



Documento Científico

Departamento de Imunologia Clínica

Triagem Neonatal para Imunodeficiências Primárias

Departamento de Imunologia Clínica

Presidente: Antonio Condino Neto

Secretária: Beatriz Tavares Costa Carvalho

Conselho Científico: Cecília Douglas Gomes Paes Barreto, Ekaterini Simões Goudoris, Fabíola Scancetti Tavares, Hermila Tavares Vilar Guedes, Jorge Andrade Pinto, Marcos Reis Gonçalves, Maria Marluce dos Santos Vilela

Colaboradora: Lucila Akune Barreiros

Imunodeficiências primárias

As imunodeficiências primárias (IDPs) são um grupo heterogêneo de doenças genéticas causadas por defeitos em componentes do sistema imunológico. Os portadores de IDPs são mais susceptíveis às infecções de repetição ou oportunistas crônicas, que podem se tornar muito graves. Além disso, as desregulações no sistema imunológico podem causar danos a tecidos, gerando processos inflamatórios, que podem facilitar processos de autoimunidades e malignidades^(1,2). Atualmente, há cerca de 300 doenças descritas que formam esse grupo tão complexo e com manifestações clínicas variáveis⁽³⁾. As vidas de pacientes com IDPs podem ser profundamente impactadas pelos sintomas que, se não diagnosticados e tratados, podem ser crônicos, graves e até fatais.

Imunodeficiência Combinada Grave

A mais preocupante das IDPs, a Imunodeficiência Combinada Grave (do inglês, SCID – *Severe Combined Immunodeficiency*), é caracterizada por defeitos no desenvolvimento e função de linfócitos T, efeitos variáveis sobre o desenvolvimento de linfócitos B e de células natural killers⁽⁴⁾. Estes distúrbios manifestam-se caracteristicamente por ocorrência de infecções graves entre 3 e 6 meses de vida, quando a concentração sérica de IgG transferida da mãe para o feto no último trimestre da gestação começa a diminuir, mas podem iniciar os sinais e sintomas mais tarde até o segundo ano de vida. A maioria dos casos de SCID possuem ausência ou baixo número de linfócitos T.

Os variados defeitos em linfócitos T, B e NK culminam em uma apresentação clínica grave muito similar⁽⁵⁾ mas podem ser classificados em grupos de SCID de acordo com a presença ou ausência de linfócitos T, ou de linfócitos B e ou de NK⁽⁶⁾. Assim, a quantificação dos linfócitos e subpopulações no sangue periférico é uma ferramenta diagnóstica valiosa para indicar a natureza da anormalidade genética. **Sem o diagnóstico e tratamento adequados, o portador de SCID vai a óbito em até 24 meses de vida⁽⁷⁾.** Por este motivo, as SCID são consideradas **emergências pediátricas**.

No Brasil, um estudo multicêntrico comprovou o grave problema do subdiagnóstico das SCID: em 15 anos (1996 a 2010) apenas 70 casos foram diagnosticados em 23 centros de referência para IDPs. A estimativa de incidência é de um caso de SCID para 58.000 nascidos vivos. Entre 1996 e 2010 com uma média de 640.000 nascidos vivos/ano deveríamos ter diagnosticado 165 casos de SCID. No entanto, foram diagnosticados apenas 42% dos casos (70 crianças) nesse período, e 50% delas foram a óbito antes de realizar a terapêutica curativa com transplante de medula óssea^(8,9).

Crianças com SCID são vulneráveis a infecções de todos os tipos de patógenos, principalmente oportunistas como candidíase local ou disseminada, *Pneumocystis jiroveci*, que pode causar pneumonia fatal e os eventos adversos à vacina BCG, definidas como reação local BCGite e reação disseminada BCGose. A incidência mundial de BCGite é de 3,4 / milhão de pessoas vacinadas. Nos pacientes com SCID a incidência é de 1:2, sendo que 30-45% dos pacientes desenvolvem a BCGose⁽⁹⁾. Morte precoce nestas crianças pode ser causada também por outras vacinas de vírus vivo atenuado e agentes oportunistas como citomegalovírus, adenovírus, herpes simplex, parainfluenza, Epstein-Barr vírus, poliovírus e o vírus do sarampo. É comum apresentarem diarreia persistente, que resulta em atrasos no crescimento e no desenvolvimento. Também podem apresentar *rash* cutâneo, causado por uma reação das

células T maternas contra os tecidos do recém-nascido (reação do enxerto-*versus*-hospedeiro) e manifestações de citopenias autoimunes entre outras.

