

# Projeto 3

## Impacto das doenças respiratórias infecciosas e alérgicas na saúde da criança e do adolescente e suas repercussões na idade adulta: é possível minimizar os seus efeitos?

---

Joaquim Carlos Rodrigues (Instituto da Criança – Departamento de Pediatria da FMUSP)  
Dirceu Sole (Departamento de Pediatria da UNIFESP – EPM)

### Estado da Arte

As doenças respiratórias, particularmente em crianças, constituem o maior problema de saúde pública em todo mundo, particularmente nos países em desenvolvimento (Berman et al,1990; Shann,1986). Os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que as doenças respiratórias são a maior causa de atendimento ao nível ambulatorial, em pronto-socorro e maior motivo de internações. Estimativas recentes da OMS sugerem que 1,9 milhões de crianças morrem a cada ano por infecção respiratória aguda (Shann,1986). Em cidades muito poluídas, a prevalência de doenças respiratórias infecciosas e alérgicas em crianças é cerca de três a quatro vezes maior. As doenças do trato respiratório inferior são responsáveis por 90% das mortes por doença respiratória e determinam 10% de mortes por todas as causas em crianças menores de 1 ano (McIntosh,2002). No Brasil, as pneumopatias agudas são responsáveis por 11% das mortes em crianças com idade inferior a 1 ano e 13% na faixa etária entre 1 e 4 anos (Ministério da Saúde,1997).

Muitas crianças sofrem de afecções respiratórias agudas e crônicas relacionadas a problemas pulmonares, infecciosos, ambientais, alérgicos e otorrinolaringológicos. Estas doenças causam freqüentemente déficit no crescimento, no desenvolvimento neuro-psico-motor, na audição, distúrbios de linguagem e do sono, alterações ortodônticas ou provocam seqüelas respiratórias em longo prazo. Por outro lado, algumas das doenças respiratórias que principiam na infância podem ter repercussões na idade adulta resultando no desenvolvimento de doença pulmonar crônica, perda progressiva de função pulmonar, piora da qualidade de vida, baixa produtividade, incapacidade física laborativa, redução da longevidade e constituem ônus considerável para a sociedade e para sistema público de saúde (Van den Akker-van Marie,2005). Alguns trabalhos têm aventado a possibilidade de que aspectos relacionados à gestação e ao período perinatal, como baixo peso ao nascimento e prematuridade, além de displasia broncopulmonar e infecções respiratórias virais precoces, possam resultar em risco aumentado de doenças pulmonares na vida adulta, como asma e DPOC (Lange et al,1998). Fatores ambientais com poluição e tabagismo ativo e passivo podem exercer continuamente papel deletério

aumentando a morbidade por doenças respiratórias e comprometendo a função pulmonar ao longo do tempo (Svanes et al,2004).

A asma é uma das doenças crônicas de maior prevalência na infância que, associada a outras doenças alérgicas, especialmente a rinite alérgica, vem apresentando aumento em sua prevalência nas últimas décadas além do aumento na sua morbimortalidade e, conseqüentemente em seus custos diretos e indiretos (Busse et al,2004 ; Fischer et al,2005). Foi estimado recentemente, nos Estados Unidos, um custo anual de 12,7 bilhões de dólares para o tratamento da asma (Gendo et al,2005). Os dados de mortalidade por asma e outras doenças respiratórias são escassos no Brasil. No Estado de São Paulo, no período de 1970 a 1996, a taxa de mortalidade por asma na faixa etária entre 5 a 34 anos duplicou de 0,2 mortes /100.000 habitantes em 1970 para 0,4 em 1996 (Salto Junior et al,2002). Nos Estados Unidos, por exemplo, a asma em crianças é responsável por 7,3 milhões de dias restritos ao leito e 10,1 milhões de dias de faltas escolares por ano. Em Londres, a falta escolar por asma foi relatada por 12% das crianças e estimou-se uma perda média de 30 dias por criança por ano acadêmico. Por esta razão, a taxa de repetição escolar é duas vezes maior em crianças asmáticas (O' Connell, 2004).

A investigação da prevalência de asma em estudos epidemiológicos tem sido baseada em diferentes tipos de questionários de sintomas, por apresentarem baixo custo, podendo ser aplicado em grandes populações. As dificuldades em se comparar as prevalências de doenças atópicas em diferentes regiões no mesmo país e mesmo entre os diferentes países com questionários de sintomas, levaram à criação em 1991 de um questionário padronizado com perguntas específicas sobre asma e outras doenças alérgicas conhecido como estudo ISAAC -"International Study of Asthma and Allergies in Childhood" . É utilizado um questionário escrito e um vídeo-questionário onde são avaliados os sintomas relacionados à asma, rinite e eczema. O método foi traduzido e validado em vários países, inclusive no Brasil (Sole et al,1998), confirmando sua aplicabilidade e reprodutibilidade, passando a ser utilizado em todo o mundo. O questionário escrito padronizado inclui oito questões sobre asma, seis sobre rinite e seis sobre eczema, traduzido para diferentes línguas, inclusive para o português, sendo recomendado uma amostra de 3000 crianças de seis a sete anos e outra de 3000 adolescentes entre 13 e 14anos. Através do questionário do projeto ISAAC, aplicado em varias cidades brasileiras, verificou -se que a prevalência de asma no Brasil está situada entre 10 e 30%.

Os estudos epidemiológicos também têm estudado os fatores de risco para a asma, sugerindo formas de prevenção para a mesma (Keller et al,2002; Pekkanen & Pearce, 1999; Peat et al,2001). Entre os fatores de risco para asma destacam-se fatores genéticos e ambientais tais como: história familiar de alergia, fumo passivo, sexo masculino, ausência de aleitamento materno e a exposição e sensibilização a aeroalérgenos do ambiente (Martinez et al,1995 ; Wahn et al,1997). A hipótese mais citada para explicar o aumento nas doenças alérgicas nos países desenvolvidos é conhecida como a hipótese da higiene, proposta por Strachan (1989). Esta hipótese sugere que os ambientes mais higiênicos e com poucas infecções na infância, poderiam

ser responsáveis pelo aumento nas doenças alérgicas. Da mesma forma várias publicações demonstraram a menor prevalência de doenças alérgicas entre crianças com maior incidência de doenças infecciosas (especialmente hepatite A, toxoplasmose e herpes), que freqüentavam creches, que conviviam com outros irmãos mais velhos e com uma microflora intestinal composta de enterococos, bifidobactérias e bacteróides. A colonização do trato intestinal se completa nas primeiras semanas de vida, promovendo uma maturação pós-natal do sistema imunológico mais relacionado à resposta TH-1. A possibilidade de cepas de *Lactobacillus* produzirem IL-12, explicaria a inibição da produção de IgE induzida por alérgenos nos pacientes onde estes agentes albergam seu intestino. Recentemente têm sido demonstrado que a exposição precoce aos elevados níveis de endotoxina da poeira pode proteger contra o desenvolvimento de doenças atópicas em indivíduos susceptíveis, sugerindo indução da resposta TH-1 (Von Mutius et al,2000 ; Weis,2002; Braun-Fahrländer et al, 2002; Gereda et al,2000). Em estudos populacionais comparando-se moradores de áreas rurais e urbanas, mostrou-se uma relação inversa entre os níveis de endotoxinas no ambiente e a presença de rinite, asma e sensibilização a aeroalérgenos. Em relação aos aeroalérgenos, a sensibilização aos alérgenos intradomiciliares (ácaros, cão, gato e baratas) parece ser mais importante que os extradomiciliares, com maior desenvolvimento de asma nos casos onde o nível é mais elevado (Von Mutius et al,1994; Sporik et al,1990; Ehnert et al,1992; Cullinan et al,2004). Entretanto, Platts-Mills et al mostraram menor sensibilização alérgica em um grupo de crianças expostas nos primeiros anos de vida a elevada concentração do alérgeno de gato.

Estudos epidemiológicos de coorte têm sido conduzidos em diferentes países com o objetivo de identificar fatores que influenciam o início e a progressão da atopia e asma, além da função pulmonar e outros sintomas respiratórios, desde a infância até a idade adulta (Vonk et al,2004; Illi et al,2001). Muitos estudos relacionam as infecções virais e bacterianas nos primeiros anos de vida como fator de proteção para subsequente asma, mas infecções virais nas vias aéreas inferiores poderiam estar relacionadas a um risco aumentado na prevalência de asma, sibilância e mesmo hiperresponsividade brônquica (Sigurs et al,2000; Taussig et al,2003). As infecções por RSV, principalmente bronquiolite nos primeiros anos de vida, são consideradas fatores de risco para o desenvolvimento subsequente de asma e sensibilização a alérgenos inalantes, particularmente em indivíduos com predisposição genética para atopia e asma (Welliver et al,1986; Reijonen et al,1997; Sigurs et al,1995). Em estudo recente de coorte, Sigurs mostrou que crianças hospitalizadas com bronquiolite pelo vírus respiratório sincicial tem maior risco de desenvolver sensibilização alérgica e asma (Sigurs 2002).

Nos últimos anos, ficou demonstrada, nos países em desenvolvimento, a importância epidemiológica do VRS como agente de doenças respiratória agudas e causador de importante morbidade e seqüelas em longo prazo, particularmente em crianças nos primeiros anos de vida. No início da década de 1980 o NAS Board on Science and Technology for International Development (BOSTID) iniciou um programa com o intuito de estudar a etiologia das infecções agudas do trato

respiratório nos países em desenvolvimento (Bale et al,1990). Foram realizados estudos etiológicos em 12 países geograficamente distintos na África, Ásia e América Latina. Os principais resultados e conclusões destes estudos foram: a incidência de infecções respiratórias agudas e pneumonias e a taxa de mortalidade por essas causas são mais elevadas em crianças com idade inferior a 18 meses; a mortalidade em crianças hospitalizadas variou de 3,2% a 15,8% dos casos; a maior mortalidade ocorreu nas Filipinas; os vírus causam maior número de episódios de infecção respiratória aguda do que as bactérias; o VRS é o agente mais freqüente; as bactérias mais freqüentes são o *Streptococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenzae*;

No Brasil, os estudos etiológicos de pneumonias agudas realizados anteriormente em crianças, utilizando-se da cultura de aspirado pulmonar e da análise microbiológica do líquido pleural, demonstraram que o *Streptococcus pneumoniae* era o agente bacteriano predominante em todas as faixas etárias, seguido pelo *Haemophilus influenzae* (Rodrigues et al,1999; Ejzenberg et al,1986). Estudos mais recentes em crianças hospitalizadas com doença do trato respiratório inferior demonstraram um papel importante do VRS, particularmente nos lactentes (Vieira et al,2001; Miyao et al,1999). Vieira et al avaliaram prospectivamente a ocorrência de infecções virais em 239 crianças brasileiras hospitalizadas com doença do trato respiratório inferior, através de cultura viral e imunofluorescência de material de nasofaringe. O vírus respiratório sincicial foi identificado em 41,8% das crianças o adenovírus em 4,6%, Influenza em 0,8% e o parainfluenza em 0,4%. O agente bacteriano, detectado através de hemoculturas e cultura de líquido pleural, foi identificado em apenas 5,8% dos casos. O VRS esteve associado a outros vírus ou bactérias em 6 casos. A maioria das crianças com infecção pelo VRS tinham idade inferior a 1 ano e eram portadoras de pneumonias ou bronquiolite. Em publicação anterior os mesmos autores salientaram que o VRS esteve associado a 84% dos casos de bronquiolite e a cerca de 47% das pneumonias (Miyao et al,1999).

As infecções respiratórias virais podem resultar em grande morbi-letalidade para grupos específicos de pacientes, como prematuros e portadores de doenças crônicas como cardiopatias, asma, fibrose cística e displasia broncopulmonar, entre outras. Utilizando métodos clássicos e biologia molecular, vários vírus respiratórios têm sido identificados em episódios de chiado em crianças e em cerca de 50% das exacerbações de asma em adultos nos Estados Unidos e Inglaterra, principalmente rinovírus (RV), vírus sincicial respiratório (RSV) e coronavírus (CoV) (Atmar et al,1998; Rakes et al,1999; Henrickson,2004).

Vários estudos têm mostrado que lactentes que tiveram bronquiolite causada por este agente tendem a subsequentemente desenvolver chiado e asma até os 3 anos de vida, principalmente se há história familiar de asma (Sigurs et al,1995). Vários autores demonstraram efeitos tardios da infecção precoce por RSV na função pulmonar (Voter et al,1988; Strope et al,1991). Stein et al, em um estudo de coorte de crianças em Tucson, Arizona, mostraram que a infecção do trato respiratório inferior pelo VRS antes dos três anos de idade está associada com maior risco de sibilância até os 6 anos de idade, embora este risco diminua com o passar do tempo

(deixa de ser significativa por volta dos 13 anos de idade) (Stein et al,1999). Vários fatores têm sido aventados para explicar esta associação de infecção viral com maior risco subsequente de chiado, como a indução de resposta imune de padrão TH-2 por infecção precoce por RSV e a indução de alterações no remodelamento/desenvolvimento de vias aéreas inferiores. Vale ressaltar que no estudo de Stein et al, a infecção precoce por RSV não esteve associada a maior risco de atopia.

Apesar do grande número de estudos e dos resultados de estudos de coorte realizados em outros países, a natureza da associação entre infecção respiratória viral e episódios subsequentes de sibilância e asma permanece ainda desconhecida. Outros vírus respiratórios como rinovírus, coronavírus, parainfluenza, influenza e adenovírus são também identificados em episódios de sibilância e crises de asma.

Os rinovirus são os mais freqüentes agentes causais de resfriado e são os vírus mais freqüentemente detectados em associação com episódios de chiado. Embora os mecanismos envolvidos na patogênese de chiado e exacerbações de asma nas infecções virais não estejam totalmente compreendidos, sabe-se que infecção experimental por RV, embora restrita a pequeno número de células do trato respiratório superior (Arruda et al,1995), potencializa a histamina e aumenta a hiper-reatividade brônquica em indivíduos alérgicos (Calhoun et al,1991). Além dos efeitos indiretos, via mediadores inflamatórios, é possível que a infecção de células do trato respiratório inferior, ocasione diretamente a reação inflamatória neste local. Há ainda evidências experimentais de que RV infecta células de músculo liso de vias aéreas (Gern & Busse,2000), o que sugere a possibilidade de mecanismos envolvendo diretamente hiper-responsividade muscular brônquica a infecções por RV na gênese de asma.

