Foram selecionadas, no Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Ambulatório Carlos Chagas e na Maternidade Oto Cirne do Hospital das Clínicas, no período de julho de 1997 a abril de 1999, 210 pacientes grávidas, com idade variando de 18 a 41 anos, sem outras patologias concomitantes, para estudo de frequência de alergia e posterior seleção de grupos mãe-filho para acompanhamento.

Avaliação clínica: As pacientes foram submetidas à anamnese, para confirmação dos dados do prontuário, e a questionário padronizado, enfocando sinais e sintomas de doenças atópicas, história de tabagismo, situação sócio econômica, condições de habitação, presença de cuidados ambientais, história familiar de atopia. Após a realização da entrevista, realizou-se testes cutâneos de hipersensibilidade imediata (teste cutâneo por punctura). As soluções antigênicas - poeira doméstica, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, Fungos I, Fungos II, epitélio de cão, epitélio de gato (Merck) ,- juntamente com o controle histamínico (positivo), na concentração de 1: 1000, e controle negativo

(solução fisiológica) excipiente, foram aplicadas sobre superfície volar do antebraço direito, com a observação de uma distância mínima entre elas de 3 cm. As leituras foram feitas 15 minutos após a aplicação dos extratos, utilizando-se uma régua própria (Greer Laboratories, Inc. Lenoir, NC USA). Optou-se pela medição do tamanho da pápula e o teste foi considerado positivo quando a pápula em questão foi, no mínimo, 3mm maior que a pápula produzida pelo controle negativo.

Imunofenotipagem: Estudos do fenótipo linfocitário foram realizados em 16 gestantes do grupo controle e 14 gestantes do grupo, com seus respectivos recém-nascidos. A imunofenotipagem celular foi realizada utilizando-se da técnica de citometria de fluxo. em citômetro de fluxo Epics XL (Coulter®). Resumidamente, 100µl de sangue periférico ou de cordão umbilical, colhido em heparina, foram incubados com 5 µl de anticorpo monoclonal e incubados ao abrigo da luz por 30 minutos, à temperatura ambiente. As células foram coradas em ensaios imunocitométricos de dupla cor, usando simultaneamente, anticorpos marcados com isotiocianato de fluoresceína e ficoeritrina. Após coloração, o material foi hemolisado e fixado automaticamente (Multi-Q-Prep, Coulter Co, Miami, FL). Os anticorpos monoclonais utilizados foram combinados da seguinte forma: IgG1-FITC /IgG1-PE, anti-CD3-FITC/anti-CD4-PE, anti-CD3-FITC/anti-CD8-PE, anti-CD3-FITC/anti-CD25-PE, anti-CD3-FITC/anti-HLA-DR-PE, anti-CD4-FITC/anti-CD45RA-PE, anti-CD4-FITC/anti-CD45RO-PE, anti-CD8-FITC/anti-

CD45RA-PE, anti-CD8-FITC/anti-CD45RO-PE e anti-CD19-FITC/anti-CD5-PE (Becton Dickinson, Mountain View, CA)

Para a leitura da fluorescência, a identificação de populações de interesse, bem como a determinação do valor percentual destas populações e subpopulações foram feitas através de "software" específico, acoplado ao citômetro (XL System II). Este software fornece um perfil de distribuição das células de acordo com o tamanho e granulosidade e a análise levou em consideração a população de células selecionadas, na região dos linfócitos, avaliando o perfil fenotípico por emissão de fluorescência, utilizando-se de gráficos de fluorescência 1 (isotiocianato de fluoresceína) *versus* 2 (ficoeritrina). Os resultados foram expressos como percentagens médias de populações e subpopulações linfocitárias. Análises comparativas foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis e, quando indicado, pelo teste de Wilcoxon, para amostras pareadas (parturiente/RN).

RESULTADOS:

I - Estudo da freqüência e de formas de apresentação de doenças alérgicas na população de pacientes gestantes atendidas no serviço de pré-natal do Hospital das Clínicas:

Entrevistou-se 210 gestantes atendidas no Serviço de Pré Natal do Hospital das Clínicas da UFMG, que foram divididas em grupos, baseando-se na história clínica (obtida através de questionário padronizado) e teste cutâneo com aeroalergenos. As gestantes que apresentavam sintomatologia e/ou história clínica positiva para asma ou rinite e, concomitantemente, apresentavam teste

cutâneo positivo foram classificadas como casos (n=65); as gestantes sem história clínica e com teste cutâneo negativo foram classificadas no grupo de pacientes controles (n=74). Dentre o total de pacientes entrevistadas, 71 não preencheram os critérios acima, apresentando resultados dos testes cutâneos e questionários discordantes.

Desta forma, observou-se a frequência de 31% (65/210) de alergia dentre a população analisada. Quando avaliou-se a forma clínica de apresentação do quadro alérgico, verificou-se que a forma clínica mais freqüente (93,6%) foi a rinite, podendo essa estar ou não associada à asma. Dentre as pacientes do grupo caso, observou-se freqüências de 47,6%, 46% e 6,1%, de rinite, rinite associada à asma e asma pura, respectivamente (Figura 1).

II - Estudo da reatividade ao teste cutâneo na população de pacientes gestantes atendidas no serviço de pré-natal do Hospital das Clínicas:

O teste cutâneo por puntura foi realizado em todas as 210 gestantes acompanhadas nesse estudo. A análise dos dados relativos às pacientes do grupo caso, isto é, com reatividade cutânea e história clínica positivas, mostrou que a reatividade mais freqüente foi ao *Dermatophagoides pteronissinus* (95%), seguida pela reatividade ao *Dermatophagoides farinae* (70%), à poeira doméstica (57%), à preparação Fungos I (20%), ao epitélio de cão (14%), à preparação Fungos II (9%) e ao epitélio de gato (12%) (Figura 2).

Uma distribuição de freqüência similar foi observada no grupo de pacientes que apresentavam apenas reatividade cutânea positiva, sem história clínica positiva (dados não mostrados), onde a reatividade aos ácaros foi, também, a mais

freqüente, indicando grande sensibilização a esses microorganismos, tanto na população de pacientes sintomáticas quanto na de pacientes assintomáticas.

III - Análise comparativa do perfil fenotípico de linfócitos circulantes de parturientes e dos recém-nascidos do grupo caso e do grupo controle.

Após a classificação através do questionário e teste cutâneo, acompanhou-se as pacientes até o momento do parto, quando colheu-se amostras de cordão umbilical (20 ml em heparina estéril) e sangue periférico da gestante (10 ml em heparina estéril), procedendo-se, a seguir, à realização de imunofenotipagem de linfócitos, até 12 horas após a coleta. Dentre as 210 pacientes, realizou-se ensaios de imunofenotipagem de 30 pacientes gestantes e seus recém nascidos. Dentre estas, 14 pacientes pertenciam ao grupo caso e 16 pertenciam ao grupo controle.

Linfócitos circulantes do sangue periférico e do sangue de cordão foram analisados por citometria de fluxo, a fim de avaliar a distribuição das populações de linfócitos T e linfócitos B.

A análise das subpopulações linfocitárias maternas (CD3+, CD4+, CD8+ e CD19+), obtidas no momento do parto, não mostrou diferenças significativas entre os grupos caso e controle. Pacientes do grupo controle apresentaram percentual médio de linfócitos T CD3+ de $77,3\% \pm 8,1\%$, enquanto aquelas do grupo caso apresentaram percentual médio de $71 \pm 12,8\%$. Da mesma forma, as subpopulações de linfócitos T CD4+ e T CD8+, apresentavam-se com percentuais médios indistintos ($40,4\% \pm 12\%$, no grupo controle e $40,4\% \pm 8,2\%$ no grupo caso para os linfócitos CD4+ e $27,6\% \pm 7,2\%$, no grupo controle e $27,7\% \pm 3,9\%$ no grupo caso para os linfócitos CD8+). Foi também avaliada a população de

linfócitos B, através da pesquisa de linfócitos com expressão positiva de CD19. Observou que no grupo de pacientes controle, o percentual médio de linfócitos CD19+ foi de $13,1 \pm 8,5\%$, enquanto nas pacientes do grupo caso foi de $13,1 \pm 3,6\%$ (Tabela I).

Quando comparou-se recém-nascidos de ambos os grupos, observou-se que o percentual médio de células T auxiliares (CD3+CD4+) estava significativamente aumentado no grupo caso quando comparado com o percentual médio observado nos recém-nascidos do grupo controle ($54,1\% \pm 7,8\%$ versus $44,6\% \pm 6,3\%$). Inversamente, o percentual médio de linfócitos CD19+ foi menor nos recém-nascidos do grupo caso ($11,6\% \pm 7,4\%$ versus $20 \pm 13,1\%$). Entretanto, o maior percentual de linfócitos T totais (CD3+), observado nos recém-nascidos do grupo caso ($75,8\% \pm 8,7\%$ versus $66,8 \pm 6,9$), não foi estatisticamente significativo (Tabela I).

