JULIETA GENRE

**Avaliação da população de linfócitos CD4⁺ com potencial
regulador em pacientes com Imunodeficiência Comum
Variável e Deficiência Seletiva de Imunoglobulina A**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Luiz Vicente Rizzo

SÃO PAULO
2010

RESUMO

GENRE, J. Avaliação da população de linfócitos CD4⁺ com potencial regulador em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável e Deficiência Seletiva de Imunoglobulina A. p115. Tese (Doutorado em Imunologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

A Imunodeficiência Comum Variável (ICV) e a Deficiência Seletiva de Imunoglobulina A (DIgA) são as imunodeficiências primárias humorais de maior frequência na população mundial. Ambas as doenças são caracterizadas pela ausência ou redução significativa de imunoglobulinas no soro. Embora diversas anormalidades imunológicas tenham sido associadas a estas doenças, nenhuma hipótese unificadora a respeito das bases moleculares da ICV e DIgA foi proposta até o presente momento, sendo que o único defeito comum a todos os pacientes é a falha na diferenciação de células B em plasmócitos e conseqüente secreção de anticorpos. A hipogamaglobulinemia explica a conseqüente maior susceptibilidade a infecções recorrentes dos tratos respiratórios e gastrointestinais causada por patógenos capsulados. No entanto, as causas do surgimento de outros sintomas tão importantes quanto estes, principalmente doenças auto-imunes e atopias, são pouco compreendidas. Embora fundamentalmente caracterizada pela hipogamaglobulinemia, acredita-se que a ICV possa estar associada ao repertório de células T, uma vez que foram descritos defeitos relacionados a esta população linfocitária. Foi sugerida a existência de uma etiologia comum para ICV e DIgA, representando a ICV o estágio final de evolução de uma deficiência humoral progressiva. Devido à alta incidência de auto-imunidade e alergia em pacientes com ICV e DIgA, a investigação da população de células T reguladoras em pacientes com estas patologias foi considerada de interesse. No presente trabalho, visamos analisar por citometria de fluxo a população de linfócitos CD4⁺ com potencial regulador em pacientes com ICV e DIgA, para avaliar se defeitos quantitativos nesta população poderia explicar a alta incidência de doenças auto-imunes ou alérgicas associadas a estas imunodeficiências. Indivíduos com ICV apresentaram frequências reduzidas de células CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ circulantes no sangue, principalmente os pacientes com doença auto-imune. A intensidade de fluorescência média (IFM) de Foxp3 na população CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ mostrou uma estratificação dos pacientes em função da presença ou ausência de auto-imunidade, o que poderia ter um valor diagnóstico. No entanto, a mesma

análise em relação à presença ou ausência de atopias não mostrou diferenças estatisticamente significativas. Esses dados foram confirmados por PCR em tempo real. De maneira similar à ICV, a avaliação das populações $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$ e $CD4^+CD25^+CD127^{low}$ em indivíduos com DIgA mostraram-se reduzidas, mesmo não havendo diferenças na porcentagem de células $Foxp3^+$ nem na IFM de $Foxp3$ nessas populações em relação aos indivíduos controles. Não foram observadas diferenças em relação a estes parâmetros quando os pacientes foram avaliados em função da presença ou ausência de doenças auto-imunes ou atópicas. Finalmente, a avaliação da produção de citocinas do perfil Th2 das células mononucleares do sangue de pacientes com ICV e DIgA pelo método ELISA mostrou correlação com o estado hipogamaglobulinêmico.

Palavras-chave: Imunodeficiência Comum Variável. Deficiência Seletiva de Imunoglobulina A. Auto-imunidade. Atopias. Células T reguladoras. $Foxp3$.

ABSTRACT

GENRE, J. Evaluation of the population of CD4⁺ lymphocytes in patients with Common Variable Immunodeficiency and Selective Immunoglobulin A Deficiency. p115. Thesis (Ph.D. in Immunology) – Biomedical Sciences Institute, University of São Paulo, São Paulo, 2010.

Common Variable Immunodeficiency (CVID) and Selective Immunoglobulin A Deficiency (IgAD) are humoral primary immunodeficiencies with the highest incidence in the population. Both diseases are characterized by the absence or significant reduction of serum immunoglobulins. Although several immunological abnormalities have been associated with these diseases, no unifying hypothesis regarding the molecular basis of CVID and IgAD have been proposed to date, and the only defect common to all patients is a failure in differentiation of B cells into plasma cells and subsequent secretion of antibodies. The hypogammaglobulinemia explains the increased susceptibility to infections of the respiratory and gastrointestinal tracts caused by encapsulated pathogens. However, the causes of the emergence of other symptoms, especially autoimmune diseases and atopy are poorly understood. Although mainly characterized by hypogammaglobulinemia, it is believed that CVID can be associated with the repertoire of T cells, since defects in this population have been reported. Noteworthy, it was suggested the existence of a common etiology for CVID and IgAD, representing CVID the final stage of a progressive humoral immunodeficiency. Due to the high incidence of autoimmunity and allergy in patients with CVID and IgAD, the investigation of the population of regulatory T cells in patients with these disorders was considered of interest. In this work, we analyzed by flow cytometry the population of CD4⁺ lymphocytes with regulatory potential in patients with CVID and IgAD, to assess if quantitative defects in this regulatory population could explain the high incidence of autoimmune diseases or atopy associated with these immunodeficiencies. Individuals with CVID showed decreased frequencies of CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ circulating in the blood, especially patients with autoimmune disease. The mean fluorescence intensity (MFI) of Foxp3 in the CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ population showed a stratification of patients according to presence or absence of autoimmunity, which could have a diagnostic value. However, the same analysis for the presence or absence of atopic diseases showed no statistically significant differences. These data were confirmed by real time PCR. Similarly to the CVID, CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ and CD4⁺CD25⁺CD127^{low} populations in individuals with IgAD were

reduced, even no differences in the percentage of Foxp3⁺ cells nor in the MFI of Foxp3 in these populations were seen compared to controls. In addition, there were no differences in these parameters when patients were analyzed according to the presence or absence of autoimmune disease or atopy. Finally, the evaluation of Th2 cytokine production by peripheral mononuclear cells of patients with CVID and IgAD by ELISA correlated with the hypogammaglobulinic state of those individuals.

Keywords: Common Variable Immunodeficiency. Selective IgA Deficiency. Autoimmunity. Atopy. Regulatory T cells. Foxp3.

1 INTRODUÇÃO

1.1 SISTEMA IMUNE E IMUNODEFICIÊNCIAS

A integridade do sistema imune é essencial para a defesa contra microorganismos infecciosos e seus produtos tóxicos e a conseqüente sobrevivência do indivíduo. Dessa maneira, defeitos em um ou mais componentes do sistema imune podem conduzir ao surgimento de doenças muito graves, usualmente fatais. Estas desordens do sistema imunológico são amplamente classificadas em duas categorias: 1) As imunodeficiências primárias ou congênitas, que são conseqüência de defeitos nos genes que dão origem aos diversos componentes do sistema imune, e 2) As imunodeficiências secundárias ou adquiridas, que se desenvolvem como resultado de má nutrição, câncer, tratamento com drogas imunossupressoras e infecção das células do sistema imune (ABBAS, A. K. *et al.*, 2000).

Dentro da categoria das imunodeficiências primárias, a expressão anormal de mais de 120 genes têm sido correlacionada com aproximadamente 150 doenças, afetando diferentes componentes da imunidade inata e adaptativa, tais como neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, proteínas do complemento, células *natural killers* (NK) e linfócitos (GEHA, R. S. *et al.*, 2007). O estudo das bases genético-moleculares das imunodeficiências primárias, além de ter contribuído para uma melhor compreensão do funcionamento do sistema imune, permite um diagnóstico mais preciso dos indivíduos afetados e possibilita a investigação de novas estratégias de tratamento como a terapia gênica.

As imunodeficiências primárias nas quais a função linfocitária está comprometida podem ser classificadas em três categorias: a) imunodeficiências humorais, nas quais o defeito imunológico afeta seletivamente a produção de anticorpos enquanto que a imunidade mediada por células se encontra intacta; b) deficiências celulares, nas quais a produção de anticorpos é normal e os mecanismos celulares efetores se encontram comprometidos; e c) imunodeficiências combinadas, nas quais ambos os mecanismos da imunidade específica encontram-se afetados (BONILLA, F. A. e GEHA, R. S., 2003).

Como grupo, as deficiências de anticorpos representam o tipo de imunodeficiência primária mais freqüentemente diagnosticado, correspondendo a 65% dos casos. O espectro

de deficiência de anticorpos é amplo podendo, em alguns casos, haver desde uma ausência total de células B e redução severa de imunoglobulinas no soro até deficiência de uma subclasse de anticorpo em particular (BALLOW, M., 2002).

1.2 IMUNODEFICIÊNCIA COMUM VARIÁVEL

Dentre as imunodeficiências primárias caracterizadas pela deficiência de anticorpos se destaca a Imunodeficiência Comum Variável (ICV) caracterizada por uma falha na diferenciação dos linfócitos B em células plasmáticas, o que resulta na presença de níveis séricos reduzidos de imunoglobulinas (Igs)(SANFORD, J. P. *et al.*, 1954; ROSECAN, M. *et al.*, 1955; WALL, R. L. e SASLAW, S., 1955; VASCONCELOS, D. M AND DUARTE, A.J, 1989). No entanto, esta doença apresenta manifestações clínicas muito variadas, motivo pelo qual a ICV é considerada por alguns médicos como uma síndrome cuja principal característica é a hipogamaglobulinemia (KAINULAINEN, L *et al.*, 2001).