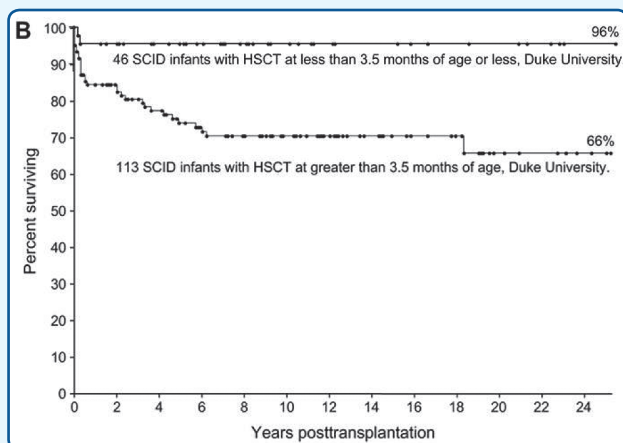
Agamaglobulinemia

Agamaglobulinemia ligada ao X (XLA, do inglês *X-linked agammaglobulinemia*) e a Agamaglobulinemia autossômica recessiva, são doenças caracterizadas por número baixo de linfócitos B e redução dos níveis séricos de todas as classes de imunoglobulinas. XLA corresponde a 85% desses defeitos, e os portadores são suscetíveis a infecções virais e por bactérias encapsuladas (*Haemophilus influenza* e *Streptococcus pneumonia*). Os sintomas da agamaglobulinemia têm início entre os 3 e 6 meses de idade, quando caem os níveis de IgG adquirida da mãe e, quando não há antecedentes familiares, o diagnóstico geralmente é realizado tardiamente^(10,11). A identificação precoce de portadores de agamaglobulinemias é muito importante, uma vez que essas crianças são propensas ao desenvolvimento de infecções respiratórias crônicas e debilitantes^(12,13).

Tratamentos

No Brasil, o tratamento curativo disponível para SCID é o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). Segundo Puck (2007) o diagnóstico pré-sintomático, antes do aparecimento de infecções, é aquele que possui maior chance de sucesso no tratamento⁽¹⁴⁾. Quando o TCTH é feito em até 3 meses e meio de vida, a sobrevivência é de 96%, ou seja, alta taxa de sucesso com baixa morbidade e custos de tratamento significativamente menores do que os previstos após o estabelecimento de infecções⁽¹⁵⁾. Porém após esta idade, este número cai para 66%, devido ao estabelecimento de infecções (Figura 1).

Figura 1 - Gráfico de porcentagem de sobrevivência (eixo y) por anos após o transplante (eixo x). A linha superior representa 46 crianças que fizeram TCHT antes dos 3 meses e meio de idade, com 96% de sucesso após 24 anos. A linha inferior representa 113 crianças que fizeram TCHT após 3 meses e meio de vida e a taxa de sobrevivência após 24 anos de 66%⁽¹⁴⁾.



Por outro lado, no caso da Agamaglobulinemia, o transplante não é necessário e o tratamento mais adequado é a reposição das imunoglobulinas.

Infelizmente, como a maioria dos casos não possui histórico familiar da doença, e sendo que os sintomas iniciais são infecções comuns, o diagnóstico precoce torna-se um desafio. **Para isso, é necessário uma triagem neonatal universal, que chamamos no Brasil de teste do pezinho.** Esse rastreamento universal para SCID e Agamaglobulinemia pode ser muito vantajoso, pois encontrar os casos precocemente permite salvar vidas e diminuir drasticamente os custos com tratamentos após a instalação de infecções⁽¹⁶⁾.

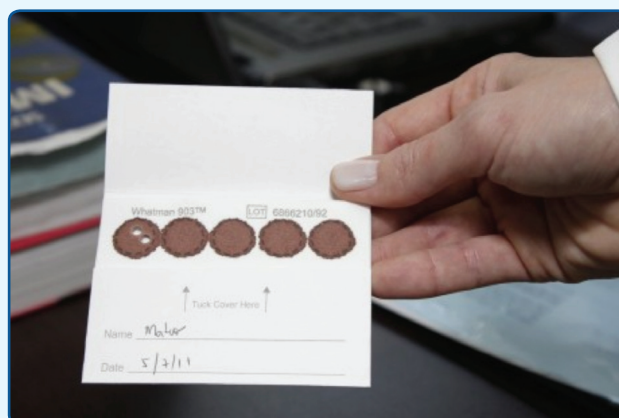
Triagem neonatal para SCID, agamaglobulinemia e outras linfopenias

A observação de que todos os pacientes com SCID, independentemente da causa, não possuíam ao nascer linfócitos T *naïve* circulantes emigrados do timo, determinou o desenvolvimento de uma técnica eficiente e simples

para rastrear neonatos portadores desta doença fatal, mas com possibilidade de tratamento se descoberta rapidamente.