IV - Análise comparativa dos *status* de ativação celular de linfócitos circulantes de parturientes e dos recém-nascidos do grupo caso e do grupo controle.

O estado de ativação celular foi avaliado na população de linfócitos T, através da pesquisa da expressão de receptor de IL-2 (CD25) e de moléculas de HLA-DR na superfície celular. Verificou-se, nas parturientes, que o percentual de linfócitos circulantes CD3+ expressando CD25 variou de 0,5-12,29%, com média de $3,7\% \pm 4\%$ no grupo caso e média de $1,6\% \pm 0,9\%$ no grupo controle. Já as células CD3+ expressando HLA-DR+ variaram de 0,3-8,3%, com média de $3,8\% \pm 2,5\%$ no grupo caso e média de $0,5\% \pm 0,2\%$ no grupo controle. Entretanto, esse

aumento na expressão de moléculas de ativação não foi significativo estatisticamente.

Na população de linfócitos B, pesquisou a expressão de CD5+, a fim de avaliar a população de linfócitos B CD5+, considerado como uma população diferenciada de linfócitos B, que parece estar aumentada no período gestacional e nas doenças auto-imunes. O aumento observado no grupo de pacientes alérgicas não foi estatisticamente significativo (14,3% *versus* 5,4% no grupo controle).

Quando analisou-se as populações de linfócitos, considerados linfócitos de memória, isto é, com expressão de CD45RO, foi encontrada diferença significativa na população de células T CD4+CD45RO+, que encontrava-se aumentada no grupo caso (Tabela II). Na subpopulação de linfócitos T CD8+, não foi observada diferença significativa.

A análise da ativação celular dos linfócitos periféricos dos recém-nascidos mostrou que o percentual de células T expressando CD25 foi maior no grupo caso (6,1% x 1,9%), assim como o percentual de células T expressando HLA-DR (3,9% x 0,4%) e o percentual de células B expressando CD5 (31,7 x 21,7%). Entretanto, tais diferenças não foram significativas. O marcador CD45RO foi uniformemente observado nas crianças dos grupos caso e controle, sendo expressado por 4,6% e 3,9% das células CD4 e em 7,3% e 6,8% das células CD8, respectivamente (Tabela II). De forma geral, então, não foi observada qualquer diferença no estado de ativação e nas populações de células de memória (CD45RO+) e células virgens (CD45RA+) de recém-nascidos filhos de mães alérgicas, quando comparados com aqueles nascidos de mães não alérgicas.

V - Acompanhamento clínico das crianças durante o primeiro ano de vida

Acompanhou-se as crianças desde o nascimento, até um ano de idade, observando-se o aparecimento de manifestações clínicas de doenças alérgicas respiratórias, asma e rinite alérgica. Em consultas mensais, avaliou-se o crescimento, desenvolvimento e estado clínico destas crianças.

Observou-se o aparecimento de sintomatologia alérgica (2 casos de rinite e 1 de asma brônquica) em três crianças do grupo caso.

No grupo “controle”, filhas de mães não alérgicas, oito crianças foram acompanhadas durante o primeiro ano de vida. Dentre estas, nenhuma desenvolveu sintomatologia alérgica.

Não observou-se doenças infecto contagiosas, exceto dois episódios isolados de IVAS. A vacinação apresentou-se em dia e as curvas de crescimento e desenvolvimento-neuro-psicomotor foram normais até 1 ano de idade. As mães foram orientadas tanto nos casos como nos controles para realizar o controle ambiental adequado, desde o início do acompanhamento.

DISCUSSÃO

Um dos paradigmas centrais da literatura a respeito da alergia é o conceito da ocorrência de um período crítico (“janela”) de sensibilização primária alérgica, durante a infância (Prescott *et al.*, 1999). Tal conceito provém de uma vasta literatura epidemiológica indicando que a exposição pós-natal precoce, a altos níveis de alérgenos, maximiza o risco de desenvolvimento de reatividade alérgica a esse antígeno na vida adulta (Holt *et al.*, 1990). Isso sugere que o desafio

alergênico, durante a infância, predispõe a criança a desenvolver memória imunológica específica direcionada para o perfil Th2. Tal risco é maior em crianças com pais ou irmãos atópicos, isto é, com genótipo atópico (Björkstén, 1994).

O estudo de diferentes populações celulares em sangue de cordão de crianças nascidas de mães alérgicas tem sido um campo de interesse crescente, por refletir o estado imune derivado do período intra-uterino. A maioria dos trabalhos descrevendo a distribuição e o estado de ativação celular são conflitantes e, em geral, hipóteses, as vezes imprecisas, as vezes mais duradouras, são formuladas a partir de tais dados.

A importância de estudar possíveis marcadores precoces de predisposição para o desenvolvimento de alergia deriva da alta prevalência das doenças alérgicas e da alta morbidade, e às vezes, alta mortalidade decorrente de infecções secundárias a quadros primários alérgicos.

Para avaliar o impacto da doença alérgica em nosso meio, iniciamos por estimar sua frequência na população de gestantes de um serviço público de Belo Horizonte. Encontramos uma frequência de 31%, utilizando-se, como critério diagnóstico, as positivities clínica e ao teste cutâneo. Quanto à apresentação clínica verificada nas pacientes do grupo casos (n=65), quatro apresentavam asma, 31 pacientes tinham rinite e 30 apresentavam associação de asma e rinite. Considerando o número total de gestantes analisadas, verificou-se a frequência de asma de 16,3% e de rinite de 29%. Os dados relativos à asma estão coerentes com os descritos na literatura, para o Brasil, onde a frequência varia de 4,8-21,8% (Werneck *et al.*, 1999). Da mesma forma, a frequência de rinite foi similar ao

descrito por Naspitz (21,8%), em 1997 e por Vianna e colaboradores (32%) em 2001).

Na análise dos resultados dos testes cutâneos, dentre os alérgenos testados, os mais frequentemente responsáveis pelos testes positivos foram *Dermatophagoides pteronissinus* (95%) e *D. farinae* (70%). Em recente estudo, realizado em crianças e adolescentes de Belo Horizonte, Marques confirmou serem os ácaros da poeira domiciliar os principais alérgenos sensibilizantes nesta população (86%) (Marques, 1998). Resultados semelhantes foram encontrados também por Medeiros, em 1997, nos quais também o grupo de ácaros foi o mais prevalente, com índice de positividade de 86,6%.

A análise conjunta desses dados reforça o local das alergias dentro das nosologias mais prevalentes na nossa população, e confirma o papel dos ácaros domiciliares como o principal agente sensibilizante.

Entretanto, quando pesquisamos algum marcador de sensibilização pré-natal que pudesse ser detectado na avaliação do perfil de distribuição das populações e subpopulações de linfócitos de sangue de cordão, nas populações de linfócitos de memória e linfócitos virgens e na expressão de marcadores linfocitários de ativação celular, nenhum achado foi significativo, apesar da maior incidência de manifestações alérgicas no primeiro ano de vida nas crianças filhas mães alérgicas.

Em relação à distribuição das subpopulações de linfócitos de memória e linfócitos virgens, é interessante notar, como já descrito na literatura, que a distribuição relativa de células T virgens (CD45RA) é idade dependente, com maior frequência ocorrendo ao nascimento, e decrescendo ao longo das

experiências imunológicas do organismo (Bradley *et al.*, 1991). Também, em nossos dados, quando populações linfocitárias maternas foram comparadas com populações fetais, observou-se um claro desvio da predominância de células expressando CD45RA, ao nascimento, para o predomínio da expressão de CD45RO, na fase adulta (Tabelas II e III). Da mesma forma, a freqüência da subpopulação de células B CD5+ é também idade dependente, sendo mais freqüente nos recém-nascidos, como foi observado em nossos dados, quando comparamos a freqüência de linfócitos B CD5+ nas mães e nos seus recém-nascidos (Tabelas II e III).

Considerando a distribuição de linfócitos expressando CD45RA ou CD45RO em pacientes alérgicos, Schauer e colaboradores, em 1991, relataram, surpreendentemente, freqüência aumentada da expressão de CD45RA em células CD4 de sangue periférico de pacientes atópicos. Entretanto, nesse estudo verificamos que a subpopulação de linfócitos T CD4+ expressando CD45RO foi mais freqüente nas parturientes alérgicas. Ressaltamos aqui, que o primeiro estudo foi realizado em pacientes de países desenvolvidos, onde provavelmente a estimulação por antígenos derivados de microorganismos seja menos intensa que a verificada nas pacientes de nosso estudo.

Interessantemente, na população de recém-nascidos, não foi observada qualquer diferença relativa à distribuição de linfócitos de memória e linfócitos virgens nos recém-nascidos filhos de mães alérgicas, quando comparados àqueles nascidos de mães não alérgicas, resultado semelhante ao observado por Hagendorens e colaboradores, em 2000.