A ICV é a imunodeficiência primária humoral sintomática mais freqüentemente diagnosticada, com uma incidência que varia de 1 em 10.000 até 1 em 2.000,000 indivíduos dependendo do estudo (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001a; KAINULAINEN, L *et al.*, 2001; SNELLER, M. C., 2001). Esta imunodeficiência tem surgimento na infância ou adulto jovem, mesmo que possa ter uma manifestação mais tardia (ROSEN, SF; WEDGWOOD, R.J.P; EIBL, M.M; FISCHER, A; AIUTI, F; NOTARANGELO, L, 1997; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999; KOKRON, C. M. *et al.*, 2004) e apresenta um padrão de distribuição predominantemente esporádico, embora em 20% dos casos seja observada herança autossômica dominante (NIJENHUIS, T. *et al.*, 2001). A ICV afeta em igual proporção indivíduos do sexo masculino e feminino, embora as mulheres apresentem sintomas clínicos da doença mais tardiamente que os homens. No entanto, a taxa de sobrevivência dos indivíduos afetados após 20 anos do diagnóstico de ICV é semelhante, sendo de 64% para os homens e 67% para as mulheres (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999).

Em 1953, foi descrito o primeiro caso de ICV (JANEWAY, C. A. *et al.*, 1953) e, embora diversas anormalidades imunológicas associadas com esta doença tenham sido descritas na literatura, nenhuma hipótese unificadora a respeito das bases moleculares da ICV foi proposta até o presente momento. Sendo assim, o diagnóstico da ICV é estabelecido após histórico de infecções sinopulmonares piogênicas recidivantes e quando houver uma

marcada diminuição de ao menos dois tipos de imunoglobulinas séricas, geralmente Imunoglobulina G (IgG) e Imunoglobulina A (IgA) ou Imunoglobulina M (IgM), de acordo com a faixa etária. São critérios adicionais a ausência ou baixa produção de isohemaglutininas e diminuição da capacidade de produção de anticorpos específicos após vacinação ou exposição natural a um agente infeccioso (SAIKI, O. *et al.*, 1982; BRYANT, A. *et al.*, 1990; CONLEY, M. E. *et al.*, 1999; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999).

Na maioria dos casos, uma vez estabelecida a doença, é irreversível e os pacientes não apresentam grandes flutuações nos níveis de imunoglobulinas no soro. No entanto, há relatos de cura espontânea nos quais pacientes com hipogamaglobulinemia profunda reverteram esta condição, podendo os níveis de imunoglobulina permanecer dentro dos valores normais permanente ou temporariamente (SEGGEV, J. S., 1991; SELIGMANN, M. *et al.*, 1991; CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999). Além disso, foram descritos casos de indivíduos com deficiência de IgA que evoluíram para deficiência de outros isotipos (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999). Com isso, foi sugerido que a ICV poderia ser o resultado de um defeito genético reversível.

O diagnóstico da ICV também depende da exclusão de outras síndromes conhecidas com quadro de hipogamaglobulinemia, como a Agamaglobulinemia ligada ao X (XLA), Síndrome da hiper-IgM (HIGM), doença linfoproliferativa ligada ao X (Síndrome de Duncan), linfomas, leucemia e Síndrome de *Good* ou até um prolongamento da imunodeficiência fisiológica da infância (CONLEY, M. E. *et al.*, 1999; KOKRON, C. M. *et al.*, 2004). Além disso, alguns pacientes com ICV desenvolvem sintomas da doença mais tardiamente sendo também necessária a exclusão de fatores ambientais capazes de induzir a hipogamaglobulinemia nesses indivíduos, como por exemplo, o uso de medicamentos (SPICKETT, G. P., 2001). Portanto, o diagnóstico da ICV esta baseado na exclusão de outras doenças bem definidas, não havendo uma definição imunológica operacional única para ICV.

As manifestações clínicas mais comuns da ICV e outras deficiências de anticorpos são as infecções sinopulmonares recorrentes, geralmente ocasionadas por bactérias encapsuladas, como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Haemophilus influenzae* (KOKRON, C. M. *et al.*, 2004). Nesses pacientes também são freqüentes as manifestações gastrointestinais, podendo estas ser de origem infecciosa, envolvendo agentes bacterianos, virais e protozoários. A diarréia crônica com conseqüente perda de peso é muito comum entre pacientes com ICV, sendo na maioria dos casos causada por

infecção por *Giardia*. Além disso, também foram observados muitos casos de esrongiloidíase e infecção por *E. coli*. Ainda, condições inflamatórias como a Doença de *Crohn* também foram descritas nesses pacientes (KOKRON, C. M. *et al.*, 2004).

Fora os agentes citados, infecções fúngicas por *Cryptococcus neoformans*, e protozoários como *Pneumocystis carinni*, *Toxoplasma gondii* e *Cryptosporidium spp.*, têm sido observadas em pacientes com ICV. Soma-se a esta variedade de patógenos inúmeros vírus como Herpes-vírus, *Epstein-Barr* e Citomegalovírus (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999; KOKRON, C. M. *et al.*, 2004).

Além disso, complicações não infecciosas foram diagnosticadas em pacientes com ICV. Tem sido observado um aumento da susceptibilidade a câncer (principalmente linfomas) e diferentes apresentações clínicas de proliferação linfóide benigna, incluindo adenopatias, esplenomegalia e infiltração granulomatosa ou linfocítica dos pulmões, gânglios linfáticos ou outros lugares (KOKRON, C. M. *et al.*, 2004). Ainda, aproximadamente 10% dos pacientes com ICV desenvolvem sintomas de asma e rinite de maneira semelhante à observada nos indivíduos atópicos, porém sem a presença de imunoglobulina E (IgE) específica (BONILLA, F. A. e GEHA, R. S., 2003). Além disso, por razões desconhecidas, indivíduos com ICV também manifestam uma variedade de desordens auto-imunes, incluindo anemia hemolítica auto-imune, trombocitopenia auto-imune, artrite reumatóide, doenças intestinais inflamatórias, artrite reumatóide juvenil, cirrose biliar, alopecia, lúpus eritematoso sistêmico, vasculite, diabetes *mellitus* insulino-dependente, doença celíaca, síndrome de *Guillain-Barré*, *miastenia gravis* e tireoidite auto-imune, entre outras (LOPES-DA-SILVA, S. e RIZZO, L. V., 2008).

Uma vez estabelecida a doença, os sintomas clínicos associados tendem a se agravar e a base para o tratamento de pacientes com ICV é a substituição intravenosa de gamaglobulinas (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. *et al.*, 1984; LEE, M. L. *et al.*, 1997). Normalmente, a gamaglobulina intravenosa (IVIG) é aplicada uma ou duas vezes por mês numa dose de 400-600 mg/Kg de peso corporal visando manter os níveis sangüíneos de imunoglobulinas acima de 400 mg/dL (KOKRON, C. M. *et al.*, 2004). Este tratamento, embora não seja suficiente para minimizar os diversos sintomas associados à ICV, tem demonstrado ser eficaz para reduzir a freqüência de certas infecções nesses pacientes. Ainda que a IVIG evita o uso de antibióticos como medida profilática, os pacientes necessitam de doses maiores de antibióticos e períodos de tratamento mais longos para a resolução de quadros

infecciosos (SPICKETT, G. P., 2001). É importante salientar que mesmo com acompanhamento adequado e terapia de substituição intravenosa de imunoglobulinas, os pacientes com ICV ainda apresentam uma taxa de mortalidade que supera a da população normal (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999).

A ICV é considerada uma síndrome imunológica complexa devido às amplas manifestações clínicas observadas nos pacientes. A produção de imunoglobulinas é o resultado final de uma série de eventos nos quais participam elementos tanto da imunidade inata quanto da adaptativa. Desta forma, a hipogamaglobulinemia observada em ICV pode ser consequência de uma grande variedade de defeitos moleculares que podem resultar em falhas desde a apresentação do antígeno até a secreção das imunoglobulinas, conduzindo à alteração na concentração de anticorpos no sangue. Apesar da intensa investigação relacionada a esta doença desde a sua descoberta, o único defeito comum a todos os pacientes é a falha na diferenciação de células B em plasmócitos e consequente secreção de anticorpos. Poucos defeitos genéticos foram especificamente associados a esta doença e múltiplas anormalidades em quase todos os outros componentes do sistema imune tem sido descritas. Embora a etiologia da ICV continue sendo uma incógnita, a identificação destas alterações tem contribuído para um melhor entendimento da fisiopatologia da doença, permitido uma melhor classificação dos pacientes em subgrupos mais homogêneos para o seu estudo, diagnóstico e prognose.

Diversos estudos sugerem que defeitos na imunidade inata podem, em alguns casos, ser responsáveis pelo fenótipo de ICV. Foram relatados casos da doença apresentando profundas alterações na distribuição dos diferentes subtipos de células dendríticas no sangue assim como perturbações na diferenciação, maturação e função destas células, com expressão de níveis reduzidos de moléculas co-estimuladoras CD80, CD86 e HLA-DR, críticas para o desenvolvimento da resposta imune adaptativa (VIALARD, J. F. *et al.*, 2005). Ainda, defeitos na sinalização da via TLR9 em células dendríticas e linfócitos B também têm sido reportados. Uma vez que há participação das células dendríticas na ativação e proliferação das células T, estes defeitos podem, consequentemente, comprometer a maturação e função dos linfócitos B (YU, J. E. *et al.*, 2009).

Além disso, alguns indivíduos afetados apresentaram uma população de monócitos cronicamente ativados, os quais produziam grandes quantidades de interleucina-12, polarizando a resposta imune para um perfil Th1. Com isso, houve inibição da produção de

citocinas do perfil Th2, essenciais para a diferenciação terminal de linfócitos B e troca de classes de imunoglobulinas (BAYRY, J. *et al.*, 2005). Por outro lado, certos estudos indicam que indivíduos com ICV apresentam alterações do sistema do complemento, como a diminuição da ativação da via clássica, a qual depende de complexos antígeno-anticorpo, e também da via das lectinas (FEVANG, B. *et al.*, 2005). Ainda, os pacientes podem apresentar números reduzidos de células NK. Embora não tenha sido observada uma correlação entre o número diminuído desta população e a clínica desses pacientes, esta deficiência poderia estar relacionada com a incidência aumentada de tumores malignos, uma vez que as células NK são capazes de reconhecer e eliminar células tumorais ou infectadas por vírus (BAYRY, J. *et al.*, 2005).

