

*Evaluation of complement system in children in different phases of HIV infection: clinical and laboratorial correlation*

Y.C. Lian<sup>1</sup>, M. Della-Negra<sup>1</sup>, C.L. Diogo<sup>2</sup>, V. Ferriani<sup>3</sup>, L.C. Oliveira<sup>2</sup>, M. Kirschfink<sup>4</sup>,  
 A.S. Grumach<sup>2</sup>

1 - Instituto de Infectologia Emilio Ribas; 2 - Depto. de Pe-diatría, Faculdade de Medicina, Univ. São Paulo, SP, Bra-sil; 3 - Depto. de Pediatria, Faculdade de Medicina de Ri-beirão Preto, USP; 4 - Instituto de Imunologia, Univ. Hei-delberg, Alemanha

**Resumo**

**Objetivo:** A ativação do complemento foi demonstrada em pacientes adultos infectados pelo HIV, no entanto, poucas informações estão disponíveis em crianças infectadas no período perinatal. O objetivo do presente estudo foi analisar a função do sistema complemento em crianças infectadas pelo HIV.

**Método:** 127 crianças infectadas pelo HIV no período neonatal (onze a 134 meses, 62 do sexo masculino: 65 do sexo feminino) foram incluídas e classificadas de acordo com os critérios clínicos e imunológicos do Centro de Controle de Doenças (Atlanta, EUA), de 1994. O diagnóstico da ativação do sistema complemento foi realizado pelos seguintes ensaios: CH50 para via clássica, APH50 para via alternativa (APH50), ELISA para via das lectinas (MBL) e "rocket" imunoeletoforese para o produto de C3, C3dg/C3d.

**Resultados:** As infecções mais frequentes foram: pneumonia bacteriana, otite, diarreia e infecções oportunistas como pneumonia por *Pneumocystis carinii* e tuberculose (31,5%). A miocardiopatia foi a única apresentação clínica que se relacionou com o estado imunológico (categoria 3). Nenhuma diferença estatisticamente significativa nas funções da via clássica e alternativa foi observada entre os pacientes das diferentes categorias. Valores médios aumentados de CH50, APH50 e MBL foram verificados em pacientes nos estádios mais avançados da doença. Níveis elevados de C3d na maioria dos pacientes indicam que o complemento encontra-se ativado durante a infecção pelo HIV em crianças. CH50, APH50 e MBL estavam abaixo dos limites inferiores em duas, dez e duas crianças, respectivamente.

No presente estudo, 19 pacientes (15%) apresentaram a pneumonite intersticial linfóide e o mesmo número de pacientes com hipertrofia crônica de parótida, sem correlação com a contagem de linfócitos T CD4 positivos. Na literatura, a incidência de pneumonite intersticial linfóide nas crianças portadoras de HIV é de 30 a 50% e é uma das manifestações clínicas de maior frequência na população pediátrica em relação aos adultos<sup>32</sup>. A associação da pneumonite intersticial linfóide com a hipertrofia crônica de parótida não é rara e são consideradas manifestações clínicas associadas a melhor sobrevivência destes pacientes<sup>33, 34</sup>.

A miocardiopatia foi verificada em oito pacientes do presente estudo (6,3%) e foi a única manifestação clínica que apresentou correlação com a contagem de linfócitos T CD4 positivos, pois a sua ocorrência foi maior na categoria imunológica 3. A frequência de miocardiopatia nos pacientes portadores de HIV apresentam ampla variação entre os estudos na literatura<sup>35-37</sup>. Em geral, a miocardiopatia relacionada à infecção pelo HIV apresenta evolução clínica lenta, com sintomatologia pobre e a descompensação cardíaca ocorre mais frequentemente durante uma intercorrência clínica<sup>36, 37</sup>. A associação da miocardiopatia e a gravidade da imunodeficiência ainda não está bem estabelecida, porém alguns estudos referem a maior incidência do comprometimento cardiovascular nos pacientes que apresentam contagem de linfócitos T CD4 positivos abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup><sup>36, 38</sup>.

No presente estudo, 26 pacientes (23,6%) apresentaram atividade hemolítica da via clássica (CH50) abaixo do limite inferior da normalidade e acima do limite superior em 21 pacientes (19%). Não foi detectada diferença estatística entre as categorias clínicas e imunológicas. Atividades hemolíticas indetectáveis foram verificadas em dois pacientes: o primeiro paciente é do sexo masculino, 31 meses de idade, com contagem de linfócitos T CD4 positivos de 2125 células/mm<sup>3</sup>, apresentou otites médias de repetição e um episódio de pneumocistose, com evolução clínica estável até o presente momento. O segundo paciente é uma menina de 132 meses de idade, com a contagem de linfócitos T CD4 positivos de 646 células/mm<sup>3</sup>, as doenças progressivas foram tuberculose pulmonar e broncopneumonias e não apresentou mais intercorrência durante os últimos dois anos, permanecendo clinicamente estável. São poucos os estudos sobre a avaliação da atividade da via clássica do sistema complemento em

**Conclusão:** A ativação do complemento esteve presente em todos os estádios da doença, o que sugere o envolvimento deste sistema na resposta imune de crianças infectadas pelo HIV, embora não tenha sido possível relacioná-la à imunopatogênese.

*Rev. bras. alerg. imunopatol. 1999; 22(5):132-144 sistema complemento, criança, HIV, MBL.*

## Abstract

**Objective:** Complement activation has been demonstrated in HIV infected adult patients, however, scarce information is available in relation to perinatal HIV infected children. The aim of this study was to analyze the complement system in HIV infected children.

**Method:** 127 perinatally HIV infected children (11 to 134 months, 62 male: 65 female) were included and classified according to the latest CDC clinical and immunological criteria (1994). Complement diagnosis was performed by the following assays: CH50 for classical pathway, APH50 for alternative pathway, ELISA for lectin pathway (MBL) and rocket immuno-electrophoresis for the C3 split product C3dg/C3d.

**Results:** The most frequent infections were: bacterial pneumonia, otitis, diarrhea and opportunist infections as *Pneumocystis carinii* pneumonia and tuberculosis (31,5%). Myocardopathy was the only clinical presentation which correlated with the immunological status (immunological category 3). No statistical differences on classical and alternative functions were observed among patients of the different categories. Increased mean values of CH50, APH50 and MBP was found in patients in the most advanced stages of HIV disease. Elevated levels of C3d in most patients indicated that complement is activated during HIV-disease in children. CH50, APH50 and MBP were below lower limit levels in two, ten and two children, respectively.

**Conclusion:** Complement activation was present in all stages of HIV infection suggesting the involvement of this system in the immune response of HIV infected children. This study could not correlate this activation with the pathogenesis of the disease.

*Rev. bras. alerg. imunopatol. 1999; 22(5):132-144 complement system, child, HIV, MBL.*

pacientes pediátricos, em geral, a ativação do sistema complemento tem sido avaliada pela formação de fragmentos da ativação do complemento e não da atividade hemolítica. Em 1993, Jarvis *et al.* publicaram um estudo sobre a expressão do fator reumatóide e a ativação do sistema complemento em 37 pacientes pediátricos e verificaram que tanto a via clássica como a via alternativa estavam ativas, porém a ativação da via alternativa foi mais importante<sup>39</sup>. Porém um resultado diferente foi apresentado pelos mesmos autores em 1995, com ativação considerável da via clássica do sistema complemento em crianças portadoras de HIV e não apresentaram diferença em relação à via alternativa<sup>40</sup>.