A poluição atmosférica é extremamente deletéria à saúde humana, visto os inúmeros estudos relacionando os poluentes à morbidade e mortalidade tanto em crianças como em adultos e idosos e crianças, sendo, esses dois últimos considerados grupos de maior risco (Schwartz,1996; Dockery et al,1992; Dockery et al,1996, Saldiva et al,1994; Saldiva et al,1995;Lin et al,1999).Os estudos epidemiológicos realizados para verificar os efeitos da poluição atmosférica da cidade de São Paulo sobre a saúde da população mostraram uma associação significativa entre mortalidade infantil por causas respiratórias e os níveis diários de óxidos de nitrogênio (Saldiva et al,1994). A mortalidade de idosos (acima de 65 anos) por causa respiratória apresentou forte associação com níveis diários de PM<sub>10</sub> (Saldiva et al,1995).

Em adição existe uma associação significativa entre o aumento de atendimentos e de internações de crianças por doenças respiratórias nos serviços de urgência e níveis aumentados de poluentes (Lin et al,1999; Braga et al,2001; Farhat,1999). Gouveia e Fletcher encontraram associação positiva entre internações de crianças menores de 5 anos por doenças respiratórias e PM<sub>10</sub>, O<sub>3</sub> e NO<sub>2</sub>.Braga et al realizaram um estudo dos efeitos dos poluentes do ar sobre as internações por doenças respiratórias, estratificando a análise por faixas etárias. As crianças menores de 2 anos e os adolescentes foram os grupos mais afetados. Os resultados desses estudos evidenciando os efeitos deletérios da poluição atmosférica sobre a morbidade infantil,

somados aos resultados de estudos realizados nas mais diversas partes do mundo vêm confirmar a susceptibilidade da faixa etária pediátrica (Sobral,1989).

Um outro aspecto de grande interesse é a avaliação funcional do sistema respiratório de lactentes e pré-escolares, com suas possíveis repercussões na vida adulta. A avaliação funcional do sistema respiratório, através de espirometria e pletismografia, está muito bem estabelecida para estadiamento e classificação de doenças, além de avaliação de intervenções terapêuticas de toda a espécie em adultos e crianças acima dos 6 anos de idade (Rodrigues et al,2002). A avaliação de função pulmonar em lactentes e pré-escolares, por outro lado, é dificultada pela impossibilidade de realizar espirometria nos pacientes abaixo de dois anos e pela falta de reprodutibilidade e dificuldade de se obter fluxos máximos em crianças abaixo dos 6 anos de idade. Outras técnicas como as medidas de resistência através da técnica do interruptor (Rint) e técnicas de oscilação forçada apresentam também grandes dificuldades para execução e interpretação, e são influenciadas por diversos fenômenos, como a posição da língua e a sustentação da bochecha durante as medidas (Ljungberg,2004).

A avaliação de função pulmonar de lactentes é uma área de grande potencialidade científica, e não existe um centro no País adequadamente equipado para capacitação de profissionais neste sentido. O exame consiste da medida de fluxos e volumes pulmonares, através de técnicas de pletismografia e de compressão torácica rápida. Já existem padronizações e definições de valores normais para lactentes e pré-escolares. Trata-se de um campo em franca expansão na última década, com aplicações voltadas também para classificação de distúrbios respiratórios e resposta terapêutica, mas também para melhor conhecimento do crescimento e desenvolvimento do sistema respiratório nesta faixa etária (Ljungberg,2004).

Os exames funcionais em lactentes vêm sendo usados para avaliar ainda a progressão de doenças como a fibrose cística e a bronquiolite obliterante e na avaliação de resposta terapêutica a broncodilatadores ou outras drogas como mucolíticos e antibióticos inalatórios nestes grupos de pacientes e em outras patologias (Jones et al,2000). Alguns autores têm utilizado métodos de avaliação da função pulmonar para o estudo de intervenções terapêuticas em lactentes com sibilância recorrente, o que possibilita um melhor conhecimento da patologia em si e uma escolha mais fundamentada do tratamento a ser empregado (Stocks et al,2000; Hayden et al,1998). Cabe ainda determinar se as intervenções terapêuticas e a conseqüente mudança do curso da sibilância recorrente de lactentes pode eventualmente resultar em modificação de risco ou padrão de doença pulmonar na vida adulta.

#### **Justificativas do projeto:**

Este projeto tem como objetivos estudar as doenças respiratórias de causas infecciosas, genéticas e alérgicas na população pediátrica, sua prevalência, fatores de risco, morbidade e propor meios de prevenção, com o intuito de minimizar o seu impacto e suas repercussões na infância, adolescência e idade adulta resultando no desenvolvimento de doença pulmonar crônica,

perda progressiva de função pulmonar, piora da qualidade de vida, redução da longevidade e nos custos para a sociedade e para sistema público de saúde.

A asma é a principal doença crônica da infância que durante os primeiros dois anos de vida é muitas vezes motivo de erro diagnóstico que gera retardo no início do seu tratamento e potenciais complicações. A determinação da frequência dos quadros de sibilância recorrente em lactentes é passo fundamental para que possamos entender melhor a sua evolução para a asma mais tardiamente. Outro ponto avaliado neste projeto é a relação entre exposição ambiental e expressão de asma ou doenças alérgicas em pacientes com risco elevado para manifestá-las. A participação do potencial genético e do ambiente na expressão clínica da asma será avaliada pelo estudo de escolares japoneses, filhos e/ou netos de japoneses, nascidos no Brasil, de pais/ou avós exclusivamente japoneses. A análise comparativa entre a prevalência aqui observada e a em escolares japoneses (habitando o Japão) permitirá aclarar essa relação entre genética e ambiente. Entretanto, a melhor caracterização da asma, observada em várias regiões do país é fundamental para que possamos compreender as significativas diferenças na prevalência da asma em escolares ao longo do país. Estes questionamentos serão respondidos pelo estudo sobre a caracterização da asma de adolescentes identificados pelo International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): Prevalência de sensibilização a aeroalérgenos e identificação de fatores de risco para asma e doenças alérgicas. Outro ponto que merece consideração é o estudo das diferentes apresentações da asma na criança e no adolescente, que mecanismos genéticos estariam envolvidos e seriam determinantes das diferentes expressões clínicas. O estudo de polimorfismos de genes de moléculas do sistema imune, de receptores beta adrenérgicos e de leucotrienos cisteínicos na asma em crianças nos permitirá identificar que alterações se acompanham por qual forma clínica e certamente prevermos a evolução da asma mesmo antes dela se manifestar. Entre os pacientes com formas graves de asma são comuns as infecções de vias aéreas de repetição. O estudo da imunidade humoral nesses pacientes é mandatória e permitirá elucidarmos o real papel do tratamento prolongado e/ou com doses elevadas de corticosteróides inalados a que muitos deles são submetidos.

Apesar do vasto conhecimento relacionado à importância das infecções respiratórias virais em crianças, seu impacto na origem da sibilância e da asma ainda é motivo de grande controvérsia. Em parte isso decorre das dificuldades no diagnóstico de infecções respiratórias virais, outrora baseado em sorologias com amostras pareadas e isolamento viral. Em um dos estudos, estamos focalizando a importância das infecções virais, particularmente em lactentes, como fator de risco para o desencadeamento de asma em crianças com historia familiar da doença. Em outro estudo empregamos a metodologia de biologia molecular como método rápido, específico e sensível para o diagnóstico de infecções virais

A avaliação de função pulmonar de neonatos e lactentes é uma outra área de grande potencialidade científica, com enorme desenvolvimento na última década. Trata-se de uma área de pesquisa ainda incipiente em nosso país, e existem poucos profissionais com capacitação para



realização de provas funcionais nos pequenos pacientes. Os estudos aqui propostos tem objetivos de utilizar a medida da função pulmonar para discriminar populações de lactentes sibilantes e estudar lactentes com doença de base (broncodisplasia, fibrose cística) com maior potencial de comprometimento funcional com intuito de determinar o prognóstico e evolução da doença e avaliar a resposta terapêutica

## **Objetivos e Metodologia:**

### **1- Estudo Internacional sobre prevalência de sibilâncias recorrentes em crianças no primeiro ano de vida:**

Coordenador Geral do Projeto - Javier Mallol (Universidade de Santiago do Chile); Coordenador para o Brasil - Dirceu Solé (UNIFESP-EPM). Será realizado no Brasil, Chile, Portugal e Espanha. No Brasil participarão os seguintes centros: Aracaju (Profa Dra Jackeline Motta, Universidade Federal de Sergipe, Depto de Pediatria), Belém (Profa Dra Elaine Xavier, Universidade Estadual do Pará, Departamento de Pediatria), Belo Horizonte (Prof Dr Paulo de Augusto Camargos, Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Pediatria e Dr Wilson Rocha Filho, Hospital Felício Rocho), Brasília (Prof Dr Wellington Borges, Hospital de Base), Caruaru (Prof Dr Emanuel Sarinho, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Pediatria), Campinas (Prof Dr José Dirceu Ribeiro, Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Pediatria), Curitiba (Prof Dr Nelson A Rosário Filho, Universidade Federal do Paraná, Departamento de Pediatria), Fortaleza (Prof Dr Álvaro Madeiro Leite, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Pediatria), Nova Iguaçu (Prof Dr Fábio Kuschnir, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Pediatria), Porto Alegre (Prof Dr Paulo S Silva, Hospital Santo Antônio, Pneumologia Pediátrica e Prof Dr Gilberto Bueno Fischer, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas do Rio Grande do Sul, Depto de Pediatria), Santo André (Profa Dra Neusa F Wandalsen, Fundação Faculdade de Medicina do ABC, Departamento de Pediatria), São Paulo-Oeste (Prof Dr Antonio C Pastorino, Universidade de São Paulo, Departamento de Pediatria), São Paulo-Sul (Prof Dr Dirceu Solé, Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Pediatria), Recife (Prof Dr Enmanuel Sarinho, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Pediatria).

---

## **Introdução**

As sibilâncias recorrentes e as infecções respiratórias agudas (IRA) em lactentes exercem papel muito importante na morbidade e mortalidade por causas respiratórias em países em desenvolvimento. Desconhecem-se as razões para a diferença das frequências de prevalência e gravidade desses quadros em lactentes que habitam países desenvolvidos e em desenvolvimento. Especula-se que essa diferença seja determinada principalmente por exposições a fatores de risco



ambiental, especialmente aqueles relacionados a uma condição sócio-econômica baixa. De modo geral, na América Latina, estas doenças que se manifestam freqüentemente sob a forma de sibilância recorrente não têm evolução benigna como se considerava tradicionalmente, e têm gerado um grande número de consultas e uso dos recursos de saúde e contribuído fortemente para a alta morbi-mortalidade em lactentes, devido a complicações respiratórias, procedentes em sua maioria de populações pobres.

Não há relato de estudos colaborativos, nacionais ou internacionais, realizados por múltiplos centros, que tenham utilizado método padronizado, sobre a verdadeira taxa de prevalência das sibilâncias recorrentes (três ou mais episódios) no primeiro ano de vida em lactentes que vivem em países em desenvolvimento. Estudos isolados sugerem que as sibilâncias seriam mais freqüentes e graves em locais em desenvolvimento que em países desenvolvidos. É provável que, como aconteceu com estudos sobre a asma, possam existir verdadeiras diferenças entre a prevalência e os fenótipos entre centros do mesmo país e entre países. Este estudo permitirá avaliar diferentes aspectos das sibilâncias recorrentes durante o primeiro ano de vida em países que compartilham a mesma língua e costumes, mas que diferem notavelmente quanto ao nível de desenvolvimento sócio-econômico. Pela primeira vez, um estudo proporcionará informações importantes para colocar à prova as diversas hipóteses atuais sobre sibilância em lactentes de estudos realizados nos países desenvolvidos, para ver se são aplicáveis de maneira geral e se as recomendações de instituições sanitárias internacionais se podem confirmar.

### **Objetivos:**

Este estudo tem por objetivos: a) verificar a real prevalência de sibilância recorrente em lactentes (12 a 15 meses de vida) de várias localidades, b) proporcionar um marco para a investigação adicional sobre fatores etiológicos e patogênicos da sibilância recorrente, c) determinar possíveis fatores de risco envolvidos na gênese desses quadros, e d) obter medidas de referência para avaliar tendências futuras na prevalência e gravidade desta doença.

### **Casuística:**

Em cada centro participante, serão avaliados 3000 lactentes entre os atendidos em clínicas de imunização, postos de saúde, postos de puericultura por consultas de rotina e entre os matriculados em creches e/ou berçários. Os pais e/ou responsáveis serão convidados a responderem o questionário escrito padrão com questões referentes a sintomas no último ano, condições de nascimento, antecedentes pessoais e familiares atópicos, tipo de parto, tempo de aleitamento natural exclusivo, alimentação no último ano, esquema vacinal, doenças apresentadas, condições de habitação, exposição passiva a fumaça de tabaco, exposição a animais entre tantos outros. Estima-se avaliar 48 000 crianças nos centros brasileiros. Isto certamente nos fornecerá material capaz de nos proporcionar o melhor conhecimento sobre as sibilâncias recorrentes em lactentes bem como a sua evolução.

## 2- Exposição a alérgenos e a endotoxina, sensibilização e expressão clínica da doença alérgica: Estudo de Coorte

Estudo desenvolvido pela Disciplina de Alergia Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo (Profa Dra Vera EV Rullo, Prof Dr Dirceu Solé, Prof Dr Charles K Naspitz e a graduanda Vivian Valente de Souza) e Serviço Social do Hospital Israelita Albert Einstein (Prof Dr Fernando José de Nóbrega). Conta com apoio à Pesquisa FAPESP processo nº03/01745-8 de Auxílio à Pesquisa e processo nº 03/01746-4 referente a bolsa de Pós-Doutor.