O número de células B em pacientes com ICV é altamente variável. Embora em 12% dos casos não haja células B detectáveis, em 12% esta população encontra-se reduzida, enquanto que em 54% dos casos estas células estão dentro do intervalo de normalidade, 19% têm proporção ligeiramente maior (17-24%) e 5% têm número excessivamente maior (CHAPEL, H. e CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2009). Os pacientes que apresentam números baixos desta população de linfócitos desenvolvem uma doença progressiva com a pior prognose (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999). Isso reflete a potencial variedade de defeitos nas células B que podem estar envolvidos na patogênese desta doença.

A existência de porcentagens normais de linfócitos B maduros no sangue da maioria dos pacientes com ICV, e o fato de que eles preservam a capacidade de produzir anticorpos *in vitro*, enquanto esses pacientes são hipogamaglobulinêmicos *in vivo*, sugerem a existência de defeitos afetando estágios tardios da diferenciação desses linfócitos em células secretoras de anticorpos nesses indivíduos (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999). Talvez as células B possam não estar recebendo sinais apropriados para realizar troca de classes de Igs e maturação por afinidade, e interações celulares perturbadas nos centros germinais podem estar envolvidas na patogênese da doença (BAYRY, J. *et al.*, 2005).

Um estudo de plasmócitos obtidos de biopsias de indivíduos com ICV mostrou que nos linfonodos de alguns pacientes não havia populações de células B em estado avançado de diferenciação, as quais expressam baixos níveis de Blimp-1 (*B-lymphocyte-induced maturation protein 1*) e altos níveis de Sindecn (Blimp^{low}/Sindecn-1^{high}). No entanto, nesses mesmos indivíduos foi observado um elevado número de células precursoras de

plasmócitos (Blimp-1⁺/Syndecan-1⁻)(TAUBENHEIM, N. *et al.*, 2005). Isso sugere que em alguns casos de ICV, a hipogamaglobulinemia poderia ser consequência de um bloqueio da diferenciação terminal destas células.

Alem disso, observou-se em alguns pacientes uma diminuição do número de células B de memória CD27⁺IgM⁻IgD⁻ circulantes o que pode contribuir para o desenvolvimento da doença (WARNATZ, K. *et al.*, 2002; BAYRY, J. *et al.*, 2005). Estas células representam uma população de linfócitos B que dispõem de um repertório de anticorpos pré-diversificados para eliminar bactérias encapsuladas de forma independente dos linfócitos T. Assim, pacientes com poucos linfócitos B de memória CD27⁺ IgM⁻ IgD⁻ apresentam uma alta incidência de infecções por *Streptococcus pneumonia*, resultando em dano pulmonar progressivo (BAYRY, J. *et al.*, 2005). Foi descrita uma expressão reduzida de CD27 e seu ligante CD70 em indivíduos com ICV. Considerando a importante participação destas moléculas na diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, esses defeitos podem contribuir para a hipogamaglobulinemia observada nesses pacientes (BROUET, J. C. *et al.*, 2000).

Além do CD27, os linfócitos B expressam outros receptores da família TNF (*tumor necrosis factor receptor*), tais como BAFFR (*B cell-activating factor receptor*), TACI (*transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor*) e BCMA (*B cell maturation protein A*). Estes receptores têm em comum os ligantes BAFF (*B cell-activating factor of the TNF family*) e APRIL (*A proliferation-inducing ligand*), encontrados em células dendríticas e macrófagos, sendo esta interação essencial para a sobrevivência e diferenciação dos linfócitos B, recombinação somática e troca de isótipo.

Observou-se em modelos murinos que defeitos no gene que codifica BAFFR resultam em um fenótipo similar ao observado em indivíduos com ICV, sendo sugerido que este receptor poderia ser responsável pela deficiência humoral nesta doença. Embora o seqüenciamento do gene BAFFR em pacientes com ICV revelou três novas variantes, as mesmas também se encontram presentes em indivíduos saudáveis e não afetam a expressão protéica de BAFFR, sendo sugerido que estas mutações seriam variantes polimórficas do gene (LOSI, C. G. *et al.*, 2005).

Por outro lado, mutações no gene TACI (TNFRSF13B) foram descritas em alguns indivíduos com ICV. No entanto, existem vários polimorfismos em TNFRSF13B alguns dos quais também são encontrados em estado heterozigoto em indivíduos sem deficiência de anticorpos (SALZER, U. *et al.*, 2005). Mutações neste gene foram associadas com o aumento

do risco de desenvolvimento de auto-imunidade e hiperplasia linfóide em pacientes com ICV (CHAPEL, H. e CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2009). No entanto, ainda é desconhecido se estas mutações estariam envolvidas na diferenciação de células plasmáticas.

Mutações no gene CD19 também foram observadas como responsáveis pelo fenótipo de ICV em alguns casos (VAN ZELM, M. C. *et al.*, 2006). A deficiência desta proteína bloqueia a sinalização necessária para o desenvolvimento dos linfócitos B, sua ativação e proliferação. De maneira interessante, a deficiência de CD19 em camundongos resulta em hipogamaglobulinemia e defeito na formação dos centros germinativos (CASTIGLI, E. e GEHA, R. S., 2006).

A produção e secreção de imunoglobulinas de alta afinidade por linfócitos B de memória e plasmócitos dependem do processo de hipermutação somática, uma acumulação de mutações pontuais na região variável das imunoglobulinas que ocorre nos centros germinativos dos órgãos linfóides secundários após o reconhecimento de antígenos específicos. Em alguns pacientes com ICV a hipermutação somática nos segmentos variáveis tanto das cadeias pesadas (BONHOMME, D. *et al.*, 2000) como das cadeias leves (ANDERSEN, P. *et al.*, 2005) se encontra reduzida em relação a indivíduos saudáveis.

Todos esses estudos genéticos de moléculas que regulam a ativação e diferenciação terminal dos linfócitos B em plasmócitos têm demonstrando que as bases genéticas da ICV são altamente variáveis e indicam que determinadas mutações em genes não redundantes podem resultar em células B incapazes de produzir anticorpos. No entanto, em mais de 90% dos casos de ICV nenhum defeito genético foi identificado (BACCHELLI, C. *et al.*, 2007).

Embora fundamentalmente caracterizada pela hipogamaglobulinemia, acredita-se que a ICV possa estar associada ao repertório de células T, uma vez que a imunidade celular também se encontra alterada em alguns pacientes. Apesar de serem descritos somente em estudos mais recentes, casos de disfunção dos linfócitos T podem acometer até 50% dos pacientes com ICV (KONDRATENKO, I. *et al.*, 1997; SNELLER, M. C., 2001). Considerando que os linfócitos T interagem com as células B e outras células apresentadoras de antígenos, provendo sinais que regulam a atividade destas células, é possível que as causas da hipogamaglobulinemia em ICV possam ser também decorrentes de defeitos primários nas células T.

Entre as anormalidades relacionadas às células T encontradas em indivíduos com ICV, destacam-se a timopoiese defeituosa, expressão diminuída de moléculas de membrana

(CD40L, L-Selectina), alteração na produção de citocinas, incluindo IL-2, IL-4, IL-5 e IFN- γ (SNELLER, M. C. e STROBER, W., 1990), baixa resposta proliferativa a mitógenos e antígenos (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999), aumento de apoptose (DI RENZO, M. *et al.*, 2001) e geração reduzida de células T de memória antígeno-específicas (STAGG, A. J. *et al.*, 1994; KONDRATENKO, I. *et al.*, 1997; SNELLER, M. C., 2001). Alguns indivíduos com ICV apresentam alterações no número absoluto de linfócitos T devido, em grande parte, à redução dos números de células CD4⁺, sendo as células T *naive*, com fenótipo CD4⁺CD45RA⁺ as principais responsáveis por esse quadro. Esse cenário complexo de deficiência de células T provavelmente tem um papel importante, influenciando a evolução clínica dos pacientes com ICV. Neste sentido, foi relatado que a existência de células T com grande comprometimento funcional no momento do diagnóstico, está associada com uma morte mais precoce do paciente (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999).

Em alguns indivíduos, a interação entre linfócitos T e B nos centros germinativos pode estar comprometida, o que interfere nos processos de hipermutação somática, troca de classes de imunoglobulinas e diferenciação dos linfócitos B em células plasmáticas ou de memória (SALZER, U. *et al.*, 2005). É sabido que a falta de co-estimulação conduz a uma proliferação celular deficiente e anergia, assim o comprometimento de moléculas com esta co-estimuladoras em indivíduos com ICV chamou a atenção. Além de defeitos nas moléculas CD80 e CD86, alguns casos de ICV encontram-se associados a defeitos na molécula CD28, co-estimuladora de linfócitos T, a qual é expressa constitutivamente na membrana celular (DI RENZO, M. *et al.*, 2000). Esta proteína, através da interação com seus ligantes B7-1 e B7-2, induz a proliferação da célula T, aumentando a produção da citocina IL-2 e expressão de CD40L.

Recentemente, também foram descritos alguns casos de ICV nos quais foram encontradas mutações no gene ICOS (*inducible costimulator*) que também pertence à família CD28. ICOS encontra-se na membrana dos linfócitos T e interage com o seu ligante B7H (ICOSL), constitutivamente expresso nos linfócitos B e macrófagos (BEIER, K. C. *et al.*, 2000), induzindo a expressão de CD40L e promovendo a troca de isótipos e a diferenciação terminal dos linfócitos B de memória ou plasmócitos (SALZER, U. *et al.*, 2004). Mutações em ICOS têm sido encontradas em 1% dos pacientes com ICV, sendo que nestes indivíduos há um defeito na formação de centros germinativos e resposta humoral comprometida (GRIMBACHER, B. *et al.*, 2003).