Em relação à ativação da via alternativa (APH50), o presente estudo utilizou a atividade cinética para sua avaliação. A categoria clínica N apresentou maior percentagem de pacientes dentro das faixas da normalidade 77% (7/9), e 37% (12/32) dos pacientes da categoria C estavam com a atividade dentro da faixa de normalidade para idade, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa entre as categorias clínicas e imunológicas. Dez pacientes apresentaram ausência da atividade da via alternativa, pois apresentaram o tempo de hemólise maior de 720 segundos. Não se observou diferença na distribuição destes dez pacientes nas categorias clínicas e imunológicas; quatro deles também apresentaram atividade hemolítica da via clássica abaixo do limite de normalidade (<80%) e não apresentaram intercorrências infecciosas graves até o presente momento. Foram observados dois óbitos entre os dez pacientes que apresentaram ausência de atividade da via alternativa: uma menina de doze meses de vida, classificada como C3, faleceu de sepse e um menino de 13 meses de idade, da categoria B2, que também morreu de sepse. Os outros pacientes apresentam evolução clínica estável, sem intercorrências infecciosas graves até momento.

A via das lectinas do sistema complemento nos pacientes do presente estudo foi avaliada pela dosagem de MBL em 107 pacientes, detectou valores abaixo do limite inferior (<0,3 µg/ml) em dois pacientes (1,87%). O estudo com pacientes adultos soro positivos, realizado por Nielsen *et al.* (1995), observou que 10% dos pacientes apresentavam níveis séricos de MBL indetectáveis<sup>41</sup>. Senaldi *et al.* (1995) verificaram níveis indetectáveis em 4,3% dos pacientes<sup>42</sup>. No presente estudo, não foi observado caso de níveis indetectáveis, os dois pacientes que apresentaram resultados abaixo do limite inferior pertenciam às categorias clínicas N e A. Vinte e dois pacientes (20,6%) apresentaram resultados acima do limite superior (>7,5 µg/ml): 14 pacientes (63,6%) pertenciam à categoria clínica C, cinco à B (22,7%), dois à A e somente um paciente pertencia à categoria N. Observou-se elevação das médias ao passar para os estágios mais avançados, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias clínicas e imunológicas. Resultados semelhantes foram relatados por Senaldi *et al.* (1995), onde os autores observaram níveis séricos mais elevados de MBL em pacientes adultos HIV positivos em relação aos indivíduos soro-negativos e não observaram diferença significativa entre as categorias clínicas e o número de linfócitos T CD4 positivos<sup>42</sup>. Segundo estes autores, a MBL representa uma substância da fase aguda, mantendo-se em nível elevado em todos os estágios da infecção pelo HIV e não se correlaciona com o grau de ativação da via clássica do sistema complemento<sup>42</sup>. Nielsen *et al.* observaram queda progressiva dos linfócitos T CD4 positivos nos pacientes independente do nível de MBL<sup>41</sup>. Esta proteína não pode ser, portanto, utilizada como fator preditivo na progressão da doença e o curso da infecção pelo HIV não foi influenciado pelo seu nível.

A importante atuação da MBL na defesa do organismo, principalmente

## Introdução

Uma vez iniciada a infecção do organismo pelo HIV, a natureza e o equilíbrio da resposta imuno-lógica de cada indivíduo e as características do vírus desempenham papéis cruciais na evolução da infecção<sup>1</sup>. A infecção pelo HIV afeta todo o sistema imune do organismo e causa disfunções tanto da imunidade humoral como celular; porém o comprometimento da resposta celular tem sido relacionado como de maior importância imunopa-togênica.

A infecção pelo HIV na fase precoce da vida pode resultar em disfunções imunológicas graves, com menor período de incubação, resultando em sinais ou sintomas relacionados à imunodeficiência já nos primeiros meses de vida<sup>2</sup>. Sem dúvida, a imaturidade do sistema imune e o tropismo do HIV pelas células de defesa, contribuem para a gravidade da doença na população pediátrica<sup>2</sup>.

O sistema complemento é composto por proteínas plasmáticas que apresentam atuação importante na resposta imune do organismo. As principais funções do sistema complemento são: ativação e lise celular, eliminação do complexo imunológico, controle da reação inflamatória e participação nas reações de auto-imunidade e hipersensibilidade<sup>3</sup>.

A ativação do sistema complemento é ampla e potente, caracterizada pelo envolvimento multi-enzimático e pelo efeito em cascata. As vias clássica e alternativa são ativadas de formas distintas e interagem ao nível de C3, a fim de formar uma via única para resultar em lise celular<sup>4</sup>. A terceira via de ativação do complemento é denominada de via das lectinas, onde a proteína ligadora de manose pode iniciar o processo de ativação, independentemente da presença de anticorpos ou C1q<sup>5</sup>.

O soro humano é capaz de inativar e destruir os retrovírus animais - de aves, felinos e murinos - pela via clássica do sistema complemento, independente de anticorpo<sup>6</sup>. Com o surgimento do HIV, no final da década de 70, os estudos mostraram que o vírus ativa o sistema complemento humano, porém esta ativação não é eficaz na neutralização e na lise do HIV<sup>6, 7</sup>. O questionamento sobre a ausência de atividade lítica do complemento humano e sobre os possíveis mecanismos de escape do vírus frente ao sistema

no sistema imune inato foi reconhecida nos últimos anos<sup>43-46</sup>. Aittoniemi *et al.* avaliaram os níveis séricos de MBL nas diversas faixas etárias e verificaram nível mais alto em crianças de um mês de vida, provavelmente relacionada ao estresse do nascimento e adaptação no período neonatal<sup>16</sup>. Durante toda infância o nível sérico de MBL manteve-se mais elevado que nos adultos. Acredita-se que a alta concentração de MBL coincide com a fase de adaptação ambiental das crianças jovens e provavelmente como uma resposta protetora contra contato antigênico maciço, reforçando a hipótese de que a MBL atua na defesa contra as infecções, principalmente, no período de imaturidade do sistema imune e de maior susceptibilidade aos agentes infecciosos. Os níveis séricos de MBL na população pediátrica e possível associação com defeito de opsonização também foi observado por Super *et al.* já em 1989<sup>47</sup>.

A dosagem de C3d foi realizada em 97 pacientes do presente estudo, para avaliação da ativação do sistema complemento destes pacientes. Em 59 pacientes (60,8%), os níveis encontravam-se acima do limite superior e em somente quatro pacientes abaixo do limite inferior (4,1%), porém sem diferença entre as categorias clínicas e imunológicas. Nas categorias clínicas, observou-se que 39 % destes pacientes pertenciam à categoria clínica C, 28,8% à B, 22% à A e 10% à N. Senaldi *et al.* observaram aumento de C3d em pacientes adultos portadores de HIV em relação grupo controle (soronegativos para HIV) e este aumento acompanhou o avanço da doença<sup>48</sup>. Estes resultados sugerem ativação do sistema complemento mais intensa no grupo C com manifestações clínicas mais graves. Os quatro pacientes que apresentaram resultados de C3d abaixo do limite inferior, pertenciam às categorias N1, N2, A1 e C2, todos apresentaram atividades da via clássica e alternativa dentro da normalidade.

A infecção pelo HIV representa uma das mais temidas doenças que surgiu nos últimos vinte anos, atingindo todos os continentes, sem restrição à faixa etária ou ao sexo. Em muitas regiões, a AIDS já é a causa mais frequente de morte nos indivíduos com idade entre 22 e 40 anos. Com o aparecimento e o avanço da epidemia, o estudo profundo sobre o agente causal, patogênese e observação clínica tornam-se necessários; além de fornecer dados importantes para o manejo clínico e o tratamento. A integridade do sistema imune está comprometida não somente na resposta humoral ou celular, pois o presente estudo mostrou ativação do sistema complemento que pode estar associada à evolução da doença, apesar de não ter sido possível relacionar sua ativação com a imunopatogênese. Trata-se do primeiro estudo das três vias de ativação do sistema complemento na faixa etária pediátrica e nos diversos estádios da doença.