---

### Introdução

Vários fatores têm sido apontados como responsáveis pelo aumento da prevalência da asma e das doenças alérgicas. A demonstração de relação entre atopia, higiene e tamanho das famílias suscitou na elaboração de outros e na Hipótese da Higiene. Nesta a prevalência elevada da asma alérgica seria então atribuída a mudanças nas interações entre os humanos e os micróbios, associadas às mudanças no estilo de vida ocidental e às melhores condições de higiene dessas populações. Assim como as outras teorias que relacionam poluição, hábitos alimentares e maior exposição a alérgenos, a Hipótese da Higiene se baseia em muitos dados conflitantes, sustentados por evidências “in vivo” e “in vitro”. Dentre os fatores que já foram apontados como protetores para o aparecimento de alergias estão incluídos: a) número de irmãos mais velhos e grandes famílias, baixa renda, nascer e viver em fazendas, exposição ambiental a níveis elevados de endotoxinas, estilo de vida antroposófico, exposição a doenças infecto-contagiosas e imunizações, uso precoce de antimicrobianos, tipo de aleitamento, duração do aleitamento natural exclusivo e tipo de alimentação no primeiro ano de vida. As doenças alérgicas são a expressão clínica resultante da interação entre o potencial genético e a exposição ambiental. Estudos evolutivos têm documentado, embora de modo não unânime, que a exposição de lactentes com risco elevado para desenvolverem asma ou doenças alérgicas, no começo da vida a fatores ambientais específicos, são protegidos contra o aparecimento das mesmas. A exposição a níveis elevados de endotoxina (ET), derivada da parede de bactérias gram negativas, no início da vida tem sido associada à redução na frequência de sensibilização atópica e desenvolvimento de doença alérgica. Postula-se que a ET seja importante na indução de desvio imunológico de linfócitos Th0 para um padrão de linfócitos Th1 que não caracteriza o das doenças alérgicas. Todavia em indivíduos com asma a exposição a níveis elevados de ET, por sua atividade pró-inflamatória, culmina com o seu agravamento.

### **Objetivos:**

Este estudo teve por objetivos: investigar a relação entre a exposição a endotoxina (ET) e a alérgenos domiciliares, encontrados em ambientes fechados (residências e creches), e o desenvolvimento de sensibilização atópica e doença alérgica em crianças com alto risco para asma e/ou doença alérgica.

### **Casuística e Método:**

Serão selecionadas 100 crianças, menores de um ano de vida, recém matriculadas no serviço social do Programa Einstein na Comunidade Paraisópolis (PENC) do Hospital Israelita Albert Einstein (São Paulo). Todas as crianças serão de risco elevado para desenvolverem doenças alérgicas (pais com doença atópica) e serão acompanhadas por período mínimo de um ano, a partir da data de inclusão no estudo. À admissão, além do preenchimento do questionário padrão, elas serão submetidas a exame físico completo. Amostras de poeira de colchão e de roupas de cama serão colhidas na residência e no PEC. A intervalos trimestrais as crianças serão acompanhadas clinicamente e por questionário tendo-se em conta: presença de chiado, número e gravidade das crises de broncoespasmo, infecções, uso de antibióticos, exposição a tabaco e a animais domésticos. Ao final de um ano de acompanhamento as crianças serão submetidas a testes cutâneos de hipersensibilidade imediata a aeroalérgenos mais comuns (D.pteronyssinus, D.farinae, Blomia tropicalis, Blatella germânica, Periplaneta americana, epitélio de cão e de gato). Nas amostras de poeira coletadas serão quantificados os níveis de alérgeno de ácaro (Der p 1 + Der f 1), barata (Bla g 1), gato (Fel d 1), cão (Can f 1) (ELISA com base em anticorpo monoclonal) e de ET (Limulus cinético turbidimétrico).

No segundo ano de seguimento as crianças serão acompanhadas clinicamente e nova avaliação com testes cutâneos e/ou determinação de IgE sérica específica para os mesmos aeroalérgenos serão realizados ao final do período.

### 3- Poluição ambiental urbana e outros fatores relacionados à ocorrência de chiado na infância: um estudo de coorte na cidade de São Paulo, Brasil (projeto Chiado).

Pesquisador Responsável: Maria Regina A. Cardoso - PROISA-USP (Programa de Informação em Saúde e Ambiente da Universidade de São Paulo)

---

#### PESQUISADORES / INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS:

Luiz Vicente Ferreira da Silva Filho (1, 2)

Cláudio Sérgio Pannuti (2)

Clárisse Martins Machado (2)

Joaquim Carlos Rodrigues (1)

1. Instituto da Criança – Hospital das Clínicas da FMUSP
2. Laboratório de Virologia – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo – LIMHC – Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias - FMUSP

Este projeto pretende estudar a influência da poluição atmosférica gerada pelo tráfego de veículos, e sua interação com a exposição a condições meteorológicas e ambientais intradomiciliares adversas, no desenvolvimento das doenças sibilantes, alergia e sensibilização atópica em crianças com história familiar de asma residentes no Município de São Paulo.

Um desenho de coorte prospectiva será usado. Esta coorte será constituída por 900 recém-nascidos, estratificados de acordo com a localização de suas residências em relação à densidade do tráfego e história de asma e/ou atopia da mãe (áreas com tráfego intenso: n=450, sendo 350 crianças com história de mãe asmática e/ou atópica e 100 crianças sem essa história; áreas com tráfego local: n=450, sendo 350 crianças com história de mãe asmática e/ou atópica e 100 crianças sem essa história). Os recém-nascidos serão acompanhados até os dois anos de idade. O recrutamento será realizado em maternidades públicas do Município de São Paulo entre recém-nascidos residentes em áreas onde existem estações da CETESB para monitoramento da qualidade do ar.

Dentre as crianças desse estudo, 700 (350 que residem em áreas com tráfego intenso e 350 em áreas com tráfego local, sendo que em cada um desses grupos haverá 100 crianças sem história familiar de asma) serão acompanhadas regularmente por médicos pediatras e testes diagnósticos de infecções virais serão realizados em situações de crise de sibilância ou de infecção respiratória sem sibilância. Além disso, todas as crianças serão submetidas a um teste de função pulmonar no 1º mês de vida e aos 12 e 24 meses de idade e amostras de fezes serão coletadas para realização de exames parasitológicos. Será selecionada uma subamostra de 200 crianças para avaliação evolutiva da resposta imune visando a identificação dos primeiros sinais

laboratoriais de atopia (dosagem de IgE sérica total e específica, fenotipagem de linfócitos, avaliação da capacidade linfoproliferativa frente a mitógenos (PHA) e a antígenos de D. pteronissinus, avaliação da produção de citocinas para identificar um desbalanço das populações linfocitárias Th1/Th2 e dosagem de anticorpos específicos após vacinação). A exposição a componentes organoclorados e a presença de endotoxinas serão avaliadas por meio da análise do leite materno coletado durante o primeiro mês de vida das crianças. Visitas domiciliárias periódicas para aplicação de questionários e coleta de amostras para avaliação ambiental serão realizadas para as 700 crianças, com o objetivo de monitorar sua saúde nos meses em que não houver consulta pediátrica agendada e recolher informações sobre exposição a agentes nocivos do ambiente doméstico.

As demais 200 crianças com história de mãe asmática e/ou atópica (100 que residem em áreas com tráfego intenso e 100 em áreas com tráfego local) não serão acompanhadas pelos pediatras da pesquisa. Entretanto, visitas domiciliárias serão realizadas para aplicação de questionários para monitoramento da saúde destas crianças na primeira semana de vida e, subseqüentemente, aos 6, 12 e 24 meses de idade. Estas crianças serão submetidas à avaliação da função pulmonar aos 24 meses de idade. Nesses domicílios não serão realizadas avaliações ambientais. Este grupo atuará como controle para avaliar um possível viés do estudo devido ao impacto da intervenção.

Nesse estudo, as medidas de exposições individuais à poluição atmosférica ambiental para as crianças da coorte serão estimadas por um modelo matemático construído a partir dos dados fornecidos pela CETESB e por uma rede de "super-sites" (parâmetros relativos à qualidade do ar), CET (tipo e volume de tráfego) e estações meteorológicas (parâmetros meteorológicos) localizadas no Município de São Paulo.

Periodicamente serão instalados termo-higrógrafos, para medir a temperatura e umidade relativa do ar, e tubos de difusão passiva para medir a concentração de NO<sub>2</sub> nas 700 casas das crianças com acompanhamento médico regular. Amostras de poeira doméstica também serão coletadas para quantificação de alérgenos (fungos, ácaro, barata, gato e cachorro) e endotoxinas bacterianas.

As características da construção da casa da criança serão registradas em um formulário específico, o qual incluirá a planta baixa com as medidas de área de piso, pé direito e área de janelas. Além disso, medidas relativas à iluminação natural, orientação solar e umidade nas paredes e piso serão registradas.

Serão realizadas ainda amostragens de ar para quantificar fungos e material particulado (PM<sub>10</sub> e PM<sub>2,5</sub>) usando os equipamentos RCS High Flow Air Sampler e Harvard impactor.

Informações sobre vários possíveis fatores de confusão, tais como história familiar de asma e atopia, condição sócio-econômica, imunização, aleitamento materno, abastecimento de água, saneamento básico, aglomeração intradomiciliar, freqüência de creche, tabagismo, entre outros serão também coletadas através de questionários para todas as 900 crianças.

#### **4- Prevalência de asma em filhos e/ou netos de japoneses, nascidos no Brasil, de pais/ou avós exclusivamente japoneses**

Estudo desenvolvido pela Disciplina de Alergia Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina (Profa Dra Inês C Camelo-Nunes, Prof Dr Flávio Sano, Prof Dr Dirceu Solé, Prof Dr Charles K Naspitz e especializando Thales.)

---

##### **Introdução:**

Não há dúvidas de que determinados fatores ambientais exercem papel importante na expressão da asma. Contudo, as evidências disponíveis apontam para a necessidade da obtenção de conhecimentos mais precisos sobre aspectos hereditários da doença. Na verdade, a quantificação da influência dos fatores genéticos na asma é fundamental, não apenas para tornar viável a diferenciação dos distintos aspectos etiológicos envolvidos na doença, mas também, porque existe um consenso, cada vez maior, de que tais fatores exercem papel crucial na determinação dos diferentes fenótipos herdados. Nesse sentido, a asma parece não seguir o padrão característico de doenças subordinadas a um único gene. Os dados disponíveis sugerem que vários genes ou, ainda, várias interações entre genes e o meio ambiente estejam envolvidos em sua manifestação. Seja como forem, as interações entre o genótipo e o meio ambiente na asma, não estão totalmente esclarecidas. Assim a caracterização do genótipo de determinada população e a análise do fenótipo manifestado em dois ambientes diferentes constitui rara oportunidade para a elucidação de uma questão de importância capital: Qual a importância relativa do genótipo e do meio ambiente na prevalência da asma? O estudo de populações com origem genética única e expostas a diferentes ações do meio ambiente possibilitarão o melhor entendimento da importância de cada um deles. Dados do International Study of Asthma and Allergies in Childhood demonstram ser a prevalência de asma 21,1% no Brasil e ao redor de 13,4% no Japão. Crianças japonesas, nascidas no Brasil descendentes exclusivamente de imigrantes japoneses, ou seja, cujos avós paternos e maternos sejam japoneses constituem população que, apesar de terem um aparato genético semelhante ao das crianças japonesas nascidas no Japão, nasceram e vivem num ambiente distinto: o Brasil.

##### **Objetivos:**

É objetivo deste estudo determinar em escolares de origem étnica japonesa (filhos e/ou netos de japoneses, sete a 17 anos de idade), nascidos no Brasil de pais ou avós exclusivamente japoneses ou de casamentos mistos, as prevalências de asma, rinite alérgica e eczema atópico de acordo com o tipo de origem: exclusivamente japonesa (sem casamentos mistos), japonesa (com casamentos mistos), e não japonesa. Além disso, identificar potenciais fatores de risco para o

aparecimento de asma e de doenças alérgicas (fatores ambientais, alimentares, familiares) nesses escolares.

### **Casuística e Métodos:**

Serão objeto deste estudo crianças japonesas, nascidas no Brasil descendentes exclusivamente de imigrantes japoneses (avós paternos e maternos japoneses). Eles serão identificados entre os alunos de escolas direcionadas predominantemente a crianças de origem japonesa, localizadas no município de São Paulo. Esses escolares (adolescentes) ou seus responsáveis (idades entre sete e 12 anos) responderão o questionário escrito padrão do International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) e a outro de fatores de risco. Para seleção das escolas direcionadas a crianças de origem japonesa contamos com o apoio do Consulado do Japão em São Paulo, que nos forneceu a listagem das existentes na região Sul do município. As escolas serão selecionadas conforme o padronizado pelo protocolo ISAAC. Os Diretores e/ou Orientadores pedagógicos dessas escolas serão inicialmente contatados por telefone e uma entrevista será agendada. Nessa ocasião o projeto será apresentado e uma vez que eles concordem será agendada a data de entrega dos QEs que serão distribuídos em sala de aula a todos os alunos, preenchidos pelos adolescentes maiores de 12 anos e recolhidos. Já, no caso dos escolares menores de 12 anos, os QEs deverão ser preenchidos pelos pais ou responsáveis e devolvidos em data combinada.

De acordo com o tipo de origem será feita a análise estatística tendo-se em consideração o diagnóstico epidemiológico de asma, rinite alérgica e eczema atópico.