Embora os defeitos nas células T afetem a grande maioria dos pacientes, as classificações propostas para ICV são baseadas apenas nas características funcionais ou fenotípicas das células B (BRYANT, A. *et al.*, 1990; WARNATZ, K. *et al.*, 2002; PIQUERAS, B. *et al.*, 2003). No entanto, um estudo recente propõe a classificação desses indivíduos em função do número de células T CD4⁺ *naive* (GIOVANNETTI, A. *et al.*, 2007). Um grupo seria caracterizado pela redução acentuada das células T CD4⁺ *naive*, ativação, proliferação e apoptose massiva de células T, e clinicamente associado a uma imunodeficiência grave, geralmente com esplenomegalia. Um segundo grupo seria caracterizado pela alteração menos proeminente das células T CD4⁺ e CD8⁺, podendo apresentar esplenomegalia moderada. Finalmente, o terceiro grupo de pacientes com ICV seria caracterizado por anormalidades nas células T CD8, permanecendo as células T CD4 *naive* dentro dos valores normais e apresentando sintomas clínicos menos severos e esplenomegalia leve ou ausente.

Os níveis de células T CD4⁺ *naive* foram significativamente associados à classificação de Warnatz *et al.* (WARNATZ, K. *et al.*, 2002), a qual está baseada em marcadores fenotípicos de maturação das células B. mesmo que não tenha sido observada uma correlação exata os três grupos desta classificação com aqueles estabelecidos em função das células T, há uma tendência a uma associação entre o número reduzido de células B de memória e uma maior linfopenia de células T CD4⁺ *naive* (GIOVANNETTI, A. *et al.*, 2007).

1.3 DEFICIÊNCIA SELETIVA DE IMUNOGLOBULINA A

A Deficiência Seletiva de Imunoglobulina A (DIgA) é considerada a imunodeficiência primária de maior frequência. A incidência da doença depende da etnia, variando de 1:143 na península arábica (AL-ATTAS, R. A. e RAHI, A. H., 1998) a 1:965 no Brasil (CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. *et al.*, 1989). Ainda, a incidência é menor na população asiática (KANO, T. *et al.*, 1986; FENG, L., 1992).

O diagnóstico da DIgA depende da medição da concentração de IgA no soro. Esta imunodeficiência é definida como uma diminuição ou ausência de IgA sérica na presença de níveis normais de IgG e IgM em indivíduos com mais de 4 anos de idade, nos quais outras causas de hipogammaglobulinemia foram excluídas (CONLEY, M. E. *et al.*, 1999; GEHA, R. S. *et al.*, 2007). Em geral, o nível de IgA sérica inferior a 7 mg/dL é considerado como

deficiência seletiva de IgA, pois esta concentração é o menor limite de detecção estabelecido pela maioria dos laboratórios. Quando o nível sérico desta imunoglobulina é maior do que 7 mg/dL mas dois desvios-padrão abaixo do normal para a idade, a condição pode ser denominada deficiência parcial de IgA, o que é bastante comum (YEL, L., 2010). No entanto, o diagnóstico não considera a medição da concentração de IgA secretora. Portanto, é possível que os indivíduos com diagnóstico de DlgA possam ter alguma IgA nas mucosas, suficiente para fornecer alguma função protetora. Além disso, na maioria dos pacientes com DlgA, aparentemente como um mecanismo compensatório, a produção de IgM secretora é aumentado (BRANDTZAEG, P. *et al.*, 1987). No entanto, também existem alguns pacientes com DlgA que não exibem aumento compensatório de IgM secretora (MELLANDER, L. *et al.*, 1986).

A IgA é o mais abundante isótipo produzido no corpo e o segundo dominante na circulação sanguínea após IgG. Ele pode ser encontrado tanto na forma de monômero como polímero, sendo a IgA circulante na forma monomérica, enquanto que a IgA secretora nas mucosas respiratória, intestinal e genitourinárias é dimérica (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b; WOOF, J. M. e KERR, M. A., 2004). Em humanos há duas subclasses de IgA, IgA1 e IgA2, cujas cadeias pesadas são codificadas pelos genes $\alpha 1$ e $\alpha 2$ no cromossomo 14 (KERR, M. A., 1990). A principal diferença estrutural entre elas é que a IgA2 tem uma região de dobradiça menor que pode tornar este isótipo mais resistente as proteases bacterianas na luz dos tratos gastrointestinal ou respiratório (CORTHESEY, B., 2007).

A função dos níveis séricos de IgA na resposta imune sistêmica ainda não foi claramente compreendida já que a IgA na circulação não participa da ativação da via clássica do complemento. No entanto, pode ter um papel importante na ativação do sistema fagocítico por meio dos receptores Fc α (KERR, M. A., 1990; MONTEIRO, R. C. *et al.*, 1990; WOOF, J. M. e KERR, M. A., 2004). Tem sido proposto que a IgA sérica se liga a esses receptores em monócitos e granulócitos e dessa maneira, complexos imune formados por antígenos e IgA são apurados da circulação pelo sistema fagocitário sem ativação do sistema complemento e sem causar inflamação (CONLEY, M. E. e DELACROIX, D. L., 1987).

Mais de 95% da IgA secretada é produzida localmente. No sistema gastrointestinal, as placas de Peyer ou folículos linfóides isolados podem ser sítios para a produção local desta imunoglobulina por mecanismos dependentes e independentes das células T (CERUTTI, A. e RESCIGNO, M., 2008; SUZUKI, K. e FAGARASAN, S., 2009). Ainda, células do

epitélio intestinal, células dendríticas e células do estroma também podem estar contribuindo para a produção local T – independente de IgA através da secreção de citocinas e outros fatores solúveis tais como BAFF e APRIL (FAGARASAN, S. *et al.*; FAGARASAN, S., 2008).

Em pacientes com DIgA, constatou-se a falha na maturação das células B para produzir IgA (WANG, Z. *et al.*, 1999; CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b). O defeito parece envolver as células-tronco, pois a DIgA pode ser transferida por transplante de medula óssea (HAMMARSTROM, L. *et al.*, 1985). Os genes da região constante $\alpha 1$ e $\alpha 2$ são geralmente normais, exceto em raros casos descritos de deleções do gene da cadeia pesada envolvendo diversos segmentos do cromossomo 14 (SUZUKI, H. *et al.*, 2009). Na DIgA, as células B expressam esta imunoglobulina na membrana, no entanto, estas são de fenótipo imaturo, com a co-expressão de IgM e IgD, e não podem desenvolver-se plenamente em células plasmáticas produtoras de IgA (CONLEY, M. E. e COOPER, M. D., 1981). Além de um defeito intrínseco nas células B, disfunções das células T têm sido relatadas na DIgA, tais como a produção reduzida de IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, TGF- β e, mais recentemente, IL-21 (RAMSAY, A. J. *et al.*, 1994; CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b; BORTE, S. *et al.*, 2009).

A existência de susceptibilidade genética na DIgA não é bem definida. A história genealógica desses pacientes não mostra um claro padrão de herança, sendo registrados casos de transmissão esporádica, autossômica recessiva e autossômica dominante nessas famílias (HAMMARSTROM, L. *et al.*, 2000). Tendo em conta a variação nos padrões de herança e a falta de identificação do defeito genético primário, é provável que a DIgA represente um grupo heterogêneo de anormalidades genéticas, como sugerido para ICV. Neste sentido, mutações no gene TACI foram encontradas tanto no subgrupo de pacientes com DIgA bem como ICV (CASTIGLI, E. *et al.*, 2005). No entanto, é controverso se as mutações em TACI têm uma relação de causa e efeito nessas doenças (CASTIGLI, E. *et al.*, 2005; PAN-HAMMARSTROM, Q. *et al.*, 2007). Mais ainda, é conhecido que a DIgA pode progredir para a ICV, suportando a noção de que a DIgA e a ICV constituam espectros da mesma doença.

Pacientes com DIgA têm tendência a desenvolver infecções sinopulmonares e gastrointestinais, além de outros distúrbios mais graves tais como alergias, doenças auto-imunes e neoplasias. Infecções recorrentes do sistema respiratório são a manifestação mais comum em indivíduos com deficiência de IgA (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b), sendo na

sua maioria causadas pelas bactérias *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*. De maneira similar ao observado em ICV, alguns pacientes com DIgA podem desenvolver bronquiectasia secundária à infecções recorrentes ou crônicas (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b).

Nesses pacientes também são freqüentes as infecções e distúrbios do trato gastrointestinal. Giardíase, má absorção, intolerância à lactose, doença celíaca, colite ulcerativa, hiperplasia nodular linfóide e proliferação maligna estão entre as manifestações associadas (HAMMARSTROM, L. *et al.*, 2000; CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b).

Desordens alérgicas também parecem ser comuns em pacientes com DIgA (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b) tendo uma incidência de 48 a 58%, dependendo do estudo (JACOB, C. M. *et al.*, 2008), embora mais recente as manifestações alérgicas, incluindo asma, dermatite atópica, rinite alérgica, conjuntivite, urticária, alergia a medicamentos e alergia alimentar foram observadas em 84% dos pacientes com esta imunodeficiência (AGHAMOHAMMADI, A. *et al.*, 2009).

As doenças auto-imunes estão entre as manifestações clínicas mais importantes na DIgA, perdendo apenas para as infecções. Auto-anticorpos podem ser detectados nestes pacientes, mesmo sem evidências clínicas da doença. A condição auto-imune mais comum observada nestes pacientes é a trombocitopênica idiopática púrpura, seguida da anemia hemolítica, artrite reumatóide juvenil, tireoidite e lúpus eritematoso sistêmico (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b; JACOB, C. M. *et al.*, 2008),

Doenças malignas têm sido relatadas em indivíduos com DIgA, especialmente em indivíduos de idade avançada, sendo geralmente adenocarcinoma de estômago e linfomas (CUNNINGHAM-RUNDLES, C., 2001b; JACOB, C. M. *et al.*, 2008).

Apesar do papel crítico da IgA secretada na proteção das mucosas, surpreendentemente 85-90% dos indivíduos com deficiência de IgA são assintomáticos. Portanto, a DIgA deve ser considerada em pacientes com infecções respiratórias e gastrointestinais recorrentes, alergias e doenças auto-imunes. A avaliação imunológica da DIgA é também justificada em caso de anafilaxia secundária a uma transfusão sanguínea, doença celíaca e história familiar de DIgA e/ou ICV. Os pacientes com DIgA que são diagnosticados por acaso e que não têm qualquer sintoma da doença não necessitam de nenhum tratamento. No entanto, ter consciência da condição médica é de

primordial importância, particularmente para evitar uma reação anafilática potencial secundária à transfusão de sangue (YEL, L.; 2010).