## Referências bibliográficas

1. Fauci AS. Host factors in the pathogenesis of HIV disease. *Antibiot Chemother*, 1996; 48:4-12.
2. Scott GB, Hutto C, Mackuch RW. Survival in children with perinatally acquired human immunodeficiency virus type I infection. *N Engl J Med*, 1989; 321:1791-6.
3. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. The complement system. *Cellular and molecular immunology*. 2. ed. Philadelphia, W B Saunders, 1994; p.293-316.
4. Liszewski MK, Atkinson JP. The complement system. In: Paul, WE. *Fundamental immunology*. 3.ed. New York, Raven Press, 1993; p.917-39.
5. Holmskov U, Malhotra R, Sim RB, Jensenius JC. Collectins: collagenous C-type lectins of the innate immune defense system. *Immunol Today*, 1994; 15:67-74.

complemento, mos-traram a necessidade de compreender melhor a interação entre o HIV e este sistema.

Apesar de inúmeros estudos *in vitro* mostrarem a ativação do sistema complemento na infecção pelo HIV, o estudo sistemático em pacientes é es-casso, com resultados controversos<sup>8-10</sup>. Há poucos estudos desenvolvidos na faixa etária pediátrica.

Considerando-se os escassos relatos na literatu-ra, o presente estudo teve como objetivo: avaliar o sistema complemento em crianças HIV positi-vas correlacionando os achados laboratoriais às manifestações clínicas.

### Casuística e Métodos

Foram incluídas aleatoriamente, no presente es-tudo, 127 crianças com infecção pelo HIV, em se-guimento no ambulatório da Segunda Unidade de Internação do Instituto de Infectologia Emílio Ri-bas, São Paulo, no período de abril a outubro de 1995. Todos os pacientes adquiriram HIV por transmissão vertical e o diagnóstico da infecção foi feito segundo os critérios do Centro de Con-trole de Doenças (CDC) em Atlanta, Estados Uni-dos<sup>11</sup>. A anamnese detalhada de cada paciente foi obtida por informações fornecidas pelos pais ou responsáveis e foi dado ênfase às doenças pre-gressas, principalmente às intercorrências infec-ci-osas e medicamentos em uso.

Os parâmetros utilizados como critério de clas-sificação foram: o diagnóstico da infecção pelo HIV, a competência imunitária e a gravidade das manifestações clínicas. Utilizando os dados clíni-cos e contagem de linfócitos T CD4 positivos, as crianças foram classificadas segundo os critérios do CDC (1994), divididas em grupos N, A, B e C (categorias clínicas) e em grupos 1, 2 e 3 (catego-rias imunológicas)<sup>12</sup>.

**Classificação das manifestações clínicas:** São quatro categorias clínicas, baseadas em sinais, sintomas ou diagnósticos relacionados com a in-fecção pelo HIV. Os critérios são mutuamente ex-cludentes e as categorias são: N- não sintomáti-cas; A- sintomas leves; B- sintomas moderados e C- Sintomas graves<sup>12</sup>. A presença de um dos sin-tomas descritos nas categorias o classifica no sub-grupo e utiliza-se os sintomas mais

6. Marschang P, Ebenbichler CF, Dierich MP. HIV and complement: role of the complement system in HIV infection. *Int Arch Allergy Immunol*, 1994; 103: 113-7.
7. Dierich MP, Ebenbichler CF, Marschang P, Füst G, Thielens NM, Arlaud GJ. HIV and human complement: mechanisms of interaction and biolo-gical implication. *Immunol Today*, 1993;14:35-40.
8. Perricone R, Fontana L, De Carolis C, Carini C, Sirianni MC, Aiuti F. Evidence for activation of complement in patients with AIDS related com-plex (ARC) and /or lymphadenopathy syndrome (LAS). *Clin Exp Immunol* 1987; 70:500-7.
9. Senaldi G, Davies ET, Mahalingam M, Pozniak J, Lu A, Peakman M, et al. Circulating levels of mannose binding protein in human immunodefici-ency virus infection. *J Infect*, 1995; 31:145-8.
10. Füst G, Ujhelyi E, Hidvégi T, Páloezi K, Mihálik R, Hollán S, et al. The complement system in HIV disease. *Immunol Invest*, 1991; 20:231-41.
11. 1994 Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1994; 43:1-19.
12. Center for Disease Control. Unexplained immu-nodeficiency and oportunic infection in infants New York, New Jersey, California. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1982; 31:665-7.
13. Lewis DE, Rickman WJ. Methodology and quali-ty control for flow cytometry. In: Rose NR, Maca-rid EC, Fahey JL, Friedman H, Penn, GM. *Manual of clinical laboratory immunology*. 4.ed. Washing-ton, American Society for Microbiology, 1992; p.164-73.
14. Mayer MM. Complement and complement fixa-tion. In: Kabat EA, Mayer, MM. *Experimental immunochemistry*. 2. ed. Springfield, Thomas, 1991; p.133-240.
15. Ferriani VPL, Barbosa JE, de Carvalho IF. Serum haemolytic classical and alternative pathways of complement in infancy: age-related changes. *Acta Paediatr Scand*, 1990; 79:322-27.
16. Aittoniemi J, Miettinen A, Laippala P, Isolauri E, Vikari J, Ruuska T, et al. Age-dep-endent varia-tion in the serum concentration of mannan-binding protein. *Acta Paediatr*,1996; 85:906-9.
17. Brandslund J, Sierted HC, Svehag SE, Teisner B. Double decker rocket immunoelectrophoresis for direct quantitation of complement C3 split pro-ducts with C3d specificities in plasma. *J Immunol Methods*, 1981; 44:64-71.
18. Quinn TC. Global burden of HIV pandemic. *Lan-cet*, 1996; 348:99-106.
19. Helfgott AW. HIV infection in women and chil-dren: where are we headed. *Pediatr AIDS HIV Infect*, 1997; 8:86-8.
20. Fallon J, Eddy J, Wlener L, Pizzo PA. Human immunodeficiency virus infection in children. *J Pediatr*, 1989; 114:1-30.
21. Scott GB, Buck BE, Leterman JG, Bloom FL, Parks WP. Acquired immunodeficiency syndrome in infants. *N Engl J Med*, 1984; 310: 76-81.
22. Gutman LT, Moyer J, Zimmer B, Tian C. Tuber-culosis in human immunodeficiency virus-ex-posed or infected United States children. *Pediatr Infect Dis J*, 1994; 13:963-8.
23. Dumois JA. Tuberculosis in children with HIV in-fec-tion. *Pediatr AIDS HIV Infect*, 1992; 3:177-81.
24. Della Negra M. Comprometimento hepático na AIDS pediátrica: contribuição ao estudo das le-sões histopatológicas correlacionadas às alterações clínico-laboratoriais. São Paulo, 1995. 62 p. Dis-sertação (Mestrado) - Instituto Brasileiro de Estu-dos e Pesquisas de Gastroenterologia, IBEPEGE.
25. Moss WJ, Dedyo T, Suarez M, Nicholas SW, Abrams E. Tuberculosis in children infected with human immunodeficiency virus: a report of five cases. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:114-6.
26. Lucas S, Nelson AM. Pathogenesis of tuberculo-sis in human immunodeficiency virus-infected people. In: Bloom BR, ed. *Tuberculosis: pathoge-nesis, protections, and control*. Washington, Ame-rican Society for Microbiology, 1994; p.503-13.
27. Benson CA. Disease due to the mycobacterium avium complex in patients with AIDS: epidemio-logy and clinical syndrome. *Clin Infect Dis*, 1994; 18:S218-22.
28. Horsburgh CR Jr. Epidemiology of mycobacte-rium avium complex disease. *Am J Med*, 1997; 102:11-5.

graves apre-sentados.