### **5- Caracterização da asma de adolescentes identificados pelo International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): Prevalência de sensibilização a aeroalérgenos e identificação de fatores de risco para asma e doenças alérgicas**

Coordenador Nacional: Prof Dr Dirceu Solé e está sendo realizado em: Manaus (Profa Dra Maria do Socorro Cardoso, Universidade Federal do Amazonas, Depto de Clínica Médica), Belém (Prof Dr Bruno Paes Barreto, Universidade Estadual do Pará, Departamento de Fisiologia), Fortaleza (Profª Drª Luciana Ribeiro, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Pediatria), Caruaru (Profª Drª Almerinda R Silva, Prof Dr Emanuel Sarinho, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Pediatria), Nova Iguaçu (Prof Dr Fabio Kuschiner, Prof Dr Antonio J Ledo Cunha, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Pediatria), São Paulo-Oeste (Prof Dr Antonio Pastorino, Prof Dr Antonio C. Pastorino, Profª Drª Rejane R. Dalberto, Profª Drª Renata Gontijo Lima de Souza, Prof Dr Claudio Leone, Profª Drª Cristina M A Jacob, Universidade São Paulo, Departamento de Pediatria da FMUSP), São José do Rio Preto (Profª Drª Eliana C Toledo,



Faculdade Estadual de Medicina de São José do Rio Preto, Departamento Materno Infantil), Curitiba (Prof Dr Nelson Augusto Rosário Filho, Universidade Federal do Paraná, Departamento de Pediatria) e Itajaí (Profª Drª Claudia Benhardt, Faculdade de Medicina de Itajaí, departamento de Clínica Médica). Conta com a colaboração do Prof Dr Javier MalloI (Universidade de Santiago do Chile, Setor de Pneumologia Pediátrica) coordenador para América Latina para o projeto ISAAC

---

### **Introdução:**

Até o desenvolvimento do International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) pouco era conhecido sobre a dimensão da asma na população infantil, sobretudo habitando países em desenvolvimento. O estudo ISAAC foi idealizado para maximizar o valor dos estudos epidemiológicos em asma e doenças alérgicas e por empregar instrumento padronizado permitiu a avaliação de mais de meio milhão de escolares das mais diferentes localidades do mundo. No Brasil, a primeira fase mostrou ser a asma um problema de saúde pública uma vez que a prevalência média de asma, observada entre adolescentes de 13 e 14 anos, atingiu os 20% e foi a oitava em ordem decrescente de grandeza quando comparada à de todos os centros participantes. As taxas mais elevadas de prevalência de asma foram observadas no Reino Unido e Nova Zelândia. Em nosso meio, as maiores taxas foram observadas em Recife e em Porto Alegre e superaram os 20%, sem no entanto, identificar-se uma razão para esse fato. Após um interstício de sete anos foi realizada a terceira fase do ISAAC, ampliando-se em muito o número de centros brasileiros participantes. Ela teve por finalidade verificar a tendência de crescimento ou não na prevalência da asma, rinite alérgica e eczema atópico tendo-se como base de comparação os dados obtidos na primeira fase. Apesar de terminada ainda se desconhecem os resultados dessa fase. Todavia, chamou-nos à atenção a divergência observada na prevalência da asma nos diferentes centros brasileiros participantes e tornou-se imperativo o estudo desses adolescentes com o intuito de identificar possíveis fatores de risco bem como etiológicos da asma nas localidades participantes da fase # do ISAAC.

### **Objetivos:**

Tendo-se como base a possível heterogeneidade da asma na população de escolares brasileiros e recém concluída a fase III do ISAAC são objetivos desta pesquisa, em amostras populacionais de escolares brasileiros (13 e 14 anos): a) determinar a prevalência de sensibilização a alérgenos inalantes em adolescentes caracterizados como asmáticos ou não; b) comparar a prevalência de sensibilização e tipo de aeroalérgeno segundo o local de nascimento, c) estudar a exposição a fatores ambientais e alimentares, no primeiro ano e último ano de vida, em escolares caracterizados como asmáticos ou não, d) determinar a importância dos diferentes fatores ambientais documentados na expressão da asma, segundo localidade de nascimento, e) identificar os principais fatores de risco envolvidos na sensibilização alérgica e expressão da asma

e f) identificar os fatores de risco envolvidos na sensibilização alérgica e expressão da asma, segundo o local de nascimento.

### **Casuística e Método**

Participarão deste estudo os centros integrantes da fase 3 do ISAAC, recém concluída. De acordo com o padronizado pelo estudo, da amostra de escolares avaliados serão formados dois grupos segundo a resposta à questão de número dois do questionário escrito – módulo asma: Você teve sibilos (chiado no peito) no último ano?. Os que responderam sim constituirão o Grupo I e os que responderam não o Grupo II. Após seleção, os adolescentes dos dois grupos responderão um questionário complementar sobre fatores de risco, condições de habitação entre outras, e serão submetidos a testes cutâneos de hipersensibilidade imediata com alérgeno inalantes (ALC do Brasil, Dermatophagoides pteronyssinus, epitélio de gato e cão, fungos incluindo Alternaria alternatum, polens, Blatella germânica, e Periplaneta americana. Como controle positivo, será utilizado cloridrato de histamina (10mg/ml) e controle negativo (solução fenolada a 0,5% e glicerizada). O cálculo amostral foi realizado tendo-se como base um estudo caso-controle: dois controles (não-asmáticos) para um caso (asmático), alfa de 5%, prevalência populacional de asma aproximada de 20% e prevendo-se um fator de proteção aproximado de 50% (ODDS = 0,5) e poder de teste de 80%, atingimos a amostra de 150 casos (Grupo I – sibilantes) e 300 casos (Grupo II – controle – não sibilante), em cada centro participante (total 9 centros).

## **6- Avaliação Imuno-epidemiológica da Asma em uma População de Escolares de Baixa Renda: importância das infecções e infestações intestinais**

Pesquisador responsável: Renato T. Stein, M.D., M.P.H., Ph.D

Professor Assistente, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, PUCRS

INSTITUIÇÃO: Pontifícia Universidade Católica do RGS (PUCRS)

---

### **Resumo**

Os dados de prevalência de asma no Brasil têm revelado um grande impacto da doença em nossa população. A asma afeta, em média, 20% de nossa população (REF). Levantamento recente em uma população de escolares de baixa renda na cidade de Uruguaiana, RS mostrou uma prevalência de 24% de sibilância nos 12 meses anteriores à entrevista em crianças com média de idade de 10 anos (Stein RT, et al. comunicação pessoal, trabalho encaminhado à publicação). Embora estes números não sejam diferentes dos encontrados em outras populações brasileiras ou no exterior, surpreendentemente, o estudo de resposta para testes alérgicos

cutâneos a alergenais ambientais mostrou muito baixa positividade, diferente do que é classicamente descrito em populações do hemisfério norte, de mais alto padrão sócio-econômico. Somente 14% de uma população de 1200 crianças testadas em Uruguaiana apresentou teste cutâneo positivo a pelo menos um dos alergenais testados. Mais interessante ainda, é que apenas 20% das crianças com sibilância recente apresentavam testes cutâneos positivos, indicando que a maioria desta população apresenta sibilância do tipo não alérgica.

Fatores ambientais e genéticos podem influir a distribuição de asma atópica ou não-atópica em populações. Em países desenvolvidos, as razões para o observado aumento na prevalência de asma ainda não são entendidos completamente, mas certamente vem acompanhado de um aumento significativo de alergia e outras doenças alérgicas. Vários fatores podem contribuir para este aumento: atraso na maturação da resposta imune; menor exposição microbiana; mudanças na dieta; aumento da exposição a alergenais e irritantes ambientais. Em países mais pobres (e especificamente em populações de baixa renda e com padrão de higiene deficiente) são poucos os estudos que tentaram entender como se comportam estes fenótipos distintos de asma atópica e não atópica.

A maturação normal do sistema imune adaptativo acontece sob a influência de estimulação do meio ambiente (14), que certamente é diferente em comunidades de características tão distintas. O paradigma vigente na última década entende que asma e alergia envolvem uma resposta celular do tipo Th1/Th2, sendo que citocinas do tipo Th2 estariam associadas significativamente ao desenvolvimento e manutenção dessas doenças. Sabe-se, porém, que os padrões de resposta imunológica de células T a alergenais inalados varia em populações geneticamente diversas e que agressões do meio ambiente podem exercer papel importante nessa resposta.

Um estudo recentemente publicado sugere que em uma população australiana de bom nível sócio-econômico apresentou asma atópica (por testes cutâneos) associada a interleucina 4 (IL-4), IL-5, IL-9, IL-13, enquanto IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  eram comuns a asmáticos atópicos e não-atópicos (Heaton T et al. Lancet 2005). Asma, em atópicos estava associada estava fortemente associada com eosinofilia e IL-5 aumentado. Hiper-reatividade brônquica (HRB) em pacientes não-atópicos estava relacionada produção elevada de resposta alérgica específica e aumento de IL-10. Em conclusão este estudo sugere haver resposta específica de interleucinas em pacientes atópicos e não-atópicos. Este estudo mostra mais uma vez a heterogeneidade dos fenótipos de asma, porém não foi capaz de estudar com mais detalhes a população de asmáticos não-atópicos, pois a prevalência desse fenótipo não era muito significativa dentre estas crianças australianas.

Como esta população que estudamos no RS apresenta altos índices de infecção parasitária, a qual é altamente indutora da produção de IL-10, trabalharemos com a hipótese de que a alta prevalência de asma não-atópica nessa população esteja relacionada a uma exposição exagerada a estímulos infecciosos (parasitoses, infecções por vírus respiratórios e gastro-intestinais), desde o início da vida. O estudo de fatores de risco nesta população e os mecanismos

imunológicos associados a formas mais brandas (não-atópicas) ou mais severas (ligadas à atopia) de asma podem ajudar no desenvolvimento de futuras moléculas ou medidas de controle ambiental capazes de interferir na progressão da doença.

### Objetivos

1. Determinar a prevalência de asma em uma coorte de 1.200 crianças de 12-13 anos de idade, em escolas da cidade de Uruguaiiana, RS;
2. Determinar a prevalência de marcadores de alergia: testes cutâneos para aero-alergênicos comuns e IgE específico aos mesmos alergenos e IgE específico para *Áscaris*;
3. Determinar a resposta de HRB à estimulação com solução salina hipertônica;
4. Avaliar a resposta de produção de um grupo de interleucinas à estimulação de linfócitos em sangue periférico: IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ;
5. Determinar níveis de infecção por parasitas intestinais em amostras de fezes coletadas da mesma população;
6. Determinar níveis de endotoxina nas casas de um sub-grupo de 300 crianças;
7. Determinar níveis de resposta imunológica a agentes microbianos intestinais ou orofecais: *Toxoplasma gondii*, *Helicobacter pylori*, e Vírus da Hepatite A.

### Métodos

Uma população de 1200 escolares, com idade entre 11 a 13 anos, na cidade de Uruguaiiana, RS será escolhida para participar do estudo, através de sorteio. Os familiares das crianças responderão a um questionário detalhado e validado (estudo ISAAC-fase II) sobre asma, fatores de risco ambientais, pessoais e familiares. Serão realizados testes cutâneos alérgicos a aero-alergenos comuns e coletado sangue para a dosagem de níveis séricos de IgE total e específica a alergenos comuns e para helmintos. Este mesmo sangue será separado para dosagem de anticorpos de *Toxoplasma gondii*, *Helicobacter pylori*, e Vírus da Hepatite A. Ainda com o mesmo sangue coletado, serão separados os linfócitos, congelados para cultivo e, posterior estimulação com fito-hemoaglutininas para dosagem das citocinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ???. Uma sub-amostra de 300 crianças será selecionada e áreas determinadas de suas casas deverão ter a poeira domiciliar aspirada para dosagem dos níveis de ácaro e endotoxinas. Estas mesmas 300 crianças realizarão testes de função pulmonar com bronco-provocação, através de inalação de solução hiper-tônica.

## **7- Influência de polimorfismos de genes de moléculas do sistema imune, de receptores beta adrenérgicos e de leucotrienos cisteínicos na asma em crianças.**

Estudo desenvolvido pela Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina (Profa Dra Maria Gerbase DeLima, Mestranda Isabel Ruguê Genov, Prof Dr Andrei Morgun, Prof Dr Dirceu Solé e Prof Dr Charles K Naspitz) com participação do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (Profª DrªVirgínia Paes Leme Ferriani).

---

### **Introdução**

Na asma, o processo inflamatório tem a contribuição de muitas proteínas (citocinas, moléculas de adesão, fatores de regulação, quimiocinas, etc.) e células. A extensão da lesão tecidual provocada pela ação de mediadores que seriam liberados pelas células quando da exposição a determinados alérgenos em indivíduo previamente sensibilizado, e também a ação das células, sejam elas do próprio tecido ou provenientes de atração quimiotática ao sítio pulmonar, é o que potencialmente responde pela clínica variável na asma. O avanço recente dos métodos laboratoriais de investigação genética permitiu elucidar a participação de genes no controle da síntese e expressão dessas proteínas identificando os vários polimorfismos associados às diferentes expressões das mesmas. Na asma são identificadas como de importância: Interferon gama (INF- $\gamma$ ), Interleucina-10 (IL-10) e Fator de transformação de crescimento beta (TGF- $\beta$  e TGF $\beta$ 1), IL-10, IL-6, IL-4, IL-5, IL-13 e o Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Considerando que muitas dessas moléculas envolvidas na resposta imune apresentam polimorfismo genético, que algumas variantes genéticas estão relacionadas com o nível de produção e atividade das mesmas, que ainda é relativamente pouco conhecido o impacto destes polimorfismos, isolados ou em combinação, sobre aspectos quantitativos e/ou qualitativos da resposta imunológica, é nosso objetivo estudar a relação entre polimorfismos de algumas destas moléculas e a resposta imunológica em pacientes pediátricos com asma.

### **Objetivos:**

É intuito desde estudo avaliar os possíveis polimorfismos dos genes de IL-10, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  e IL-6 em crianças com asma de diferentes intensidades e verificar a sua relação com parâmetros clínicos e laboratoriais de gravidade, tais como: produção de IgE, resposta a  $\beta_2$ -adrenérgicos, frequência de necessidade de uso de corticosteróides inalados e/ou sistêmicos. Em parte desses pacientes serão avaliados também os polimorfismos para os receptores beta2 adrenérgicos e em pacientes diagnosticados como intolerantes a agentes anti-inflamatórios não hormonais será avaliado o polimorfismo para os receptores de leucotrienos cisteínicos.