O prognóstico de pacientes com DIgA é bom, se esta não estiver associada a outras doenças. A DIgA nas crianças pode se resolver com o passar do tempo. No entanto, é também conhecido que a deficiência de IgA pode evoluir para ICD, que tem um resultado menos favorável. Portanto, um paciente com deficiência de IgA, uma vez identificado, mereceria um acompanhamento clínico e imunológico regular (YEL, L.; 2010).

Em resumo, embora a deficiência de IgA seja a imunodeficiência primária mais comum, sua base genética continua por ser definida, e os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na patogênese da doença precisam ser esclarecidos.

1.4 TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA

Uma das maiores descobertas da imunologia foi realizada em 1966 por Claman et al. (CLAMAN, H. N. *et al.*, 1966) que mostraram que a cooperação entre duas populações diferentes de linfócitos, uma originada na medula óssea e outra derivada do timo, era necessária para a produção de anticorpos. Os linfócitos derivados do timo, denominados células T, foram definidos como células que respondem a estímulos mitogênicos, proliferando e produzindo proteínas. Já os linfócitos provenientes da medula óssea foram identificados como células B, produtoras de anticorpos. Como as células T demonstraram ser necessárias para a indução das respostas imunológicas, era crítico definir se esta mesma população linfocitária também seria capaz de inibir tais respostas, e foi investigando-se sua participação no estabelecimento e manutenção do estado de tolerância imunológica. Assim, foram desenvolvidos dois tipos de abordagens experimentais em modelos animais, com manipulação das células T para induzir ou eliminar o estado de tolerância.

Em 1960, numa época na qual ainda não havia sido claramente demonstrada a função imunológica do timo, Nishizuka e Sakakura conduziram experimentos com camundongos timectomizados no terceiro dia de vida (NISHIZUKA, Y. e SAKAKURA, T., 1969). Eles observaram que as fêmeas apresentavam um desenvolvimento defeituoso das glândulas mamárias e eram estéreis, devido à destruição dos seus ovários. De forma surpreendente, estes órgãos se mantinham intactos quando a timectomia era realizada após o sétimo dia de vida e a doença no ovário era prevenida por um transplante de timo. Dessa

maneira, surgiu a possibilidade de que o mecanismo patológico nos ovários fosse devido não à falta de hormônio sexual, supostamente secretado pelo timo, e sim devido à inflamação auto-imune. Estas observações permitiram o estabelecimento da hipótese de que certos linfócitos produzidos no timo a partir do terceiro dia de vida seriam capazes de prevenir o surgimento de doenças auto-imunes em camundongos.

Posteriormente, um importante experimento realizado por Gershon e Kondo em 1970 teve como objetivo estudar os efeitos de células derivadas do timo que haviam sido transferidas a camundongos após a imunização dos mesmos com antígenos estranhos (GERSHON, R. K. e KONDO, K., 1970; 1971). Nesses experimentos foi observado que os linfócitos que foram isolados do timo se mostravam capazes de inibir a cooperação entre células T e B, bem como a produção de anticorpos contra os antígenos estranhos introduzidos, demonstrando que a indução tanto da resposta imune, como da tolerância, requeria a cooperação de células T derivadas do timo. Um ano depois estes pesquisadores demonstraram que a transferência de linfócitos provenientes do baço de camundongos tolerizados a camundongos atímicos era capaz de induzir o mesmo fenômeno de tolerância nos recipientes (GERSHON, R. K. e KONDO, K., 1971). Esse fenômeno foi denominado “tolerância infecciosa” e os linfócitos responsáveis por esta tolerância de “células T supressoras”(GERSHON, R. K. *et al.*, 1972).

Estas duas experiências, entre outras realizadas posteriormente, estabeleceram o conceito de que uma população de células T tem o potencial de suprimir respostas imunes contra antígenos próprios ou estranhos. Desta maneira, diversos grupos de pesquisa tentaram caracterizar melhor esta população linfocitária dotada de propriedades supressoras. No entanto, foi na década de 80 que duas grandes descobertas e um fiasco científico minimizaram a importância da contribuição das células T supressoras no fenômeno de tolerância imunológica. A primeira das descobertas foi a da deleção clonal no timo das células T auto-reativas, demonstrada por Kappler em 1987 (KAPPLER, J. W. *et al.*, 1987). Conseqüentemente, o papel fundamental do timo na prevenção da auto-imunidade foi diretamente vinculado ao fenômeno de deleção clonal. Posteriormente, Mosman e Coffman introduziram o conceito de dicotomia de células T auxiliares tipo 1 (Th1) e tipo 2 (Th2), sendo que as células com perfil Th1 são capazes de secretar citocinas que inibem a função de células com perfil Th2 e vice-versa (MOSMANN, T. R. e COFFMAN, R. L., 1989). Assim, ficou estabelecido que a tolerância periférica era devida a um balanço entre as células Th1 e

Th2 e não à ação de uma população específica de linfócitos T com propriedades supressoras. Finalmente, foi inicialmente assumido que o mecanismo de inibição das células T supressoras sobre outras células era devido à produção de um fator solúvel denominado proteína I-J, produzido por um locus I-J localizado entre I-A e I-E. Porém, quando foi seqüenciado o ácido desoxirribonucléico do complexo principal de histocompatibilidade murino, foi evidente que esse locus não existia (TADA, T. *et al.*, 1976).

Apesar das convincentes experiências de Nishizuka e Sakakura e Gershon e Kondo, o conceito de células T supressoras permaneceu um tabu por um período de aproximadamente quinze anos até a publicação de dois trabalhos que conduziram ao ressurgimento desta população linfocitária. Em 1995, *Sakaguchi* e colaboradores demonstraram que uma população de células T CD4⁺ que expressam a cadeia alfa do receptor da interleucina-2 (CD25) e que representa de 5-10% das células T CD4⁺, podia prevenir o surgimento de doenças auto-imunes em camundongos (SAKAGUCHI, S. *et al.*, 1995). Eles mostraram que a timectomia no dia 3 era suficiente para eliminar as células CD4⁺CD25⁺ da periferia. Em 1998, os grupos de Sakaguchi e *Shevach* deram um passo à frente realizando ensaios *in vitro* da função supressora destas células (TAKAHASHI, T. *et al.*, 1998; THORNTON, A. M. *et al.*, 2004). Eles demonstraram que esta população linfocitária tornava-se anérgica após estimulação, e podia suprimir a proliferação e produção de IL-2 pelas células T CD4⁺ ativadas, de uma maneira dependente de contato. A caracterização de CD25 como um marcador de superfície confiável e a possibilidade de avaliar a função desta população *in vitro* definitivamente trouxeram de volta o interesse pelas células T supressoras, as quais passaram a ser denominadas células T reguladoras (Tregs).

Paralelamente, em 2001 diversos grupos confirmaram a presença de células CD4⁺CD25⁺ com potencial regulador em seres humanos, demonstrando-se que em doadores saudáveis, 1-2% das células T CD4⁺ que expressam altos níveis de CD25 (CD25^{High}) apresentam capacidade supressora *in vitro* (BAECHER-ALLAN, C. *et al.*, 2001; DIECKMANN, D. *et al.*, 2001; JONULEIT, H. *et al.*, 2001; LEVINGS, M. K. *et al.*, 2001; TAAMS, L. S. *et al.*, 2001). No entanto, ficava evidente que a expressão de CD25 não seria o marcador mais conveniente para identificar Tregs humanas, principalmente nos casos de doenças inflamatórias nas quais também são encontradas células T ativadas que expressam CD25. A partir desse momento, diversas pesquisas foram realizadas à procura de marcadores

específicos que permitissem uma melhor identificação fenotípica e purificação desta população.

Em 1982, Powell e colaboradores descreveram o primeiro caso de uma síndrome chamada IPEX (*immune dysregulation polyendocrinopathy X-linked syndrome*) caracterizada clinicamente pelo surgimento de doenças auto-imunes e inflamatórias multi-sistêmicas (POWELL, B. R. *et al.*, 1982), e em 1991 foi descrito o equivalente murino de IPEX, chamado *Scurfy* (GODFREY, V. L. *et al.*, 1991). Posteriormente, três grupos independentes demonstraram que em ambos os casos, esta síndrome era resultado da deficiência na expressão do fator de transcrição Foxp3 (*Forkhead Box protein 3*) (BENNETT, C. L. *et al.*, 2001; BRUNKOW, M. E. *et al.*, 2001; WILDIN, R. S. *et al.*, 2001) e, em 2003, foi demonstrado que a expressão desta proteína era requerida para o desenvolvimento e função das Tregs (FONTENOT, J. D. *et al.*, 2003; HORI, S. *et al.*, 2003; KHATTRI, R. *et al.*, 2003). Entretanto, apesar do Foxp3 ser considerado um ótimo marcador para identificação de Tregs murinas, ele continuava apresentando limitações para o estudo de Tregs humanas, devido ao fato de que células recentemente ativadas também expressam esta proteína (GAVIN, M. A. *et al.*, 2006; ALLAN, S. E. *et al.*, 2007). Nos últimos anos, inúmeros estudos foram realizados na tentativa de identificar novos marcadores para o estudo desta população em seres humanos. Infelizmente, apesar dos esforços de diversos grupos de pesquisa, o mecanismo através do qual as células Tregs suprimem as respostas imunes permanece desconhecido e ainda não foram identificadas moléculas exclusivas desta população linfocitária.

Apesar disso, nos últimos anos tem sido observado que as Tregs regulam um amplo espectro de respostas imunes fisiológicas e patológicas tais como processos infecciosos, câncer, transplante, alergia e doenças auto-imunes ou inflamatórias. Desta forma, é cada vez mais evidente que a manipulação de Tregs pode representar uma abordagem terapêutica promissora para o tratamento de diversas doenças (MCHUGH, R. S. e SHEVACH, E. M., 2002).