**Avaliação imunológica:** Foi realizada com a contagem do número de linfócitos T CD4 posi-tivos ou porcentagem destes sobre os linfócitos totais, dividindo os pacientes em três categori-as: 1- ausência de imunossupressão; 2- imunossu-pressão moderada; 3- imunossupressão grave.

A coleta de material foi realizada no Hospital Dia do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, imediatamente antes da infusão de gamaglobulina endovenosa, que é feita mensalmente. Foram co-letados 10 ml de sangue por punção venosa peri-férica, em jejum, sendo 5 ml em tubo com anticoagulante EDTA e 5 ml em tubo seco. O plasma e o soro foram separados em alíquotas e congelados a  $-70^{\circ}$  C. O processamento das amostras foi reali-zado simultaneamente para cada dosagem feita. Devido à disponibilidade restrita de amostras e do material para a realização das técnicas laborato-riais, as dosagens foram apresentadas com núme-ro diferente de pacientes (identificados nas figu-ras dos resultados).

Os responsáveis pelos pacientes foram infor-mados sobre os objetivos do estudo, a necessida-de de coleta de dados clínicos e de sangue para avaliações laboratoriais. A coleta de amostras de sangue foi feita durante a punção venosa na oca-sião de administração de gamaglobulina endove-nosa mensal, no Hospital Dia do Instituto de In-fectologia Emílio Ribas, após o consentimento dos responsáveis. O estudo foi aprovado pela Co-missão de Ética do Hospital Emílio Ribas.

As amostras com anti-coagulante EDTA foram encaminhadas ao Laboratório do Instituto de In-fectologia Emílio Ribas, para a realização da con-tagem de linfócitos T CD4 positivos, com a fina-lidade de classificar as crianças portadores de HIV. Utilizou-se a citometria de fluxo, com rea-gente FACS-COUNT, da Becton Dickinson, EUA<sup>13</sup>. Valores de normalidade de linfócitos T CD4 positivos seguem os estabelecidos pelo cri-tério imunológico da classificação de CDC<sup>12</sup>.

A integridade das três vias do sistema com-plemento foi avaliada pelas técnicas de CH50, APH50 e MBL. A dosagem de CH50 foi realiza-da pela técnica originalmente descrita por Mayer (1961) e o valor de normalidade considerado foi de 80 a 120 UI<sup>14</sup>. A avaliação da via alternativa foi realizada com a

29. *Guidelines for prophylaxis against pneumocystis carinii pneumonia for children infected with hu-man immunodeficiency virus. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 1991; 40:1-13.*
30. *Hughes PA. Opportunistic infections in HIV in-fected children. Immunol Allergy Clin North Am, 1995; 15:261-84.*
31. *Hughes WT. Pneumocystis carinii pneumonia. In: Pizzo PA, Wilfert CM. Pediatric AIDS the chal-lenge of HIV infection in infants, children, and adolescents. 2.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1994; p.405-18.*
32. *Pitt J. Lymphocytic interstitial pneumonia. Pediatr Clin North Am, 1991; 38: 89-95.*
33. *Carver TW, Smith TF. Pulmonary manifestations of pediatric AIDS. Immunol Allergy Clin North Am, 1995; 15:355-65.*
34. *Morris CR, Owoyeye LA, Spector AS, Maldonado YA. Disease patterns and survival after acquired immunodeficiency syndrome diagnosis in human immunodeficiency virus-infected children. Pediatr Infect Dis J, 1996; 15:321-8.*
35. *Luginbuhl LM, Orav EJ, McIntosh K, Lipshultz SE. Cardiac morbidity and related mortality in children with HIV infection. JAMA, 1993; 269: 2869-75.*
36. *Lipshultz SE, Chanock S, Sanders SP, Colan SD, Atayde AP, McIntosh K. Cardiovascular manifes-tations of human immunodeficiency virus infec-tion in infants and children. Am J Cardiol, 1989; 63:1489-97.*
37. *Stewart JM, Kaul A, Gromisch DS, Reyes E, Woolf PK, Gowitz MH. Symptomatic cardiac dis-funtion in children with human immunodeficiency virus infection. Am Heart J, 1989; 117:140-4.*
38. *Paul, ME. The immune system in vertical HIV in-fection: the immune response and disease progres-sion. AIDS Res Hum Retroviruses, 1997; 13:1-4.*
39. *Jarvis JN, Taylor H, Iobidze M, DeJange J, Chang S, Cohen F. Rheumatoid factor expression and complement activation in children congenitally in-fected with human immunodeficiency virus. Clin Immunol Immunopathol, 1993; 67:50-4.*
40. *Jarvis JN, Taylor H, Iobidze M. Complement acti-vation and immune complexes in early congenital HIV infection. J. Acquir. Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, 1995; 8:480-5.*
41. *Nielsen SL, Andersen PL, Koch C, Jensenius JC, Thiel S. The level of the serum opsonin, mannan-binding protein in HIV-1 antibody-positive pati-ents. Clin Exp Immunol, 1995; 100:219-22.*
42. *Senaldi G, Davies ET, Mahalingam M, Pozniak J, Lu A, Peakman M, et al. Circulating levels of mannose binding protein in human immunodeficiency virus infection. J Infect, 1995; 31:145-8.*
43. *Holmskov U, Malhotra R, Sim RB, Jensenius JC. Collectins: collagenous C-type lectins of the inna-te immune defense system. Immunol Today, 1994; 15:67-74.*
44. *Thiel S, Holmskov U, Hviid L, Laursen SB, Jen-senius JC. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma incre-ases during an acute phase response. Clin Exp Immunol, 1992; 90:31-5.*
45. *Sumiya M, Super M, Tabona P, Levinsky R, Arai T, Turner MW, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. Lancet, 1991; 337:1569-70.*
46. *Summerfiel JA, Ryder S, Sumiya M, Thursz M, Gorchein A, Monteil MA, et al. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. Lancet, 1995; 345: 886-9.*
47. *Super M, Thiel S, Lu J, Levinsky RJ, Turner MW. Association of low levels of mannan-binding pro-teín with a common defet of opsonisation. Lancet, 1989; 2:1236-9.*
48. *Senaldi G, Peakman M, McManus T, Davies ET, Tee DEH, Vergani D. Activation of the comple-ment system in human immunodeficiency virus infection: relevance of the classical pathway to pa-thogenesis and disease severity. J Infect Dis, 1990; 62:1227-32.*

## Agradecimentos

Nossos agradecimentos à bióloga Denise Brufato Ferraz (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo), pela realização dos ensaios da Via Alternativa e aos pacientes e res-ponsáveis pela colaboração na realização do estudo

colaboração do Laboratório de Sistema Complemento chefiado pelo Dr. José Elpidio Barbosa, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. A a-avaliação da via alternativa foi realizada por méto-do cinético, pelo qual se verificou a lise de hemá-cias de coelho, pela ativação da via alternativa do sistema complemento<sup>15</sup>. As dosagens de lectina ligadora de manose foram realizadas pela técnica de ELISA, utilizando-se anticorpos anti-MBL hu-mano monoclonais e anti-MBL humano de coelho (Steffen-Thiel). O resultado da densidade óptica foi analisado com valores de normalidade de 0,3 a 7,5 ug/ml<sup>16</sup>.

A dosagem de C3d também foi utilizada para o estudo da ativação do sistema complemento e rea-lizada pela imunoeletroforese em pico (“Rocket” imunoeletroforese) com a utilização de anticorpo anti-C3d humano obtido de coelho (DAKO – lote 017, código –A063, Dinamarca)<sup>17</sup>. As dosagens de MBL e C3d foram realizadas com a colabora-ção do Prof. Michael Kirschfink, do Instituto de Imunologia da Universidade de Heidelberg, Ale-manha.