Também, em relação à expressão de moléculas de ativação, na população de células T, não houve diferença significativa. Em adultos, já havia sido demonstrado o aumento na expressão de CD25 e HLA-DR nas células CD4+ de pacientes alérgicos. Porém, não há qualquer relato referente à expressão de HLA-DR em CBMC de crianças filhas de mães alérgicas. Em relação à expressão do receptor de IL-2 (CD25), Warner e colaboradores haviam descrito uma diminuição da percentagem de células CD4+ com expressão aumentada de CD25 (Warner et al., 1997). Em nossos dados, o alto desvio padrão observado (Tabelas II e III) também pode ter contribuído para a ausência de significação estatística. Entretanto, é evidente que a diferença na distribuição das isoformas de CD45, entre os dois grupos de recém-nascidos, foi bem menor que a diferença observada na expressão de moléculas de ativação.

A grande frequência de gestantes com perfil alérgico, em nossas pacientes, associada à ausência de um marcador laboratorial preciso de predição de desenvolvimento de alergia, nos recém-nascidos, estabelece a necessidade do estabelecimento de condutas universais de puericultura, para com nossas crianças, principalmente naquelas com história familiar positiva. A orientação no sentido de evitar a exposição precoce a alergenios, como poeira doméstica, fumaça de cigarro, fungos e insetos, devem ser preconizadas, em todos recém-nascidos, especialmente, naqueles com história familiar positiva para doenças alérgicas.

Outro ponto que deve ser considerado quando da elaboração e preconização de medidas preventivas para alergia, é o conceito de que o favorecimento de situações, onde a resposta imune do tipo 1 prepondera sobre a

do tipo 2, traz benefícios para as crianças de alto risco para o desenvolvimento de alergia, especialmente no primeiro ano de vida. Uma das melhores evidências na literatura foi descrita por Prescott, em 1999, quando esses autores demonstram, através de estudos retrospectivos, que a capacidade de aumentar rapidamente a produção de γ -IFN, durante os seis primeiros meses de vida, é considerada crucial para o desvio da resposta tipo 2, predominante no ambiente gestacional materno, para o perfil tipo 1, predominante nos adultos não atópicos. Vale a pena lembrar que exposição microbiana, especialmente pela microflora gastrointestinal, é considerada o fator ambiental mais potente da estimulação da função Th1 (Sudo *et al.*, 1997).

Tais considerações fazem da infância precoce um período único durante o qual, as respostas imunes que acompanham as atopias, possam ser potencialmente manipuladas, terapêutica ou profilaticamente. Em particular, funções da resposta imune do tipo 1 tornam-se alvos lógicos para estratégias profiláticas.

Estudos devem ser continuados, a fim de estabelecer, com segurança, medidas que poderiam ser indicadas a fim de tratar ou prevenir a tão importante morbidade das doenças alérgicas.

Referências:

1. Björkstén B. 1994. Risk factors in early childhood for the development of atopic diseases. *Allergy*. **49**:400.
2. Bradley LM, Duncan DD, Tonkomogy S, Swain SL. 1991. Characterization of antigen-specific CD4+ effector T cells in vivo. *J Exp Med* 174:547.
3. Hagendorens, M.M., van Bever, H P., Schuerwegh, A .J., de Clerck, LS., Bridts, C.H., Stevens, W.J. *Pediatr. Allergy immunol* .,v. 11,p. 9-12,2000.

4. Holgate, S., Doull.J.M. 1997. Asthma: early predisposing factors. *British. Med. Bull.* **53**:71.
5. Holt PG, McMenamin C, Nelson D.1990. Primary sensitization to inhalant allergens during infancy. *Pediatr Allergy Immunol.* **1**:3.
6. Holt PG.1996. Primary allergic sensitization in environmental antigens: perinatal T-cell priming as a determinant of responder phenotype to adulthood. *J Exp Med.***183**:1297.
7. Marques MC. 1998. Sensibilização a aeroalergenos em crianças e adolescentes com manifestações alérgicas respiratórias e em controles. Belo Horizonte. Faculdade de Medicina-UFMG. 120p. Dissertacao, Mestrado em Medicina, area de concentração: Pediatria.
8. Medeiros JRM, Figueiredo JP.1997. Sensibilização a aeroalergenos em indivíduos com asma brônquica e/ou rinite crônica em salvador, Bahia. *Rev Bras Alergia Immunopatol.* **20**:143.
9. Naspitz CK. 1997. Epidemiology of allergic respiratory diseases in Brazil. In: Oehling AK, Huerta-López JG. (Ed) *Progress in Allergy and Clinical immunology. Proceedings of the XVth International Congress of Allergology and Clinical Immunology* **4**:90.
10. Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG. 1999, Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet.* **353**:196.
11. Schauer U, Jung T, Heymann S, Rieger CHL. 1991.Imbalance of CD4+CD45R+ and CD4+ effector T cell subsets in patients with atopic diseases. *Clin Exp Immunol.* **83**:29.
12. Sudo N, Sawamura AS, Tana K, Aiba Y, Kubo Y. 1997. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J Immunol.* **159**:1739.
13. Warner, J.O., Miles, E.A., Warner ,A.C. 1994. Altered T lymphocyte at birth in babies born to atopic parents. *Pediatr Allergy Immunol .***5**:202.
14. Wernack 1999

Tabela I

MÉDIAS DAS PERCENTAGENS DAS POPULAÇÕES E SUBPOPULAÇÕES
LINFOCITÁRIAS DAS MÃES E RECÉM-NASCIDOS.

Mães	CD3	CD4	CD8	CD19
Caso	71±12,8	40.4±8.2	27.7±3.9	13.1±3.6
Controle	77.3±8.1	40.5±12	27.6±7.2	13.1±8.5
Recém-nascidos	CD3	CD4	CD8	CD19
Caso	75.8±8.7	54.1±7.8 *	24.1±4.7	11.6±7.4 *
Controle	66.8±6.9	44.6±6.3 *	25.2±6.6	20±13.1 *

* O símbolo * indica diferenças estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Tabela II

MÉDIAS DOS PERCENTUAIS DE LINFÓCITOS DE SANGUE PERIFÉRICO EXPRESSANDO MOLÉCULAS DE ATIVAÇÃO E ISOFORMAS CD45RA E CD45RO

Mães	%CD5+ em CD19	%CD25 em CD3	%HLA-DR em CD3	%CD45RO em CD4	%CD45RA em CD4	%CD45RO em CD8	%CD45RA em CD8
Caso	14.3±16.7	3.7±4	3.8±2.5	48.4±16.1 *	62.6±25.9	35.8±11.1	61.0±19.2
Controle	5.4±4.9	1.6±0.9	0.5±0.2	23.5±22.1 *	43.3±25.2	30.7±18	71.9±15.6

- O símbolo * indica diferenças estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Tabela III

MÉDIAS DOS PERCENTUAIS DE LINFÓCITOS DE SANGUE DE CORDÃO EXPRESSANDO MOLÉCULAS DE ATIVAÇÃO E ISOFORMAS CD45RA E CD45RO

RN	%CD5+ em CD19	%CD25 em CD3	%HLA-DR em CD3	%CD45RO em CD4	%CD45RA em CD4	%CD45RO em CD8	%CD45RA em CD8
Caso	31.0±16.7	6.1±6.2	3.9±8.3	4.6±2.6	82.9±7.8	7.3±8.4	91.3±6.0
Controle	21.7±12.4	1.9±1.4	0.4±0.24	3.9±2.2	84.8±14.7	6.8±5.7	92.5±7.6