1.5 ICV, DIgA E TREGS

Há na literatura casos descritos nos quais foi observada a coexistência de ICV e DIgA em famílias e também indivíduos que apresentam DIgA e que posteriormente evoluem para ICV (ESPANOL, T. *et al.*, 1996). Por esse motivo, alguns pesquisadores sugeriram que poderia existir uma etiologia comum para essas duas doenças, representando a ICV o estágio final de

evolução de uma deficiência humoral progressiva (SPICKETT, G. P., 2001; AGHAMOHAMMADI, A. *et al.*, 2008). Ainda, associações entre DIgA e ICV com alguns haplótipos do complexo principal de histocompatibilidade de classe I, II e III têm sido propostas (VAN THIEL, D. H. *et al.*, 1977; SCHROEDER, H. W., JR. *et al.*, 1998). Além disso, em indivíduos com ICV ou DIgA sintomáticos a ausência ou redução significativa de imunoglobulinas no soro explica a conseqüente maior susceptibilidade dos mesmos a infecções recorrentes dos tratos respiratórios e gastrointestinais causada por patógenos capsulados (CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e BODIAN, C., 1999; KOKRON, C. M. *et al.*, 2004). No entanto, as causas do surgimento de outros sintomas tão importantes quanto estes, particularmente de doenças auto-imunes e atopias, são pouco compreendidas.

Conseqüentemente, devido à mencionada alta incidência de auto-imunidade e alergia em pacientes com ICV e DIgA, a investigação sobre a população de células T reguladoras em pacientes com estas patogenias é de grande interesse. No presente trabalho, visamos analisar a população de linfócitos CD4⁺ com potencial regulador em pacientes com Imunodeficiência Comum Variável e Deficiência Seletiva de IgA buscando avaliar se defeitos quantitativos nesta população poderiam explicar a alta incidência de doenças auto-imunes ou alérgicas associadas a estas imunodeficiências.

6 CONCLUSÕES

- Indivíduos com ICV apresentam freqüências reduzidas de células $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$ circulantes no sangue, principalmente os pacientes com doença auto-imune. Além disso, a intensidade de fluorescência média de Foxp3 na população $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$ mostra uma estratificação dos pacientes em função da presença ou ausência de doença auto-imune, também comprovado por PCR em tempo real, podendo isto ter um valor diagnóstico.
- Indivíduos com ICV com sintomas alérgicos não apresentam diferenças na freqüência de células $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$, nem na intensidade de fluorescência média de Foxp3 nessa população celular em relação aos pacientes não atópicos.
- Indivíduos com DIgA apresentam freqüências reduzidas de células $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$ e $CD4^+CD25^+CD127^{low}$ circulantes no sangue, embora não haja diferenças na intensidade de fluorescência média de Foxp3 nessas populações nem na porcentagem de células Foxp3⁺.
- Indivíduos com DIgA analisados em função da presença ou ausência de doença auto-imune ou alergia não apresentam diferenças na freqüência de células $CD4^+CD25^{high}Foxp3^+$ e $CD4^+CD25^+CD127^{low}$, na intensidade de fluorescência média de Foxp3 nessas populações nem na porcentagem de células Foxp3⁺.
- Os pacientes com ICV e DIgA estudados apresentam um perfil de citocinas compatível com o estado hipogamaglobulinêmico.

REFERÊNCIAS

DE ACORDO COM: ASSOCIACAO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Informação de documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

ABBAS, A. K., *et al.* Cellular and Molecular Immunology. SAUNDERS - forth edition. 2000.

AGHAMOHAMMADI, A., *et al.* IgA deficiency: correlation between clinical and immunological phenotypes. J Clin Immunol, v.29, n.1, Jan, p.130-6. 2009.

AGHAMOHAMMADI, A., *et al.* Progression of selective IgA deficiency to common variable immunodeficiency. Int Arch Allergy Immunol, v.147, n.2, p.87-92. 2008.

AGONDI, R. C., *et al.* Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency. Allergy, v.65, n.4, Apr, p.510-5. 2010.

AKDIS, M., *et al.* Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. J Exp Med, v.199, n.11, Jun 7, p.1567-75. 2004.

AL-ATTAS, R. A. e A. H. RAHI. Primary antibody deficiency in Arabs: first report from eastern Saudi Arabia. J Clin Immunol, v.18, n.5, Sep, p.368-71. 1998.

ALLAN, S. E., *et al.* Generation of potent and stable human CD4+ T regulatory cells by activation-independent expression of FOXP3. Mol Ther, v.16, n.1, Jan, p.194-202. 2008.

ALLAN, S. E., *et al.* Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production. Int Immunol, v.19, n.4, Apr, p.345-54. 2007.

AMORAS, A. L., *et al.* Defective Fc-, CR1- and CR3-mediated monocyte phagocytosis and chemotaxis in common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia patients. J Investig Allergol Clin Immunol, v.13, n.3, p.181-8. 2003.

ANDERSEN, P., *et al.* Deficiency of somatic hypermutation of the antibody light chain is associated with increased frequency of severe respiratory tract infection in common variable immunodeficiency. Blood, v.105, n.2, Jan 15, p.511-7. 2005.

ARKWRIGHT, P. D., *et al.* Autoimmunity in human primary immunodeficiency diseases. Blood, v.99, n.8, Apr 15, p.2694-702. 2002.

BACCHELLI, C., *et al.* Translational mini-review series on immunodeficiency: molecular defects in common variable immunodeficiency. Clin Exp Immunol, v.149, n.3, Sep, p.401-9. 2007.

BACCHETTA, R., *et al.* Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations. J Clin Invest, v.116, n.6, Jun, p.1713-22. 2006.

BAECHER-ALLAN, C., *et al.* CD4+CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood. J Immunol, v.167, n.3, Aug 1, p.1245-53. 2001.

BALLOW, M. Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. J Allergy Clin Immunol, v.109, n.4, Apr, p.581-91. 2002.

BAYRY, J., *et al.* Common variable immunodeficiency: the immune system in chaos. Trends Mol Med, v.11, n.8, Aug, p.370-6. 2005.

BEIER, K. C., *et al.* Induction, binding specificity and function of human ICOS. Eur J Immunol, v.30, n.12, Dec, p.3707-17. 2000.

BENNETT, C. L., *et al.* The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. Nat Genet, v.27, n.1, Jan, p.20-1. 2001.

BLUESTONE, J. A. e A. K. ABBAS. Natural versus adaptive regulatory T cells. Nat Rev Immunol, v.3, n.3, Mar, p.253-7. 2003.

BONHOMME, D., *et al.* Impaired antibody affinity maturation process characterizes a subset of patients with common variable immunodeficiency. J Immunol, v.165, n.8, Oct 15, p.4725-30. 2000.

BONILLA, F. A. e R. S. GEHA. 12. Primary immunodeficiency diseases. J Allergy Clin Immunol, v.111, n.2 Suppl, Feb, p.S571-81. 2003.

BORTE, S., *et al.* Interleukin-21 restores immunoglobulin production ex vivo in patients with common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. Blood, v.114, n.19, Nov 5, p.4089-98. 2009.

BOYER, O., *et al.* CD4+CD25⁺ regulatory T-cell deficiency in patients with hepatitis C-mixed cryoglobulinemia vasculitis. Blood, v.103, n.9, May 1, p.3428-30. 2004.

BRAITCH, M., *et al.* Glucocorticoids increase CD4CD25 cell percentage and Foxp3 expression in patients with multiple sclerosis. Acta Neurol Scand, v.119, n.4, Apr, p.239-45. 2009.

BRANDT, D. e M. E. GERSHWIN. Common variable immune deficiency and autoimmunity. Autoimmun Rev, v.5, n.7, Aug, p.465-70. 2006.

BRANDTZAEG, P., *et al.* The clinical condition of IgA-deficient patients is related to the proportion of IgD- and IgM-producing cells in their nasal mucosa. Clin Exp Immunol, v.67, n.3, Mar, p.626-36. 1987.

BROUET, J. C., *et al.* Study of the B cell memory compartment in common variable immunodeficiency. Eur J Immunol, v.30, n.9, Sep, p.2516-20. 2000.

BRUNKOW, M. E., *et al.* Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. Nat Genet, v.27, n.1, Jan, p.68-73. 2001.

BRYANT, A., *et al.* Classification of patients with common variable immunodeficiency by B cell secretion of IgM and IgG in response to anti-IgM and interleukin-2. Clin Immunol Immunopathol, v.56, n.2, Aug, p.239-48. 1990.

CAO, D., *et al.* Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright}CD4⁺ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. Eur J Immunol, v.33, n.1, Jan, p.215-23. 2003.

CARNEIRO-SAMPAIO, M. e A. COUTINHO. Tolerance and autoimmunity: lessons at the bedside of primary immunodeficiencies. Adv Immunol, v.95, p.51-82. 2007.

CARNEIRO-SAMPAIO, M. M., *et al.* Frequency of selective IgA deficiency among Brazilian blood donors and healthy pregnant women. Allergol Immunopathol (Madr), v.17, n.4, Jul-Aug, p.213-6. 1989.

CASTIGLI, E. e R. S. GEHA. Molecular basis of common variable immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol, v.117, n.4, Apr, p.740-6; quiz 747. 2006.

CASTIGLI, E., *et al.* TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. Nat Genet, v.37, n.8, Aug, p.829-34. 2005.

CERUTTI, A. e M. RESCIGNO. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. Immunity, v.28, n.6, Jun, p.740-50. 2008.

CHAPEL, H. e C. CUNNINGHAM-RUNDLES. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. Br J Haematol, v.145, n.6, Jun, p.709-27. 2009.

CHATILA, T. A. Role of regulatory T cells in human diseases. J Allergy Clin Immunol, v.116, n.5, Nov, p.949-59; quiz 960. 2005.

CHUNG, K. F. e P. J. BARNES. Cytokines in asthma. Thorax, v.54, n.9, Sep, p.825-57. 1999.

CLAMAN, H. N., *et al.* Thymus-marrow cell combinations. Synergism in antibody production. Proc Soc Exp Biol Med, v.122, n.4, Aug-Sep, p.1167-71. 1966.

CONLEY, M. E. e M. D. COOPER. Immature IgA B cells in IgA-deficient patients. N Engl J Med, v.305, n.9, Aug 27, p.495-7. 1981.