A análise estatística foi realizada empregando- -se a análise de variância pelo teste de ANOVA, para comparar as médias dos valores obtidos de CH50, APH50, MBL e C3d. Quando o teste de i-gualdade de média foi rejeitado, a análise de con-traste (Método de Duncan) foi utilizada para veri-ficar quais médias eram diferentes. Com a finali-dade de reduzir a variância nos estudos estatísti-cos, os valores reais de MBL e C3d foram con-vertidos em logaritmo base de dez, devido à gran-de dispersão de valores obtidos nas dosagens. A análise de médias (método de ANOM) foi utiliza-da para os estudos de comparações das propor-ções nas manifestações clínicas e imunológicas. Em todos os testes, fixou-se em 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

## Resultados

Foram coletadas 127 amostras de pacientes portadores de HIV, com faixa etária entre onze e 134 meses, com média de 59,2 meses. A idade média da categoria N foi de 60,6 meses, na cate-goria A de 67,9 meses, na categoria B 52,5 meses e na categoria C de 60 meses; não houve diferen-ça estatisticamente significativa entre as categorias ( $p=0,377$ ). A média de idade da categoria 1 foi de 56,4 meses, na categoria 2 de 61,5 meses e na ca-tegoria 3 de 59,6

## Endereço para correspondência

Dra. Yu C. Lian  
Instituto de Infectologia Emílio Ribas  
Enfermaria do 4<sup>o</sup> andar  
Av. Dr. Arnaldo, 165 - Cerqueira César  
01246-900 - São Paulo - SP

meses e não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as categorias em relação à idade média ( $p=0,571$ ).

As principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes estão representadas na figura 1. Outras alterações clínicas menos frequentes foram: hipertrofia crônica de parótidas ( $n=19$ ); pneumonite intersticial linfóide ( $n=19$ ); anemia ( $n=11$ ); distúrbios neurológicos ( $n=10$ ), miocardiopatias ( $n=8$ ) e plaquetopenia ( $n=6$ ). Não houve relação entre a incidência de processos infecciosos e os valores de linfócitos T CD4 positivos obtidos nos pacientes do presente estudo. Não se detectou relação entre estas manifestações clínicas e a contagem de linfócitos T CD4 positivos, exceto a miocardiopatia que apresentou incidência estatisticamente maior na categoria imunológica 3.

O número de linfócitos T CD4 positivos apresentou-se acima dos limites estabelecidos pelo CDC em: 87,6% na categoria clínica N, 76,2% na categoria A, 69,3% na categoria B e em 55,5% na categoria C. Pela análise de médias (teste de ANOM), verificamos que a diferença foi estatisticamente significativa.

Não se observou diferença estatisticamente significativa do CH50 entre as categorias clínicas ( $p=0,346$ ) e imunológicas ( $p=1,000$ ). Dois pacientes apresentaram valores de CH50 indetectáveis, ambos pertencentes a categoria C1 ([figuras 2 e 3](#)).

Dois pacientes em cada categoria (N, A, B) e quatro pacientes da categoria C apresentaram valores indetectáveis de APH50. Valores indetectáveis foram observados nas três categorias: três pacientes da categoria 1, quatro pacientes da categoria 2 e dois pacientes da categoria 3. Não se detectou diferença estatisticamente significativa entre as categorias clínicas e imunológicas ([figuras 4 e 5](#)).

A média dos valores de MBL obtidos dos pacientes da categoria C foi maior (5,91 ng/dl) em relação às outras categorias, porém não se observou diferença estatisticamente significativa entre as categorias ( $p=0,585$ ). Apesar de aumento crescente de médias dos valores de MBL ao passar da categoria 1 para 3, não se detectou diferença estatisticamente significativa entre as categorias ( $p=0,520$ ) ([figuras 6 e 7](#)).

Com a finalidade de verificar a ativação do

sis-tema complemento, determinou-se os níveis de C3d e valores acima do limite superior foram observados em 59/97 pacientes, 23 pacientes da categoria C (39%), 17 da B (28,8%), 13 da A (22%) e seis da N (10,2%) e 18 pacientes da 1, 20 da 2 e 21 da 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias clínicas ( $p=0,862$ ) e imunológicas ( $p=0,105$ ).

## Discussão

Apesar de intensas pesquisas e avanços consideráveis nos últimos anos, a infecção pelo HIV ainda representa uma das maiores preocupações em todo mundo, pois em muitas regiões, a AIDS ainda é uma das causas mais frequentes de morte entre indivíduos de 15 a 49 anos de idade<sup>18</sup>. A situação da população pediátrica não é diferente, o número de pacientes menores de 13 anos de idade contaminados pelo HIV cresce a cada dia, em consequência do aumento de casos de mulheres jovens contaminadas<sup>19</sup>.

As principais manifestações clínicas da imunodeficiência adquirida nos pacientes deste estudo foram os processos infecciosos comuns da infância: broncopneumonia, otite média e doença diarreica, semelhantes aos relatos da literatura<sup>20</sup>. Desde os primeiros relatos sobre AIDS pediátrica, essas intercorrências infecciosas já eram comumente observadas e chamaram muita atenção no meio médico, pois nos pacientes adultos predominavam as infecções oportunistas e o sarcoma de Kaposi<sup>21</sup>.

O número crescente de tuberculose nas crianças infectadas pelo HIV coincide com o aumento dos casos de tuberculose nos adultos jovens<sup>22, 23</sup>. Os estudos também indicam que a maioria das crianças adquiriram tuberculose no próprio domicílio, e não raro, são multi-resistentes às drogas convencionais<sup>21, 24</sup>. No presente estudo observou-se 40 casos de tuberculose, correspondendo a 31,5% da população estudada, tendo sido a terceira intercorrência infecciosa mais verificada. No processo de classificação dos pacientes, a tuberculose foi incluída na categoria clínica C, pois na classificação do CDC não se descreve esta infecção<sup>11</sup>.

Ao analisar valores de linfócitos T CD4 positivos destes pacientes, não houve

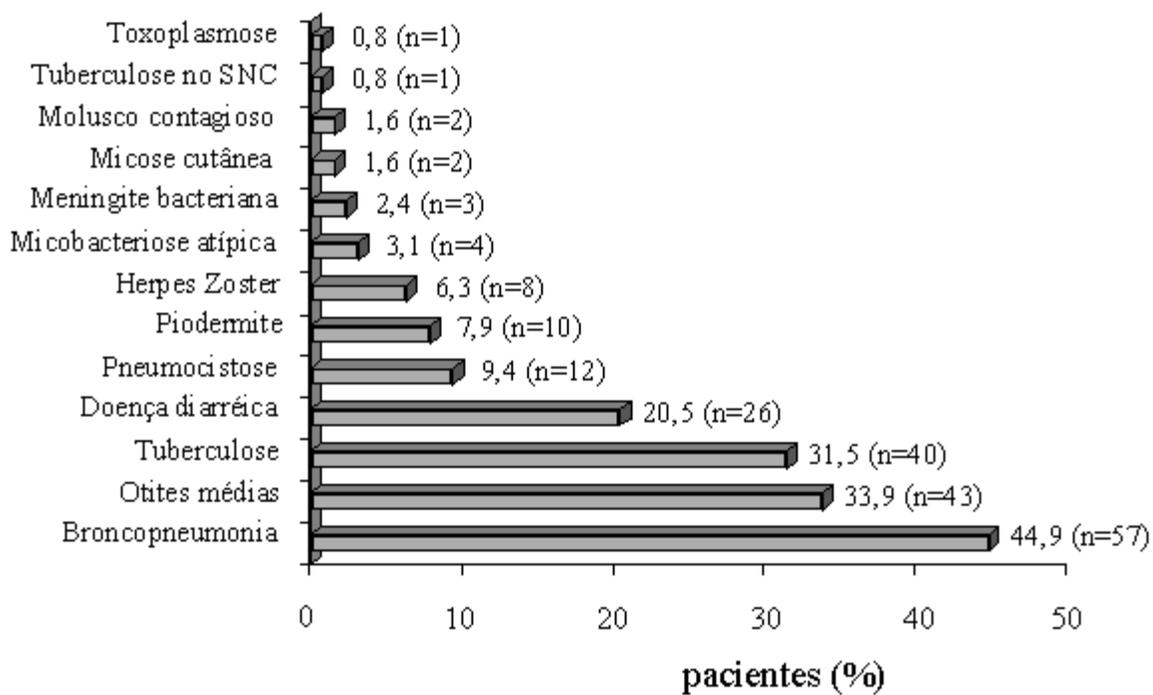
correlação entre a ocorrência de tuberculose e a contagem de linfócitos T CD4 positivos; como referido por outros autores<sup>25, 26</sup>.