### **Casuística e Métodos:**

Participarão do estudo crianças e adolescentes (brancos e pardos) com asma de diferentes intensidades (III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma), matriculados e acompanhados há pelo menos um ano nos serviços de Alergia Pediátrica das Disciplinas de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia Infantil da UNIFESP-EPM e Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – USP. Na sua totalidade serão recrutados 400 pacientes assim como seus pais ou irmãos não acometidos (N=800). Os pacientes terão idade superior a quatro anos e serão classificados conforme a intensidade da asma e os de maior idade realizarão espirometria antes e após o uso de agente beta2 agonista inalado. Todos serão submetidos a testes cutâneos de hipersensibilidade imediata com os seguintes extratos: *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *Blomia tropicalis*, *Blatella germanica*, *Periplaneta americana*, mix de fungos, *Aspergillus fumigatus*, cão, gato e pólen. Os parâmetros: tempo de doença, idade de início, frequência de exacerbações agudas, hospitalizações no último ano e medicação em uso e avaliação espirométrica (quando possível) serão utilizados para comparar os diferentes polimorfismos encontrados. Amostra de sangue periférico (10 mL) do paciente e de seus pais biológicos ou, na impossibilidade destes, irmãos não afetados, filhos dos mesmos pais, para realização dos seguintes exames: estudo de polimorfismos de genes de IL-10, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  e IL-6 e de receptores beta2 agonistas.

Outro grupo de pacientes com intolerância a agentes antiinflamatórios não hormonais, confirmada por desencadeamento aberto, serão avaliados quanto ao polimorfismos de receptores cisteínicos tipo 1 tendo-se como base o efeito protetor ou não apresentado pelo uso prévio de montelucaste, antagonista seletivo de receptores de leucotrienos cisteínicos de tipo 1.

Após extração de DNA de amostra de sangue periférico as amostras serão submetidas a genotipagem por PCR-SSP.

## **8-Avaliação da resposta humoral em pacientes com asma grave em tratamento com corticosteróides inalados e/ou sistêmico**

Trabalho a ser realizado na Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia do Departamento de Pediatria da UNIFESP-EPM e no Laboratório de Imunologia de Mucosas do ICB USP com a participação de Mestranda Fabiana Ghillardi, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Magda M S Carneiro Sampaio e Thelma S. Okay (Depto de Pediatria FMUSP), Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Beatriz T Costa Carvalho (UNIFESP-EPM), Prof Dr Dirceu Solé (UNIFESP-EPM), Prof Dr Charles K Naspitz (UNIFESP-EPM)

---

### **Introdução:**

Pacientes com asma grave podem apresentar infecções respiratórias recorrentes. Muitas delas têm sido creditadas à imunossupressão determinada pelo uso prolongado de corticosteróides inalados e/ou sistêmicos. Estudos anteriores documentaram níveis normais de imunoglobulinas A, M, G e suas subclasses, todavia sem avaliação de atividade funcional destes anticorpos. A aquisição de resposta apropriada a antígenos polissacarídicos é adquirida mais tardiamente na infância e desconhece-se o efeito do tratamento com altas doses de corticosteróide inalado sobre tal resposta.

### **Objetivos:**

Avaliar a imunidade humoral de pacientes com asma persistente grave (III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma) submetidos s tratamento com corticosteróides inalado em doses elevadas (> 1000 mcg de beclometasona ou equivalente) ou por tempo prolongado. Amostras de sangue periférico serão obtidas desses pacientes e os níveis séricos de IgG e subclasses, IgM e IgA serão determinados por nefelometria. Níveis de anticorpos aos polissacarídeos capsulares do Streptococcus pneumoniae serão determinados antes e quatro a seis semanas após imunização ativa com vacina pneumocócica 23valente, para tanto quatro a seis semanas após a primeira coleta e a aplicação da vacina, nova amostra de sangue será colhida.



## 9- Eosinofilia e/ou níveis elevados de IgE sérica total em pacientes portadores de asma e/ou rinite alérgica

Pesquisadores: Prof. Emanuel Sarinho, Prof<sup>ª</sup> Almerinda Rêgo Silva,  
Prof. José Ângelo Rizzo, Prof. Décio Medeiros

Instituição: Centro de Pesquisas em Alergia e Imunologia Clínica em Pediatria  
Hospital das Clínicas – Universidade Federal de Pernambuco

---

### Resumo:

De uma forma geral, nas doenças alérgicas além de eosinofilia sanguínea encontram-se elevados níveis de IgE sérica total<sup>1</sup>. Estudo demonstrou associação entre altos níveis de IgE sérica total em cordão umbilical, eosinofilia aos três meses de idade e resposta positiva ao prick test aos 18 meses de vida, sugerindo que esses dois marcadores têm um valor preditivo para atopia e asma<sup>1</sup>.

A eosinofilia, presente na atopia, é importante na manutenção do processo inflamatório que caracteriza a asma e a rinite alérgica<sup>2</sup>. Porém, nas doenças alérgicas além de eosinofilia encontram-se ainda altos níveis de IgE, que é o anticorpo produzido em resposta à exposição alérgica<sup>1</sup>. Revisão de dados da literatura demonstra que a IgE sérica nas doenças alérgicas encontra-se mais elevada que nos indivíduos saudáveis e os níveis em asmáticos e em indivíduos com rinite alérgica pode variar de 200 a 1500UI/ml<sup>3</sup>.

Contudo, apesar do eosinófilo e da IgE sérica serem apontados como marcadores de atopia, existem situações em que outros fatores podem influenciar na análise destes parâmetros no indivíduo atópico<sup>4,5,6,7</sup>.

O objetivo do presente estudo será verificar se pacientes portadores de asma e/ou rinite alérgica com eosinofilia sanguínea e/ou IgE em níveis elevados(acima de 1500 UI/dl) apresentam concomitantemente parasitose intestinal por geohelmintos, filariose, toxocaríase ou aspergilose broncopulmonar.

### Métodos

Será desenvolvido um estudo de série de casos com pacientes atendidos no ambulatório de alergia infantil do Hospital das Clínicas – UFPE na faixa etária de 06 a 18 anos portadores de asma e/ou rinite alérgica(Global Initiative for Asthma)<sup>8</sup>. Após a assinatura do TCLE(termo de consentimento livre e esclarecido) será realizada anamnese, exame físico e o teste de hipersensibilidade imediata(prick test)<sup>9</sup> para os ácaros Dermatophagoide pteronissinus, Dermatophagoide farinae, Blomia tropicalis, para os fungos Aspergillus fumigatus e Alternaria alternata, epitélio de cão e de gato e para baratas(Blatella germanica e Periplaneta americana). Em seguida será recolhida uma amostra de fezes recém emitidas ao que se seguirão mais duas em dias consecutivos para pesquisa de geohelmintos(método de Hoffman e Baerman). Será colhido ainda uma amostra de sangue para realização de IgE total(Pharmacia UNICAP System (Pharmacia

Upjohn Uppsala, Sweden) e de sorologia para ascaridíase(IgE-Elisa/Enzima-Linked Immunosorbent Assay), toxocaríase (IgG-Elisa), estrogiloidíase (IgG-Elisa), filariíase(IgG-Elisa), aspergilose(IgG- Elisa), além de hemograma para contagem de eosinófilos.

Variáveis do estudo

Eosinofilia periférica: Contagem de eosinófilos no sangue periférico superior a 500 eosinófilos/mm<sup>3</sup>.

IgE sérica total muito elevada: Acima de 1500 UI/DL.

IgE sérica anti-áscaris positiva: Acima de 0,35 UI/dl.

IgG sérica para Strongyloides stercoralis: Reagente

IgG sérica Anti-filarial positiva: Acima de 5 UI/dl

IgG sérica Anti-aspergilus positiva: Reagente

IgG sérica anti-toxocara positiva: Reagente

Parasitológico de fezes positivo: Visualização de ovos e/ou larvas de geohelminetos.

Os dados serão armazenados e analisados utilizando o programa estatístico SPSS, versão 8.0 for windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

Recursos Disponibilizados pelo HC UFPE

- Parasitológico de fezes
- Hemograma
- Teste de hipersensibilidade Imediata

## **10- Relação entre Parasitoses Intestinais e o Desenvolvimento de Asma em Modelos Experimentais**

Autores: Paulo Márcio C. Pitrez, Denise Cantarelli Machado, Carlos Graeff Teixeira, Marcus H Jones e Renato T. Stein Instituto de Pesquisas Biomédicas, Hospital São Lucas da PUCRS

---

### **Introdução**

Estudos epidemiológicos realizados em diferentes cidades do mundo vem demonstrando uma elevada e crescente prevalência de asma. Os países desenvolvidos como Inglaterra, Austrália e Canadá apresentam, em geral, uma prevalência maior em relação aos países em desenvolvimento.<sup>1</sup> Um estudo realizado na Alemanha utilizou populações com “características” genéticas semelhantes e demonstrou que cidades da antiga Alemanha Ocidental tinham uma prevalência de asma maior quando comparadas a localidades do lado oriental. Este estudo sugere

que a interferência de fatores ambientais podem ser importantes causas desta diferença.<sup>2</sup> Além disto, a prevalência de asma em países em desenvolvimento são baixas.<sup>1</sup>

As infecções parasitárias, mais incidentes entre os países em desenvolvimento, podem estar envolvidas entre os fatores que reduzem a prevalência de asma nestes países. Infecções por helmintos induzem uma resposta imune tipo Th2, de característica eosinofílica, podendo prevenir o desenvolvimento de uma resposta a aeroalergenos.<sup>3</sup>

Os estudos populacionais realizados demonstram que diferentes parasitas podem reduzir a incidência de atopia cutânea. Entretanto, estudos prévios apresentam resultados controversos, demonstrando que as infecções parasitárias podem ser tanto fator de proteção como fator de risco, dependendo do local e da população estudada.<sup>4, 5</sup> Uma das principais hipóteses para explicar estes dados é a de que diferentes parasitas podem provocar respostas imunes distintas.<sup>6</sup> Assim, a dificuldade em separar as infecções parasitárias em populações, com infecção por diferentes parasitas, torna os estudos em modelos animais úteis para o esclarecimento destas questões.

O parasita *Angiostrongylus costaricensis* foi descrito inicialmente na Costa Rica em 1971. A infecção em humanos ocorre através da ingestão de vegetais ou pequenos moluscos contaminados por larvas. É freqüente no continente americano e tem uma incidência crescente no Brasil. A maioria dos pacientes apresenta dor abdominal e outros sintomas inespecíficos como anorexia, vômitos, diarreia ou constipação.<sup>7</sup>

Realizamos um estudo prévio com este parasita demonstrando que a infecção pelo *A. costaricensis* inibe significativamente a resposta pulmonar alérgica.<sup>8</sup> Um estudo realizado com *Ascaris suum* mostrou que o extrato deste parasita provoca intensa inibição da resposta eosinofílica pulmonar.<sup>9</sup> Nos mesmos moldes deste estudo, demonstramos que um extrato de *A. costaricensis* reduz o número de eosinófilos no lavado bronco-alveolar de camundongos com inflamação pulmonar induzida por ovalbumina (dados ainda não publicados).

A partir desses resultados, a realização de estudos em modelos experimentais de asma com o objetivo de analisar a associação desta com a resposta imune a infecções ou antígenos parasitários são importantes para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e tratamento de doenças alérgicas nas diferentes populações do mundo.

## Objetivos

### Geral

- Estudar a relação entre infecções parasitárias ou proteínas específicas de parasitas e a resposta imune em modelos experimentais de asma.

### Específicos

- Analisar o efeito de infecções de diferentes parasitas na resposta imune da via aérea e sistêmica na asma induzida por ovalbumina e extrato de ácaro em camundongos.

- Analisar o efeito do extrato protéico de diferentes parasitas na resposta imune da via aérea e sistêmica na asma induzida por ovalbumina e extrato de ácaro em camundongos.
- Estudar o efeito de proteínas específicas de parasitas na resposta inflamatória tecidual em camundongos.
- Estudar o efeito imunomodulador de diferentes proteínas parasitárias na resposta pulmonar e sistêmica alérgicas em camundongos.

## Métodos

Diversos protocolos serão utilizados para responder as perguntas dos objetivos específicos propostos. Serão utilizados camundongos BALB/c para todos os estudos. A ovalbumina (OVA) é amplamente utilizada em estudos experimentais de asma. Os camundongos submetidos à sensibilização e “desafio” das vias aéreas com OVA desenvolvem uma resposta inflamatória pulmonar com padrão alérgico, semelhante à inflamação observada em humanos com asma. O extrato de ácaro é utilizado em modelos de asma com inflamação persistente para avaliação da resposta imune a longo prazo.

### Grupo com infecção

Os camundongos serão infectados com larvas dos parasitas por via orogástrica, através de técnica já utilizada pelo laboratório de Parasitologia Molecular.

### Grupo do extrato

Os animais receberão uma aplicação intraperitoneal de um extrato protéico do parasita *Angiostrongylus costaricensis*, com 100 mg de extrato com mais 100 mg de hidróxido de alumínio (adjuvante), 5 dias antes da primeira aplicação de OVA.

### Grupo controle

O grupo controle realizará todos os procedimentos do protocolo experimental de asma, com aplicações de ovalbumina intraperitoneal e intranasal, mas não terá contato com proteínas do parasita em estudo.

### Protocolo experimental de asma em camundongos BALB/c

#### Sensibilização e desafio intranasal com ovalbumina

Será utilizada OVA grau IV por via intraperitoneal (ip) no primeiro dia do protocolo. Será adicionado hidróxido de alumínio como adjuvante para sensibilização. Será utilizada uma dose de 200µl, contendo 100µg de ovalbumina, mais 100µl de alum (1mg/mL). No sétimo dia será aplicada a segunda dose de OVA ip<sup>10</sup>. O desafio intranasal será iniciado 1 semana após a 2ª dose ip, aplicando OVA intranasal por 3 dias consecutivos. Inicialmente, os camundongos serão anestesiados com halotano, via inalatória. Esta anestesia será utilizada para facilitar a aspiração

da solução com OVA aplicada por via intranasal. O teste será realizado com 40µg de OVA, diluído em 40µl de PBS. Será aplicado 20µl em cada narina utilizando uma micropipeta com diâmetro semelhante ao diâmetro da narina do camundongo <sup>10</sup>.