CONLEY, M. E. e D. L. DELACROIX. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense? Ann Intern Med, v.106, n.6, Jun, p.892-9. 1987.

CONLEY, M. E., *et al.* Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). Clin Immunol, v.93, n.3, Dec, p.190-7. 1999.

CORTHESEY, B. Roundtrip ticket for secretory IgA: role in mucosal homeostasis? J Immunol, v.178, n.1, Jan 1, p.27-32. 2007.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. Clinical and immunologic analyses of 103 patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol, v.9, n.1, Jan, p.22-33. 1989.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. Common variable immunodeficiency. Curr Allergy Asthma Rep, v.1, n.5, Sep, p.421-9. 2001a.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. Physiology of IgA and IgA deficiency. J Clin Immunol, v.21, n.5, Sep, p.303-9. 2001b.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. Autoimmune manifestations in common variable immunodeficiency. J Clin Immunol, v.28 Suppl 1, May, p.S42-5. 2008.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e C. BODIAN. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. Clin Immunol, v.92, n.1, Jul, p.34-48. 1999.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. e L. RADIGAN. Deficient IL-12 and dendritic cell function in common variable immune deficiency. Clin Immunol, v.115, n.2, May, p.147-53. 2005.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C., *et al.* Efficacy of intravenous immunoglobulin in primary humoral immunodeficiency disease. Ann Intern Med, v.101, n.4, Oct, p.435-9. 1984.

DE VERA, M. J., *et al.* Assessing thymopoiesis in patients with common variable immunodeficiency as measured by T-cell receptor excision circles. Ann Allergy Asthma Immunol, v.93, n.5, Nov, p.478-84. 2004.

DI RENZO, M., *et al.* Enhanced T cell apoptosis in common variable immunodeficiency: negative role of the fas/fasligand system and of the Bcl-2 family proteins and possible role of TNF-RS. Clin Exp Immunol, v.125, n.1, Jul, p.117-22. 2001.

DI RENZO, M., *et al.* Enhanced apoptosis of T cells in common variable immunodeficiency (CVID): role of defective CD28 co-stimulation. Clin Exp Immunol, v.120, n.3, Jun, p.503-11. 2000.

DIAMOND, B. Autoimmunity. Immunol Rev, v.204, Apr, p.5-8. 2005.

DIECKMANN, D., *et al.* Ex vivo isolation and characterization of CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties from human blood. J Exp Med, v.193, n.11, Jun 4, p.1303-10. 2001.

ESPANOL, T., *et al.* Development of a common variable immunodeficiency in IgA-deficient patients. Clin Immunol Immunopathol, v.80, n.3 Pt 1, Sep, p.333-5. 1996.

FAGARASAN, S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. Curr Opin Immunol, v.20, n.2, Apr, p.170-7. 2008.

FAGARASAN, S., *et al.* Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. Annu Rev Immunol, v.28, Apr 23, p.243-73.

FENG, L. [Epidemiological study of selective IgA deficiency among 6 nationalities in China]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, v.72, n.2, Feb, p.88-90, 128. 1992.

FEVANG, B., *et al.* Common variable immunodeficiency and the complement system; low mannose-binding lectin levels are associated with bronchiectasis. Clin Exp Immunol, v.142, n.3, Dec, p.576-84. 2005.

FONTENOT, J. D., *et al.* Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. Nat Immunol, v.4, n.4, Apr, p.330-6. 2003.

GAVIN, M. A., *et al.* Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. Proc Natl Acad Sci U S A, v.103, n.17, Apr 25, p.6659-64. 2006.

GEHA, R. S., *et al.* Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. J Allergy Clin Immunol, v.120, n.4, Oct, p.776-94. 2007.

GERSHON, R. K., *et al.* Suppressor T cells. J Immunol, v.108, n.3, Mar, p.586-90. 1972.

GERSHON, R. K. e K. KONDO. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. Immunology, v.18, n.5, May, p.723-37. 1970.

GERSHON, R. K. e K. KONDO. Infectious immunological tolerance. Immunology, v.21, n.6, Dec, p.903-14. 1971.

GIOVANNETTI, A., *et al.* Unravelling the complexity of T cell abnormalities in common variable immunodeficiency. J Immunol, v.178, n.6, Mar 15, p.3932-43. 2007.

GODFREY, V. L., *et al.* X-linked lymphoreticular disease in the scurfy (sf) mutant mouse. Am J Pathol, v.138, n.6, Jun, p.1379-87. 1991.

GRIMBACHER, B., *et al.* Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. Nat Immunol, v.4, n.3, Mar, p.261-8. 2003.

GUAZZI, V., *et al.* Assessment of thymic output in common variable immunodeficiency patients by evaluation of T cell receptor excision circles. Clin Exp Immunol, v.129, n.2, Aug, p.346-53. 2002.

HAMMARSTROM, L., *et al.* Transfer of IgA deficiency to a bone-marrow-grafted patient with aplastic anaemia. Lancet, v.1, n.8432, Apr 6, p.778-81. 1985.

HAMMARSTROM, L., *et al.* Selective IgA deficiency (SIgAD) and common variable immunodeficiency (CVID). Clin Exp Immunol, v.120, n.2, May, p.225-31. 2000.

HAWRYLOWICZ, C. M. e A. O'GARRA. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. Nat Rev Immunol, v.5, n.4, Apr, p.271-83. 2005.

HAYDAY, A. e R. TIGELAAR. Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells. Nat Rev Immunol, v.3, n.3, Mar, p.233-42. 2003.

HORI, S., *et al.* Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science, v.299, n.5609, Feb 14, p.1057-61. 2003.

HORI, S. e S. SAKAGUCHI. Foxp3: a critical regulator of the development and function of regulatory T cells. Microbes Infect, v.6, n.8, Jul, p.745-51. 2004.

JACOB, C. M., *et al.* Autoimmunity in IgA deficiency: revisiting the role of IgA as a silent housekeeper. J Clin Immunol, v.28 Suppl 1, May, p.S56-61. 2008.

JANEWAY, C. A., *et al.* Agammaglobulinemia. Trans Assoc Am Physicians, v.66, p.200-2. 1953.

JONULEIT, H., *et al.* Identification and functional characterization of human CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. J Exp Med, v.193, n.11, Jun 4, p.1285-94. 2001.

JORDAN, M. S., *et al.* Thymic selection of CD4+CD25+ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide. Nat Immunol, v.2, n.4, Apr, p.301-6. 2001.

KAINULAINEN, L., *et al.* Diagnostic findings in 95 Finnish patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol, v.21, p.145-149. 2001.

KANO, T., *et al.* Selective IgA deficiency in Japanese blood donors: frequency and statistical analysis. Vox Sang, v.50, n.2, p.81-6. 1986.

KAPPLER, J. W., *et al.* T cell tolerance by clonal elimination in the thymus. Cell, v.49, n.2, Apr 24, p.273-80. 1987.

KERR, M. A. The structure and function of human IgA. Biochem J, v.271, n.2, Oct 15, p.285-96. 1990.

KHATTRI, R., *et al.* An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. Nat Immunol, v.4, n.4, Apr, p.337-42. 2003.

KNIGHT, A. K. e C. CUNNINGHAM-RUNDLES. Inflammatory and autoimmune complications of common variable immune deficiency. Autoimmun Rev, v.5, n.2, Feb, p.156-9. 2006.

KOKRON, C. M., *et al.* Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. An Acad Bras Cienc, v.76, n.4, Dec, p.707-26. 2004.

KONDRATENKO, I., *et al.* Lack of specific antibody response in common variable immunodeficiency (CVID) associated with failure in production of antigen-specific memory T cells. MRC Immunodeficiency Group. Clin Exp Immunol, v.108, n.1, Apr, p.9-13. 1997.

KRIEGEL, M. A., *et al.* Defective suppressor function of human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in autoimmune polyglandular syndrome type II. J Exp Med, v.199, n.9, May 3, p.1285-91. 2004.

KRONENBERG, M. e A. RUDENSKY. Regulation of immunity by self-reactive T cells. Nature, v.435, n.7042, Jun 2, p.598-604. 2005.

KYEWSKI, B. e L. KLEIN. A central role for central tolerance. Annu Rev Immunol, v.24, p.571-606. 2006.

LATIFF, A. H. e M. A. KERR. The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem, v.44, n.Pt 2, Mar, p.131-9. 2007.

LEE, H. Y., *et al.* Altered frequency and migration capacity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford), v.47, n.6, Jun, p.789-94. 2008.

LEE, M. L., *et al.* Use of intravenous immunoglobulin to prevent or treat infections in persons with immune deficiency. Annu Rev Med, v.48, p.93-102. 1997.

LEVINGS, M. K., *et al.* Human cd25(+)cd4(+) t regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. J Exp Med, v.193, n.11, Jun 4, p.1295-302. 2001.

LING, E. M., *et al.* Relation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. Lancet, v.363, n.9409, Feb 21, p.608-15. 2004.

LISTON, A. e A. Y. RUDENSKY. Thymic development and peripheral homeostasis of regulatory T cells. Curr Opin Immunol, v.19, n.2, Apr, p.176-85. 2007.

LOPES-DA-SILVA, S. e L. V. RIZZO. Autoimmunity in common variable immunodeficiency. J Clin Immunol, v.28 Suppl 1, May, p.S46-55. 2008.

LOSI, C. G., *et al.* Mutational analysis of human BAFF receptor TNFRSF13C (BAFF-R) in patients with common variable immunodeficiency. J Clin Immunol, v.25, n.5, Sep, p.496-502. 2005.

LUI, W. E. A. CD127 expression inversely correlates with FOXP3 and suppressive function of human CD4⁺ Tregs cells. J Exp Med, v.203, n.7, July, 10, p.1701-1711. 2006.

LYSSUK, E. Y., *et al.* Reduced number and function of CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus. Adv Exp Med Biol, v.601, p.113-9. 2007.

MCHUGH, R. S. e E. M. SHEVACH. The role of suppressor T cells in regulation of immune responses. J Allergy Clin Immunol, v.110, n.5, Nov, p.693-702. 2002.