Com o advento da AIDS, manifestaram-se micobacterioses atípicas, que afetam em geral, indivíduos com imunossupressão grave com número de linfócitos T CD4 positivos menores de 100 células/mm<sup>3</sup><sup>27, 28</sup>. No presente estudo, a micobacteriose atípica foi diagnosticada em quatro pacientes, todos com linfócitos T CD4 positivos abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup>.

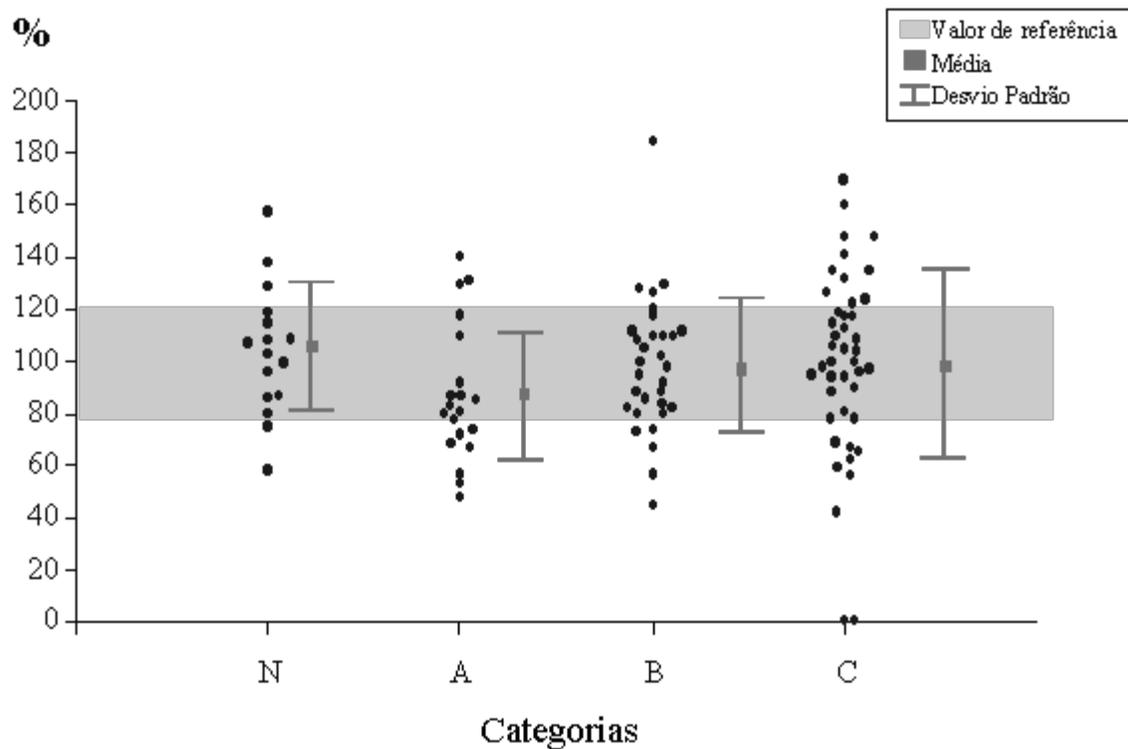
A pneumocistose foi verificada em doze pacientes do nosso estudo (9,4%) e não houve correlação da incidência desta doença com a contagem de linfócitos T CD4 positivos. A pneumocistose é considerada uma das infecções oportunistas mais encontradas nas crianças com AIDS, cerca de dez a 30% dos pacientes pediátricos podem ser afetados e a incidência eleva-se para mais de 50% nas crianças menores de um ano de idade<sup>29, 30</sup>. Com o início da epidemia da AIDS, a correlação entre a imunodeficiência celular, isto é, contagem de linfócitos T CD4 positivos menores de 200 células/mm<sup>3</sup> e a pneumocistose foi estabelecida para pacientes adultos; entretanto, essa correlação não foi bem estabelecida na população pediátrica<sup>29, 31</sup>. Acredita-se que a imaturidade funcional de linfócitos T e a maior gravidade da infecção primária nas crianças jovens imunocomprometidas sejam fatores que contribuem para a alta taxa de mortalidade<sup>30</sup>.



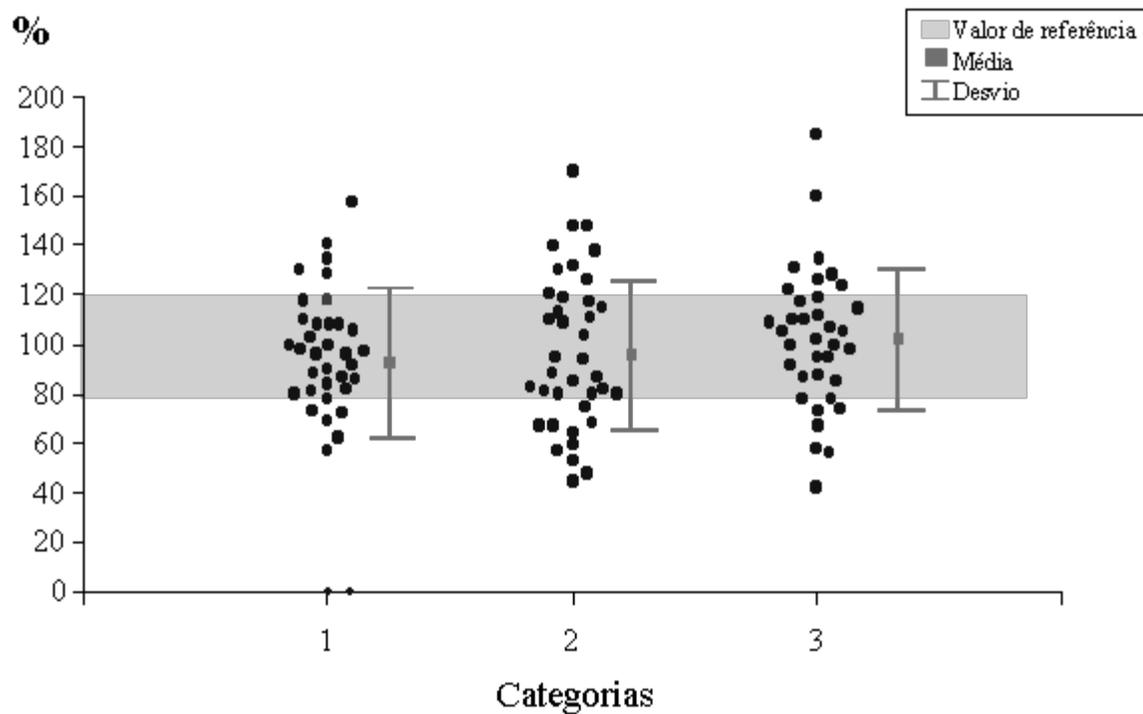
**Figura 1** - Processos infecciosos verificados em 127 pacientes portadores de HIV.