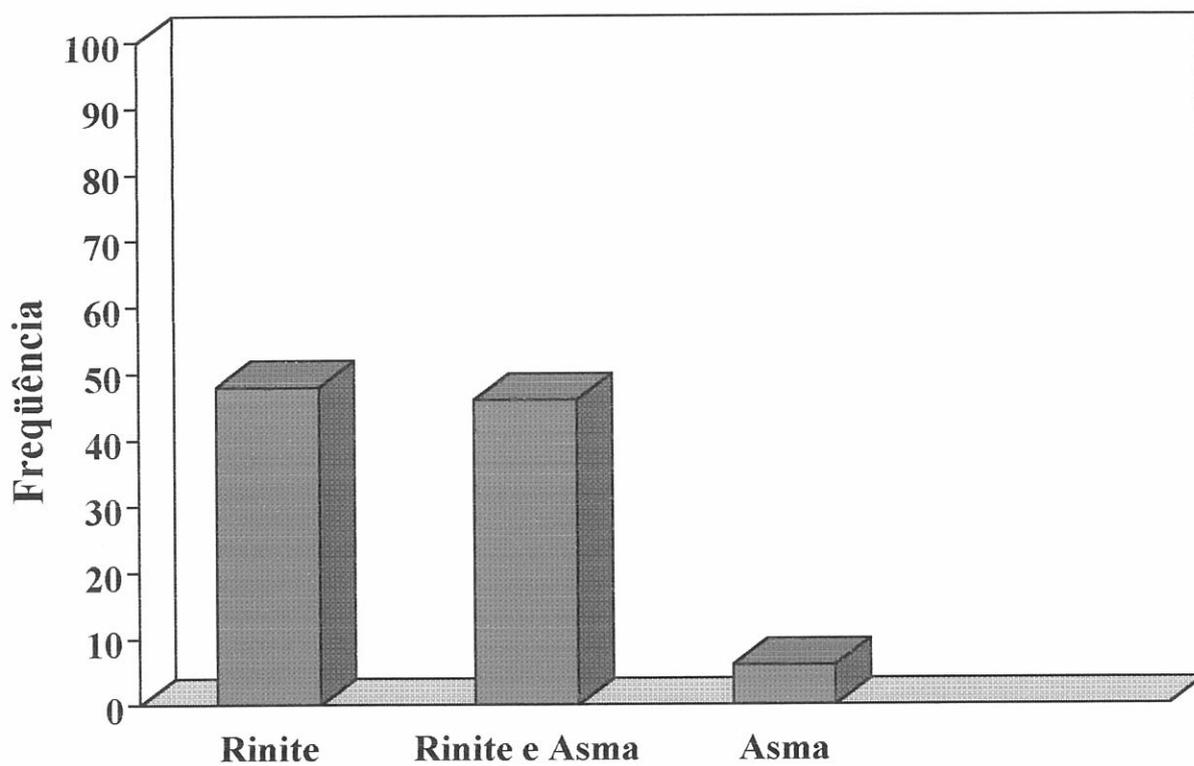


Figura 1: Frequência de manifestações clínicas nas gestantes do grupo caso (n=65).

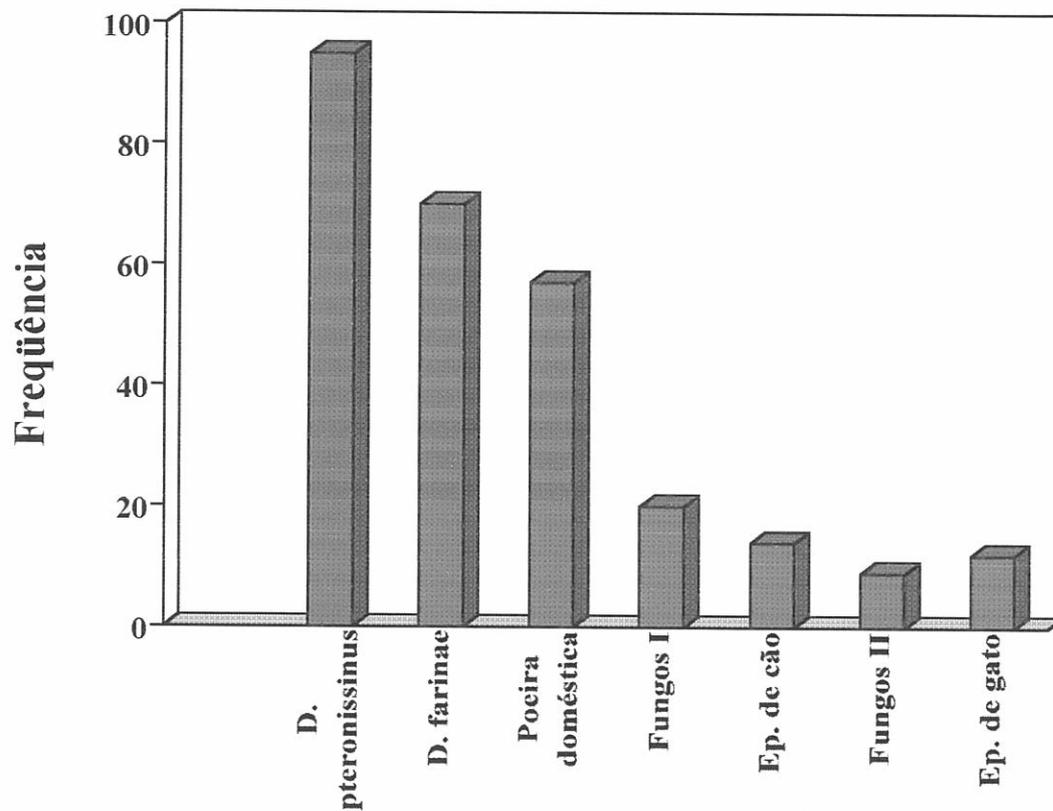


Figura 2: Frequência da reatividade aos diferentes antígenos empregados no teste cutâneo nas gestantes do grupo caso (n=65).

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1. A prevalência de alergia (história clínica de asma e/ou rinite associada a teste cutâneo positivo) em gestantes atendidas no ambulatório de pré-natal do Hospital das Clínicas-UFMG foi de 31%. A prevalência de rinite, isolada ou associada à asma, foi de 29% e a prevalência de asma, isolada ou associada à rinite, foi de 16,6%.
2. A sensibilização a alergenos, detectada por teste cutâneo de hipersensibilidade, mostrou positividade de 95% para *D. pteronyssinus* e 70% para *D. farinae*.
3. A incidência de asma, no primeiro ano de vida, em crianças filhas de mães alérgicas, foi de 25%.
4. Linfócitos de sangue de cordão apresentam menor percentual de células T expressando a isoforma CD45RO e maior percentual de células T CD45RA+ que linfócitos periféricos de parturientes.
5. Linfócitos de recém-nascidos de mães alérgicas apresentam o mesmo estado de ativação linfocitária e proporções equivalentes de células de memória que recém-nascidos filhos de mães não alérgicas.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASHER, M.I. WEILAND, S.K. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISSAC) **Clin. Exp Allergy**, v.28, p.52-66,1988.
2. BEASLEY, R., CRANE, J., LAI, C. K. W., PEARCE, N. Prevalence and etiology of asthma. **J. Allergy Clin Immunol.** V.105.n.2.part2. February 2000.
3. BERNSTEIN, I.L., STORMS, W.W. Practice Parameters for Allergy Diagnostic Testing. **Am. Allergy. Asthma. Immunol.**, v.75,p.543-570,1995.
4. BJORSKSTEN, B., PEAT, J., Primary and secondary prevention to allergic asthma. **Eur. Respir. J. Suppl.** 1998, v. 27, p.28-34.
5. BOUSQUET, J., GREILLIER,P. Comparison of Cord blood immunoglobulin E concentrations and maternal allergy for the prediction of atopic disease in infancy. **J.Allergy Clin.Immunol** v.65, p.422-426, 1980.
6. BOUSQUET, J., PENE, J., ABBBAL, C., YESSEL, H. The role of IgE in asthma. **Clin. Exp. Allergy**, v 28, supplement. 5, p.104-109, 1988.
7. BOUSQUET, J. In Vivo Methods for study of Allergens: In Middleton, E., Ellis, E. F., **Allergy Principal and Practice.**, St.Louis, p. 419-436,1988.
8. COOKSON, W.O.C.M., YONG, R.P., SANDFORD, A.J., HOPLIN, J.M. Maternal Inheritance of IgE responsiveness on chromosome 11q. **Lancet**, v.340, p. 381-384,1992.
9. CUSTOVIC, A., SIMPSON, B.M., SIMPSOM, A., HALLAM, C., CRAVEN, M., BRUTSCHE, M., WOODCOK , A. Manchester Asthma and allergy Study Low allergen environment can be achieved and maintained during pregnancy and early life. **J.Allergy. Clin. Immunol.** V. 105.n.2, part1. February 2000.
- 10.DEVEREUX, G., SEATON, A.,BARKER, R.N. In útero priming of allergens specific helper T cells. **Clinical and Experimental Allergy**, v.31.p. 1686-1695, 2001.
- 11.DUFF, A.L., THOMAS, A.E., MILLS, P. Alergens and asthma. **Pediatr. Clin. North Am**, v.35, n0 5,p.1327-1341, 1988.
- 12.GELER, M. Asma e Alergia na Gravidez. **J.B.M**, v. 50, p.63-67.