Durante o desenvolvimento do timo, linfócitos T são submetidos ao rearranjo de seu receptor e como subproduto, há a geração de círculos de excisão do receptor de células T (TRECs, do inglês: *T cell receptor excision circles*). TRECs podem ser identificados por PCR utilizando manchas secas de sangue sobre papel de filtro coletadas de cada criança recém-nascida. O Brasil emprega os cartões de Guthrie^(17,18) para a realização de triagem neonatal, o “teste do pezinho”. Nos Estados Unidos há cerca de 30 estados com triagem neonatal obrigatória para SCID através da quantificação de TRECs, com excelentes resultados já relatados⁽⁸⁾. Além disso, também é possível investigar deficiências de células B, através da quantificação por PCR dos KRECs (do inglês, *kappa-deleting recombination excision circles*), um subproduto da formação do receptor de célula B^(13,19). Em conjunto, a quantificação de TRECs e KRECs por PCR pode dar pistas sobre quais tipos celulares estão afetados em cada paciente, ajudando a direcionar a investigação genético-molecular.

Cartão de Guthrie (Foto: Marcos Santos/USP Imagens)



O objetivo da triagem neonatal é identificar recém-nascidos pré-sintomáticos com doenças graves ou fatais que podem ser tratadas com êxito. Desde sua implantação em 2011 no Laboratório de Imunologia Humana, da Universidade de São Paulo, a triagem para linfopenias T e B graves detectou imunodeficiências em outras doenças além da SCID e agamaglobuli-

nemia, como a Síndrome de DiGeorge, Ataxia-telangiectasia e Síndrome de Down. E hoje, devido à parceria com a APAE de São Paulo, esse exame já está disponível na medicina privada.

Numa parceria entre o Laboratório de Imunologia Humana e o Instituto PENSI em São Paulo, hoje torna-se possível testar gratuitamente até o limite de 20 mil amostras SICD e agamaglobulinemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, et al. Primary immunodeficiency diseases: An update on the classification from the International Union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. *Front Immunol.* 2014;5(APR):1–33.
2. Bestas B, Turunen JJ, Blomberg KE, Wang Q, Mansson R, El Andaloussi S, et al. Splice-correction strategies for treatment of X-linked agamaglobulinemia. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015;15:510.
3. Borte S, von Döbeln U, Fasth A, Wang N, Janzi M, Winiarski J, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood.* 2012;119:2552–5.
4. Bousfiha A, Jeddane L, Al-Herz W, Ailal F, Casanova JL, Chatila T, et al. The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol.* 2015 Oct 7.
5. Buckley RH. Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annu. Rev. Immunol.* 2004. 22:625–55
6. Fernandes A, Guedes M, Vasconcelos J, Neves E, Fernandes S, Marques L. [X-linked agamaglobulinemia: experience in a Portuguese hospital]. *An Pediatr (Barc).* 2015;82:166–71.
7. Fischer A, Cavazzana-Calvo M, De Saint Basile G, et al. Naturally occurring primary deficiencies of the immune system. *Annu Rev Immunol* 1997;15:93–124.
8. Gaspar HB, Gilmour KC, Jones AM. Severe combined immunodeficiency – molecular pathogenesis and diagnosis. *Arch Dis Child.* 2001; 84: 169–173.
9. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963; 32:338– 343.
10. Kwan A, Abraham RS, Currier R et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA.* 2014;312(7):729–38.
11. Maggadottir SM, Sullivan KE. The intersection of immune deficiency and autoimmunity. *Curr Opin Rheumatol* (2014) 26(5):570–8.
12. Mazzucchelli JT, Bonfim C, Castro GG, Condino-Neto AA, Costa NM, Cunha L, et al. Severe combined immunodeficiency in Brazil: management, prognosis, and BCG-associated complications. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2014;24(3):184–91.
13. Modell V, Knaus M, Modell F. An analysis and decision tool to measure cost benefit of newborn screening for severe combined immunodeficiency (SCID) and related T-cell lymphopenia. *Immunol Res.* 2014.
14. Myers LA, Patel DD, Puck JM, Buckley RH. Hematopoietic stem cell transplantation for severe combined immunodeficiency in the neonatal period leads to superior thymic output and improved survival. *Blood* 2002; 99: 872–878.
15. Notarangelo LD: Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2010, 125(2 Suppl 2):S182–S194
16. Puck JM. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: steps toward implementation. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(4):760–8.
17. Puck, JM. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: the winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Mar;129(3):607–16.
18. Somech R, Lev A, Simon AJ, Korn D, Garty BZ, Amariglio N, et al. Newborn screening for severe T and B cell immunodeficiency in Israel: a pilot study. *Isr Med Assoc J.* 2013;15:404–9.
19. van Zelm MC, Van der Burg M, Langerak AW, et al. PID Comes Full Circle: Applications of V(D) J Recombination Excision Circles in Research, Diagnostics and Newborn Screening of Primary Immunodeficiency Disorders. *Front Immunol.* 2011 May 4;2:12.