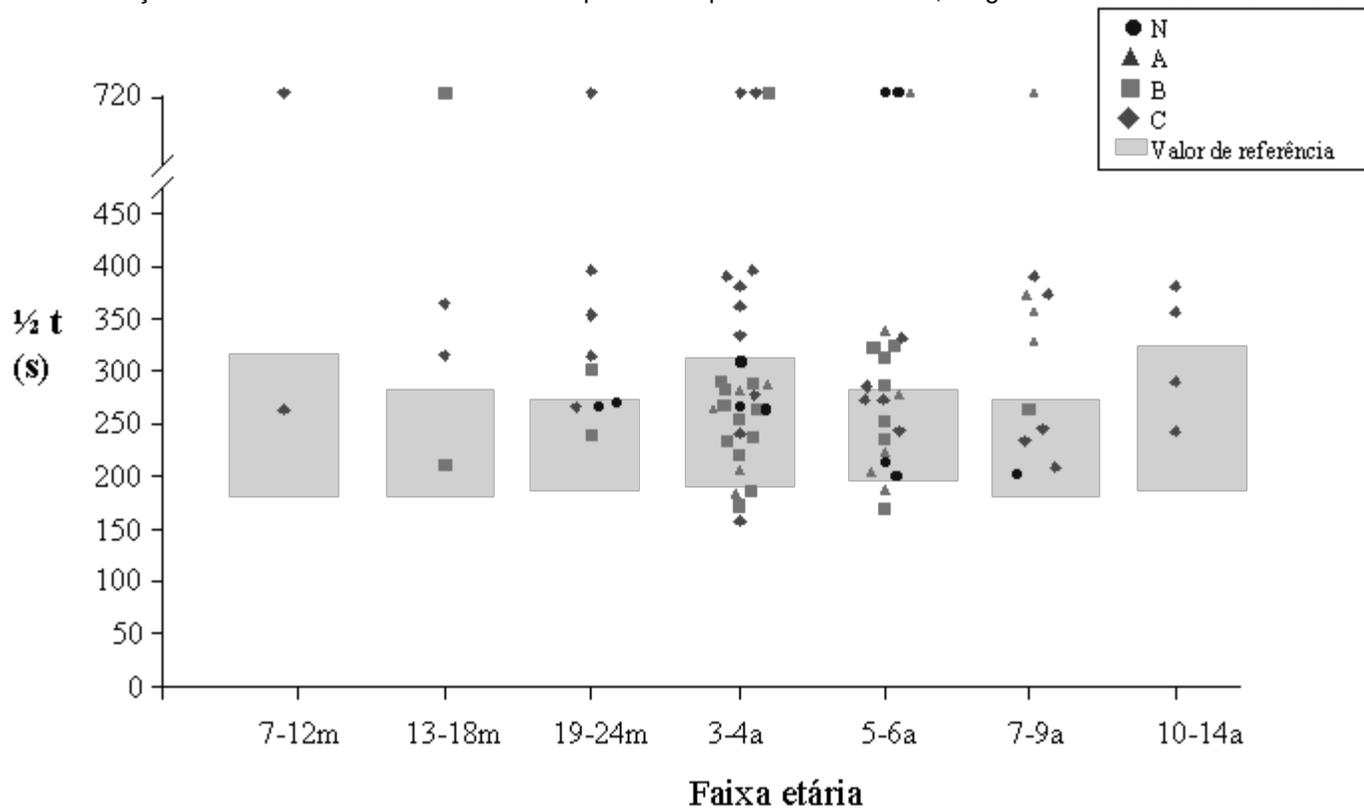
**Figura 2** - Distribuição dos valores de CH50 em 108 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios clínicos do CDC (1994).



**Figura 3** - Distribuição dos valores de CH50 em 108 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios imunológicos do CDC (1994).

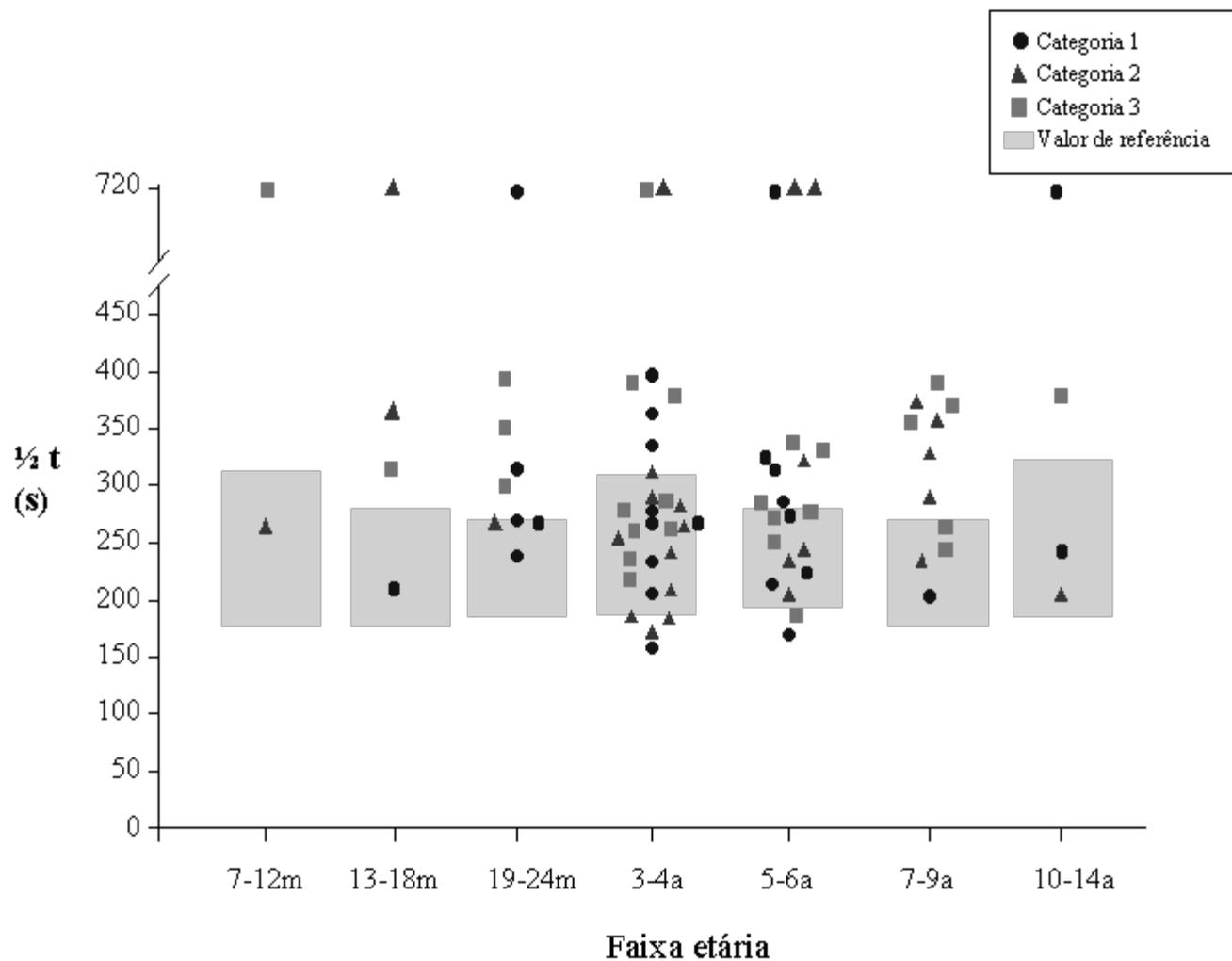


**Figura 4** - Distribuição dos valores de APH50 em 82 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios clínicos de CDC