13. GABRIELSON, S., SODERLUNG, A., NILSSON, C., LIJA, G., NORDLUND, M., TROYE- BLOMBERG, M. Influence of atopic heredity on IL-4-IL-2-IL-12 and IFN-gamma producing cells in vitro activated cord blood mononuclear cells. **Clin. Exp. Immunol.**, v.126, p.390-396, 2001.
14. GILL, T.J., KUNZ, H.W., BERNARD, C. F., Maternal fetal interaction and immunological memory. **Science.**, 172: 1346-1348, 1971.
15. GILL, T.J., RABIN B. S., KUNZ, DAVIS, B.K., TAYLOR, F.H. Immunological aspects of maternal fetal interactions: **In: Development of Host defenses.** New York: raven press, 287-302, 1977.
16. HAGENDORENS, M.M., VAN DE VELDEN, HP., SCHUERWEGH, A .J., DE CLERCK, LS., BRIDTS, CH., STEVENS, W.J. Determination of T cell subpopulation and intracellular cytokine production (interleukin-2, interleukin4- interferon gamma) by cord blood t lymphocytes of neonate from atopic and non-atopic parents. **Pediatr. Allergy immunol .**,v. 11,p. 9-12,2000.
17. HANNET, I., ERKELLER, YUKSEL, F., LYDYARD, P., DENEYS, V., BRUYERE, M. Development and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. **Immunology Today**, v. 13, n 6, 1992.
18. HANDERSON, F., COLLIER, A., CLYDE, W. Respiratory Syncicial Virus Infections, Reinfections and Immunity. **N.Engl.J.Med.**, v.300,p.530-536,1979.
19. HOLGATE, S.T., CHURCH, M.K. Asthma, fisiopatology. **Allergy**, v.1, p.13.1-13.12,1996.
20. HOLGATE, S., DOULL, L.J.M. Asthma: early predisposing factors. **British. Med. Bull.** V.53, p.71-80, 1997.
21. HOLT, P.G., MACAUBAS,C. Development of long-term tolerance versus sensitisation to environmental allergens during the prenatal period. **Current Opinion in Immunol.**,v.9, p.782- 787,1997.
22. KEHR, J., FRISCHER, T.,MEINERT,R. Mite Allergen Exposure is a Risk Specific Sensitization . **J. Allergy. Clin. Immunol.**, v.94,p.44-52,1994.
23. MARTINEZ, F.D., STERN, D.A., WRIGHT, A., HOLBERG, C.J., TAUSSIG, L.M. Association of interleukin-2 and interferon γ production by blood mononuclear cells in infancy with parental allergy skin tests and subsequent development of atopy. **J.Allergy. Clin.Immunol.**, v.96,n.5,p.652-659,1995.
24. MARTINEZ, F.D., BURROWS, C.M. Increased incidence of asthma in children of smoking mothers. **Pediatrics**, v.89, p.21-26,1992.

25. MILES, E.A WARNER, A.C. WARNER, J.O. Altered T lymphocyte at birth in babies born to atopic parents. **Pediatr allergy Immunol.** 1994 v.5.p.202-208.
26. MOSMANN, R.T., GUIBERT, L., LIN, H., WEGMANN, G.T. Bidiretional cytokine interations in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? **Immunology Today**, v.14.n.7,p. 353-356, 1993.
27. MORGAN, W.J., MARTINEZ, F.D. Fatores de risco para Sibilos e Asma na Infância. **Clinicas Pediátricas da América do Norte.** V.35, nº5, p.1235-1253,1988.
28. MUTIUS, E.V. The rising trends in asthma and allergic disease clinical and **Experimental Allergy**.v.28.Suplement.5 p.45-49, 1998.
29. NASFTAD, P. MAGNUS, P. JAAKKOLA, J.J.K. Risk of childhood asthma and allergic rhinitis in relation to pregnancy complications. **J. Allergy Clint. Immunolol.** 2000; 106: 867-73.
30. NESERT, S., BURTCHEM, N., KUSSEBI, F., MILLNER, M., KROCZEK, R., JUNG, T.RENZ, H. Stimulation of IgE and IgA production by CD45RA T Helper cells in atopic patients. **The Journal of Immunology**, v. 157, p.441-448, 1996.
31. NORMAM, P.S. Allergic Rhinitis. **J.Allergy. Clin. Immunol.**, v.75,p.531-542,1985.
32. OLSON, J. C., LESLIE, G. A. Inheritance patterns of idiotypic expression: maternal-fetal immune regulatory networks. **Immunogenetics.**, 13: 39- 56, 1981.
33. ORGEL, H.A. Genetic and development aspects of IgE. **Pediatr. Clin. North. Am.**, v.22, p.17-19,1975.
34. OWBY, D.R.S. Allergy Testing:“ InVitro” Versus“ InVivo”. **Pediatric. Clin. North. Am.**,v. 35,p.995-1009,1988.
35. PEPYS,J. Skin Testing. **Br. J. Hosp. Med**, v.14,p. 412-418,1975.
36. PICCINI, M.P., GIUDIZI, M.G., BIAGIOTTI, R., BELONI, L., GIANNARINI, L., SAMPOGNARO, S., PARRONCHII, P. MANETTI, R., ANNUNZIATO, F., LIVI, C., ROMAGNANI, S., MAGGI,E. Progesterone Favors The Development of Human t Helper Cells Producing TH2 Type Cytokines and Promotes Both IL-4 Production and Membrane CD30 Expression in Established Th1 Cells Clones. **J. of Immunol.**,v.155,p.128-133,1995.

37. PICCINI, M.P., BELONO, L., GIANNARINI., SCAESELLI, G., ROMAGNANI,S., MAGGI, E.Abnormal production of T helper 2 Cytokines interleukin-4 and interleukins-5 by cells from newborns with atopic parents. **Eur. J. Immunol.**, v.26,p.2.293-2.298,1996.
38. PLATTS MILLS, T.A., RAKES, G., HEYMANN, P.W. The relevance of allergen exposure to the development of asthma in childhood. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology** v. 105.n.2.fev 2000. supl. 10.
39. PLATTS MILLS, Cord blood proliferative responses to inhaled allergens: Is there a phenomenon? **J. Allergy Clin. Immunol.** V. 106.n.3
40. PRESCOTT, S.L., MACAUBAS, C., SMALLACOMBE,T., HOLT,P.B., SLY,P., HOLT,P., Development of allergen specific T–cell memory in atopic and normal children. **Lancet**, v.353, p.196-200, 1999.
41. PRESCOTT,S.L., MACAUBAS,C., HOLT,J.B., SMALLACOMBE,T.B., LOH, R., SLY, P.D., HOLT, P.G. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: Universal skewing of initial t cell responses toward the cytokine profile. **The journal of Immunology**, v. 160, p.4730-4737, 1998.
42. PRESCOTT, S.L., MACAUBAS, C., HOLT, B.J., SLY, P.D., LOH, R. HOLT, P.G. Reciprocal age related patterns of allergen specific T cell immunity in normal vs. atopic infants. **Clinical and Experimental Allergy**, v.28, supplement 5, p.39-44, 1998.
43. PRESCOTT, S.L., MACAUBAS, C., YOBUHARA, A., VENAILLEW, T.J., HOLT, B.J., HABRE, W., LOH, R., HOLT, P.G. Development patterns of T cell memory to environment allergens in the first two years of live. *Int. Arch. Allergy Immunol*, 1997, v.113,p.75-79.
44. PRESCOTT, S.L., JONES, C.A., Cord blood memory responses: are we being naïve? **Clin. and Experimental Allergy**, v. 31, p.1653-1656, 2001.
45. ROMAGNANI, S. Induction of Th1 and Th2 responses: a key role for the “natural” imune response? **Immunology Today**, v.13, n.10, p379-381, 1992.
46. ROMAGNANI, S., MAGGI, E., LIVI, C. Progesterone Favors the Development of Human T Helper Cells Producing TH2- Type Cytokines and Promotes Both Il-4 Production and Membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. **J. Immunol**, v 155, n.1, p.128-133, 1995.
47. ROMAGNANNI,S. The role of lymphocytes in allergic disease. **J.Clin. Immunol.** V. 105.n.3.march 2000.