MELLANDER, L., *et al.* Secretory antibodies in IgA-deficient and immunosuppressed individuals. J Clin Immunol, v.6, n.4, Jul, p.284-91. 1986.

MONTEIRO, R. C., *et al.* Cellular distribution, regulation, and biochemical nature of an Fc alpha receptor in humans. J Exp Med, v.171, n.3, Mar 1, p.597-613. 1990.

MOSMANN, T. R. e R. L. COFFMAN. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annu Rev Immunol, v.7, p.145-73. 1989.

NIJENHUIS, T., *et al.* Common variable immunodeficiency (CVID) in a family: an autosomal dominant mode of inheritance. Neth J Med, v.59, n.3, Sep, p.134-9. 2001.

NISHIZUKA, Y. e T. SAKAKURA. Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. Science, v.166, n.906, Nov 7, p.753-5. 1969.

NOBLE, A., *et al.* Cytokine-induced IL-10-secreting CD8 T cells represent a phenotypically distinct suppressor T-cell lineage. Blood, v.107, n.11, Jun 1, p.4475-83. 2006.

O'GARRA, A. e P. VIEIRA. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. Nat Med, v.10, n.8, Aug, p.801-5. 2004.

PAN-HAMMARSTROM, Q., *et al.* Reexamining the role of TACI coding variants in common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. Nat Genet, v.39, n.4, Apr, p.429-30. 2007.

PIQUERAS, B., *et al.* Common variable immunodeficiency patient classification based on impaired B cell memory differentiation correlates with clinical aspects. J Clin Immunol, v.23, n.5, Sep, p.385-400. 2003.

POWELL, B. R., *et al.* An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. J Pediatr, v.100, n.5, May, p.731-7. 1982.

PUTHETI, P., *et al.* Multiple sclerosis: a study of chemokine receptors and regulatory T cells in relation to MRI variables. Eur J Neurol, v.10, n.5, Sep, p.529-35. 2003.

PUTHETI, P., *et al.* Circulating CD4+CD25+ T regulatory cells are not altered in multiple sclerosis and unaffected by disease-modulating drugs. J Clin Immunol, v.24, n.2, Mar, p.155-61. 2004.

RAMSAY, A. J., *et al.* The role of interleukin-6 in mucosal IgA antibody responses in vivo. Science, v.264, n.5158, Apr 22, p.561-3. 1994.

RONCAROLO, M. G., *et al.* Type 1 T regulatory cells. Immunol Rev, v.182, Aug, p.68-79. 2001.

ROSECAN, M., *et al.* Agammaglobulinemia in the adult. Am J Med, v.19, n.2, Aug, p.303-13. 1955.

ROSEN, S. W., R.J.P; EIBL, M.M; FISCHER, A; AIUTI, F; NOTARANGELO, L. Primary immunodeficiency diseases. Report of a WHO scientific group. . Clin Exp Immunol, v.109, n.1-28. 1997.

SAIKI, O., *et al.* Three distinct stages of B-cell defects in common varied immunodeficiency. Proc Natl Acad Sci U S A, v.79, n.19, Oct, p.6008-12. 1982.

SAKAGUCHI, S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. Nat Immunol, v.6, n.4, Apr, p.345-52. 2005.

SAKAGUCHI, S., *et al.* Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. Immunol Rev, v.212, Aug, p.8-27. 2006.

SAKAGUCHI, S., *et al.* Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J Immunol, v.155, n.3, Aug 1, p.1151-64. 1995.

SALZER, U., *et al.* Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. Nat Genet, v.37, n.8, Aug, p.820-8. 2005.

SALZER, U., *et al.* ICOS deficiency in patients with common variable immunodeficiency. Clin Immunol, v.113, n.3, Dec, p.234-40. 2004.

SANFORD, J. P., *et al.* Absence of serum gamma globulins in an adult. N Engl J Med 1954. 1027-9 p.

SCHROEDER, H. W., JR., *et al.* Susceptibility locus for IgA deficiency and common variable immunodeficiency in the HLA-DR3, -B8, -A1 haplotypes. Mol Med, v.4, n.2, Feb, p.72-86. 1998.

SEDDIKI, N. E. A. expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. J Exp Med, v.203, n.7, July, 10, p.1693-1700. 2006.

SEGGEV, J. S. Spontaneous remission of common variable immunodeficiency of 20 years duration. J Allergy Clin Immunol, v.88, n.3 Pt 1, Sep, p.418-20. 1991.

SELIGMANN, M., *et al.* Changes in serum immunoglobulin patterns in adults with common variable immunodeficiency. Clin Exp Immunol, v.84, n.1, Apr, p.23-7. 1991.

SHEVACH, E. M. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. Nat Rev Immunol, v.2, n.6, Jun, p.389-400. 2002.

SNELLER, M. C. Common variable immunodeficiency. Am J Med Sci, v.321, n.1, Jan, p.42-8. 2001.

SNELLER, M. C. e W. STROBER. Abnormalities of lymphokine gene expression in patients with common variable immunodeficiency. J Immunol, v.144, n.10, May 15, p.3762-9. 1990.

SPICKETT, G. P. Current perspectives on common variable immunodeficiency (CVID). Clin Exp Allergy, v.31, n.4, Apr, p.536-42. 2001.

STAGG, A. J., *et al.* Failure in antigen responses by T cells from patients with common variable immunodeficiency (CVID). Clin Exp Immunol, v.96, n.1, Apr, p.48-53. 1994.

SUZUKI, H., *et al.* Various expression patterns of alpha1 and alpha2 genes in IgA deficiency. Allergol Int, v.58, n.1, Mar, p.111-7. 2009.

SUZUKI, K. e S. FAGARASAN. Diverse regulatory pathways for IgA synthesis in the gut. Mucosal Immunol, v.2, n.6, Nov, p.468-71. 2009.

TAAMS, L. S., *et al.* Human anergic/suppressive CD4(+)CD25(+) T cells: a highly differentiated and apoptosis-prone population. Eur J Immunol, v.31, n.4, Apr, p.1122-31. 2001.

TADA, T., *et al.* Properties of the antigen-specific suppressive T-cell factor in the regulation of antibody response of the mouse. IV. Special subregion assignment of the gene(s) that codes for the suppressive T-cell factor in the H-2 histocompatibility complex. J Exp Med, v.144, n.3, Sep 1, p.713-25. 1976.

TAKAHASHI, T., *et al.* Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. Int Immunol, v.10, n.12, Dec, p.1969-80. 1998.

TAUBENHEIM, N., *et al.* Defined blocks in terminal plasma cell differentiation of common variable immunodeficiency patients. J Immunol, v.175, n.8, Oct 15, p.5498-503. 2005.

THOMSON, C. W., *et al.* Double-negative regulatory T cells: non-conventional regulators. Immunol Res, v.35, n.1-2, p.163-78. 2006.

THORNTON, A. M., *et al.* Activation requirements for the induction of CD4+CD25+ T cell suppressor function. Eur J Immunol, v.34, n.2, Feb, p.366-76. 2004.

VAN THIEL, D. H., *et al.* A syndrome of immunoglobulin A deficiency, diabetes mellitus, malabsorption, a common HLA haplotype. Immunologic and genetic studies of forty-three family members. Ann Intern Med, v.86, n.1, Jan, p.10-9. 1977.

VAN ZELM, M. C., *et al.* An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. N Engl J Med, v.354, n.18, May 4, p.1901-12. 2006.

VASCONCELOS, D. M. A. D., A.J. Imunodeficiência Comum Variável (Hipogamaglobulinemia de Início Tardio ou Hipogamaglobulinemia Adquirida): Breve revisão Rev.Bras.Alerg.Imunol, v.12, n.5, p.147-157. 1989.

VERHAGEN, J., *et al.* Absence of T-regulatory cell expression and function in atopic dermatitis skin. J Allergy Clin Immunol, v.117, n.1, Jan, p.176-83. 2006.

VIALARD, J. F., *et al.* Altered dendritic cell distribution in patients with common variable immunodeficiency. Arthritis Res Ther, v.7, n.5, p.R1052-5. 2005.

VIEIRA, P. L., *et al.* IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. J Immunol, v.172, n.10, May 15, p.5986-93. 2004.

VIGLIETTA, V., *et al.* Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. J Exp Med, v.199, n.7, Apr 5, p.971-9. 2004.

WALL, R. L. e S. SASLAW. Adult agammaglobulinemia. AMA Arch Intern Med, v.95, n.1, Jan, p.33-6. 1955.

WAN, Y. Y. e R. A. FLAVELL. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. Nature, v.445, n.7129, Feb 15, p.766-70. 2007.

WANG, J. E. A. Transiente expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. Eur J Immunol, v.37, p.129-138. 2007.

WANG, Z., *et al.* Discordance between IgA switching at the DNA level and IgA expression at the mRNA level in IgA-deficient patients. Clin Immunol, v.91, n.3, Jun, p.263-70. 1999.

WARNATZ, K., *et al.* Severe deficiency of switched memory B cells (CD27(+)IgM(-)IgD(-)) in subgroups of patients with common variable immunodeficiency: a new approach to classify a heterogeneous disease. Blood, v.99, n.5, Mar 1, p.1544-51. 2002.

WEINER, H. L. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. Immunol Rev, v.182, Aug, p.207-14. 2001.

WILDIN, R. S., *et al.* X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. Nat Genet, v.27, n.1, Jan, p.18-20. 2001.

WOOF, J. M. e M. A. KERR. IgA function--variations on a theme. Immunology, v.113, n.2, Oct, p.175-7. 2004.

YEL, L. Selective IgA deficiency. J Clin Immunol, v.30, n.1, Jan, p.10-6.

YEL, L. Selective IgA deficiency. J Clin Immunol, v.30, n.1, Jan, p.10-6. 2010.

YU, G. P., *et al.* Regulatory T cell dysfunction in subjects with common variable immunodeficiency complicated by autoimmune disease. Clin Immunol, v.131, n.2, May, p.240-53. 2009.

YU, J. E., *et al.* Toll-like receptor 7 and 9 defects in common variable immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol, v.124, n.2, Aug, p.349-56, 356 e1-3. 2009.