#### Indução de resposta pulmonar alérgica com extrato de ácaro

O extrato de ácaro purificado (Greer Laboratories, USA) é diluído (25 µg do extrato em 10 µl de SF) e administrado diariamente via intranasal sob sedação com halotano durante 3 semanas. Após este período, inflamação e sinais de remodelamento das vias aéreas são observados<sup>11</sup>.

#### Lavado bronco-alveolar

O lavado bronco-alveolar (LBA) é realizado 48 horas após o término do “desafio” das vias aéreas. Os camundongos serão novamente anestesiados com halotano. Após sedação do camundongo, canula-se a traquéia com uma agulha de ponta romba. A agulha estará conectada a uma seringa de 1 ml, preenchida com solução fisiológica (SF) que será injetada lentamente e, após 10 segundos, cuidadosamente aspirada. O procedimento de aplicação e aspiração de SF intratraqueal é repetido 3 vezes. O material que preenche a seringa após o procedimento descrito é recolhido para análise.

#### Lavado peritoneal

Também será realizado lavado peritoneal para medida de contagem total e diferencial de células no final do estudo. Este procedimento é realizado após anestesia geral, com incisão na cavidade peritoneal e instilação de 5 mL de SF. Após massagem no abdômen por 30 segundos, o lavado é aspirado com seringa no local de incisão.

#### Cultura de células esplênicas

As células mononucleares do baço serão isoladas através da centrifugação em gradiente de densidade de Ficoll-Histopaque (Sigma) a 900g por 30 minutos e lavados 2 vezes com solução salina de Hanks (Sigma, USA). A viabilidade celular será avaliada por exclusão com azul de Tripan (Sigma, USA).

As células esplênicas serão cultivadas em triplicatas nas microplacas de 96 poços de fundo chato, numa concentração final de  $1,5 \times 10^5$  células/poço em meio de cultura completo (RPMI-1640, com 0,5% gentamicina, 1% hepes, 0,1% fungizona e 10% soro fetal bovino, Cultilab), sendo estimuladas com o mitógeno fitohemaglutinina (PHA) (Murex Biotech Ltda, UK Gibco) na concentração de 1% e cultivadas por 96 horas, a 37°C, em atmosfera umidificada de 5% de CO<sub>2</sub>.

#### Contagem total de células e exame citológico diferencial

A amostra de LBA e lavado peritoneal será pesada e centrifugada (2.000 rpm, por 2 minutos). O precipitado será suspenso com 1 mL de PBS. Realiza-se a contagem total de células (CTC) e cálculo da viabilidade celular nesta suspensão, em todas as amostras, através do método

de exclusão com azul de tripan em câmara de Neubauer (Boeco, Germany). Lâminas para citologia diferencial serão preparadas com 40µL da suspensão, em citocentrífuga (FANEM, São Paulo, Mod. 218), a 500 rpm, por 5 minutos. As lâminas serão fixadas com álcool metílico e coradas com corante May-Grunwald Giemsa. As células serão analisadas de acordo com sua morfologia. Os tipos celulares observados ao microscópio óptico são expressos em percentagem, após a contagem de 200 células.

#### Análise das citocinas

O sobrenadante será coletado a partir das amostras de LBA ou cultura de células. Alíquotas de 100 µL serão congeladas a -80°C, para posterior análise das citocinas. Os níveis de citocinas serão mensuradas através do método de ELISA, segundo instruções do fabricante (Pharmingen, USA).

#### Análise estatística / Ética

Os exames de citologia e análise dos níveis de citocinas serão expressos em média e desvio padrão, ou mediana, de acordo com a distribuição da amostra. Serão utilizados os testes t ou de Mann-Whitney, para comparação das médias entre os grupos. Quando houver mais de três grupos no estudo será utilizado o teste ANOVA. As diferenças encontradas serão consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . Este estudo será realizado sob normas de ética para pesquisas em modelos animais, com cuidados especiais para a utilização do menor número de animais e para manejo da dor e sofrimento durante os procedimentos do estudo e eutanásia, após aprovação da Comissão Científica e Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS.

### **11- Imunologia das interações materno-fetais na asma: padrões de reatividade imunológica no colostro e no sangue de mães asmáticas e no sangue de cordão de seus respectivos recém-nascidos**

Simone Correa da Silva (Departamento de Imunologia do ICB-USP), Ana Maria Caetano de Faria, Rodrigo Ruano, Marcelo Zugaib, (Depto de Obstetrícia e Ginecologia da FMUSP), Charles Naspitz (Depto de Pediatria da UNIFESP-EPM), Magda Carneiro-Sampaio (Depto de Pediatria da FMUSP)

---

#### **Resumo:**

A Asma é uma doença crônica que vem apresentando taxas de prevalência crescentes em todo o mundo, tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento (Mallol, 2000; Fischer, 2002). No Brasil, estima-se que a Asma é responsável por mais de 2.000 mortes por ano, o que representa um valor 50% maior quando comparado com os dados da Austrália. A

mortalidade por esta enfermidade é mais freqüente nos extremos de idade (crianças menores de um ano e idosos com mais de 65 anos) (Fischer, 2002).

A asma está associada ao perfil Th2, que favorecem a produção de anticorpos das classes IgG1 e IgE, e está associado a um predomínio na produção de IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Inúmeros estudos experimentais e clínicos mostram a associação do perfil Th2 com doenças atópicas (Yazdanbakhsh, 2002). O número aumentado de DCs presentes nas vias aéreas de pacientes atópicos pode indicar o importante papel da apresentação de antígeno no desenvolvimento da Asma (Upham, 2003).

Dentro do balanço Th1/ Th2/ Th3 na gravidez e no período neonatal, há evidências da predominância das atividades definidas como Th2 e Th3, reduzindo a produção de citocinas do tipo Th1 o que poderia colocar a sobrevivência do feto em perigo (Clark, 1999; Raghupathy, 1997). Pesquisadores vêm constatando que não somente o sistema imune materno, mas também o ambiente imunológico neonatal tem sido considerado imunossupressor ou tolerogênico (Ridge, 1996). Visto que ocorre uma intensa interrelação entre a mãe e o neonato, tanto no ambiente intrauterino quanto durante o aleitamento, é legítimo supor que a modulação do sistema imune da criança possa ser influenciada pelo padrão Th1/ Th2/ Th3 apresentado por sua mãe. Devido aos dados apresentados, observou-se a grande importância de se estudar não só o conteúdo de citocinas, como também a presença de células no leite materno (Laiho, 2003).

### **Objetivo Geral**

Avaliar a presença de elementos celulares e humorais indicativos dos padrões Th1, Th2 e Th3 em sangue e colostro de mães asmáticas, e de mães saudáveis, e no sangue de cordão umbilical de seus respectivos recém nascidos.

### **Metodologia**

Casuística:

Serão selecionadas 30 puérperas clinicamente sadias na Maternidade do HU da USP e 30 puérperas asmáticas no serviço de obstetrícia do HC/ USP. Serão coletadas amostras do sangue da mãe, do sangue do cordão umbilical e do colostro.

Concentrações de imunoglobulinas séricas do sangue das puérperas, sangue do cordão umbilical e colostro:

Serão dosados em amostras de soro e colostro os isotipos IgM, IgA, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 através de imunodifusão radial (técnica de Mancini et al., 1965). A dosagem de IgE será realizada através de nefelometria.



Padrão de reatividade das imunoglobulinas com extratos específicos:

Serão realizados ensaios de immunoblotting com antígenos de EPEC e ETEC segundo técnica descrita por Towbin et al., (1979).

Padrão de reatividade das imunoglobulinas (Panamá Blot):

A técnica será realizada de acordo com a descrição feita por Vaz em 2000 (Vaz, 2000).

Fenotipagem dos linfócitos do sangue das puérperas e de cordão umbilical, e do colostro:

Os linfócitos serão marcados com anticorpos monoclonais anti CD3, CD4, CD8, CD11c, CD14, CD16, CD19, CD20, CD23, CD25, CD28, CD40, CD45RA, CD45RO, CD56, CD80, CD86, CD154, CD123 e HLA-DR para análise das amostras em citômetro de fluxo FACScan – Becton Dickinson.

Produção de citocinas por células mononucleares do sangue das puérperas, sangue de cordão umbilical e colostro:

Células mononucleares periféricas serão isoladas e mantidas segundo técnica de Heumann et al, 1994. As citocinas IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e TGF- $\beta$  do sobrenadante serão quantificadas por testes de ELISA.

Análise de citocinas intracelulares em leucócitos do sangue periférico, após estimulação de curto prazo in vitro:

Será realizado de acordo com técnica descrita por Winterrowd (1999).

## **12- Composição da Microflora Intestinal em Crianças Alérgicas e Não Alérgicas.**

Magda Carneiro-Sampaio <sup>1</sup>, Luiz Rachid Trabulsi <sup>2</sup>, Kátia Galeão Brandt <sup>3</sup>

Prof<sup>a</sup> Titular do Departamento de Pediatria da FMUSP;

Prof. Emérito do Departamento de Microbiologia do ICB-USP.

Candidata ao programa de doutorado da FMUSP.

---

### **Resumo:**

A microflora intestinal adquirida logo após o nascimento é composta por uma grande diversidade de bactérias. O conteúdo bacteriano intestinal é influenciado por fatores internos e principalmente externos como carga de bactérias do meio ambiente, composição da microbiota materna, forma de nascimento e alimentação.

A maioria das bactérias que colonizam o intestino humano é anaeróbia. Destacam-se os Bacterióides, Bifidobactérias e Fusobactérias. Os Lactobacilos, Estreptococos, Clostrídeos e Enterobactérias são também bastante freqüentes.

A microflora intestinal desempenha importantes funções para a saúde do indivíduo, tendo entre outras uma função imunomoduladora fundamental.

Nos últimos anos tem chamado a atenção o aumento da prevalência das doenças atópicas principalmente nos países desenvolvidos. A explicação para tal acontecimento ainda não é totalmente conhecida, mas, uma hipótese, chamada “hipótese da higiene” tem se destacado. Tal hipótese sugere que as condições de vida nos países desenvolvidos com elevada infra-estrutura sanitária e exagerados cuidados de higiene, tenham reduzido a exposição das crianças à estimulação microbiana, trazendo como conseqüência, menor estimulação da imunidade tipo TH1. A resposta TH1 tem efeito regulador negativo sobre as células TH2, células essas que quando estimuladas produzem citocinas (IL-4, IL-5, IL13) que resultam na inflamação alérgica. Portanto, em caso de insuficiente ou inadequada exposição microbiana precoce, existe propagação da produção de citocinas do tipo TH2 levando a alergia.

Estudos clínicos e experimentais confirmaram a capacidade das bactérias usadas como probióticos de induzir as citocinas tipo TH1, tendo sido demonstrado sua capacidade de prevenir, em um número significativo de crianças, o desenvolvimento de atopia.

Os estudos sugerem a existência de um período precoce crítico onde a interação hospedeiro-micróbios se faz de maneira mais potente para induzir a maturação do sistema imune nativo. Acredita-se que o processo de instalação da flora, que se inicia na criança recém-nascida, alcançando estabilidade em torno do segundo ano de vida, seja prioritário para a obtenção de uma flora “saudável” com conseqüência para a saúde da criança e do adulto.

Apesar da importância do tema o conhecimento sobre a formação, composição e desenvolvimento da microflora intestinal de crianças alérgicas e não alérgicas ainda bastante incompleto tanto em âmbito nacional quanto internacional.

A corrente compreensão da importância da microflora intestinal para a saúde do indivíduo e seu possível envolvimento no desenvolvimento de atopia, tem levado ao surgimento de diferentes estratégias com o intuito de manipular as populações bacterianas e promover a saúde ou prevenir doenças. Entretanto, a complexa microflora do adulto é difícil de manipular a longo prazo, ficando claro que um maior impacto poderia ser obtido com intervenções na fase de instalação da flora na infância.

### **Objetivo:**

Comparar a colonização, por bactérias, do tubo gastrointestinal de um grupo de recém-nascidos com história familiar de alergia com um grupo controle de recém-nascidos com características semelhantes porém sem história familiar de alergia.

Tipo de estudo:

O estudo será do tipo analítico, longitudinal, sendo realizada uma coorte prospectiva através da qual se tentará estudar a composição da flora intestinal de recém-nascidos com história familiar de alergia comparando-se com grupo controle.

Seleção:

Serão selecionados 30 recém nascidos a termo saudáveis, nascidos de parto vaginal, de ambos os sexos, cujos pais tenham história familiar clara de atopia (rinite alérgica, asma ou dermatite alérgica). O grupo controle será formado por 30 recém-nascidos com as mesmas características porém sem história familiar de alergia.

Procedimentos técnicos - Serão coletados amostras de fezes, nos recém-nascidos, no primeiro, oitavo, décimo quinto e trigésimo dias de vida, a partir de então as amostras serão coletadas com 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses e 24 meses.

Realizar-se-ão estudos bacteriológicos nas amostras fecais através das técnicas clássicas de cultivo em meios seletivos e quantificação das principais espécies Gram-positivas, Gram-negativas aeróbias e anaeróbias dos gêneros Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus, Staphylococcus, Clostridium, Bacteróides, Enterobacteriaceae.