-
48. SAH, W.C., NELSON, C.A., NEWBERRY, R.D., KRANZ, D.M., RUSSEL, J.H., LOH, D.Y. Positive and negative selection of antigen receptor on t cells in transgenic mice. **Nature**, v.336, p.73-75, 1988.
49. SALAUN, J., BANDEIRA, A., KHAZAAL, I., COLMAN, F., COLTEY, M., COUTINHO, A Thymes epithelium tolerates for histocompatibility antigens. **Science**. V.247, p. 1471-1474, 1990.
50. SIMONS, M.D.,F, ESTELLE, R. Rinite alérgica, avanços recentes. **Clínicas Pediátricas da América do norte**, v.35, no 5, p.1057-1081,1988.
51. SPINOZZI, F., AGEA, E., RUSSANO, A., BISTONI, O., MINELLI, L., BOLOGINI, D., BERTOTTO, A. CD4+ IL13 T lymphocytes at birth and the development of wheezing and asthma during the 1st year of live. **Int. Arch. Allergy Immunology**, v.124, p.497-501,2001.
52. THE INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGIES IN CHILDHOOD
53. (ISAAC) STERING COMMITTEE. World Wide variation in prevalence of syntoms of asthma, allergic rhinoconjuntivitis, and atopic eczema: ISAAC. *The Lancet*. V. 351. April.25, p.1225-1231 1998.
54. TURNER, K.J., DPWSE, G.K., STERWART, G.A., SEPERS, M.P. Studies on Bronchial Hiperreativity, Allergic Responsiveness and Asthma and rural and urban children of the highlands of Papua New Guinea. **J.Allery Clin.Immunol.** v.77,p.558-566,1986.
55. WAITE, D.A., EYLIS, E.F., TONKIN, S.L., O'DONNELL,T.V. Asthma prevalence in tokelauan Children in two environments. **Clin. Allergy**, v.10,p.71-75,1980.
56. WARNER,J.A., JONES, C .A., WILLIANS,T.J., WARNER,J.O. Maternal programming in asthma and allergy. **Clin. Exp. Allergy**, v.28, supplement 5, p.35-38, 1988.
57. WARNER.A., MILES,E.A., JONES,A.C., QUINT,D.J., COLWELL,B.M., WARNER,J.O. Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? **Clin. and Exp. allergy**, v.24, p.423-430,1994.
58. WARNER, J. A., WILLIANS,T.J., JONES,C.A., MILES,E.A., WARNER,J.O. Costimulatory molecules in the developing human gastrointestinal tract: a pathway for fetal allergen priming. **J Allergy Clin .Immunol**, v. p.951-959,2000.

-
59. WARNER, J.O., MILES, E.A., WARNER, A.C. Altered T lymphocyte at birth in babies born to atopic parents. **Pediatric. allergy Immunol** ,v.5 p. 202-208,1994.
60. WARNER, J.A., Jones, A.C., Jones, A.C., Warner, J.O. Prenatal Origins of allergic disease. **J. Allergy Clin. Immunol.** Jul.v.105.n2.part 2.
61. WARNER, J.O., POLTNUNRK, P., MARGUET, C., ROCHE, W.R., CLOUGH, J.B. Issues in understanding childhood asthma. **J. Clin. Immunol.** v.105.n.2.part.2 .Feb. 2000.
62. WEGMANN, G.T., LIN, H., GUIBERT, L., MOSMANN, R.T., Bidirectional cytokin interactions in the maternal fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? **Immunology today**, v. 14, n.7, p.353-356,1993.
63. WEISS, S.T. Environmental risk factors in childhood asthma. **Clin. Exp. Allergy**, v.28.supplement 5, p 29-34,1988.
64. WEISS, S.T. Parasites and asthma. Whats is the relationship? **J. Allergy and Clin. Immunol.** V. 105. n.2. part.1. Fev 2000.
65. WEGMANN, T.G., LIM, H., GUILBERT, L., MOSMANN, T.R. Bidirecional Cytokine Interations In The Maternal Fetal Relationship: Is Successful Pregnancy a TH2 Phenomenon? **Immunology Today**, v.4, p.353-356,1993.
66. WIERINGA, M.H., WEYLER, J.J. Higher asthma occurrence in urban than suburban area; role of house dust mite skin allergy. **Eur. Respir. J.** v.10, p.1460-1466,1997.
67. YANG, Y.H., Chen M.C., Tsai, M J., Lin, YT., Chiang, B. Costimulatory molecules expression and cytokine profiles of cord blood mononuclear cells in newborns with low and high risk of developing atopic diseases. **J Microbiol. Immunol. Infect.**,v 33,p.159-64,2001.
68. YUNGIGER, J.W. Alergens: Recent Advances. **Pediatr.Clin. North. Am.**, v.35, n°5, p983-995, 1988.

ANEXOS

**Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais**

Comprovante de Participação em Projeto

Título do Projeto

Estudo da memória embrionária em crianças nascidas de mães alérgicas: Investigação de fatores preditivos de sensibilização pré natal.

Descrição de Projeto de Pesquisa

Objetivos do estudo:

Este estudo pretende avaliar crianças filhas de mães alérgicas através de análise do sangue de cordão, à procura de sinais que podem predizer o surgimento de alergias.

Procedimentos:

Se você concordar em participar deste estudo você preencherá um formulário, e será feito um teste cutâneo para verificar a presença de alergia. Quando sua criança nascer ela também será avaliada através da coleta de sangue de cordão umbilical. Durante o primeiro ano de vida sua criança será acompanhada no ambulatório de pediatria para a verificação do surgimento de alergias.

Riscos e Desconfortos:

A Punção venosa para coleta de sangue causa leve dor local, podendo haver a formação de hematoma edema locais e discreto sangramento. A punção do sangue do cordão umbilical não causa nenhum problema, uma vez que é colhido após o ,mesmo ter sido cortado. Após o teste o cutâneo poderá ocorrer prurido e eritema locais. Reações mais graves são muito raras.

Confidencialidade:

Toda informação obtida sobre você e sua criança será guardada em arquivos e apenas pessoas envolvidas no estudo terão acesso a estas informações.

Sua participação neste estudo será completamente voluntária. Você pode desistir de participar em qualquer momento. Caso você não queira participar ou resolva retirar-se do estudo, isso não afetará o tratamento que sua criança receberá na clínica pediátrica.

Se você deseja conversar sobre o estudo você deve entrar em contato com os investigadores:

Dra Silvana Maria Elói Santos 031- 239-7433

Dra Solange Aparecida Pacheco 031-33712900

031-99729148

Se você concorda em participar do estudo por favor assine seu nome na linha abaixo

—
Assinatura da mãe

—
Endereço para correspondência

Telefone para contato : _____ Data ____ / ____ / ____.

Faculdade de Medicina
Universidade Federal de Minas Gerais

Questionário Projeto: Estudo da memória embrionária em crianças nascidas de mães alérgicas: Investigação de fatores preditivos de sensibilização pré natal.

Nome da paciente: _____
Registro _____ Idade _____
Endereço _____ Telefone _____
Data de nascimento da gestante ____ / ____ / ____.
Idade gestacional estimada: _____.
Data provável do parto: _____.
Data de preenchimento desta ficha: ____ / ____ / ____.
Data da última consulta: ____ / ____ / ____.

1) Cor: () Branca () Morena () Negra

2) Renda Familiar Mensal:

- () um salário mínimo
() dois salários mínimos
() três salários mínimos
() mais de 3 salários mínimos.

3) Número de Cômodos da casa:

- () 2 cômodos () 3 cômodos () 4 cômodos
() 5 cômodos () > de 5 cômodos

4) Número de pessoas que moram na casa :

- () 2 pessoas () 3 pessoas () 4 pessoas
() 5 pessoas () 6 pessoas () 7 pessoas
() > de 7 pessoas.

5) Escolaridade da gestante:

- () analfabeto () 1º grau completo () 1º grau incompleto
() 2º grau completo () 2º grau incompleto

6) Local onde a casa foi construída:

- () urbana () rural () peri-urbana

7) Fumante na casa:

- () sim () não

8) Tipo de fogão:

- () lenha () gás

QUESTIONÁRIO SOBRE ASMA NA GESTANTE

- 1) Alguma vez na vida você apresentou algum episódio de chieira ou chiado no peito?
 sim não não sei
- 2) Você já teve asma ou bronquite alguma vez na vida?
 sim não não sei
- 3) Nos últimos 12 meses você teve cheira ou chiado durante ou após exercícios físicos?
 sim não não sei
- 4) Nos últimos 12 meses você teve tosse seca a noite, sem estar resfriada ou gripada ou com alguma infecção respiratória?
 sim não não sei
- 5) Você teve chieira ou chiado no peito durante já gravidez?
 sim não não sei
- 6) Quantos ataques de chieira ou chiado no peito você teve nesta gravidez?
 nenhum 1 a 3 4 a 12 mais de 12
- 7) Em que época aconteceram estes ataques?
 1º trimestre 2º trimestre 3º trimestre
- 8) Nesta gravidez, com qual frequência ou quantas vezes em média você acordou a noite com chieira?
 nunca menos de 1 noite por semana
 uma ou mais noites por semana
- 9) Nesta gravidez a chieira foi grave o suficiente para que você interrompesse a fala ou a conversa por falta de ar?
 sim não não sei.

QUESTIONÁRIO SOBRE RINITE PARA A GESTANTE:

Todas as questões se referem a problemas que ocorrem quando você não está gripada ou resfriada:

- 1) Você já teve alguma vez na vida, problemas de espirros, nariz entupido, escorrendo ou cocando sem estar resfriado ou gripado?
 sim não não sei

- 2) Nesta gravidez você teve problema de espirros, nariz escorrendo, entupido ou cocando sem estar resfriada ou gripada?
 sim não não sei

Se respondeu não ou não sei , passar para a questão 6.