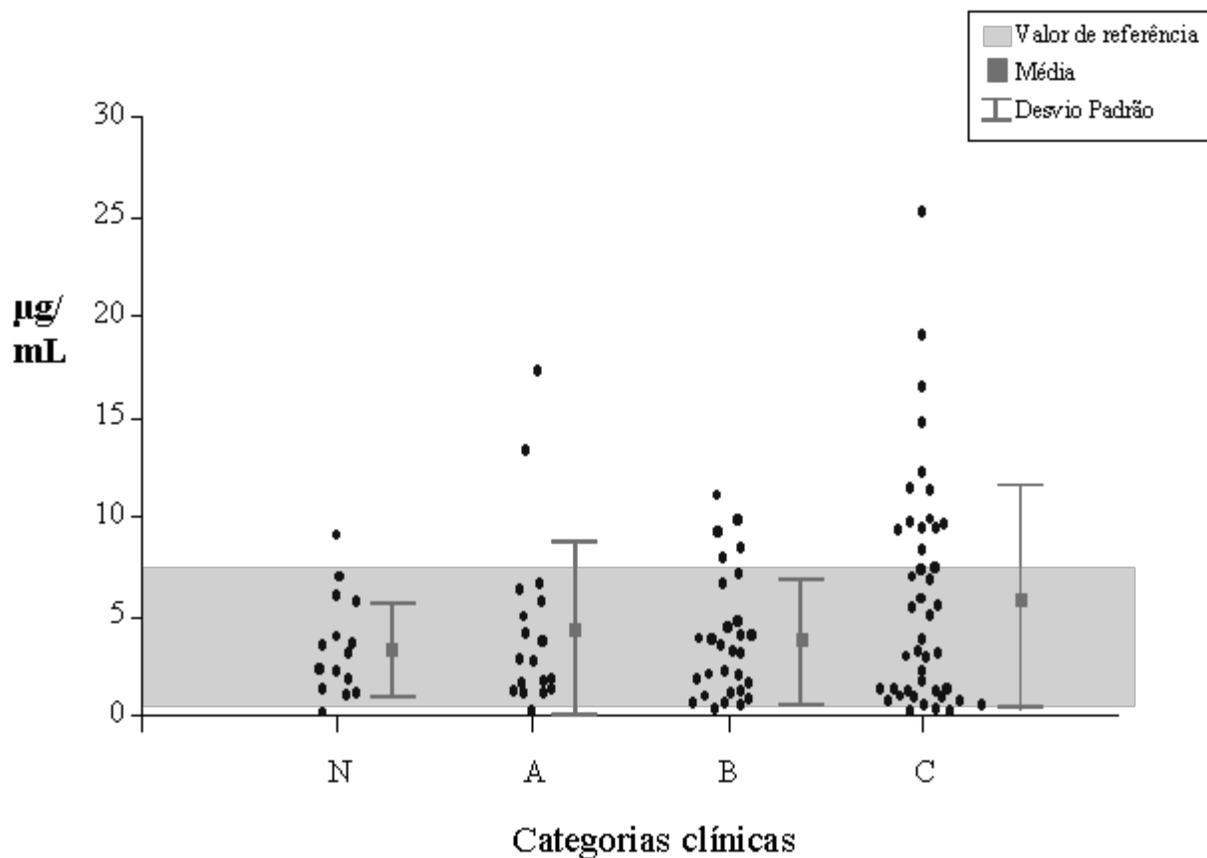
(1994).

**Figura 5.** Distribuição dos valores de APH50 em 82 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios imunológicos do CDC

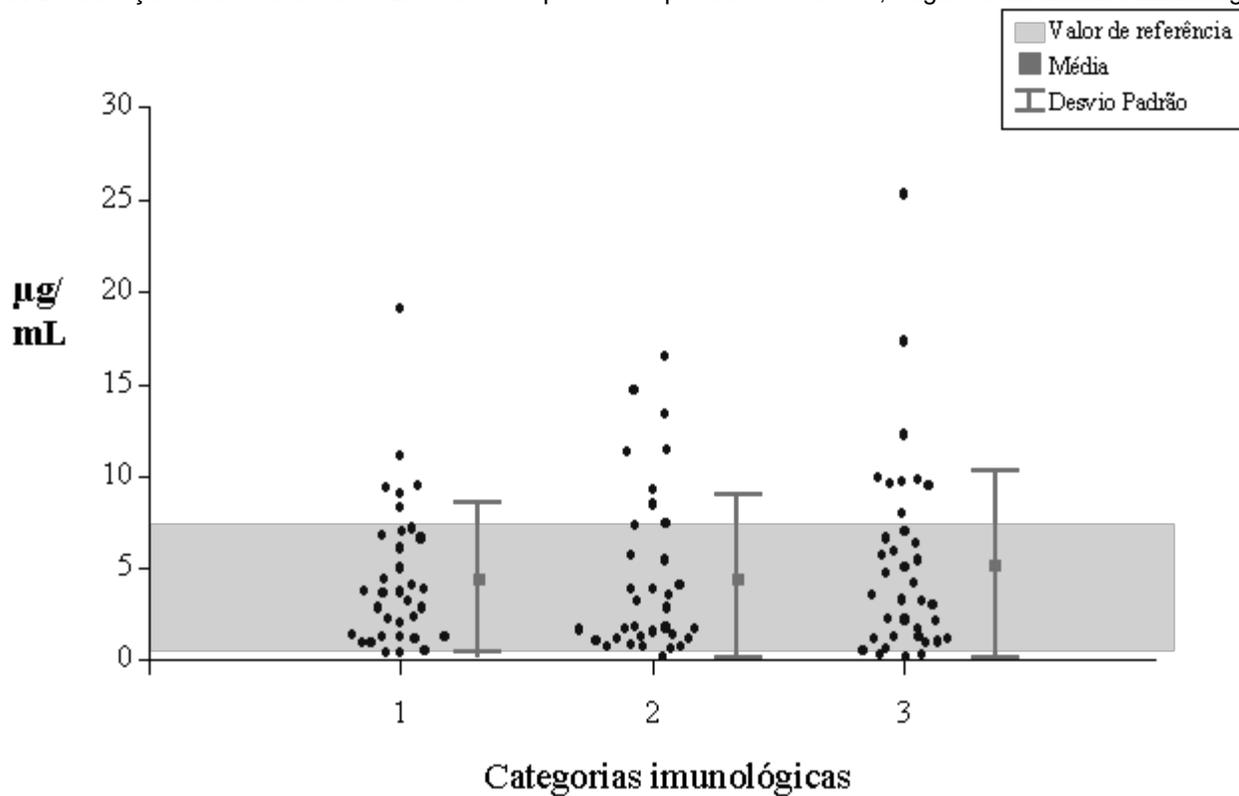


(1994).

**Figura 6.** Distribuição dos valores de MBP nos 107 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios clínicos de CDC (1994)



**Figura 7.** Distribuição dos valores de MBP nos 107 pacientes portadores de HIV, segundo os critérios imunológicos de CDC



(1994).

[\[Home Page SBAI\]](#) [\[Índice Geral\]](#) [\[Índice do Fascículo\]](#)

**A Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia é publicação oficial da Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia.**  
Copyright 1998 - SBAI - Av. Prof. Ascendino Reis, 455 - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 04027-000