### **13- Desenvolvimento e padronização de uma técnica de diagnóstico molecular aplicável em larga escala para o diagnóstico de INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS VIRAIS**

Pesquisadores Responsáveis: Luiz Vicente Ferreira da Silva Filho, José Eduardo Levi, Clarisse Martins Machado, Cláudio Sérgio Pannuti

---

#### **Introdução:**

Os métodos moleculares representam o novo “padrão ouro” para o diagnóstico de infecções respiratórias virais, e existem evidências de que apresentam sensibilidade superior aos métodos tradicionais. Além disso, alguns vírus respiratórios de grande relevância clínica só podem ser adequadamente identificados através de métodos moleculares, como o Rinovírus, Coronavírus e Metapneumovírus humano. Nos últimos anos, os métodos moleculares vêm sendo progressivamente otimizados no sentido de redução de tempo e custo para o diagnóstico, além de melhora na sensibilidade para detecção dos vírus. Um método bastante promissor para estudos de larga escala é a eletroforese automatizada em capilar, que pode ser utilizada para detecção de produtos de PCR ou multiplex PCR em um seqüenciador de DNA equipado com um software de análise de fragmentos. Esta técnica já foi utilizada com sucesso em combinação com RT-PCR para

identificação de vírus respiratórios, e suas grandes vantagens são a capacidade de analisar produtos de PCR em larga escala e a superior sensibilidade para detecção de amplicómeros. A Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança é um dos centros nacionais de referência para tratamento de doenças respiratórias na infância, e tem atuado na investigação diagnóstica e epidemiológica de infecções respiratórias em um grupo selecionado de pacientes (pacientes com fibrose cística), com emprego de recursos de biologia molecular. Estes estudos vêm sendo desenvolvidos em colaboração com Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical, que também participa atualmente com a Unidade na condução de um estudo de coorte para estudo de recém-nascidos filhos de mães asmáticas e atópicas. A investigação de infecções virais neste grupo de pacientes é uma perspectiva de grande potencial. Os objetivos do estudo são:

### **Objetivo Geral:**

1. Desenvolver e padronizar uma técnica de RT-PCR com detecção de produtos através de eletroforese capilar em seqüenciador automatizado de DNA, para detecção em larga escala de vírus respiratórios (Vírus Respiratório Sincicial, Influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3, Adenovírus, Rinovírus, Coronavírus e Metapneumovírus humano).

### **Objetivos específicos:**

1. Determinar as sondas de DNA mais adequadas para a identificação de cada um dos vírus de interesse, a partir de dados da literatura e eventualmente de resultados obtidos anteriormente no Laboratório de Virologia do IMTSP;
2. Padronizar as reações de PCR em placa procurando uniformizar a mistura e as condições de termociclagem para agilizar o processamento;
3. Determinar as melhores condições de revelação dos produtos de PCR através de eletroforese capilar em seqüenciador automatizado de DNA (MegaBace®);
4. Comparar os resultados de identificação viral através de imunofluorescência com os obtidos através de RT-PCR.

### **Métodos:**

Serão incluídas 500 amostras clínicas (lavado nasal) de pacientes com fibrose cística, asma e outras doenças respiratórias em acompanhamento na Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança HC-FMUSP. As coletas serão realizadas durante consultas médicas rotineiras dos pacientes, por membros da equipe médica, naqueles pacientes com sintomas de infecção respiratória aguda (febre, tosse, coriza, obstrução nasal, sibilância, dor de garganta). O diagnóstico convencional e molecular das infecções virais será realizado no Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. As amostras testadas através de PCR e RT-PCR para

os vírus supracitados serão posteriormente submetidas a eletroforese capilar no seqüenciador automatizado Megabace (aparelho multi-usuário – LIM-56 da FMUSP).

A extração de RNA/DNA viral será realizada através do emprego de métodos comerciais baseados em colunas de sílica (Qiagen). A detecção do cDNA ou DNA (adenovírus) obtido das amostras de secreção respiratória será feita através da reação em cadeia da polimerase (PCR).

O protocolo de amplificação empregado inicialmente utilizará um conjunto de primers anteriormente testados {Erdman, 2003 229 /id}{Thomazelli, 2004 293 /id}, além de novos primers obtidos na literatura. O quadro 1 mostra as seqüências dos primers.

As reações serão realizadas em placas de 96 orifícios, de tal forma que cada linha conterà uma mistura de reagentes para identificação de um determinado vírus ou controle da reação (incluindo os primers para cada um deles) e as amostras estarão dispostas nas colunas da placa (figura 1). Cada placa poderá avaliar, portanto, um máximo de 12 amostras para 8 diferentes vírus (10 amostras clínicas, um controle negativo e um controle positivo). Após as reações de PCR, as amostras de cada paciente são reunidas num pool e processadas para colocação no seqüenciador automatizado, de tal modo que cada placa colocada no aparelho para eletroforese capilar combina os produtos de todas as reações de RT-PCR/PCR realizada com cada amostra (96 amostras por placa no MegaBace®, tempo de corrida de aproximadamente 2 horas).

**QUADRO 1: Sequências dos primers.**

Vírus	Nome do Primer	Sequência (5'-3')	Tm	Gene	Amplímero
VSR	RSVAB-F1-FAM	AAC AGT TTA ACA TTA CCA AGT GA	64,6	F	380
	RSVAB-R1	TCA TTG ACT TGA GAT ATT GAT GC	66,4		
PIV1	HPIV1-F1-FAM	CCG GTA ATT TCT CAT ACC TAT G	67,6	HN	317
	HPIV1-R1	CCT TGG AGC GGA GTT GTT AAG	70,8		
PIV2	HPIV2-F1-FAM	CCA TTT ACC TAA GTG ATG GAA T	65,7	HN	203
	HPIV2-R1	GCC CTG TTG TAT TTG GAA GAG A	69,5		
PIV3	HPIV3-F1-FAM	ACT CCC AAA GTT GAT GAA AGA T	65,7	HN	102
	HPIV3-R1	TAA ATC TTG TTG TTG AGA TTG A	62		
Influenza A	FLUA-F1-FAM	CTA AGG GCT TTC ACC GAA GA	68,2	NS1	192
	FLUA-R1	CCC ATT CTC ATT ACT GCT TC	66,2		
Influenza B	FLUB-F1-FAM	ATG GCC ATC GGA TCC TCA AC	70,3	NS1	241
	FLUB-R1	TGT CAG CTA TTA TGG AGC TG	66,2		
Adenovírus	ADENO-F1-FAM	CCC(AC) TT(CT)A ACC ACC ACC G	64	Hexon	167
	ADENO-R1	ACA TCC TT(GCT) C(GT)GA AGT TCC A	57,4		
hMPV	N1	GAG TCT CAG TAC ACA ATA A	52	Nucleocapsídeo Bovin et al	929
	N2	GCA TTT CCG AGA ACA ACA C	56		
Picornavírus	Pico-F3-FAM	GGC CCC TGA ATG(CT) GGC TAA	58	5'NCR	167
	Pico-R3	GAA ACA CGG ACA CCC AAA GTA	51,6		
Coronavírus	CORO1	TGA TGG GTT GGG ACT ATC CTA AAT GTG A	61,4	Pol 1b	220
	CORO2	GTA GTT GCA TCA CCG GAA GTT GTG CCA CC	68,2		
Controle de RNA	BACTIN-F2-FAM	CCT CGC CTT TGC CGA TCC	71,3	Beta-actina humana	626
	BACTIN-R2	GGA TCT TCA TGA GGT AGT CAG TC	71,8		

## 14- Avaliação da Função Pulmonar em lactentes

Pesquisadores Responsáveis: Joaquim Carlos Rodrigues, Luiz Vicente R. F. da Silva Filho

---

### Resumo:

A determinação de função pulmonar em lactentes desenvolveu-se a partir de uma técnica sob sedação que permite a realização de curvas parciais expiratórias fluxo-volume com auxílio de uma jaqueta tóraco-abdominal inflável, deflagrada ao término de uma inspiração normal da criança. Apesar de esta técnica apresentar uma menor reprodutibilidade que a espirometria nos adultos, ainda é a principal forma não invasiva que permite o diagnóstico da obstrução brônquica em lactentes.

A técnica de compressão rápida tóraco-abdominal a partir de volume elevado (Raised Volume Rapid Toracoabdominal Compression) é atualmente a técnica mais amplamente reconhecida como aquela que permite a aquisição de curvas de fluxo expiratório máximo em crianças sedadas (Castile, *Ped J Infect Dis* 2004). O método foi desenvolvido em 1993, no laboratório do Hospital Infantil de Columbus, Ohio. Inicialmente as crianças são submetidas a uma sedação com hidrato de cloral (75-100 mg/kg, por via oral ou retal). Em seguida, é preciso induzir uma apnéia momentânea, para evitar a interferência dos músculos respiratórios durante o exame. Durante o sono normal, pausas respiratórias de 5 a 15 segundos são frequentemente observadas. Estas pausas respiratórias são geralmente precedidas por 1 a 2 suspiros espontâneos (respirações profundas). Para induzir uma pausa respiratória durante o exame, uma pressão de 30 cm H<sub>2</sub>O é aplicada nas vias aéreas da criança através de uma máscara oronasal. Esta pressão é aplicada de forma sincrônica com a respiração espontânea da criança. Após 2 a 5 destes suspiros induzidos, a criança fica em apnéia. Os pulmões então são novamente inflados com uma pressão de 30 cm H<sub>2</sub>O e uma expiração forçada é produzida a partir da pressurização da jaqueta inflável que cobre o tórax e abdome da criança. A manobra é repetida com pressões crescentes na jaqueta, até que os fluxos expiratórios atinjam seu limite máximo, o que na maioria das crianças acontece por volta dos 100 cm H<sub>2</sub>O de pressão na jaqueta (~75 mm Hg). Estas compressões por inflação da jaqueta normalmente não perturbam de forma significativa o sono das crianças. Vale ressaltar que, durante as manobras de insuflação pulmonar, a manobra de Sellick (suave pressão aplicada sobre a cartilagem cricóide) deve ser realizada para evitar a entrada de ar para o estômago.

A medida de Volumes Pulmonares Fracionais (Fractional Lung Volumes) pode ser obtida através de pletismografia, utilizando-se os princípios de lei de Boyle. O pletismógrafo para lactentes é uma caixa acrílica selada e a criança respira através de um sistema externo acoplado a uma máscara facial (a criança não respira o ar dentro da caixa). Durante os ciclos respiratórios, a passagem do ar é ocluída várias vezes; como a criança continua o esforço respiratório, o ar torácico fica mais rarefeito/comprimido, e a pressão na caixa varia proporcionalmente às mudanças de pressão no tórax. A correlação entre as variações de pressão na boca com as mudanças de

volume permite medir a complacência (compressibilidade) do ar no tórax. Como a compressibilidade de um gás está diretamente relacionada ao seu volume (lei de Boyle), é possível calcular o volume torácico quando ocorre a oclusão da passagem de ar. A determinação da Capacidade Residual Funcional pode ser obtida deste modo, e o cálculo de outros volumes pulmonares obtido combinando-se este valor aos observados para Capacidade Vital Forçada e Volume de Reserva Expiratória obtidos nas manobras espirométricas.

Valores normais para função pulmonar de lactentes estão descritos na literatura (Castile, *Pediatr Pulmonol* 2000; Jones, *AJRCCM* 2000). A resposta ao broncodilatador também é passível de avaliação através destes métodos, e também existem valores de referência descritos na literatura para este fim (Goldstein, *AJRCCM* 2001).

As limitações destes métodos residem principalmente no aspecto da sedação, que pode ser trabalhosa. Nem sempre é fácil administrar o hidrato de cloral, e existe o risco teórico da criança vomitar e aspirar o medicamento. Geralmente os pais são orientados a acordar a criança cedo no dia de exame, e mantê-la em jejum nas 4 horas que antecedem o mesmo. A maioria das crianças dorme por 45 a 90 minutos, acordando logo em seguida ao exame, mas existem aqueles que permanecem dormindo por horas após o término do exame.

A avaliação de função pulmonar de lactentes vem sendo empregada em diversos estudos relativos a crescimento e desenvolvimento pulmonar em recém nascidos de termo, prematuros, com baixo peso de nascimento e displasia broncopulmonar; na avaliação prospectiva da doença pulmonar de pacientes com fibrose cística e bronquiolite obliterante; na avaliação de resposta terapêutica a broncodilatadores ou outras drogas como mucolíticos e antibióticos inalatórios. Alguns trabalhos prospectivos recentes (YOUNG et al, 2000; DEZATEUX et al, 1999; CARLSEN et al, 1999; MARTINEZ et al, 1995) tem demonstrado que a existência de função pulmonar alterada previamente ao surgimento de qualquer sintoma respiratório está associada a um maior risco de sibilância nos primeiros anos de vida.

Dentro de uma perspectiva local, acreditamos que tal recurso está perfeitamente inserido nas características da nossa Instituição, de atendimento terciário a patologias pediátricas de alta complexidade. Várias outras Unidades do Instituto da Criança têm demonstrado seu interesse na realização de exames de função pulmonar em recém nascidos e lactentes, de tal modo que o equipamento será certamente de grande valia para toda a Instituição. cremos ainda que sua aquisição terá um impacto social importante em um futuro próximo, tanto para a comunidade geral que poderá se beneficiar de cuidados médicos mais especializados, quanto para a comunidade médica em particular, que poderá usufruir um centro de excelência em ensino e pesquisa na área de Pneumologia Pediátrica em nosso país.



## Objetivos:

Objetivo geral:

Realizar estudos de função pulmonar em lactentes através dos métodos de compressão rápida tóraco-abdominal a partir de volume elevado (Raised Volume Rapid Toracoabdominal Compression) e pletismografia para determinação de volumes pulmonares.

Objetivos específicos:

1. Avaliar a função pulmonar de lactentes com antecedentes de baixo peso ao nascimento, prematuridade e displasia broncopulmonar.
2. Avaliar a resposta a broncodilatadores e corticosteróides inalados em lactentes chiadores em seguimento ambulatorial na Unidade de Pneumologia do Instituto da Criança HCFMUSP.
3. Avaliar a função pulmonar e a resposta terapêutica mucolítica (Dornase alfa), de broncodilatadores e de antibióticos inalados em lactentes com fibrose cística.

## Métodos

O exame será realizado com auxílio de um pletismógrafo de bebês (MasterScreen BabyBody – Jaeger, Germany) para obtenção dos volumes pulmonares, associado às curvas parciais expiratórias realizadas através da técnica de rápida compressão tóraco-abdominal, conforme será descrita abaixo.