- 3) Em que período isto ocorreu?
 1º trimestre 2º trimestre 3º trimestre

- 4) Nesta gravidez este problema nasal foi acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?
 sim não não sei

- 5) Nesta gravidez este problema atrapalhou suas atividades diárias?
 não um pouco muito

- 6) Você já teve problemas de espirros, nariz escorrendo, entupido ou com coceira, entre os meses de agosto e outubro?
 sim não não sei

RESULTADO DOS TESTES CUTÂNEOS (PUNTURA):

<i>Extrato</i>	<i>Tamanho da pápula</i>
Controle negativo (excipiente)	
Controle positivo (histamina)	
Poeira domiciliar	
<i>Dermatophagoides pteronyssimus</i>	
<i>Dermatophagoides farinae</i>	
Fungos I	
Fungos II	
Epitélio de cão	
Epitélio de gato	

ANEXOS DEMOGRÁFICOS:

Dados demográficos das pacientes avaliadas:

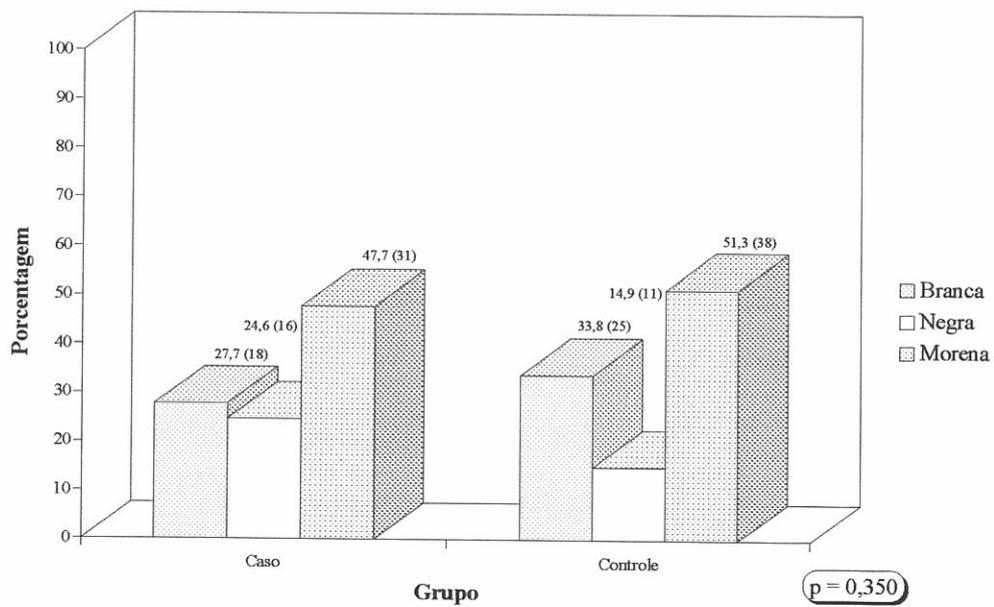


GRÁFICO 1: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto à cor

Nota: O valor de p nos gráficos refere-se à probabilidade de significância do teste *Exato de Fisher*

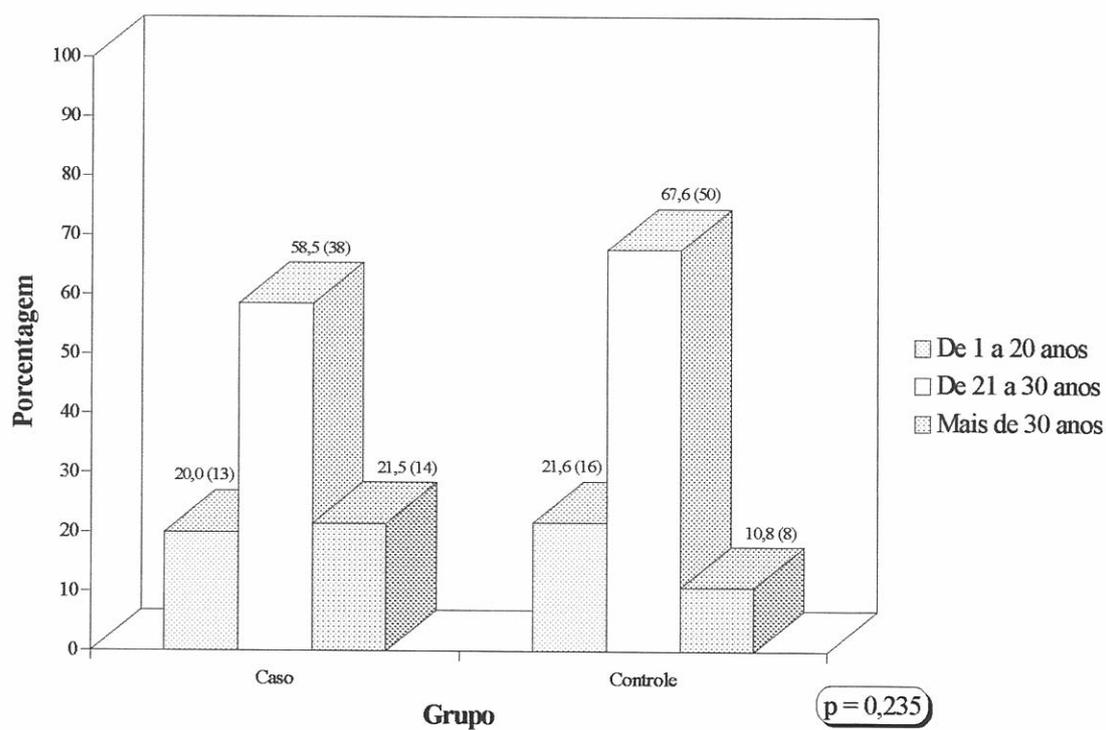


GRÁFICO 2: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto à faixa etária

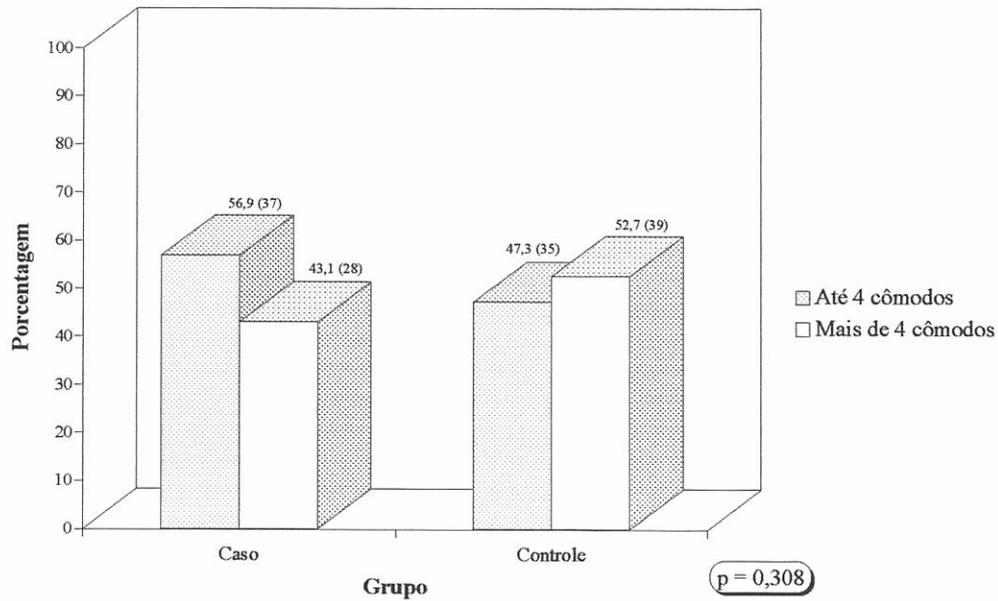


GRÁFICO 3: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto ao número cômodos da casa

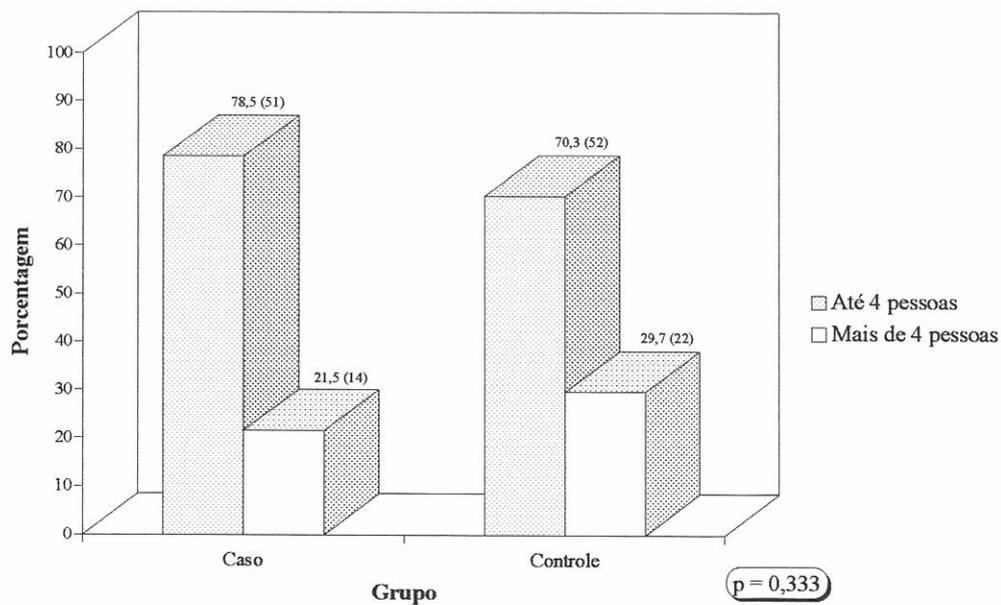


GRÁFICO 4: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto ao número de habitantes