O exame será realizado durante o sono da criança ou após sedação com hidrato de cloral (50 a 80 mg/kg), administrado por via oral ou retal. Os parâmetros avaliados serão:

1. Medida do volume de gás torácico pela pletismografia (TGV)
2. Curvas expiratórias parciais fluxo-volume que serão obtidas pela técnica de compressão tóraco-abdominal a partir de volume elevado com auxílio de coletes infláveis adaptados ao tamanho do paciente.

Os exames serão realizados com uma máscara de silicone adequada ao tamanho da face do lactente. Esta máscara estará acoplada a um pneumotacógrafo, permitindo analisar as curvas fluxo-volume de base (ao nível do volume corrente), e após as curvas sucessivas com a compressão tóraco-abdominal. As pressões usadas no colete aumentam progressivamente de 10 em 10mmHg, sendo a pressão inicial de 30mmHg até o máximo de 80 à 100mmHg. As compressões tóraco-abdominais são deflagradas ao final de uma inspiração normal e a pressão máxima utilizada será aquela em que se obtiver os maiores valores de fluxo expiratório máximo ao nível da capacidade residual funcional ( $V'_{max}$ , CRF). A cada pressão aplicada realiza-se em média 3 curvas adequadas e verifica-se o  $V'_{max}$ , CRF.

A verificação de resposta do paciente frente ao broncodilatador será feita através da realização de novas curvas expiratórias parciais fluxo-volume sob efeito de uma medicação broncodilatadora (Modl et al, 2000; Goldstein et al, AJRCCM 2001). A pressão utilizada será diretamente aquela que determinou os maiores valores espirométricos na primeira fase do exame.

O aparelho utilizado será o MasterScreen BabyBody – Jaeger, Germany aparelho que associa a pletismografia com a técnica de rápida compressão tóraco-abdominal a partir de volumes elevados (RV-RCTA) com auxílio de jaquetas infláveis. O aparelho realiza ainda medidas de complacência e resistência pelo método de oclusão (dependente da presença do reflexo de Hering-Breuer, observado em pacientes inconscientes).

Durante todo o exame e até o retorno ao estado de vigília a criança será monitorada (frequência cardíaca e saturação de O<sub>2</sub>). No local de realização do exame estará à disposição todo o material necessário para uma eventual reanimação (inclusive medicação de urgência). O exame será realizado nas dependências do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP, que dispõe de retaguarda de unidade de terapia intensiva pediátrica, sempre com a presença de um pediatra ligado à pesquisa e com uma equipe de reanimação de prontidão.

O tempo de jejum antes do exame dependerá da idade e do tipo de alimentação da criança. Casos de pacientes mais graves, como aqueles com doença do refluxo gastro esofágico intenso deverão ser estudados com antecipação e discutidos com o profissional responsável pela realização do exame. O exame deverá ser anulado frente à qualquer doença aguda, não apresentando benefício algum se realizado fora do estado basal do paciente.

### **15- Avaliação da função pulmonar de lactentes chiadores atópicos e não atópicos**

Pesquisadores: José Dirceu Ribeiro, Alfonso Eduardo Álvares, Adyleia Aparecida Dalbo Contrera

Toro, Emilio Carlos Elias Baracat, Maria Ângela Gonçalves de Oliveira Ribeiro

Instituição: Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médias, Centro de Investigação em Pediatria – CIPED, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp - SP

---

#### **Resumo**

Os lactentes que apresentam sibilos recorrentes na infância constituem um grupo de pacientes de difícil avaliação visto o grande número de diagnósticos diferenciais existentes. De acordo com MARTINEZ<sup>1</sup> e colaboradores 48,5% das crianças vão apresentar algum episódio de chiado até os 6 anos de idade.

Este estudo tem como objetivo avaliar a função pulmonar de lactentes chiadores atópicos e não atópicos, além de implantar o laboratório de função pulmonar para lactentes no CIPED. O estudo da função pulmonar de lactentes atópicos e não atópicos é importante no sentido de

tentarmos entender melhor a fisiopatologia do chiado nesta faixa etária e principalmente entender quais as suas diferenças. Deste modo, com este trabalho pretendemos contribuir no sentido de diferenciar os aspectos fisiopatológicos envolvidos na obstrução brônquica dos lactentes.

### **Objetivos:**

Objetivo geral:

Avaliar e comparar a função pulmonar de lactentes chiadores, atópicos e não atópicos no segundo ano de vida.

Objetivos Secundários:

Avaliar e comparar fatores de risco para a SLC em lactentes atópicos e não atópicos

Hipótese:

Os lactentes chiadores atópicos tem função pulmonar mais comprometida do que os lactentes chiadores não atópicos

## **16 – Efeitos da poluição atmosférica na cidade de São Paulo sobre doenças respiratórias do trato inferior em crianças portadoras de desnutrição protéico-calórica**

Pesquisadores Responsáveis: Sylvia C. L. Farhat, (ICr - FMUSP); Alfésio L. F. Braga (Dept. Pediatria, Fac. Medicina de Santo Amaro – UNISA/Lab. Poluição Atmosférica Experimental, FMUSP); Luiz A. A. Pereira, Chin A. Lin e Paulo H. N. Saldiva (Lab. Poluição Atmosférica Experimental, FMUSP).

---

### **Resumo:**

A análise dos efeitos da poluição ambiental sobre a saúde humana, como base para estimar o impacto da poluição e, conseqüentemente, gerar medidas prioritárias no controle desses problemas tem permanecido, assim, uma necessidade em muitas partes do mundo. Não há dúvidas de que a poluição atmosférica é deletéria à saúde humana, visto os inúmeros estudos relacionando os poluentes à morbidade e mortalidade tanto em adultos como em idosos e crianças, sendo, esses dois últimos considerados grupos de maior risco

As fontes móveis, na região metropolitana de São Paulo, são responsáveis pela emissão de 40% das partículas inaláveis, 98% do monóxido de carbono, 95% de óxidos de nitrogênio e 61% de óxidos de enxofre, enquanto as operações de processo industrial são responsáveis por

10%, 2%, 5% e 39% das emissões respectivamente. Os 50% restantes das partículas inaláveis são provenientes da ressuspensão das mesmas e da formação de aerossóis secundários (CETESB, 1.998).

A avaliação dos efeitos da poluição atmosférica sobre a saúde na cidade de São Paulo está intimamente relacionada com o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental (LPAE) do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Após ter iniciado suas atividades avaliando o efeito de poluentes em sistemas de intoxicação experimentais (Böhm e cols., 1.983; Saldiva e cols., 1.985; Massad e cols., 1.986), o LPAE teve como iniciativa pioneira estudar os efeitos da poluição real da cidade, em estudos . Diante de todos os resultados dos experimentos realizados em animais, o LPAE iniciou uma série de estudos de natureza epidemiológica para verificar os efeitos da poluição atmosférica da cidade de São Paulo sobre a saúde da população.

Os resultados desses estudos evidenciando os efeitos deletérios da poluição atmosférica sobre a morbidade infantil, somados aos resultados de estudos realizados nas mais diversas partes do mundo vêm confirmar a susceptibilidade da faixa etária pediátrica. Na tentativa de avaliar-se grupos de risco dentro dessa faixa etária, pensou-se em verificar como crianças desnutridas e eutróficas se comportariam na vigência de doenças respiratórias frente à poluição atmosférica.

Não há muitos estudos sobre poluição atmosférica e doenças respiratórias em crianças desnutridas. Sobral (1.989) mostrou haver uma tendência de maior prevalência de sintomas de doenças respiratórias nas crianças moradoras de favela na zona leste da cidade de São Paulo quando comparadas com crianças de melhor nível sócio-econômico na mesma região. Entretanto, em ambos os grupos houve uma maior prevalência de sintomas respiratórios associada à poluição do ar, quando comparada com moradores de áreas não poluídas. Nesse estudo nenhum dado mais objetivo foi considerado para avaliação nutricional.

Mediante a todas essas informações surgiu o interesse de melhor avaliar os efeitos da poluição atmosférica sobre a população de crianças portadoras de desnutrição protéico-calórica.

### **Objetivos:**

Geral:

1. Avaliar os efeitos da poluição atmosférica sobre doenças do trato respiratório inferior na população pediátrica portadora de desnutrição proteico-calórica, através de uma abordagem epidemiológica com estudo do tipo ecológico, multicêntrico, envolvendo o Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Hospital Universitário da USP, Hospital do Grajaú da Universidade de Santo Amaro e o Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP.

Específicos:

1. Comparar os efeitos da poluição atmosférica sobre doenças do trato respiratório inferior na população pediátrica portadora de desnutrição proteico-calórica e na população eutrófica
2. Comparar a gravidade das doenças do trato respiratório inferior associada à poluição atmosférica na população pediátrica portadora de desnutrição proteico-calórica e na população eutrófica,
3. Verificar o tempo de defasagem encontrado entre os níveis de concentração dos poluentes estudados (material particulado inalável, dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, ozônio e monóxido de carbono) e as doenças do trato respiratório inferior na população em estudo
4. Verificar quais poluentes atmosféricos exercem maior influência sobre as doenças do trato respiratório inferior nas populações pediátricas em estudo.

### **Casuística e métodos:**

O estudo a ser realizado é um estudo multicêntrico epidemiológico do tipo ecológico de séries temporais.

#### Obtenção dos dados da população pediátrica

As informações sobre os pacientes pediátricos a serem utilizadas neste estudo serão obtidas junto ao Instituto da Criança “Prof. Pedro de Alcântara” do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICr-HCFMUSP), ao Hospital Universitário da U.S.P e ao Hospital do Grajaú vinculado à Universidade de Santo Amaro num período de 3 anos.

A idade a ser abordada neste estudo será a compreendida entre 0 a 13 anos incompletos por ser o limite de atendimento pediátrico em alguns destes hospitais, como o Instituto da Criança.

Serão obtidas informações referentes às internações por doenças respiratórias das vias aéreas inferiores envolvendo os seguintes diagnósticos: bronquiolite, crise asmática, pneumonia, pneumonia intersticial, pneumonia com derrame pleural e broncopneumonia.

O diagnóstico deverá ser clínico e/ou radiológico sendo avaliado por membros integrantes do estudo. Cada hospital integrante deverá contar com um médico responsável pelo projeto, que irá verificar o diagnóstico inicial e a indicação de internação de todos os casos de doenças respiratórias do trato inferior (citadas acima) em todos os dias da semana, nas 24 horas dos dias, sendo incluídas as crianças que não apresentem doença crônica de base, exceto asma intermitente leve, persistente leve ou persistente moderada, segundo a classificação internacional de asma (NHLB, 1.997), e que necessitem de internação.

As doenças crônicas de base (cardiopatias com repercussão hemodinâmica, neuropatias graves, doenças hepáticas, anemia falciforme, doenças renais crônicas e etc...) serão excluídas

pelo fato destas doenças possuírem outros fatores, que per si, predispõem a maior risco de doenças respiratórias.

O grupo de médicos responsável pelos hospitais envolvidos na pesquisa deverá se reunir uma vez por mês para avaliar o andamento da pesquisa.

Nestas internações, serão realizadas:

\* coleta de dados, preferencialmente com a pessoa de maior contato com a criança, após a aprovação do termo de consentimento.

\* medidas antropométricas obtidas por um grupo de 8 pessoas habilitadas para este fim.

Os dados coletados incluirão: identificação (nome, idade, sexo, cor, data da internação), presença de antecedentes para doenças respiratórias das vias aéreas inferiores, e necessidade de internação por esse motivo, permanência da criança em creche, escola ou casa, condição de moradia (número de cômodos e número de pessoas), presença de fumantes no domicílio (mãe, pai ou outros), outras exposições ambientais, caracterização sócio - econômica através da renda familiar para cálculo posterior da renda per capita, tempo de aleitamento materno e alimentação atual (Anexo).

As medidas antropométricas realizadas para a avaliação nutricional das crianças serão peso e estatura. A classificação do estado nutricional será baseada no número de desvios-padrão acima ou abaixo da média ("Z score").

Obtenção dos dados sobre Poluição do Ar na cidade de São Paulo durante o período do estudo.

As concentrações diárias dos poluentes estudados (material particulado inalável - PM<sub>10</sub>, dióxido de enxofre - SO<sub>2</sub>, dióxido de nitrogênio - NO<sub>2</sub>, ozônio - O<sub>3</sub> e monóxido de carbono - CO) serão fornecidas pela CETESB.

Obtenção de dados meteorológicos

As informações sobre a temperatura mínima do dia (°C) e a umidade média relativa do ar (%), serão obtidas do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, que possui uma estação localizada dentro do Parque do Estado, na zona sul da cidade.

Análise Estatística

O Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, estará envolvido no projeto fornecendo o suporte necessário para a realização das análises estatísticas, implementação dos modelos de regressão e interpretação dos resultados.

Para se avaliar os efeitos da poluição atmosférica sobre as doenças do trato respiratório inferior nas populações em estudo serão definidas a partir dos dados de morbidade obtidos, as seguintes variáveis de interesse, ou dependentes:

- Número diário de internações por doenças respiratórias das vias aéreas inferiores

Como variáveis explicativas do número de internações serão definidas:

- Concentração média diária dos poluentes medidos nas 13 estações como indicativo dos níveis diários de poluição.

- Temperatura mínima diária, pois em dias de temperaturas mais baixas pode haver um aumento da incidência de doenças respiratórias.

- Umidade relativa do ar, pois em condições climáticas de baixa umidade pode haver aumento da incidência de doenças respiratórias.

- Meses do ano e dias da semana, uma vez que é observado que os efeitos da sazonalidade (meses mais frios) influenciam no aumento da incidência de doenças respiratórias independentemente do aumento de concentração dos poluentes.

A análise estatística será realizada através dos programas de análise SPSS® 6.0 para “Windows” (“Statistical Package for Social Sciences”) e S-PLUS para “Windows” versão 4.0.

Será utilizado para o cálculo dos índices antropométricos o programa Epi Info - 2.000.