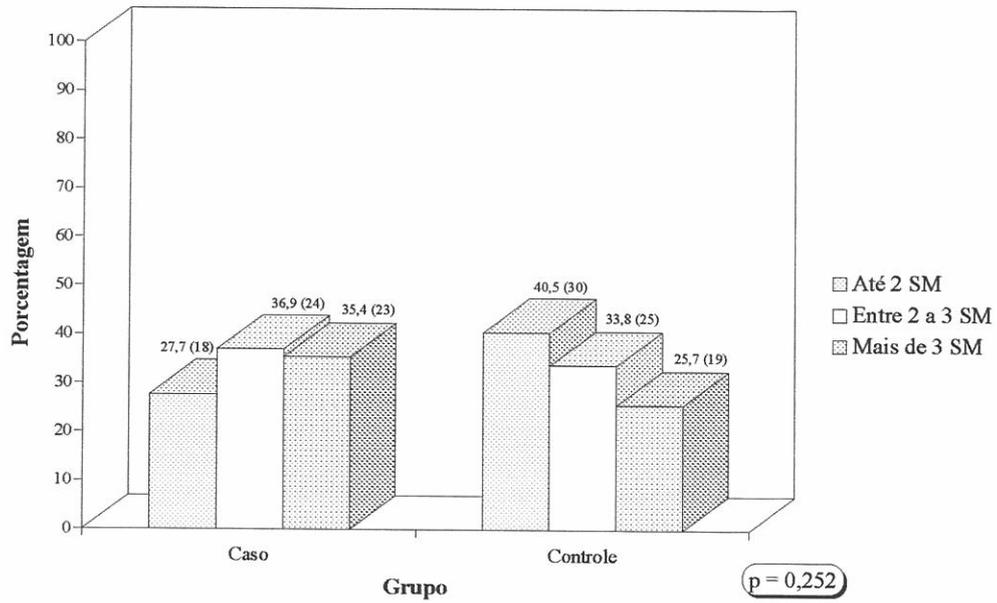


GRÁFICO 5: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto à renda per capita

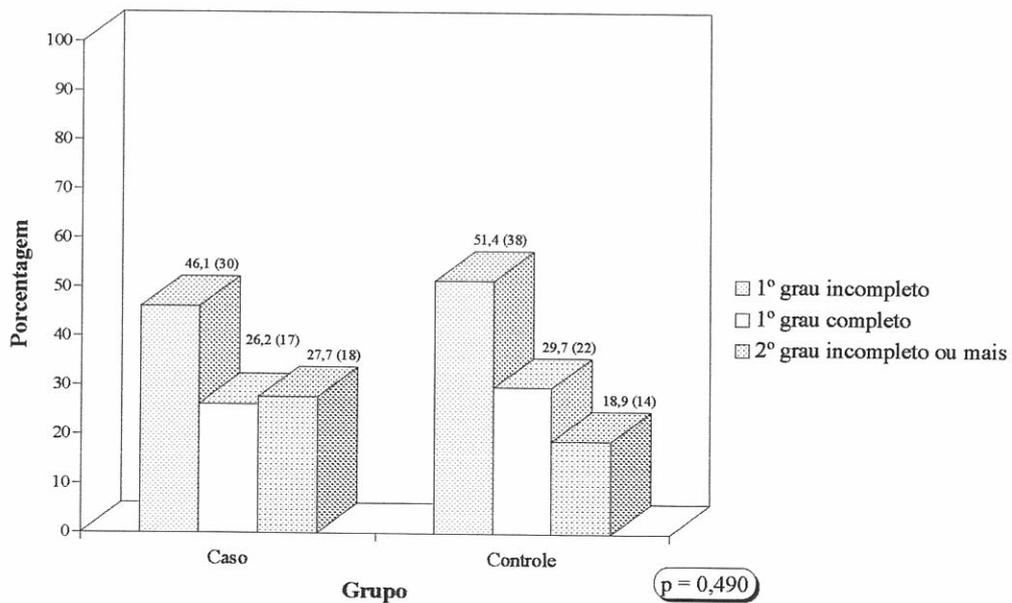


GRÁFICO 6: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto à escolaridade

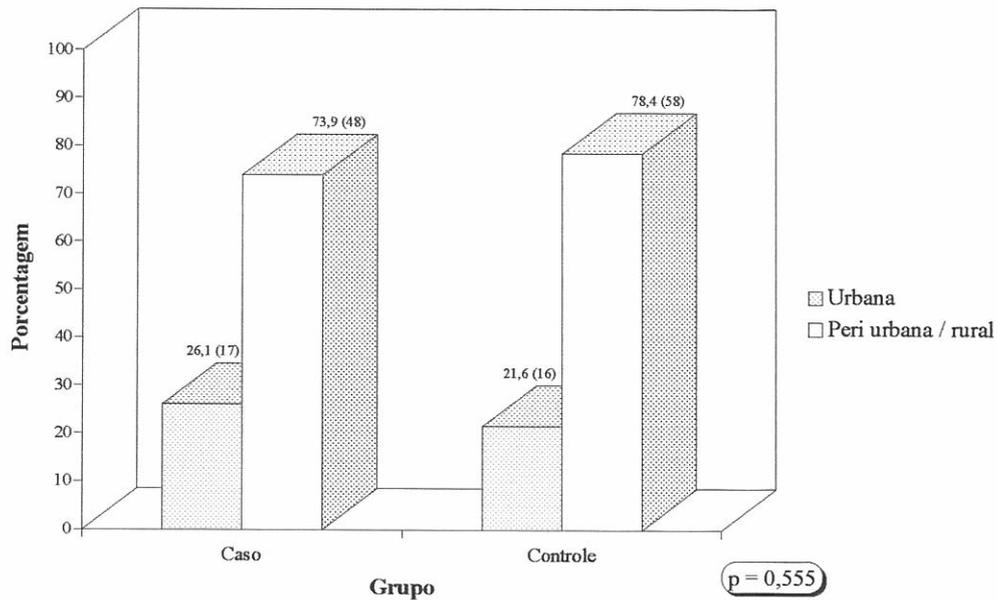


GRÁFICO 7: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto ao local de moradia

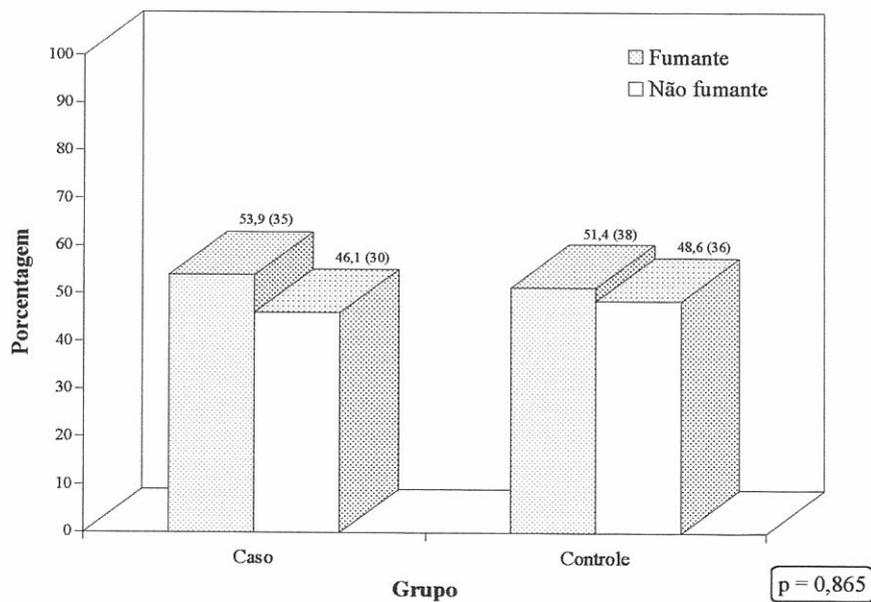


GRÁFICO 8: Análise comparativa entre os 2 grupos de parturientes quanto ao hábito de fumar

